

## Biological Characteristics of *Spirometra erinacei* and *S. mansonoides* by Developmental Stages

Woon-Mok Sohn<sup>†</sup> and Jin-Ha Lee

Department of Parasitology and Institute of Health Sciences,  
Gyeongsang National University College of Medicine, Jinju 660-751, Korea

To clarify the species validity of the genus *Spirometra*, the biological characteristics of *Spirometra erinacei* and *S. mansonoides* by developmental stages were compared. Their experimental life cycles were maintained under the same laboratory conditions, and the biological characteristics were experimentally observed *in vivo* and *in vitro* conditions. Eggs of *S. erinacei* and *S. mansonoides* were  $59.6 \times 35.6 \mu\text{m}$  and  $61.4 \times 35.8 \mu\text{m}$  in each average size. Both of them became fully matured and hatched in 8 days after incubation at  $29^\circ\text{C}$ . The coracidium of *S. erinacei* was  $43.6 \times 35.8 \mu\text{m}$  in average size, and retained a oncosphere of  $39.3 \times 31.0 \mu\text{m}$ . That of *S. mansonoides* was  $43.0 \times 36.3 \mu\text{m}$  in average size, and retained a oncosphere of  $38.3 \times 30.8 \mu\text{m}$ . Procercooids of *S. erinacei* were somewhat larger than those of *S. mansonoides*. Both species of procercooids older than 7 days in cyclops had minute spines at the anterior end, calcium corpuscles in the parenchyme and a cercomer at the posterior end. The procercooids older than 4 days in cyclops were infective to tadpoles. The procercooids older than 8 days revealed the infectivity to mice. Plerocercoids of *S. erinacei* were somewhat larger than those of *S. mansonoides* when they were compared by age of worms in tadpoles. Both species of plerocercoids older than 5 days were infective to mice. Among 138 plerocercoids of *S. erinacei* recovered from the experimental mice, 55 (39.9%) were detected in the neck portion, 35 (25.4%) in the back portion, 25 (18.1%) in the anterior legs, and 23 (16.7%) were found in the abdomen. In case of *S. mansonoides* plerocercoids, 42.0% were found in the neck portion, 23.8% in the back portion, 14.4% in the abdomen, 13.3% in the anterior legs, and 6.1% were found in the posterior legs. From the above results, it was confirmed that the biological characteristics of *S. erinacei* and *S. mansonoides* are almost same when their life cycles are maintained under the same laboratory condition. Accordingly, these findings suggest that *S. erinacei* and *S. mansonoides* may be the same species.

**Key Words:** Biological characteristics, Cestoda, Tapeworms, Eggs, Coracidium, Procercoid, Plerocercoid, Sparganum, Adult

### 서 론

*Spirometra* 속 (genus) 기생충은 의엽조충목 (order Pseudophyllidae), 열두조충과 (family Diphyllobothriidae)에 속하는 조충으로 주로 개나 고양이 등의 소장에 기생한다. 인체에서는 주로 이 기생충의 유충인 충미충 (plerocercoid)이 고충증 (sparganosis)을 일으켜 임상적인 문제를 야기하지만 가끔씩 성충이 검출되어 중국, 일본 및 우리나라 등에서 10례 정도가 보고되었다 (Iwata et al., 1967, 1971; Okumura et al., 1970;

Suzuki et al., 1982; Lee et al., 1984).

*Spirometra* 속은 Faust et al. (1929)에 의하여 *Diphyllobothrium* 속의 아속 (subgenus)의 하나로 만들어졌으나 Mueller (1936, 1937)가 독립된 속으로 주장한 후 오늘에 이르고 있다. Mueller는 subgenus *Spirometra*와 subgenus *Diphyllobothrium*의 형태학적 및 생물학적 특징을 비교·분석한 후 몇 가지 뚜렷한 차이점을 토대로 *Spirometra*를 독립된 속으로 분리하였다.

*Spirometra* 속 조충은 일반적으로 cyclops를 제 1 중간숙주로 하고, 올챙이 및 개구리를 제 2 중간숙주로, 뱀이나 조류 및 포유류를 운반숙주로, 개 및 고양이류를 종숙주로 하여 생활사가 영위된다. 이와 같은 *Spirometra* 속 조충의 생활사에 대해서는 Okumura (1919)와 Kobayashi (1931)는 *S. mansoni*를, Li (1929)는 *S. erinacei*와 *S. decipiens*를, Mueller (1938)는 *S. mansonoides*를 연구한 바 있다. 한편, Lee et al. (1990)은

\*논문 접수: 2005년 3월 2일  
수정제접수: 2005년 3월 30일

<sup>†</sup>교신저자: 손운목, (우) 660-751 경남 진주시 칠암동 90,  
경상대학교 의과대학 기생충학교실  
Tel: 055-751-8757, Fax: 055-759-4022  
e-mail: wmsohn@nongae.gsnu.ac.kr

우리나라에 분포하는 *Spirometra* 속 조충의 생활사를 실험실내에서 완성한 후 생물학적, 형태학적 특징을 토대로 우리나라에 분포하는 종을 *S. erinacei*라고 하였다.

*Spirometra* 속 조충의 성충에 대해서는 Yoshida (1917)가 인체에서 발견한 고충을 개에 실험감염시켜서 얻은 충체를 *Bothriocephalus liguloides*로 기재한 이후 Joyeux and Houdeimer (1928)는 인도지나의 여러 동물로부터 얻은 고충을 개에 감염시키고 회수한 충체를 *Diphyllobothrium mansoni*라고 하였으며 Faust et al. (1929)은 중국고슴도치 (*Erinaceus dealbatus*)에서 검출한 고충을 개와 고양이에 감염시킨 후 회수한 충체를 *Diphyllobothrium erinacei*로 명명하였다. 한편, Iwata (1934)는 극동지방에 분포하는 종류를 *Diphyllobothrium erinacei*로, Joyeux et al. (1934)은 동남아시아에서 발견되는 것들을 *D. mansoni*로, Mueller (1935)는 미대륙에 분포하는 것들을 *D. mansonioides*로, Brumpt (1936)는 유럽에서 발견되는 것들을 *D. erinacei-europaei*로 기재한 바 있다.

*Spirometra* 속 조충의 종에 대해서는 아직까지 논란이 많다. 세계적으로 6~7종이 보고되어 있으나 아시아 지역에 분포하는 *S. erinacei*와 북미지역에 분포하는 *S. mansonioides*로 대별된다. Iwata (1972)는 보고되어 있는 6~7종이 모두 같은 충체의 일부만을 보고 나눈 것이라 하여 만손열두조충으로 통일해야 한다고 주장하였고 Mueller (1974)는 북미열두조충은 성충에 있어서 자궁의 형태가 뚜렷이 다르고 고충의 크기 및 몇 가지의 생물학적 특성이 다르므로 아시아에 분포하는 것과는 분명히 다른 별종이라고 하였다. 이와 같이 *Spirometra* 속 조충이 분류학적으로 이견이 많은 이유는 그 조충이 분포하는 지역의 환경적, 생태학적 요소가 다르고 또 생물학적 특성 및 생활사 연구시 실험조건이 다르기 때문일 것이라고 생각한다. 그래서 이 연구에서는 우리나라에 분포하는 만손열두조충과 미국에서 충란을 가져와 실험실내 생활사를 유지하고 있는 북미열두조충을 똑 같은 실험조건하에서 생활사를 유지하면서 발육단계별 형태학적 및 생물학적 특성을 관찰 비교하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 충란 회득 및 배양

만손열두조충은 자연 감염된 유혈목이 (*Rhabdophis tigrinus tigrinus*)로부터 검출한 고충을 한 마리의 고양이에 경구감염시키고 약 3주 후부터 대변을 수거하여 충란을 분리 수집하였다. 북미열두조충은 미국의 네브拉斯카대학교 의과대학 생화학 및 분자생물학교실의 Phares 박사가 보내준 충란으로 실험실내 생활사를 완성한 후 마우스에 감염시켜 두었던 고충을 회수하여 고양이 한 마리에 경구감염시키고 약 3주 후부터 대변을 수거하여 충란을 분리 수집하였다. 분리 수집한

충란들을 종류수로 여러 번 씻은 다음 배양접시에 종류수와 함께 담아서 29°C 배양기에서 배양하였으며 충란의 발육 및 탈각 부화과정을 광학현미경하에서 경시적으로 관찰하였다.

