

Prednisolone 투여가 원발성 아메바성 뇌수막염의 실험적 발생에 미치는 영향

延世大學校 醫科大學 寄生蟲學教室

金玉溶·任敬一·李根泰

延世大學校 理科大學 生物學科

崔林淳

서론

자유생활 아메바인 *Naegleria* sp.나 *Acanthamoeba* sp.에 의하여 원발성 아메바성 뇌수막염이 발생되며 여러 연구자들에 의하여 *Naegleria*속의 limax amoeba가 분리되었으며(Butt *et al.*, 1968; Carter, 1968; Culbertson *et al.*, 1968), 해수, 담수산 연체동물, 공기, 호수, 강, 운하, 하수, 수영장, 연못, 토양 등지에서 자유생활아메바를 분리 동정하였다(Schmoller, 1964; Sawyer, 1971; Richards, 1968; Kingston과 Warhurst, 1969; Kasprzak와 Mazur, 1972; Singh과 Das, 1972; Anderson과 Jamieson, 1972; Willert와 LeRay, 1973). 이들 분리된 자유생활 아메바를 동물의 비강점막으로 감염시켜서 치명적인 뇌수막염이 유발된다고 보고한 바 있으며(Culbertson *et al.*, 1958; Culbertson *et al.*, 1959; Culbertson, 1961; Culbertson *et al.*, 1965a; Culbertson *et al.*, 1965 b; Culbertson *et al.*, 1966), Culbertson(1961)과 Culbertson등(1968)은 집토끼에서, Culbertson등(1968)과 Wong등(1975)은 원숭이에서, Culbertson등(1968), Carter(1970), Martinez등(1973)은 생쥐에서, Singh과 Das(1972)는 guinea pig에서 각각 병원성을 증명한 바 있다.

Cerva등(1973)은 북보헤미안 지역에서 신병(新兵) 1,551명의 비강점막 검사 결과 3,082 도말검사 중 7%에서 limax amoeba를 검출하였고, Wang과 Feldman(1961)은 정상인의 인두에서 자유생활 아메바를 분리하였다. 또한 Dos Santos(1970)는 16,174명의 부검을 소급 조사한 결과 자유생활 아메바에 의한 치명적인 원발성 아메바성 뇌수막염 다섯예를 보고하였다.

Steroid호르몬은 면역반응을 억제시켜서 침입하는 병원체에 대한 숙주의 저항력을 약화시키는 것으로 잘 알려져 있다. Wong등(1975)은 자유생활 아메바의 병원성이 주(株), 배양조건, 숙주의 연령, 면역상태에 따라 달리 나타난다고 하였고, Germuth등(1952)과 Fischel등(1952)은 cortisone투여가 항체 생성을 억제시킨다고 하였으며, Lewert와 Lee(1954)은 schistosome

감염시 cortisone투여가 숙주의 저항력을 감소시킨다고 하였다. 이외에도 cortisone투여가 항체생성이나 기생충에 대한 숙주의 저항력을 억제시킨다는 보고가 많이 있다(Kass와 Finland, 1953; Cocker, 1956; Cross, 1960; 이와 민, 1974).

이(1968)는 cortisone투여로 간디스토마 감염 집토끼의 혈청내 γ -globulin 값의 상승이나 A/G비의 감소현상이 없는 것으로 보아 면역억제 효과에 기인된 것이라 하였다. 황등(1980)은 자유생활 아메바에 감염된 생쥐에서 prednisolone 투여군이 비투여군에 비하여 일찍 사망하는 현상을 나타내었다고 하였다. 이와같이 숙주와 병원체와의 관계에서 면역억제제를 투여함으로써 숙주의 저항력이 약화되어 외부에서 침입하는 병원체에 의하여 심한 병변이 발생된다는 연구자들의 보고가 많이 있지만, 어느 시기에 투여해 주는 것이 가장 효율적으로 면역반응을 억제시킬 수 있는지는 확실치 않다. 그러므로 면역반응을 억제시키는 prednisolone을 시기별로 달리 투여함으로써 *Naegleria fowleri*에 의한 원발성 아메바성 뇌수막염의 실험적 발생에 미치는 영향을 알아보려고 실험을 실시하였다.

