

# Naegleria fowleri 감염에 대한 방어면역에 관한 실험적 연구

順天大學附屬 順天鄉病院 產婦人科學教室

李 順 坤

延世大學校 醫科大學 寄生蟲學教室

任 敬 一 · 李 根 泰

서 론

실험재료 및 방법

*Naegleria fowleri*는 하수, 호수, 공기, 하천, 수영장, 연못, 토양, 물고기 등 자연환경에서 분리되었으며, Derrick(1948)에 의해 본원충이 원발성 아메바성 뇌수막염(primary amebic meningoencephalitis, PAM)의 원인 병원체임을 보고한 이래 자유생활 아메바에 대한 관심이 고조되고 있다. 이 아메바성 뇌수막염은 수인성 감염으로 발생되나 공기를 통하여 발생된다는 가능성을 강조한 보고도 있다(Lawande *et al.*, 1983).

숙주와 병원체의 관계에서 숙주에게 인위적 면역을 부여할 경우 병원체에 의한 발병을 예방 또는 약화시킬 수 있음은 잘 알려진 사실이며, 숙주와 병원성 기생충간의 관계에서도 특정 기생충에 대한 숙주의 저항력이 강화되면 그 기생충에 대한 병해가 약화되거나, 수명이 연장된다. 이와 같은 숙주-기생충의 관계를 토대로 마우스에 있어서 치명적인 *Toxoplasma gondii*에 대한 인위적 면역을 부여하였을 때 원충감염에 대한 마우스의 생존기간을 연장시킬 수 있음이 보고되었고(吳, 1980), 또한 마우스가 *Naegleria fowleri* 감염에 대하여 면역될 수 있음이 보고되었다(John *et al.*, 1977; Thong *et al.*, 1978b, 1979b & 1980). 또 살아있는 *Naegleria fowleri*를 복강내에 주입하여 인위적으로 면역된 마우스가 *Naegleria fowleri*의 비강내 감염에 저항성을 가진다고 보고되었고(Thong *et al.*, 1978a), 본 원충을 배양한 배양액을 복강내로 주입하여 인위적으로 면역시킨 마우스가 *Naegleria fowleri*의 비강내 감염에 저항성을 가짐도 보고되었다(Thong *et al.*, 1980).

본 연구는 무균적으로 배양한 *Naegleria fowleri* 영양형을 복강내 주입하여 인위적으로 면역시킨 마우스에서 *Naegleria fowleri* 감염에 대한 방어면역 형성여부를 관찰하였다.

## 1. *Naegleria fowleri*

*Naegleria fowleri*는 0359주(Belgium의 Prince Leopold Institute of Tropical Medicine의 Dr. J.B. Jadin으로부터 분양받은 것)를 사용하였으며 36°C 항온기에서 CGVS배지((Willaert, 1971)로 무균배양하여 그 영양형을 얻었다. *Naegleria gruberi*는 EGB주(미국 뉴욕의 Brooklyn 대학 Dr. F.L. Shuster로부터 분양받은 것)로써 CGVS 배지로 25°C에서 배양되었다.

## 2. 실험동물

사용된 BALB/c마우스는 실험실 내에서 통상적인 방법으로 사육하였고 체중 20gm 내외인 것을 사용하였다.

## 3. 항원제조

배양된 *N. fowleri* 영양형을 5% formaldehyde에서 30분간 고정한 후 생리식염수로 세번 세척하여 *N. fowleri* 영양형 항원으로 사용하였다. 또한 *N. fowleri* 영양형 세포막항원과 세포내용물 항원의 제조는 배양기에서 얻은 *N. fowleri* 영양형을 Tris-Hcl 완충액으로 세번 세척하고 4°C에서 1,000rpm으로 15분간 원심침전시켜 그 침사를 0.01M Tris-Hcl 완충액으로 부유시켜 ml당 아메바 수가  $2 \times 10^7$ 개가 되게 하고 4°C에서 sonicator로 세포막을 파괴시켰다. 여기에 완충액을 첨가하여 37.5ml이 되게 하고 4°C에서 200g로 3분간 원심침전하여 상층액을 채취하고 0.01M Tris-Hcl 완충액으로 제조한 50% sucrose 용액을 가하여 sucrose 농도가 10%되게 하였다. 4°C에서 1,000g로 20분간 원심침전하여 그 상층액을 세포내용물항원으로 사용하였고 그 침사는 세포막항원으로 사용하였다.