### 2. 섬모유충 및 원미충의 형태학적 관찰 및 실험감염

충란이 충분히 발육하였다고 판단되는 시점에 배양접시를 광선에 노출시켜 성숙한 충란을 탈각 부화시킨 후 섬모유충 (coracidium)을 획득하였다. 형태학적 관찰 및 계측을 위하여 약 70°C의 뜨거운 10% 중성포르말린으로 고정하였다. 탈각 부화한 섬모유충을 *Mesocyclops leuckarti* 또는 *Eucyclops serrulatus* 등의 물벼룩에 접촉감염시킨 후 원미충의 발육상을 광학현미경하에서 경시적으로 관찰 및 계측하였으며 감염 후 8~16일된 원미충을 내포하고 있는 물벼룩을 실험실에서 사육한 올챙이에 접촉감염시켰다. 올챙이로부터 감염 후 3, 5, 7, 9, 11, 13, 17, 20, 21, 25일 및 35일에 충미충을 회수하여 관찰 및 계측하였다.

### 3. 원미충의 올챙이에 대한 감염능력 관찰

섬모유충을 물벼룩에 접촉감염시킨 후 1, 2, 3, 4, 5일 및 7일에 원미충 감염이 확인된 물벼룩을 10~39마리의 올챙이에 각각 접촉감염시켰으며 감염 후 20일에 올챙이로부터 충미충을 회수하여 감염능력을 산정하였다.

### 4. 원미충의 마우스에 대한 감염능력 관찰

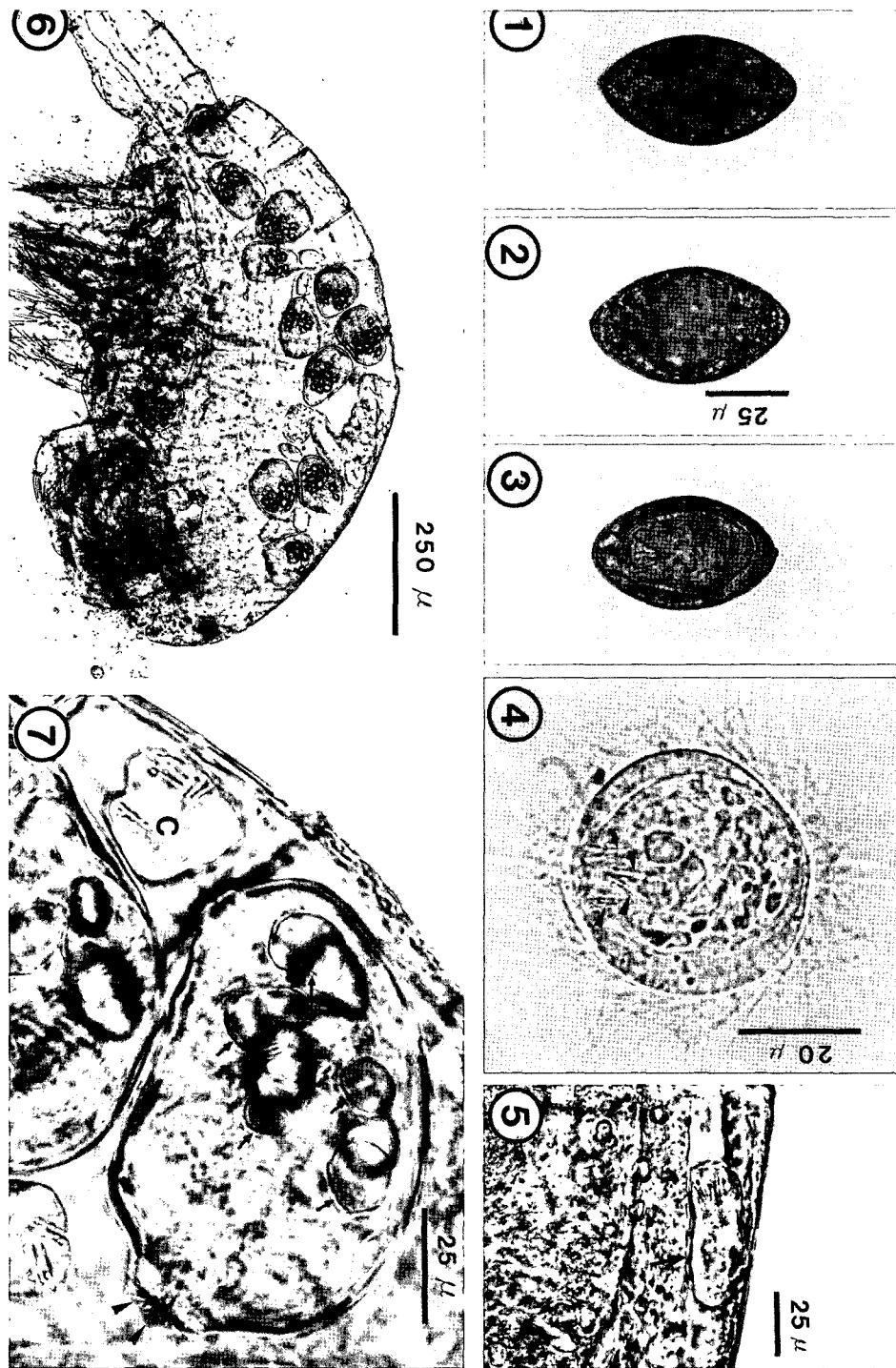
섬모유충을 물벼룩에 접촉감염시킨 후 물벼룩의 복강내에서 5, 8, 11, 14일 및 16일에 원미충을 회수하였으며 회수한 원미충을 마우스 마리당 20마리씩 경구감염시켰다. 감염 후 45~50일에 마우스로부터 충미충을 회수하여 감염능력을 산정하였다.

### 5. 충미충의 마우스에 대한 감염능력 관찰

감염 후 8일된 원미충을 내포하고 있는 물벼룩을 실험실에서 사육한 올챙이에 접촉감염시키고 올챙이로부터 감염 후 3, 5, 7, 9, 11, 20일 및 35일에 회수한 충미충을 마우스 마리당 10마리씩 경구감염시켰다. 감염 후 30~50일에 마우스로부터 충미충을 회수하여 감염능력을 산정하였으며 마우스 체부위별로 회수된 충미충의 분포상을 알아보았다.