실험재료 및 방법

1. 자유생활 아메바의 배양

N. fowleri (Belgium, Prince Leopold Institute of Tropical Medicine의 Jardin, J.B.교수 제공)는 CGVS 배지(Willert와 Le Ray, 1973)에서 무균적으로 계대배양하여 증식시켰다.

2. 실험동물

본 실험에서는 18 g 내외의 암생쥐(mouse, RH strain)를 다음과 같이 구분하여 사용하였다.

제 1군; 14마리

prednisolone 5회 투여 후 amoeba를 감염시킨 군

제 2군; 14마리

prednisolone 투여 중(3회째)에 amoeba를 감염시킨 군

제 3군; 14마리

prednisolone 투여와 동시(1회째)에 amoeba를 감염시킨군
 제 4군; 10마리
 prednisolone만 투여한 군
 대조군; 15마리
 amoeba만 감염시킨 군

3. Prednisolone의 투여

Prednisolone(종근당, 82013)은 생쥐의 후지 상부 내측에 10mg/kg을 격일로 5회 주사하였다.

4. 자유생활 아메바의 감염

생쥐의 복강에 secobarbital(대원제약, SC-81)을 1.0 mg 주입하여 마취시킨 후 배양된 아메바를 증류수에 2회 세척한 후 아메바 수가 $1 \times 10^5/\mu\text{l}$ 되도록 하여 생쥐의 오른쪽 비강에 떨어뜨려 감염시키고 20일까지 관찰하였다.

5. 감염동물의 부검 및 아메바 배양

감염시킨 생쥐가 사망하였을 때 뇌조직과 폐조직을 부검하여 일부는 hematoxylin-eosin 염색표본을 만들어 조직병리 변화를 관찰하였고, 나머지 일부는 잘게 다진 후 Kasprzak와 Mazur(1972)의 방법을 이용하여 죽은 *Aerobacter aerogenes*를 함유한 1% agar배지에서 배양하여 3~5일후에 자유생활 아메바의 존재 여부를 관찰하였다.

실험 결과

N. fowleri 1×10^5 개를 비강으로 감염시킨 후, 20일까지 각 실험군 별로 사망율을 비교 관찰하였고 (Table 1, Fig. 1), 사망한 생쥐의 뇌조직과 폐조직에서 아메바가 검출되었으며, 조직표본에서 급성염증 반응과 아메바의 영양형이 관찰되었다.

1. 생쥐의 사망을 비교

제 1군에 있어서는 감염 후 8~13일 사이에 78.6%가 사망하였고, 평균생존기간은 감염 후 10.2일이었다. 제 2군에서는 감염 후 3~17일 사이에 85.7%가 사망하여, 평균생존기간은 감염 후 10.6일이었으므로 제 1군에 비하여 생존기간이 길어짐을 볼 수 있었다. 제 3군에 있어서는 감염 후 5~16일 사이에 85.7%가 사망하여 평균생존기간은 11.3일로써 제 1군에 비하여

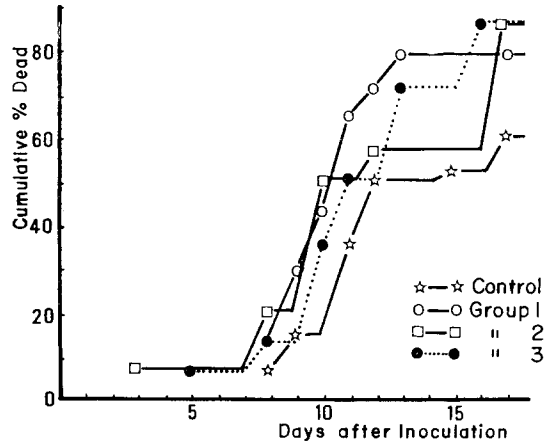


Fig. 1. Cumulative death rate of mice due to *N. fowleri* infection by post-infection day.