*N. gruberi* 영양형항원은 배양기에서 채취한 *N. gruberi* 영양형을 5% formaldehyde로 30분 고정된 후



육안적으로 병변이 있는 조직 일부를 hematoxylin-eosin염색하여 관찰한 바 급성염증세포의 심한 침윤이 있었고 이들 세포사이에 많은 아메바 영양형들이 cluster를 형성하고 있었다 핵인이 진하게 염색되고 세포질내에 vacuole이 많은 전형적인 *N. fowleri* 영양형들이 관찰되었다(Fig. 1).

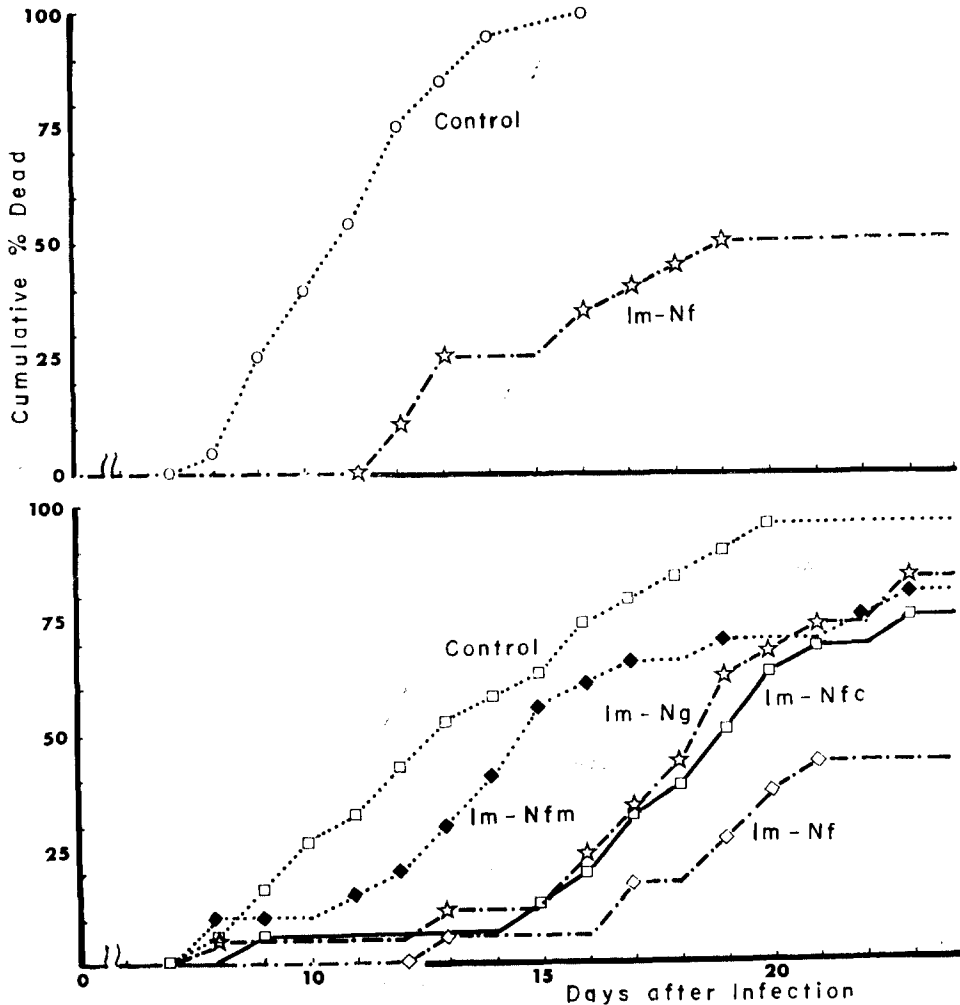
사망한 마우스중 어떤 것은 이같은 뇌수막염의 조직 소견과 함께 폐염이 발생된 것도 있었다.