### 6. 원미충 및 충미충의 고양이에 대한 감염능력 관찰

고양이 2마리에 물벼룩내에서 8일된 원미충을 20마리씩 경구감염시키고 30일 후에 고양이를 도살한 후 소장에서는 성충 감염을, 피하 및 근육내에서는 충미충 감염상을 관찰하였다. 실험감염 올챙이로부터 감염 후 3, 5, 7일 및 10일에 회수한 충미충을 고양이 4마리에 각각 10마리씩 경구감염시켰다. 감염 30일 후 고양이를 도살하고 소장에서 성충 감염



**Fig. 1.** An egg of *S. mansonioides* isolated from the feces of cat experimentally infected with plerocercoid larvae.

**Fig. 2.** An egg of *S. mansonioides* after 5 days development, which retained an embryonic mass.

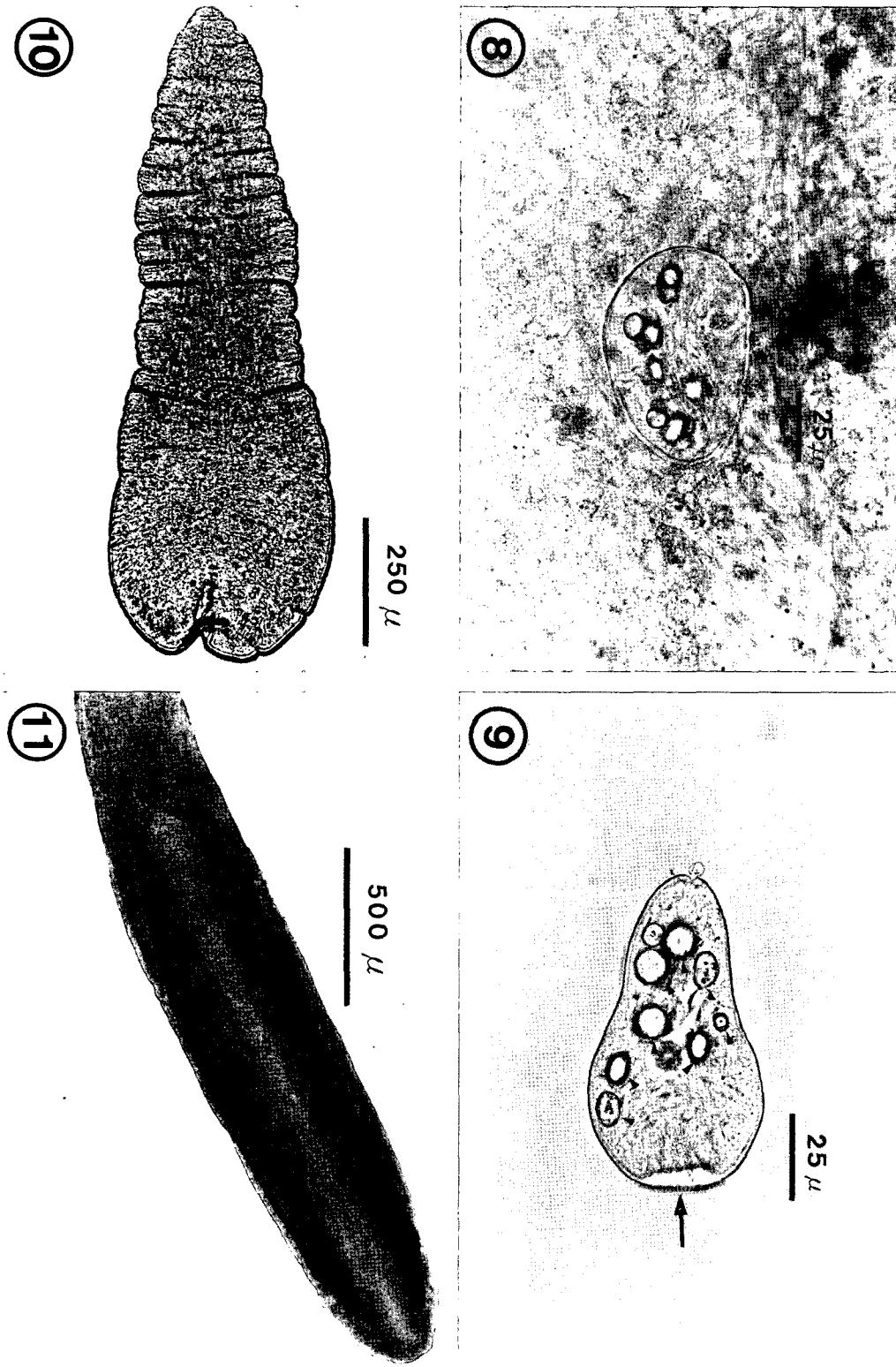
**Fig. 3.** An Egg of *S. mansonioides* after 8 days development, which retained a fully matured coracidium.

**Fig. 4.** A coracidium of *S. mansonioides* showing numerous cilia and 3 pairs of hooklets (arrow heads).

**Fig. 5.** An 1-day old procercoeid (arrow mark) of *S. mansonioides* in the body cavity of cyclops experimentally infected with coracidium.

**Fig. 6.** 8-day old procercooids of *S. mansonioides* in the body cavity of cyclops.

**Fig. 7.** 15-day old procercooids of *S. mansonioides*, showing a frontal pit with numerous spine-like projections (arrowheads), calcium corpuscles (arrow marks) and a cercomer (C).



**Fig. 8.** An 1-day old plerocercoid of *S. mansonioides* in the intestinal wall of tadpole experimentally infected with procercoïd.

**Fig. 9.** An 1-day old plerocercoid of *S. mansonioides*, showing a frontal pit (arrow mark) and calcium corpuscles (arrow heads)

**Fig. 10.** An 11-day old plerocercoid of *S. mansonioides* from an experimental tadpole.

**Fig. 11.** Scolex of *S. mansonioides* adult from a cat experimentally infected with plerocercoids.

을, 피하 및 근육내에서 충미충 감염상을 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 충란, 섬모유충, 원미충 및 충미충의 형태 및 발육상

만손열두조충의 충란은 56.8~63.0 (평균 59.9)  $\mu\text{m} \times 34.6$  ~39.5 (평균 35.6)  $\mu\text{m}$  크기이었으며 북미열두조충의 충란은 58.1~66.7 (평균 61.4)  $\mu\text{m} \times 34.6$  ~37.1 (평균 35.8)  $\mu\text{m}$  크기이었다. 두 종류의 충란 모두 난개가 뚜렷하고 좌우 비대칭이면서 한쪽 끝이 비교적 뾰족하였으며 형태학적으로 대동소이하였다. 배양 전 충란은 둥근 모양의 배세포 (germ cell)를 가지고 있었고 배양 3일 후에는 배세포의 경계가 불확실해졌으며 배양 5일 후에는 난황이 많이 줄어든 반면 배괴

(embryonic mass)가 형성되었다 (Figs. 1 & 2). 대부분의 충란이 배양 8일 후에는 완전히 발육하였으며 (Fig. 3) 빛에 노출시키자 탈각 부화하였다.