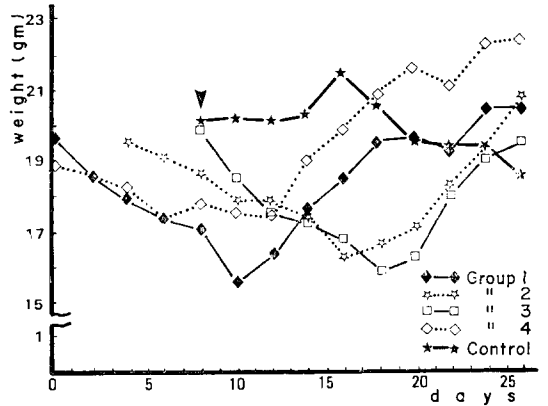


Fig. 2. Changes in weights of mice during the experimental periods. Arrow head (▼) indicates the day of infection in each group except Group 4.

생존기간이 길어지는 경향이었으나, 제 2군과 비교할 때 별 차이가 없었다. 대조군은 감염 8~17일 사이에 60%가 사망하여 평균생존기간이 11.8일로 prednisolone을 투여한 제 1, 2, 3군에 비하여 유의성 있는 차이를

Table 1. Cumulative number of dead mouse due to *N. fowleri* infection in each experimental groups

| Group | Prednisolone inj.* before infection | Days after infection | | | | | | | | | | | | | | | | | | Mortality (%) | |
|---------|-------------------------------------|----------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---------------|-------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | | |
| Control | Infection only | — | — | — | — | — | — | — | — | 1 | 2 | — | 5 | 7 | — | — | 8 | — | 9 | — | 9/15(60.0) |
| 1 | 10mg/kg, 5 times | — | — | — | — | — | — | — | — | 2 | 4 | 6 | 9 | 10 | 11 | — | — | — | — | — | 11/14(78.6) |
| 2 | 10mg/kg, 3 times | — | — | 1 | — | — | — | — | — | 3 | — | 7 | — | 8 | — | 11 | — | — | 12 | — | 12/14(85.7) |
| 3 | 10mg/kg, 1 time | — | — | — | — | 1 | — | — | — | 2 | — | 5 | 7 | — | 10 | — | — | 12 | — | — | 12/14(85.7) |
| 4 | 10mg/kg, 5 times only | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 0/10(0) |

* Prednisolone, 10mg/kg injected every other day in each experimental group

Table 2. Observation of major clinical manifestations in infected mice

| Manifestation | Group | Duration after infection in day | | | | | | | | |
|-------------------------------|---------|---------------------------------|---|---|---|---|---|----|----|--|
| | | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 20 | |
| Scratch head or hunch head | 1 | | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | | |
| | control | | | | | | | | | |
| Anorexia | 1 | | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | | |
| | control | | | | | | | | | |
| Eating stop | 1 | | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | | |
| | control | | | | | | | | | |
| Moribund or dead | 1 | | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | | |
| | control | | | | | | | | | |

나타내었다(Table 1, Fig. 1).

2. 생쥐의 체중변화

Prednisolone을 투여한 네 실험군에서는 투여 후 일정 시간이 지나면 모두 체중이 회복되는 경향을 나타내었고, prednisolone만 투여한 제 4군에 비하여 투여후 *N. fowleri*를 감염시킨 제 1군에서 더욱 심한 체중 감소율을 나타내었으며, 제 2군과 제 3군은 비슷한 경향을 나타내었다. 이에 비하여 *N. fowleri*만을 감염시킨 대조군은 생쥐가 사망하기 시작한 8일 후부터 체중이 감소하는 경향을 보였으나 다른 실험군에 비하여 큰 차이는 없었다(Fig. 2).

3. 감염생쥐의 임상증세

감염시킨 생쥐에서 주로 나타나는 임상증세를 매일 관찰한 결과, 시간 경과에 따라서 대략 비슷한 증세를 나타내었다.

제 1군과 제 2군은 감염 5일 이후부터 머리를 비비고 고개를 떨구다가 6일경부터 식욕부진이 나타나 음식을 먹지 않았으며, 감염 8일경부터 발작, 마비가 일

어나서 사망하였다. 제 3군은 제 1군과 제 2군에 비하여 증세가 늦게 나타나는 경향이었고, 대조군은 8일이 지나서야 증세가 나타나 대개는 감염 10일 이후에 사망하였다(Table 2).