**2. 마우스 사망율과 생존기간**

사망한 마우스에서 모두 원발성 아메바성 뇌수막염이 발생되었음을 알 수 있었고 그중 소수는 아메바성 폐염도 발생되어 있었다. 사망한 마우스에 있어 감염에서 사망할 때까지의 생존기간과 사망율은 대조군과 실험군 사이에 현저한 차이가 있었다(Table 1).

즉 *N. fowleri* 감염으로 인한 마우스의 사망율을 보면 대조군에서 100%, 94.7%였고, *N. fowleri* 영양형으로 면역한 실험군에서 그 사망율이 현저히 낮아서 50%, 42.1%였다. 또한 세포막항원과 세포내용물항원으로 면역한 실험군에서는 각각 80%, 75%로써 대조군보다는 사망율이 낮았다. 한편 *N. gruberi*로 면역시킨 실험군에서는 83.3%로써 대조군과 큰 차이가 없었다.

*N. fowleri* 감염후 사망할 때까지의 생존기간을 보면 대조군에서 평균 11.3일, 13.4일이었다. *N. fowleri* 영양형으로 면역시킨 실험군에서는 평균 14.9일, 18.3일로써 대조군의 생존기간과 비교할 때 큰 차이가 있었다. 세포막항원으로 면역시킨 실험군에서는 평균 14.7일로써 대조군과 차이가 없었으나, 세포내용물항



**Fig. 2.** Survival of mice infected with *Naegleria fowleri* in each control and experimental group, mice immunized with *N. fowleri* trophozite (Im-Nf), *N. fowleri* membrane (Im-Nfm), *N. fowleri* cell content (Im-Nfc) and *N. gruberi* (Im-Ng) by postinfection day.

원으로 면역시킨 실험군에서는 대조군에서의 생존기간과 비교하면 차이가 있었다. 또한 *N. gruberi*로 면역시킨 실험군에서도 사망한 마우스의 생존기간이 연장되어 평균 17.8일이었다(Fig. 2).

### 고 찰

*N. fowleri*는 자유생활 아메바로써 원발성 아메바성 뇌수막염의 원인 병원 원충임이 Derrick (1948)에 의해 처음 발표되었고, 이후 해수, 토양, 물, 담수연체동물, 공기 중에서 자유생활 아메바가 검출 배양되었다. Wong 등 (1975)에 의하면 자유생활 아메바의 병원성은 주(株), 배양 조건, 숙주의 연령, 면역 상태에 따라 다르며 또한 감염시키는 방법이나 실험 동물에 따라 다르다고 하였다.

범세계적으로 자유생활 아메바에 대한 많은 연구보고가 있으며, 우리나라에서는 황등(1976)이 서울지역에서 이들 원충을 자연계에서 분리 관찰하여 그 병원성을 증명하였고, 任등(1978)은 제동반응이 본 원충 질환 진단에 이용될 수 있는 가능성을 시사한 바 있으며, 金등(1979)은 Phytoagglutinin에 의한 응집반응과 자유생활 아메바의 병원성과의 관련성을 연구한 바 있으며, 鄭등(1980)도 Phytoagglutinin에 의한 응집반응에 관한 전자현미경적 관찰로써 그 병원성과의 관계를 연구 보고한 바 있다.

원발성 아메바성 뇌수막염은 주로 어린이와 젊은 연령층에서 발생되며, Martinez 등 (1973)의 실험에 의하면 그 감염경로는 비강점막 특히 후점막을 뚫고 점막하 신경총을 거쳐서 후신경을 따라 사골을 지나 뇌조직으로 이행한다고 한다. 이 질환은 수일간의 짧은 잠복기간을 거쳐 급성적으로 발병되며, 계속되는 심한 두통, 고열, 구토로 시작하여 뇌막 자극증상을 일으키며 곧 혼수 상태에 들어가 사망하는 치명적인 질환으로 알려져 있으며 이 질환의 원인 원충인 자유생활 아메바의 검출, 배양, 주(株)에 따른 병원성, 실험적 동물감염 등 많은 연구가 시도되어 오고 있으나 현재까지는 특별한 치료 방법이 없으므로 숙주의 본 원충에 대한 저항력의 증강 및 유지가 이 질환의 발병을 예방 또는 약화시키기 위하여 무엇보다도 중요하다고 생각된다.