탈각 부화한 섬모유충은 체표면의 섬모를 이용하여 매우 빠른 속도로 유영하였고 유영시에는 전체적인 형태가 길쭉해지면서 후단 부근에 있는 3쌍의 소구 (hooklet)가 뒤로 뻗는 형상이었다. 뜨거운 포르말린으로 고정한 섬모유충 (coracidium)은 난원형이었으며 수 많은 섬모로 덮여 있는 배막 (embryonic membrane)과 육구유충 (hexacanth embryo or oncosphere)으로 구성되어 있었다 (Fig. 4). 만손열두조충의 섬모유충은 40.8~46.9 (평균 43.6)  $\mu\text{m} \times 33.4$  ~37.1 (평균 35.8)  $\mu\text{m}$  크기이었고 육구유충은 32.1~42.0 (평균 39.3)  $\mu\text{m} \times 29.6$  ~32.1 (평균 31.0)  $\mu\text{m}$  크기이었다. 북미열두조충의 섬모유충은 39.5~44.5 (평균 43.0)  $\mu\text{m} \times 34.6$  ~39.5 (평균 36.3)  $\mu\text{m}$  크기이었고 육구유충은 37.1~39.5 (평균 38.3)  $\mu\text{m} \times 27.2$  ~32.1 (평균 30.8)  $\mu\text{m}$  크기이었다.

탈각 부화한 섬모유충을 *Mesocyclops leuckarti* 또는 *Eucyclops serrulatus* 등의 물벼룩에 접촉감염시키고 원미충의 발육상을 관찰하였던 바, 감염 후 1일에 물벼룩의 복강내에서 관찰된 유충은 충체가 비교적 길쭉하였고 후단 근처에서 3쌍의 소구가 관찰되었으며 (Fig. 5), 성숙한 원미충은 충체의 전단에 소극 (minute spine)들이 밀생해 있었고 실질내에서는 칼슘소구 (calcium corpuscle)들이 관찰되었으며 후단에는 3쌍의 소구를 가지고 있는 꼬리혹 (cercomer)이 형성되어 있었다 (Figs. 6 & 7). 섬모유충 감염 후 5, 8, 11일 및 14일에 물벼룩의 복강내에서 발견되는 만손열두조충과 북미열두조충 원미충의 크기는 Table 1에 나타나 있는 바와 같다.

원미충 감염 후 1일에 올챙이로부터 회수한 충미충은 통통한 서양배 모양이었고 전단이 약간 핵몰되어 있었으며 올챙이의 장벽 또는 장간막에 매몰되어 있거나 붙어 있었다 (Figs. 8 & 9). 원미충 시기에 충체 전단에 나타났던 미세한 소극들은 관찰되지 않았으며 실질내에는 칼슘소구들이 분포

**Table 1.** The measurements<sup>a)</sup> of *Spirometra* spp. procercoids in cyclops experimentally infected with coracidia

Age (day) of in cyclops	<i>S. erinacei</i>		<i>S. mansonoides</i>	
	Length (mean)	Width (mean)	Length (mean)	Width (mean)
5 Body	101~161 (124)	25~54 (37)	99~148 (121)	32~74 (51)
8 Body	74~114 (91)	57~77 (64)	74~104 (85)	42~82 (61)
11 Cercomer	27~49 (38)	17~27 (23)	27~47 (34)	20~25 (22)
11 Body	77~136 (104)	59~94 (73)	62~84 (72)	42~57 (49)
11 Cercomer	30~57 (41)	20~32 (27)	17~35 (25)	12~20 (15)
14 Body	84~143 (106)	54~82 (63)	79~116 (95)	59~74 (64)
14 Cercomer	31~48 (35)	18~30 (26)	25~45 (33)	17~30 (24)

<sup>a)</sup> 15~20 larvae were measured. Unit is  $\mu\text{m}$

**Table 2.** The measurements<sup>a)</sup> of *Spirometra* spp. plerocercoids collected from tadpoles experimentally infected with procercoids

Age (day) of in tadpole	<i>S. erinacei</i>		<i>S. mansonoides</i>	
	Length (mean)	Width (mean)	Length (mean)	Width (mean)
3	0.090~0.145 (0.115)	0.060~0.078 (0.067)	-	-
5	0.410~0.730 (0.605)	0.200~0.370 (0.282)	-	-
9	0.500~0.770 (0.641)	0.240~0.400 (0.315)	0.350~0.567 (0.431)	0.148~0.227 (0.176)
13	2.500~5.000 (4.068)	0.525~0.750 (0.645)	0.941~1.980 (1.565)	0.322~0.446 (0.411)
17	4.000~8.250 (5.695)	0.650~0.800 (0.723)	1.906~4.455 (2.807)	0.396~0.594 (0.502)
21	5.250~8.000 (6.258)	0.750~0.900 (0.783)	2.153~4.257 (3.001)	0.470~0.718 (0.564)
25	6.000~10.500 (8.338)	0.800~1.000 (0.920)	3.094~6.930 (4.752)	0.545~0.792 (0.645)
35	-	-	7.250~9.500 (8.323)	0.975~1.150 (1.071)

<sup>a)</sup> 10~20 larvae were measured. Unit is mm

하였다. 올챙이 체내에서의 발육기간이 길어짐에 따라 충체의 형태도 길쭉해졌으며 (Fig. 10) 발육기간별 만손열두조충과 북미열두조충 충미충의 크기는 Table 2에 나타나 있는 바와 같다. 원미충 감염 후 35일에 올챙이로부터 회수한 북미열두조충의 충미충을 고양이에 감염시키고 30일 후에 회수한 성충은 길이가 약 95 cm이었고 발육이 미약한 두절을 가지고 있었다 (Fig. 11).

## 2. 원미충의 올챙이에 대한 감염능력

복강내에 1, 2, 3, 4, 5일 및 7일된 원미충을 보유하고 있는 물벼룩을 각 실험군당 10~39마리의 올챙이에 접촉감염시킨 후 20일에 올챙이로부터 충미충을 회수하였던 바, 만손열두조충과 북미열두조충 두 종류 공통으로 물벼룩내에서 4일된 원미충을 감염시킨 올챙이에서부터 충미충이 회수되기 시작하였다. 구체적인 충체 회수 상황은 Table 3 및 4에 나타나

있는 바와 같다.

## 3. 원미충의 마우스에 대한 감염능력

섬모유충을 물벼룩에 접촉감염시킨 후 물벼룩의 복강내에서 5, 8, 11, 14일 및 16일에 회수한 원미충을 마우스 마리당 20~30마리씩 경구감염시키고 45~50일 후에 마우스로부터 충미충을 회수하였던 바, 만손열두조충과 북미열두조충 두 종류 공통으로 물벼룩 체내에서 5일된 원미충을 감염시킨 마우스에서는 충미충이 회수되지 않았다. 만손열두조충의 경우, 물벼룩 체내에서 8일, 11일, 14일 및 16일된 원미충을 감염시킨 마우스에서 각각 0.8%, 2.0%, 2.1% 및 4.0%의 회수률을 나타내었고 북미열두조충의 경우, 물벼룩 체내에서 8일, 11일, 14일 및 16일된 원미충을 감염시킨 마우스에서 각각 7.0%, 4.0%, 6.0% 및 34.2%의 회수률을 나타내었다. 구체적인 충체 회수률은 Table 5 및 6에 나타나 있는 바와 같았다.