4. 감염생쥐의 조직변화

육안으로 관찰하여 뇌전체에 부종이 있었고, 후엽과 전두엽 앞부분에 부분적인 출혈과 괴사가 있었다(Fig. 3). 또한 폐는 울혈되어 있었는데(Fig. 6), 대조군에 비하여 prednisolone을 투여한 제 1군, 제 2군에서 심한 병변을 나타내었다(Table. 3). 감염 20일 이후까지 생존한 생쥐에서 적출한 뇌와 폐조직은 육안으로 병변을 관찰할 수는 없었으나, 이 조직을 non-nutrient agar에 배양하여 *N. fowleri*를 검출할 수 있었다. 이러한 병변부위 일부를 절제하여 hematoxylin-eosin 염색표본을 만들어 현미경 관찰을 한 결과, 급성 염증세포의 침윤을 관찰할 수 있었다(Fig. 4).

고 찰

원발성 아메바성 뇌수막염은 자유생활 아메바에 의해 발병되는 질환으로, 특히 *Naegleria sp.*에 의하여 병변이 더욱 심하게 나타나므로 사망율이 높다고 알려져 있다.

Callicott(1968), Culbertson등(1968)과 Saygi등(1973)은 환자의 뇌척수액에서 *Naegleria gruberi*와 *Acanthamoeba astronyxis*를 검출 배양하였고, Butt등(1968)은 소년의 뇌조직으로부터 *Naegleria sp.*를 검출하였다. Culbertson등(1966)은 생쥐의 비강점막으로 자유생활

Table 3. Pathologic findings in mice infected with *N. fowleri*.

| Pathologic findings | Control | Group | | |
|---------------------|---------|-------|----|-----|
| | | I | II | III |
| Edema | + | ++ | ++ | + |
| Brain hemorrhage | + | ++ | ++ | + |
| Necrosis | ++ | ++ | ++ | + |
| Lung congestion | + | ++ | + | + |

아메바를 감염시켜 급성뇌수막염과 만성육아종성뇌염이 발생함을 증명하였고, Martinez등(1973)에 의하면 자유생활 아메바의 감염경로는 비강점막을 통하여 이루어진다고 하였다. 본 실험에서는 *N. fowleri*를 생쥐의 비강점막으로 감염시켜 뇌실질 조직내에 심한 염증세포의 침윤과 출혈이 있었고, 곳에 따라 괴사된 곳도 관찰할 수 있었으므로 급성뇌수막염이 발생하였음을 알 수 있었다.

Willert와 Stevens(1980)는 생쥐의 비강점막으로 *N. fowleri*를 감염시켜서 뇌수막염과 폐염이 생겼다고 하였는데, 폐염이 생기는 경우는 감염시 생쥐의 마취상태나 자세불량으로 배양액이 폐로 넘어가 흡인성 폐염이 생기는 것이라 하였다. 본 실험에서도 사망한 생쥐의 뇌조직과 폐조직을 non-nutrient agar에 배양하여 폐조직으로부터 *N. fowleri*를 검출할 수 있었다.

Steroid호르몬은 면역반응을 억제시켜서 외부에서 침입하는 병원체에 대한 항체의 생성을 억제하므로 숙주의 저항력이 약화되는 것으로 알려져 있다(Germuth et al., 1952; Fischel et al., 1952; Lewert와 Lee, 1954). Wong등(1975)은 자유생활 아메바의 병원성이 주(株), 배양조건이나 숙주의 연령과 관계가 있으며 면역상태에 따라서도 다르게 나타난다고 하였고, Cottrell등(1980)은 *Schistosoma mansoni*에 감염된 baboon에서 채취한 혈청은 정상 baboon의 림파구의 활성을 억제시킬 수 있다고 하였다. Smrkovski등(1980)은 cortisone을 생쥐에 주사하면 circulating lymphocyte가 급격히 감소하여, *Leishmania donovani*에 감염시키기 전에 cortisone을 투여하면 immunoglobulin의 생성을 억제시켜 면역체형성의 억제효과를 가져온다고 하였다.