숙주와 병원체와의 관계에서 숙주에 인위적 면역을 부여할 경우 병원체에 의한 발병을 예방 또는 약화시킬 수 있음은 잘 알려진 사실이며, 숙주와 기생충간의 관계에서도 특정 기생충에 대한 숙주의 저항력이 강화되면 그 기생충에 대한 병해가 약화되거나 수명이 연장된다. Haque 등(1978)은 항원침이나 면역집중에 의해 *Dipetalonema vitae*에 대한 hamster의 감염율이 저하된다고 하였으며, Murray 등 (1979)도 백서에 *Nippostrongylus brasiliensis*의 추출 항원으로 면역시켰을 때 본 기생충의 소장내 기생수가 현저히 감소된다고 하였

다. 자유생활 아메바에 대한 숙주의 면역반응에 관한 연구보고로써는 Cerva(1971)가 *Naegleria fowleri*를 guinea pig의 비강내 감염시킨 후 보체결합에 의한 체액성 면역반응을 보고하였고, Culbertson (1971)은 *Acanthamoeba* species로 복강내 집중 면역된 마우스를 비강내 감염시킨 결과 면역반응이 증가됨을 관찰할 수 있었으나 *Naegleria*에서는 저항력의 변화를 관찰할 수 없었다고 하였다. 그러나 최근 Adams 등 (1976)은 *N. fowleri*로 복강내 또는 혈관내로 집중 면역된 마우스를 같은 부위에 재감염시킨 결과 저항력이 증가 되었다고 한다. Thong 등 (1978a)도 살아있는 *N. fowleri*로 복강내 집중면역된 마우스의 비강내로 감염시켰더니 발병율과 사망율이 현저히 감소하였다고 하였다. Thong 등(1978b)은 면역현청을 복강내 주입한 후 비강내 재감염시킨 결과 저항력이 장기간 지속되었으나 면역된 마우스의 비강세포를 복강내 주입한 후 재감염 시킨 경우는 저항력이 생기지 않았음을 보고 하였다. 또한 Thong 등(1980)은 *N. fowleri* lysate를 복강내 접종하여 면역된 마우스에 비강내로 감염시킨 결과 사망율이 현저히 감소하였고 *N. fowleri* 배양액을 복강내 주입 면역시에도 마우스 사망율이 현저히 감소하였다고 한다. 특히 배양액 중 분자량이 200,000 이상인 고분자량분획으로 면역시켰을 경우 생존율이 100% 임을 관찰하였다. 본 실험에서도 5% formaldehyde에 고정된 *N. fowleri* 영양형, 그 세포막 또는 세포내용물을 복강내 주입하여 면역된 마우스에 비강내로 *N. fowleri*를 감염시킨 결과 증상의 발현시간도 늦게 나타났으며 사망율도 현저히 감소하였다.

Thong 등 (1979b)에 의하면 살아있는 *N. fowleri* 영양형으로 면역시켰을 때 방어면역의 정도가 배양액에 의한 방어면역 정도의 1.5~3배에 해당된다는 보고가 있다. 방어면역을 획득케 하기 위하여 가장 효과적인 면역항원이 무엇이며, 또한 효과적인 면역방법에 대하여는 좀더 추구되어야 할 것으로 생각된다. 본 실험성을 보면 비병원성 자유생활 아메바인 *N. gruberi*로 복강내 주입 면역된 마우스의 경우에도 방어면역이 생기는 것으로 나타났는데 이는 *N. fowleri*와 공유하는 어떤 항원이 있기때문인 것으로 생각된다.