**Table 3.** The infectivity of *Spirometra erinacei* proceroids to tadpoles

Age (day) of in cyclops	No. of challenged	No.(%) of infected	No. of plerocercoid recovered		
			Total	Range	Average
1	13	0	-	-	-
2	10	0	-	-	-
3	19	0	-	-	-
4	25	12 (48.0)	25	1~5	2.1
5	39	27 (69.2)	54	1~6	2.0
7	15	14 (93.3)	83	1~15	5.9

**Table 4.** The infectivity of *Spirometra mansonioides* proceroids to tadpoles

Age (day) of in cyclops	No. of challenged	No.(%) of infected	No. of plerocercoid recovered		
			Total	Range	Average
1	10	0	-	-	-
2	13	0	-	-	-
3	14	0	-	-	-
4	16	7 (43.8)	27	1~7	3.9
5	26	24 (92.3)	122	1~17	5.1

**Table 5.** The infectivity of *Spirometra erinacei* proceroids to mice

Age (day) of in cyclops	No. of challenged	No.(%) of infected	No. of challenged	No.(%) of plerocercoid recovered		
				Total	Range	Average
5	5	0	100	-	-	-
8	6	1 (16.7)	120	1 (0.8)	-	1.0
11	5	1 (20.0)	100	2 (2.0)	-	2.0
14	7	2 (28.6)	140	3 (2.1)	1~2	1.5
16	5	3 (60.0)	150	6 (4.0)	1~3	2.0

**Table 6.** The infectivity of *Spirometra mansonioides* proceroids to mice

Age (day) of in cyclops	No. of challenged	No.(%) of infected	No. of challenged	No.(%) of plerocercoid recovered		
				Total	Range	Average
5	5	0	100	-	-	-
8	5	2 ( 40.0)	100	7 ( 7.0)	2~5	3.5
11	5	2 ( 40.0)	100	4 ( 4.0)	1~3	2.0
14	5	2 ( 40.0)	100	6 ( 6.0)	2~4	3.0
16	4	4 (100.0)	120	41 (34.2)	2~23	10.3

**Table 7.** The infectivity of *Spirometra erinacei* plerocercoids to mice

Age (day) of plerocercoid in tadpoles	No. of mice used	Total No. of larvae given	No.(%) of mice infected	Total No.(%) of plerocercoid recovered
3	3	30	0	0
5	7	70	6 ( 85.7)	20 (28.6)
7	6	60	6 (100.0)	24 (40.0)
9	5	50	5 (100.0)	27 (54.0)
11	3	30	3 (100.0)	18 (60.0)
20	6	60	6 (100.0)	49 (81.7)

**Table 8.** The infectivity of *Spirometra mansonioides* plerocercoids to mice

Age (day) of plerocercoid in tadpoles	No. of mice used	Total No. of larvae given	No.(%) of mice infected	Total No.(%) of plerocercoid recovered
3	3	30	0	0
5	4	40	3 ( 75.0)	9 (22.5)
7	4	40	4 (100.0)	13 (32.5)
9	6	60	6 (100.0)	32 (53.3)
11	6	60	6 (100.0)	36 (60.0)
20	3	30	3 (100.0)	26 (86.7)
35	7	70	7 (100.0)	65 (92.9)

**Table 9.** The location of *Spirometra erinacei* plerocercoids in mice

Age(day) of in tadpoles	Total No. recovered	No.(%) of plerocercoid recovered from				
		Neck	Ant. leg	Abdomen	Back	Post. leg
5	20	5 (25.0)	5 (25.0)	2 (10.0)	8 (40.0)	0
7	24	8 (33.3)	4 (16.7)	5 (20.8)	7 (29.2)	0
9	27	12 (44.4)	3 (11.1)	6 (22.2)	6 (22.2)	0
11	18	11 (61.1)	5 (27.8)	1 ( 5.6)	1 ( 5.6)	0
20	49	19 (38.8)	8 (16.3)	9 (18.4)	13 (26.5)	0
Total	138	55 (39.9) <sup>a)</sup>	25 (18.1) <sup>b)</sup>	23 (16.7)	35 (25.4)	0

<sup>a)</sup> 8 larvae were detected from the head portion, <sup>b)</sup> 5 larvae were detected from the right leg

#### 4. 충미충의 마우스에 대한 감염능력

올챙이로부터 감염 후 3, 5, 7, 9, 11, 20일 및 35일에 회수한 만손열두조충과 북미열두조충의 충미충을 마우스 마리당 10마리씩 경구감염시키고 30~50일 후에 마우스로부터 충미충을 회수하였던 바, 올챙이 체내에서 3일된 충미충을 감염시킨 마우스를 제외하고는 감염시킨 마우스 모두에서 충미충이 회수되었다. 올챙이 체내에서의 발육기간이 길수록 마우스에 대한 감염력이 증가하는 양상을 나타내었으며 감염된 마우스에서의 구체적인 충체 회수률은 Table 7 및 8에 나타나 있는 바와 같다.

#### 5. 충미충의 실험감염 마우스 체내에서의 분포

만손열두조충의 경우, 회수된 총 138마리의 충미충 중 55마리 (39.9%)가 목 부위에서, 35마리 (25.4%)가 등 부위에서 25마리 (18.1%)가 앞다리 부위에서, 23마리 (16.7%)가 배 부위에서 검출되었고 북미열두조충의 경우, 회수된 총 181마리의 충미충 중 76마리 (42.0%)가 목 부위에서, 43마리 (23.8%)가 등 부위에서, 26마리 (14.4%)가 배 부위에서, 24마리 (13.3%)가 앞다리 부위에서, 11마리 (6.1%)가 뒷다리 부위에서 검출되었다 (Tables 9 & 10).

#### 6. 원미충 및 충미충의 고양이에 대한 감염능력

섬모유충을 물벼룩에 접촉감염시키고 8일 후에 회수한 만

**Table 10.** The location of *Spirometra mansonioides* plerocercoids in mice

Age(day) of in tadpoles	Total No. recovered	No.(%) of plerocercoid recovered from				
		Neck	Ant. leg	Abdomen	Back	Post. leg
5	9	4 (44.4)	1 (11.1)	0	3 (33.3)	1 (11.1)
7	13	7 (53.8)	2 (15.4)	1 ( 7.7)	3 (23.1)	0
9	32	14 (43.8)	5 (15.6)	5 (15.6)	8 (25.0)	0
11	36	13 (36.1)	6 (16.7)	5 (13.9)	8 (22.2)	3 ( 8.3)
20	26	16 (61.5)	3 (11.5)	5 (19.2)	2 ( 7.7)	0
35	65	22 (33.8) <sup>a)</sup>	7 (10.8)	10 (15.4)	19 (29.2)	7 (10.8)
Total	181	76 (42.0)	24 (13.3) <sup>b)</sup>	26 (14.4)	43 (23.8)	11 ( 6.1) <sup>c)</sup>

<sup>a)</sup> 6 larvae were detected from the head portion, <sup>b)</sup> 6 and <sup>c)</sup> 5 larvae were detected from the right leg**Table 11.** Comparison<sup>a)</sup> of the morphological characteristics of *S. erinacei* and *S. mansonioides*