Tanimoto-Weki등(1974)에 의하면 steroid제를 사용함으로써 면역억제된 생쥐의 간에서 현저한 이질아메바의 병변부위를 관찰할 수 있었다고 하였다. 본 실험에서는 면역반응을 억제시키는 물질로 prednisolone을 투여하고 자유생활 아메바를 감염시킨 군이 비투여 감염군에 비하여 사망율이 높게 나타났으며, 뇌와 폐조직의 병변 부위도 심하게 나타난 것을 볼 수 있었다. 또한 병적인 증세의 발현도 비투여 감염군보다 빨리 나타나는 것으로 보아 면역 반응이 억제되어 숙주의 저항력이 약화된 것에 기인된 것으로 보인다. 또한 prednisolone을 투여하면서 체중의 변화를 관찰한 결과 prednisolone을 투여하는 중에 대부분의 생쥐의 체중이 감소하다가 일정시간이 지나 회복되는 현상을 보인데 반하여, 비투여 감염군에서는 병적증세가 나타나기 시작한 8일 이후에 체중이 약간 감소하는 경향은 있었지만 심한 감소현상을 보이지 않은 것으로 보아 체중감소는 주로 prednisolone에 의하여 일어난 것으로 보인다. 황등(1980)은 prednisolone을 감염전 투여하여 면역반응을 억제시켰더니 생쥐의 생존기간이 단축되었다고 하였다. 본 실험에서도 전투여한 군에서 사망기간이 가장 단축되었고, prednisolone을 투여 중이나 투여와 동

시 감염시킨 군에서는 대조군에 비하여 유의하게 높은 사망율을 나타내었다. 이와 같이 감염전 투여한 군에 비하여 다른 실험군에서 생존기간이 연장된 것으로 보아 감염전 투여가 가장 효율적으로 숙주의 저항력을 약화시켜서 급성뇌수막염을 일으킬 것이라 생각된다.

요 약

*Naegleria fowleri*의 감염에 의한 생쥐의 원발성 아메바성 뇌수막염의 발생에 prednisolone투여가 어떠한 영향을 주는가를 관찰한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 각 실험군 별로 1×10^5 의 *N. fowleri*를 감염시킨 후 생존기간을 관찰하였더니, prednisolone을 투여한 제 1군의 평균 생존기간은 10.2일, 제 2군은 10.6일, 제 3군은 11.3일으로써 prednisolone을 투여한 군이 비투여군에 비하여 유의하게 생존기간이 단축됨을 알 수 있었으며, prednisolone투여군인 제 1, 2, 3군 사이에 유의한 차이는 없었으나 전투여군인 제 1군에서 생존기간이 단축되는 경향을 나타내었다.

2. 각 실험군 별로 감염 이후 20일까지 체중의 변화를 관찰한 결과, prednisolone 투여군에서는 서로 비슷한 양상을 나타내었는데 투여하는 시기부터 어느 정도 감소하다가 일정한 시간이 지나면서 회복현상을 나타내었다. 또한 prednisolone만 투여한 제 IV군에 비하여 제 1, 2, 3군에서 체중이 더욱 심하게 감소하는 현상을 나타내었다. 그리고 대조군은 감염 8일 후부터 감소하기는 하였으나 큰 차이는 없는 것으로 보아 체중감소 현상은 주로 prednisolone에 의해 영향을 받는 것으로 보인다.

3. Prednisolone을 투여한 감염군은 대조군에 비하여 뇌와 폐조직에서 비교적 심한 병변이 나타났음을 알 수 있었다.

4. 감염된 생쥐의 임상증세는 감염 후 며칠이 지나면 머리를 비비고 고개를 떨구며, 식욕부진이 나타나 먹이를 먹지 않다가 발작이 오고, 빈사상태가 되어 사망하게 된다. 대부분의 생쥐에서 이러한 증세가 나타나는데, prednisolone 투여군에서는 감염 5일 이후부터 증세가 나타나는 경향을 보였고, 대조군은 감염 8일 이후에야 나타나 10일경에 사망하였다.

이상의 결과를 종합하여 보면 prednisolone을 투여하여 인위적으로 면역반응을 억제시켜 줄 경우 *N. fowleri*에 감염된 생쥐의 생존기간은 단축되고 병변도 더욱 심하게 나타나며, 감염전에 투여해 주는 것이 가장 치명적인 영향을 줄 수 있음을 알 수 있었다.