Thong 등(1978a)에 의하면 살아있는 *N. fowleri*로 한번 복강내 주입하여 면역시킨 마우스나 두번 복강내 주입 면역시킨 마우스나 방어면역 정도에는 차이가 없다고 하였고, 더구나 Thong 등(1980)에 의하면 살아있는 *N. fowleri*로 여러번(3~4회) 복강내 주입 면역시킨 마우스의 경우는 방어면역이 없는 것으로 보고되었다. 이는 Thong 등(1979a)에 의하면, *N. fowleri*에 숙주의 면역반응을 피하는 어떤 기전 즉 *N. fowleri*의 표면에서 항원을 capping and internalization하는 능력이 있기 때문이라고 보고하였다. 그러나 Thong 등 (1979b, 1983)의 연구에 의하면 *N. fowleri*의 배양액으로 복강내 주입 면역시킨 마우스의 경우 면역의 유효

수가 증가됨에 따라 방어면역의 정도가 증가됨을 보고 하였다. 즉 면역시키는데 사용된 항원에 따라 방어면역 획득 정도가 달리 나타나게 됨을 알 수 있다. 본 실험에서는 1주 간격으로 세번 면역시켰었는데, 면역 횟수에 따른 방어면역 획득의 차이가 있는지는 관찰하지 못했다.

*N. fowleri*는 여러 실험동물에서 비강내, 두개강내, 척수강내, 혈관내 또는 복강내에 직접 주입하면 병원성이 있음이 밝혀져 있다(Butt *et al.*, 1968; Culbertson *et al.*, 1968; Carter, 1970). 그런데 복강내 접종 면역 방법 뿐 아니라, Adams등 (1976)에 의하면 정맥내 접종면역시킬 때도 같은 정맥내 재감염시에 저항력이 생김을 보고하였다. 그러나 마우스에서는 비강내 감염만이 인간에 생기는 원발성 아메바성 뇌수막염과 유사하기 때문에 정맥내 감염으로는 결과의 해석이 어렵다. 황등(1980)은 한국에서 분리된 *Acanthamoeba species*, YM-4의 수용성 항원으로 피내 접종 면역 후 비강내 재감염시 저항력이 항진됨을 보고하였다. 이와 같이 *N. fowleri*에 대한 방어면역이 있다는 사실이 많이 보고되었으나 Thong등(1978a)의 보고에 의하면 살아있는 *N. fowleri*에 의한 접종면역 3주후에 비강내 감염시에는 저항력이 증가되었으나 7주후에 비강내 감염시에는 증상이 늦게 나타나고 늦게 죽었으나 결국 모든 마우스가 모두 죽는다는 사실이 보고되었다. 즉 이 방어면역은 영구적인 면역이 아니라 일시적인 면역이라는 사실이 시사하고 있다. Thong등 (1983)의 연구에 의하면 이와같은 *N. fowleri*에 대한 방어면역은 항체가 한 역할을 하는 것 같다고 하였으며 즉 항체가 비강점막에서 아메바를 움직이지 못하게 하여 아메바가 중추신경계로 이동하는 것을 막도록 하여, classical pathway에 의한 보체를 활성화시켜 염증 반응을 증가시켜, 다핵백혈구가 *N. fowleri*에 결합하여 cytotoxic mechanism에 의해 *N. fowleri*를 죽인다고 설명하였다 또한 면역된 마우스에서는 염증반응에 의해 비강점막이 떨어져 나가게 된다고 하였다.

원발성 아메바성 뇌수막염의 치료로서 여러가지 화학요법이 시도되고 있으나 현재까지는 뚜렷한 효과가 없는 것으로 알려지고 있다. Carter(1969)는 단 한 환자에서만 amphotericin B에 효과가 있었다고 하며 Jamieson(1975)은 clotrimazole도 별효과가 없었다고 하였다. Thong등(1977)에 의하면 tetracycline, rifamycin과 miconazole이 실험실 내에서 *N. fowleri*의 성장을 억제할 수 있었다고 하나 아직까지 생체내에서의 그 효과는 인정되지 못하고 있다. 이와 같이 아직도 치료에 많은 난점이 있으므로 예방에 대한 연구가 활발해지고 있으며 특히 면역학적인 예방으로서 예방주사가 시험되고 있다. 원충류인 *Plasmodium berghei* (D'Antonio *et al.*, 1970), *Toxoplasma gondii* (Krahenbuhl *et al.*, 1972), *Trypanosoma rhodesiense* (Duxbury and Sadun, 1969) 등에서 숙주 동물에 대한 면역예방주사는 상당

한 예방 효과가 있음이 보고되고 있다. 본 실험성적에 의하면 *N. fowleri* 항원에 의한 면역 접종시 방어면역이 현저히 생겼음을 보여주었으며 원발성 아메바성 뇌수막염의 예방이 가능한 vaccine의 개발 가능성을 보여 주었다고 본다. 그러나 아직 초보 단계이며 보다 광범위한 연구가 요구된다.