	<i>S. erinacei</i>		<i>S. mansonioides</i>	
	Length (mean)	Width (mean)	Length (mean)	Width (mean)
Egg	56.8~63.0 (59.9)	34.6~39.5 (35.6)	58.1~66.7 (61.4)	34.6~37.1 (35.8)
Coracidium	40.8~46.9 (43.6)	33.4~37.1 (35.8)	39.5~44.5 (43.0)	34.6~39.5 (36.3)
Oncosphere	32.1~42.0 (39.3)	29.6~32.1 (31.0)	37.1~39.5 (38.3)	27.2~32.1 (30.8)
Procerco	74~143 (99)	54~94 (67)	62~116 (84)	42~82 (58)
Cercomer	27~57 (38)	17~32 (25)	17~47 (31)	12~30 (20)
Plerocercoid		>		

<sup>a)</sup> Unit is  $\mu\text{m}$ 

손열두조충과 북미열두조충의 원미충을 20마리씩 고양이 2마리에 각각 경구감염시킨 후 30일에 고양이로부터 성충 및 충미충을 회수하였던 바, 만손열두조충의 원미충을 감염시킨 고양이 1마리의 배 부위에서 충미충이 1마리 검출되었으나 북미열두조충의 원미충을 감염시킨 고양이에서는 충체가 검출되지 않았다. 실험감염 올챙이로부터 감염 후 3, 5, 7일 및 10일에 회수한 만손열두조충의 충미충을 각각 10마리씩 고양이 4마리에 경구감염시키고 30일 후에 고양이를 도살한 후 소장에서는 성충을, 피하 및 근육내에서는 충미충을 회수하였던 바, 10일된 충미충을 감염시킨 고양이에서 성충이 3마리 회수되었으나 나머지 고양이 3마리에서는 충미충도 성충도 회수되지 않았다.

#### 7. 만손열두조충과 북미열두조충의 형태학적, 생물학적 특성 비교

충란과 섬모유충의 크기는 거의 같았고 형태학적으로도 감별이 되지 않았다. 원미충은 물벼룩 체내에서 8일, 11일 및 14일된 것 각각 20마리씩 총 60마리를 계측하였던 바, 만손열두조충은 평균  $99 \mu\text{m} \times 67 \mu\text{m}$ 이었고 북미열두조충은 평균  $84 \mu\text{m} \times 58 \mu\text{m}$ 이었다. 만손열두조충의 원미충이 북미열두조충의 원미충보다 조금 큰 편이었지만 형태학적으로는 감별되지 않았다. 제 2 중간숙주인 올챙이로부터 원미충 감

염 후 9일, 13일, 17일, 21일 및 25일에 회수한 충미충의 경우 발육기간별로 비교했을 때 만손열두조충의 충미충이 북미열두조충의 충미충보다 훨씬 큰 편이었다 (Table 11).

두 종류 모두 충란이 배양 8일만에 완전 성숙하여 탈각 부화하였고 섬모유충이 제 1 중간숙주인 물벼룩 체내로 들어가 원미충이 된 후 4일부터 제 2 중간숙주인 올챙이에 대하여 감염능력을 갖기 시작하였으며 물벼룩 체내에서 8일된 원미충부터 마우스에 대하여 감염능력을 발휘하였다. 충미충의 경우, 두 종류 모두 올챙이 체내에서 5일된 것부터 마우스에 대하여 감염능력을 나타내기 시작하여 올챙이 체내에서의 발육기간이 길수록 마우스에 대하여 높은 감염력을 나타내었다. 올챙이 체내에서 10일 이후에 회수한 충미충이 종숙주인 고양이에 대하여 감염력을 나타내었고 고양이 체내에서 충란을 산출하는 성충으로 성장발육하는데 약 18일이 소요되었으며 만손열두조충과 북미열두조충의 생활사에 있어서 생물학적 특성은 대동소이하였다.

#### 고찰

이 연구를 통하여 만손열두조충과 북미열두조충의 각 발육단계별 생물학적 특성이 거의 같다는 사실이 밝혀졌다. 만손열두조충은 아시아, 아프리카, 오스트레일리아, 남미 및

유럽에 분포하고 북미열두조충은 북미에 분포하는 것으로 보고되어 있는데 Iwata (1972)는 이 두 종류를 같은 종으로 취급하였고 형태학적인 차이는 발육단계에서 있을 수 있는 차이에 기인한 것이라고 한 반면 Mueller (1974)는 몇 가지 형태학적 및 생물학적 차이점을 토대로 두 종이 명백히 다른 종이라고 주장한 바 있다. 한편, Lee et al. (1997)은 PCR-RFLP 분석을 이용한 유전적인 비교에서 두 종이 같은 조상에서 유래하였으며 진화단계에서 매우 가까운 위치에 있다고 하였다. 따라서 Iwata (1972) 및 Lee et al. (1997)의 소견과 이 연구의 결과를 종합하여 보면 만손열두조충과 북미열두조충은 같은 종으로 판단된다.

*Spirometra* 속 조충의 충란 발육과정은 배양 조건에 따라 조금씩 다르다. Li (1929)는 만손열두조충과 *S. decipiens*의 충란발육에 있어 배양온도, 배양액, 빛 및 산소 등을 중요한 요소로 취급하였다. 그는 배양온도에 따라 충란발육 정도에 차이가 난다고 하였고 최적온도인 35°C에서는 6~9일간 배양하면 탈각 부화한다고 하였다. Kobayashi (1931)는 *S. mansoni* 충란의 배양에 있어서 최적온도를 30~35°C라고 하였고 28°C의 배양기에서는 12~14일에 완전발육하여 탈각 부화한다고 하였으며 배양액내에 있는 세균 및 효소는 충란의 발육 및 부화를 저지하지만 광선은 부화를 촉진한다고 하였다. Mueller (1938)는 북미열두조충란의 발육 및 부화기간이 9일에서 120일까지 차이가 많지만 대부분은 9~14일에 탈각 부화한다고 하였다. 한편, Lee et al. (1990)은 우리나라에 분포하는 만손열두조충란을 종류수에서 29°C로 배양하였던 바, 8~14일에 완전발육하여 탈각 부화한다고 하였다. 본 연구에서는 2마리의 실험감염 고양이의 대변으로 배출되는 만손열두조충과 북미열두조충의 충란을 대변으로부터 분리 수집하여 종류수로 여러 차례 씻은 후 종류수를 배양액으로 하여 29°C 배양 기에서 배양하였던 바, 두 종류 모두 대부분의 충란이 배양 8일만에 완전발육하였고 빛에 노출시키자 탈각 부화하였다. 각 연구의 배양 조건에 따라 조금의 차이는 있지만 일반적으로 *Spirometra* 속 조충의 충란은 30°C 전후의 온도가 유지되는 물속에서 배양 8~14일에 완전발육하며 빛이 부화를 촉진하는 것으로 판단되었다.