(이 논문을 완성하기까지 정성껏 실험을 도와주신 의과대학 기생충학교실원 특히 張在景선생께 감사합니다.)

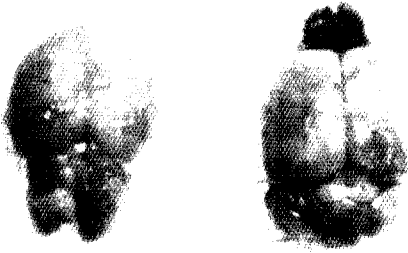
참 고 문 헌

- Anderson, K. and Jamienson, A. (1972) Primary amoebic meningoencephalitis. *Lancet*, 1:902-903.
- Butt, C., Baro, C. and Knorr, R.W. (1968) Pathologic progress in amoebic encephalitis. *Am. J. Clin. Path.*, 50:568-574.
- Callicot, J.H. (1968) Amoebic meningoencephalitis due to free-living amoeba of the *Hartmanella (Acanthamoeba) Naegleria* group. *Am. J. Clin. Path.*, 49: 84-91.
- Carter, R.F. (1968) Primary amoebic meningoencephalitis; Clinical, pathological and epidemiological features of six fetal cases. *J. Path. Bact.*, 96:1-25.
- Carter, R.F. (1970) Description of a *Naegleria* species isolated from two cases of primary amoebic meningoencephalitis, and of the experimental pathological changes induced by it. *J. Path.*, 100:217-244.
- Cerva, L., Cervus, C. and Skocil, V. (1973) Isolation of *Limax amoebae* from the nasal mucosa of man. *Folia Parasitologica (Praha)*, 20:97-103.
- Cocker, C.M. (1956) Some effects of cortisone in mice with acquired immunity to *Trichinella spiralis*. *J. Inf. Dis.*, 98:39-44.
- Cottrell, B.J., Sturrock, R.F. and Vanhoegaerden, M. (1980) An immunosuppressive factors in the serum of baboons (*Papio anubis*) infected with *Schistosoma mansoni*. *Immunol.*, 39:589-598.
- Cross, J.H. (1960) The natural resistance of the white rat to *Namatospiroides dubius* and the effect of cortisone on this resistance. *J. Parasit.*, 46:175-185.
- Culbertson, C.G., Smith, J.W. and Minner, J.R. (1958) *Acanthamoeba*; Observation on animal pathogenicity. *Science*, 127:1506.
- Culbertson, C.G., Smith, J.W. Conhen, H.K. and Minner, J.R. (1959) Experimental infection of mice and monkeys by *Acanthamoeba*. *Am. J. Path.*, 35: 185-192.
- Culbertson, C.G. (1961) Pathogenic *Acanthamoeba (Hartmanella)*. *Am. J. Clin. Path.*, 35:195-202.
- Culbertson, C.G., Ensminger, P. and Overton, W. (1965a) The isolation of additional strains of pathogenic *Hartmanella* sp. (*Acanthamoeba*). Proposed culture method for application to biological material. *Am. J. Clin. Path.*, 43:383-387.
- Culbertson, C.G., Holmes, D.H. and Overton, W.M. (1965b) *Hartmanella castellani (Acanthamoeba sp.)*; Preliminary report on experimental chemotherapy. *Am. J. Clin. Path.*, 43:361-364.
- Culbertson, C.G., Ensminger, P. and Overton, W. (1966) *Hartmanella (Acanthamoeba)*. Experimental chronic granulomatous brain infections produced by new isolates of low virulence. *Am. J. Clin. Path.*, 46:305-314.
- Culbertson, C.G., Ensminger, P. and Overton, W. (1968) Pathogenic *Naegleria* sp. Study of a strain isolated from human cerebrospinal fluid. *J. Protozool.*, 15:353-363.
- Dos Santos, J.G.N. (1970) Fatal primary amoebic meningoencephalitis; A retrospective study in Richmond, Virginia. *Am. J. Clin. Path.*, 54:737-742.
- Fischel, E.E., Vaughan, J.H. and Photopoulos, C. (1952) Inhibition of rapid production of antibody by cortisone; study of secondary response. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 81:344-348.
- Germuth, F.G., Ottinger, B. and Oyama, J. (1952) Influence of cortisone on experimental hypersensitivity in guinea pig. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 80:188-194.
- Kasprzak, W. and Mazur, T. (1972) Free living amoeba isolated from waters frequented by people in the vicinity of poznan, Poland. Experimental studies in mice on the pathogenicity of the isolates. *Tropenmed. Parasit.*, 23:391-398.
- Kass, E.H. and Finland, M. (1953) Adrenocortical hormones in infection and immunity. *Am. Rev. Micro.*, 7:361-369.
- Kingston, D. and Warhurst, D.C. (1969) Isolation of amoeba from the air. *J. Med. Microb.*, 2:27-36.
- 李範珪 (1968) Cortisone投與가 肝디스토마 感染宿主와 蟲體에 미치는 影響. 연세의대논문집, 1(1):110-123.
- 李根泰, 閔弘基 (1974) Cortisone 投與가 犬蛔蟲 感染 마우스에 미치는 影響. 기생충학잡지, 12(2):126-134.
- Lewert, R.M. and Lee, L.L. (1954) Studies on the passage of helminth larvae through host tissue. I. Histochemical studies in extracellular changes caused by penetrating larvae. II. Enzymatic activity of larvae *in vitro* and *in vivo*. *J. Inf. Dis.*, 95:13-15.
- Martinez, A.J., Duma, R.J. Nelson E.C. and Moretta, F.L. (1973) Experimental *Naegleria* meningoencephalitis in mice. Penetration of the olfactory mucosal epithelium by *Naegleria* and pathologic changes produced; A light and electron microscope study. *Lab. Invest.*, 29:121-134.
- Richards, C.S. (1968) Two new species of *Hartmanella amoebae* infecting freshwater mollusks. *J. Prot-*

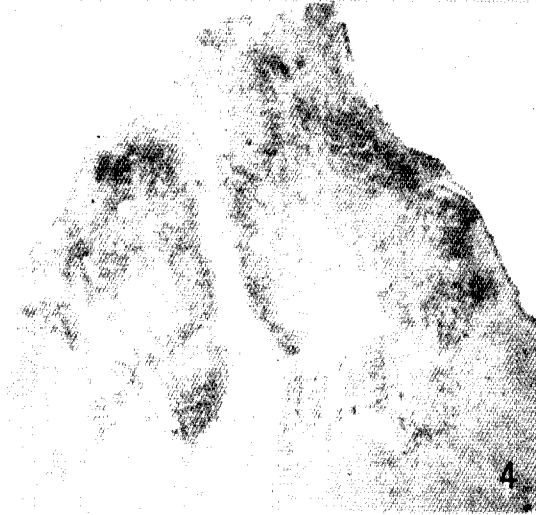
- oozool.*, 15:651-656.
- Sawyer, T.K. (1971) *Acanthamoeba griffini*, a new species of marine amoeba. *J. Protozool.*, 18(4): 650-654.
- Saygi, G., Warhurst, D.C. and Roome, A. (1973) A study of amoebae isolated from the Bristol cases of primary amoebic encephalitis, *Proc. Roy. Soc. Med.*, 66:277-282.
- Schmoller, H. (1964) Beschreibung einiger kulturamoben mariner Herkunft. *J. Protozool.*, 11:497-502.
- Singh, B.N. and Das, S.R. (1972) Occurrence of Pathogenic *Naegleria aerobia*, *H. culbertsoni* and *H. rhyodes* in sewage sludge samples of Lucknow. *Curr. Sci.*, 41:277-281.
- Smrkovski, L.L., Reed, S.G. and Larson, C.L. (1980) Effect of cortisone and cyclophosphamide on the immunological role of BCG in BALB/C mice challenged with *Leishmania donovani*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 29(1):16-20.
- Tanimoto-Weki, M., Galderon, P., de la Hoz and Aguirre-Garcia, J. (1974) Inoculation of *Entamoeba histolytica* trophozoites in hamsters. immunosuppressive therapy. *Arch. Invest. Med. Mexico*, 5(Suppl. 2):441-446.
- Wang, S. and Feldman, H. (1961) Occurrence of *Acanthamoeba* in tissue cultures inoculated with human pharyngeal swabs. *Antimicrob. Agents Chemoth.*, 1:50-53.
- 黃英南, 閔得映, 蘇鎮璋 (1980) 자유생활아메바 *Acanthamoeba* species의 숙주에 대한 면역학적 반응. 연세의대논문집, 13(2): 259-273.
- Willert, E. and Le Ray, D. (1973) Caracters morphologiques, biologiques et immunologiques de *Naegleria jadini* sp. nov. (Amoebida vohlkampfiidae). *Protistologica*, 9:417-426.
- Willert, E. and Stevens, A.R. (1980) Experimental pneumonitis induced by *Naegleria fowleri* in mice. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 74(6):779-782.
- Wong, M.M., Karr, S.L. and Balamuth, W.B. (1975) Experimental infections with pathogenic free-living amoebae in laboratory primate host; I.(A) A study on susceptibility to *Naegleria fowleri* *J. Parasit.*, 61:199-208.