물벼룩 체내에서 일어나는 원미충의 발육에 대하여 Li (1929)는 충체의 크기 및 표피 두께의 증가, 꼬리혹의 형성 및 퇴행성 변화, 칼슘과립, 조직용해선 (histolytic gland) 및 소극의 발육, 배설과립의 증가, 화염세포 (flame cells)의 증식 등으로 설명하였고, Kobayashi (1931)는 원미충의 발육과정으로 충체의 외형적 변화, 꼬리혹의 형성, 미세한 피극 및 칼슘과립의 생성 등의 경시적 변화를 들었다. 그러나 원미충이 물벼룩내에서 일정기간 발육하면 형태가 비슷해지기 때문에 어느 시기에 완전 성숙되는지 외형적으로는 알 수가 없다. 성숙도는 결국 제 2 중간숙주에 대한 감염능력으로 판정하

게 되는데 만손열두조충의 경우, 물벼룩 체내에서 20~25일 발육하여야 감염력을 나타낸다고 하였고 북미열두조충의 경우, 18~21일에 감염능력을 나타낸다고 하였다. 한편, Lee et al. (1990)은 물벼룩 체내에서 10, 12, 14, 17일 및 21일간 발육한 만손열두조충 원미충들의 올챙이에 대한 감염능력을 조사하였는데 모든 올챙이에서 충미충을 검출할 수 있었다고 하였다. 이 연구에서는 물벼룩 체내에서 1, 2, 3, 4, 5일 및 7일간 발육한 만손열두조충 및 북미열두조충 원미충의 올챙이에 대한 감염능력을 조사하였던 바, 두 종류 공통으로 물벼룩 체내에서 4일 이상 발육한 원미충을 감염시킨 올챙이로부터 충미충이 검출되었다. 따라서 이 연구를 통하여 만손열두조충 및 북미열두조충의 원미충이 물벼룩내에서 매우 빨리 발육하여 4일 이후부터 올챙이에 대하여 감염능력을 발휘함을 알 수 있었다.

Lee et al. (1990)은 물벼룩 체내에서 15, 17, 19일 및 21일간 발육한 만손열두조충 원미충들을 마우스에 경구감염시키고 감염능력을 조사하였던 바, 물벼룩 체내에서 17일 및 19일간 발육한 원미충을 감염시킨 마우스에서 각각 5.7% 및 7.1%의 충미충 회수률을 나타내었다고 하였다. 그런데 이 연구에서는 물벼룩 체내에서 5, 8, 11, 14일 및 16일된 만손열두조충 및 북미열두조충의 원미충을 20~30마리씩 4~7마리의 마우스에 각각 감염시켰던 바, 두 종류 공통으로 물벼룩 체내에서 8일 이상 발육한 원미충을 감염시킨 마우스군에서 충미충이 회수되었으나 회수률은 매우 낮았다. 따라서 이 연구를 통하여 원미충의 감염능력이 운반숙주인 마우스에서 보다 제 2 중간숙주인 올챙이에서 훨씬 빨리 발현되며 높게 나타난다는 것을 알 수 있었다. 그리고 고충증의 전파양식의 하나로 알려져 있는 "원미충이 감염된 물벼룩이 들어있는 자연수 섭취를 통한 고충감염"은 원미충의 마우스에 대한 감염능력이 낮다는 점과 또 인체의 장벽이 마우스의 그것에 비해 훨씬 두껍다는 점을 감안해 볼 때, 쉽게 이루어지질 않을 것으로 판단된다.

우리나라에서는 참개구리와 여러 종류의 뱀 및 포유동물 등에서 자연감염된 고충이 검출된 바 있다 (Sohn et al., 1996). 개구리의 경우, 올챙이 때 감염된 것인데 조사지역 및 조사시점에 따라 조금의 차이는 있다. Kim et al. (1967)은 경상남도 구포 및 함안, 경기도 청평 및 능곡, 전라남도 나주 등에서 포획한 개구리에서 17.5%의 양성을 보고하였고, Kim & Shin (1975)은 충남 대전지방 개구리에서 3.9%의 양성을 보고하였다. 특히, Kim (1983)은 남부지방산 개구리에서 4.0%의 양성을 보고하였다. 특히, Kim (1983)은 602마리의 참개구리 (*Rana nigromaculata*)와 11마리의 음개구리 (*R. rugosa*) 및 13마리의 무당개구리 (*Bombina orientalis*) 등을 조사하였는데 25마리의 참개구리에서 40마리의 고충이 검출되었다고 하였다. 그래서 이 연구에서도 논에서 채집한 참개구리의 알을 실험

실 내에서 부화시킨 후 사육한 올챙이를 제 2 중간숙주로 사용하였고 운반숙주로는 ICR 마우스를 사용하였다.

Lee et al. (1990)은 고충의 마우스에 대한 감염력을 관찰하기 위하여 올챙이 체내에서 15, 20일 및 30일간 발육한 고충을 마우스에 감염시켰던 바 각각 84.0%, 58.6% 및 73.3%의 감염력을 나타내었다고 하였다. 반면 이 연구에서는 만손열두조충의 경우, 올챙이 체내에서 3일된 고충은 마우스에 대하여 전혀 감염력을 나타내지 않았고 5, 7, 9, 11일 및 20일 된 고충은 마우스에서 각각 28.6, 40.0, 54.0, 60.0% 및 81.7%의 감염력을 나타내었고 북미열두조충의 경우에는 실험감염 올챙이 체내에서 5, 7, 9, 11, 20일 및 30일된 고충을 감염시킨 마우스로부터 각각 22.5, 32.5, 53.3, 60.0, 86.7% 및 92.9%의 충체가 회수되었다. 따라서 고충의 마우스에 대한 감염력은 두 종간에는 거의 차이가 없었고 올챙이 체내에서 5일 이상 발육하여야 마우스에 대하여 감염력을 나타내었으며 또 올챙이 체내에서의 발육기간이 길수록 마우스에 대한 감염력이 높아짐을 알 수 있었다.

고충의 마우스내 분포는 인체 고충증을 이해하는데 도움을 줄 것으로 생각되지만 구체적인 분포양상은 다소 다를 것으로 추측된다. Kobayashi (1931)는 원미충을 개구리와 마우스에 경구감염시키고 고충의 분포양상을 관찰하였던 바, 개구리에서는 하반신 특히 대퇴부에서 주로 발견되나 마우스에서는 이와 반대로 상반신 특히 경부 주위에서 검출되었고 이에 대하여 Mueller (1974)는 숙주의 신체 부위에 따라 중력이 모이는 쪽으로 이행하여 모이는 것이 아닌가 추측하였다. 그는 또 원숭이를 사용한 실험에서 염구리에 주입한 원미충이 주입 부위보다 하부인 골반부 및 대퇴부에서 고충으로 발견되었다고 하였다. 이 연구에서는 고충의 마우스내 분포가 두 충종간에 별 차이가 없었고 공통적으로 목 주위에서 가장 많은 충체가 검출되어 Kobayashi (1931)의 소견과 부분적으로 일치하였다. 한편, Sohn et al. (1996)은 인체 고충증의 충체가 검출된 156병소를 분석하였던 바, 충체가 복부 부위에서 가장 빈번히 발견되었고 비뇨생식기, 사지, 중추신경계, 흉부, 목과 구강 등의 순이었다고 하였다.