LEGENDS FOR FIGURES

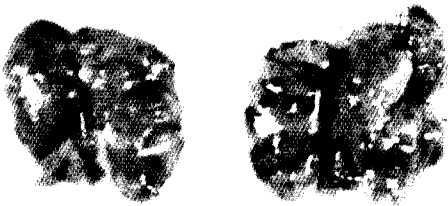
- Fig. 3.** Mouse brain of the right is infected with *N. fowleri*, showing edema, hemorrhage and necrosis, and that of the left is normal.
- Fig. 4.** Mouse brain infected with *N. fowleri*, showing marked inflammatory reaction and necrotic lesion(H-E stain, × 40)
- Fig. 5.** Higher magnification of Fig. 4. Trophozoites (arrows) are well distinguished (H-E, × 400)
- Fig. 6.** Mouse lung of the right is infected with *N. fowleri*, showing congestion, and that of the left is normal.
- Fig. 7.** Mouse lung infected with *N. fowleri*, showing inflammatory reaction and hemorrhage. Trophozoites (arrows) are distinguished (H-E, × 400).



3



4



6



5



7

==Abstract==

**Effect of Prednisolone Treatment on the Experimental Inducement of
Primary Amoebic Meningoencephalitis**

Ok-Yong Kim, Kyung-Il Im, Keun-Tae Lee

Department of Parasitology, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea.

and Rim-Soon Choe

Department of Biology, College of Science, Yonsei University

Present study aimed to elucidate the immunosuppressive effect of prednisolone on *Naegleria fowleri* infection in mice. *N. fowleri* was cultured in CGVS medium (Willert and Le Ray, 1973). White female mice, weighing about 18 g, used for experiments were divided into five groups; untreated control group, prednisolone treated groups (before, during and after infection), and only prednisolone treated group. In the prednisolone treated group, the hormone was injected intramuscularly 5 doses of 10 mg/kg every other day. According to designated time of treatment, each mouse was challenged with 1×10^5 *N. fowleri* intranasally. Changes of body weights, clinical manifestations and number of dead mouse were observed.

Brain and lung tissues of dead mice were cultured in the non-nutrient agar (Kasprzak and Mazur, 1972), or stained with hematoxylin-eosin for the examination of histopathological changes.

Results of the experiment are summarized as follows; Mortality among the prednisolone treated groups was higher than that in untreated control group, and among the treated groups, the pre-treated group showed shorter survival time.

Body weights among untreated control mice showed no significant increase, however, treated groups of mice showed the decrease during the administration and recovery of the weights were observed at 2 to 3 days after the completion of treatment.

In the treated control groups, the infected mice began to show the pathologic findings 5 days after infection while, the untreated mice began to show the findings 8 days after infection.

Tissue damages in brain and lung occurred due to virulence of amoeba were more severe among treated mice than that in untreated control group.

The above mentioned results suggest that the treatment with prednisolone weaken the resistance of mice against *N. fowleri* infection, and probably induce more severe primary amoebic meningoencephalitis. Especially severe pathological findings were shown in pre-treated group, compared with untreated group.