*Spirometra* 속 조충의 분류에 대해서는 많은 논란이 있어 왔다. 속 수준 (generic level)에서는 *Diphyllobothrium* 속과 분리하여 명백히 독립된 속으로 인정하고 있지만 종 (species)에 대해서는 아직까지 의견이 많다. Iwata (1972)는 Faust, Meggitt, Southwell 및 Mueller 등의 학자들이 생물학적, 형태학적 근소한 차이점을 근거로 여러 종으로 분류하는 것을 인정할 수 없다고 하면서 *S. reptans*, *S. okumurai*, *S. mansoni*, *S. ranarum*, *S. decipiens*, *S. houghtoni*, *S. felis* 및 *S. mansonioides* 등을 *S. erinacei*와 동일종으로 취급하였다. Yamaguti (1959)는 *S. mansoni*를 *S. erinacei*와 동일종으로 분류하였고 Wardle and McLeod (1952)는 *S. mansoni*와 *S. erinacei*를 독립된 종으로

인정하면서 모식종 (type species)을 *S. mansoni*로 해야 된다고 주장하였으며 Mueller (1974)는 북미 지역에 분포하는 *S. mansonioides*는 아시아 지역에 분포하는 *S. erinacei*와 분명히 다른 별종이라고 하였다. 그는 성충에 있어서는 자궁의 형태가 뚜렷한 차이를 보이지만 plerocercoid 유충 시기인 고충의 경우 크기, 폭 및 전반적인 체부의 섬세함 또는 연약성이 다르고 생물학적으로는 제 2 중간숙주로서 개구리의 중요성과 종숙주로서 개의 적합성이 다르다고 하였다.

기생충 중에는 분포지역에 따라 숙주의 분포 및 환경적인 영향으로 생물학적, 형태학적 구분이 뚜렷하여 분포지역과 종과의 상관관계가 확실한 것이 있는가 하면 그렇지 않고 광범위하게 분포하는 것도 있다. *Spirometra* 속 조충의 경우, 생물학적 특성을 속 수준의 특성으로 취급하고 있고 종 수준에서는 기 보고된 연구 및 이 연구에서도 나타나 있는 바와 같이 종 분류에 열쇠가 되는 의미있는 차이점을 찾을 수 없다. 연구가들의 관점 또는 표본 제작과정에 따라 차이가 생길 수 있는 소지가 많다고 생각된다. Mueller (1974)가 북미 지역에 분포하는 북미열두조충과 아시아 지역에 분포하는 만손열두조충이 명백히 다른 별종이라고 주장하면서 내세운 차이점 중에 만손열두조충의 고충이 크기 및 폭이 크다고 한 것은 이 연구에서도 확인되었다. 즉, 올챙이내에서의 발육기간별로 회수한 고충의 크기를 비교했을 때, 만손열두조충의 고충이 북미열두조충의 고충보다 큰 편이었다. 그러나 그 외 다른 생물학적 특성은 대동소이하였다. 따라서 만손열두조충과 북미열두조충의 생활사가 같은 실험 조건하에서 유지되었을 때 생물학적 특성이 거의 같다는 것을 확인하였고 이러한 소견들은 이 두 종류의 조충이 같은 종임을 시사하는 것으로 판단되었다.

## REFERENCES

- Brumpt E. Precis de parasitologie. 1936. 5th ed. Paris. France.  
Faust EC, Campbell HE, Kellogg CR. Morphological and biological studies on the species of *Diphyllobothrium* in China. Am J Hyg. 1929. 9: 560-583.  
Iwata S. Experimental and morphological studies of Manson's tapeworm, *Diphyllobothrium erinacei*, Rudolphi. Special reference with its scientific name and relationship with *Sparanum proliferum*, Ijima. Prog Med Parasitol Jpn. 1972. 4: 536-590.  
Iwata S, Matsuda S. Adult Manson's tapeworm (*Diphyllobothrium erinacei*) parasitized in man. Jpn J Parasitol. 1967. 16: 568.  
Iwata S, Kaida K, Kifune T. The second case of human infection with the adult of *Diphyllobothrium erinacei*. Kurume Igakai Zasshi 1971. 34: 291-297 (in Japanese).

- Joyeux C, Houdemer E. Recherches sur la fauna helminthologique de l'Indochine (Cestodes et Trematodes). Ann Parasitol. 1928. 6: 27-58.
- Joyeux C, Timon-David J. Note sur les cestodes d'oiseaux recoltes dans la region de Marseille. Ann Mus Hist Nat Maresille 1934. 26: 8.
- Kim CH. The infection status of sparganum and *Gnathostoma* in frogs of southern part of Korea. 1983. Korean J Parasitol. 21: 83-86.
- Kim CH, Cho JH, Cheung BS. The occurrence of sparganum in the tissues of frogs in Korea. Korean Mod Med. 1967. 6: 191 -195.
- Kim CH, Shin DH. Prevalence of sparganum of frogs (*Rana nigromaculata*) in Daejeon area, Chungnam, Korea. Korean J Parasitol. 1975. 13: 159-162.
- Kobayashi H. Studies on the development of *Diphyllobothrium mansoni* Cobbold, 1882 (Joyeux, 1927). IV. Hatching of the egg, oncosphere and discarding of the ciliated coat. V. The first intermediate host. Taiwan Igakkai Zasshi 1931. 15-16, 23-27 (in Japanese).
- Lee SH, Chai JY, Seo BS, Cho SY. Two cases of human infection by adult of *Spirometra erinacei*. Korean J Parasitol. 1984. 22: 71-77.
- Lee SH, We JS, Sohn WM, Hong ST, Chai JY. Experimental life history of *Spirometra erinacei*. Korean J Parasitol. 1990. 28: 161-173.
- Lee SU, Huh S, Phares CK. Genetic comparison between *Spirometra erinacei* and *S. mansonioides* using PCR-RFLP analysis. Korean J Parasitol. 1997. 35: 277-282.
- Li CH. The life histories of *Diphyllobothrium decipiens* and *D. erinacei*. Am J Hyg. 1929. 10: 527-550.
- Mueller JF. A *Diphyllobothrium* from cats and dogs in the Syracuse region. J Parasitol. 1935. 21: 114-121.
- Mueller JF. Comparative studies on certain species of *Diphyllobothrium*. J Parasitol. 1936. 22: 471-478.
- Mueller JF. A repartition of the genus *Diphyllobothrium*. J Parasitol. 1937. 23: 308-310.
- Mueller JF. The life historiy of *Diphyllobothrium mansonioides* Mueller, 1935, and some considerations with regard to sparganosis in the United States. Am J Trop Med 1938. 18: 41 -66.
- Mueller JF. The biology of *Spirometra*. J Parasitol. 1974. 60: 3 -14.
- Okamura I, Komiya S, Sumida K, Hamada K. A case of *Diphyllobothrium erinacei* (adult) in human body. Jpn J Parasitol. 1970. 19: 369-370.
- Okumura T. An experimental study of the life-history of *Sparagnum mansoni* Cobbold (a preliminary report). Kitasato Arch Exp Med. 1919. 3: 190-197.
- Sohn WM, Chai JY, Lee SH. Epidemiologic studies on diphyllobothriid tapeworms in Korea. Proceed. 2nd Japan-Korea Parasitologists' Seminar (Forum Cheju-2). 1996. 66-73.
- Suzuki N, Kumazawa H, Hosogi H, Nakagawa O. A case of human infection with the adult of *Spirometra erinacei* (Rudolphi, 1819) Faust, Compbell and Kellogg, 1929. Jpn J Parasitol. 1982. 31: 23-26 (in Japanese).
- Yamaguti S. Systema Helminthum. Vol. II. The cestodes of vertebrates. 1959. pp358-361. Interscience Publishers, New York, USA.
- Yoshida S. The occurrence of *Bothriocephalus liguloides* Leuckart, with special reference to its development. J Parasitol. 1917. 3: 171-176.
- Wardle RA, McLeod JA. The zoology of tapeworms. 1952. pp. 559-615. University of Minnesota Press. Minneapolis. USA.