## 요 약

병원성 자유생활 아메바인 *Naegleria fowleri*를 CGVS 배지에서 무균적으로 배양하여 그 영양형을 복강내로 주입하여 인위적으로 면역시킨 마우스에 본 원충을 비강내로 감염시켰을때 방어면역이 생성되는지를 관찰하였다.

감염 8일후부터 마우스가 사망하기 시작하였고 이 마우스의 뇌에서 전형적인 원발성 아메바성 뇌수막염이 발생했음을 관찰할 수 있었다.

*N. fowleri* 감염으로 인한 마우스의 사망율은 대조군에서 보다 네가지 항원으로 면역시킨 실험군에서 모두 현저히 낮았으며, 감염에서 사망할 때까지의 생존기간도 면역시킨 실험군에서 대조군보다 연장되었으나, *N. fowleri* 세포막항원으로 면역시킨 실험군에서는 대조군과 비교할때 차이가 없었다. 또한 *N. gruberi* 영양형으로 면역시킨 실험군에서도 생존기간이 연장되었다. 이상의 성적을 요약하면 *N. fowleri*를 마우스 복강내로 주입시켜 면역시킬 때 방어면역이 생성됨을 알 수 있었다.

## 참 고 문 헌

- Adams, A.G., John, D.T. and Bradly, S.G. (1976) Modification of resistance of mice to *Naegleria fowleri* infections. *Infect. Immun.*, **13**:1387-1391.
- Butt, C.G., Baro, C. and Knorr, R.W. (1968) *Naegleria* sp. identified in amoebic encephalitis. *Am. J. Clin. Pathol.* **50**:568-574.
- Carter, R.F. (1969) Sensitivity to Amphotericin B of a *Naegleria* sp. isolated from a case of primary amebic meningoencephalitis. *J. Clin. Pathol.*, **22**: 470-474.
- Carter, R.F. (1970) Description of a *Naegleria* sp. isolated from two cases of primary amebic meningoencephalitis and of the experimental pathological changes induced by it. *J. Pathol.*, **100**:217-244.
- Cerva, L. (1971) Experimental infections of laboratory animals by the pathogenic *Naegleria gruberi* strain VITEX. *Folia Parasit. (Praha)*, **18**: 171-176.
- 鄭騏燮, 尹德鎮, 任敬一, 蘇鎮璋 (1980) 자유생활 아메바의 병원성 감별을 위한 세포화학적 연구. 연세 의대논문집. **13**(1):72-81.

- Culbertson, C.G., Ensminger, P.W. and Overton, W.M. (1968) Pathogenic *Naegleria* sp. Study of a strain isolated from human cerebrospinal fluid. *J. Protozool.*, **15**:353-363.
- Culbertson, C.G. (1971) The pathogenicity of soil amoebas. *Ann. Rev. Microbiol.*, **25**:231-254.
- D'Antonio, L.E., Spira, D.T., Fu, R.C., Dagnillo, D.M. and Silverman, P.H. (1970) Malaria resistance: Artificial induction with a partially purified plasmodial fraction. *Science*, **168**:1117-1118.
- Derrick, E.H. (1948) A fatal case of generalized amoebiasis due to a protozoon closely resembling, if not identical with, *Iodamoeba bütschlii*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **42**:191-198.
- Duxbury, R.E. and Sadun, E.H. (1969) Resistance produced in mice and rats by inoculation with irradiated *Trypanosoma rhodesiense*. *J. Parasit.*, **55**:859-865.
- Haque, A. Chassoux, D., Ogilvie, B.M. and Capron, A. (1978) *Dipetalonema vitae* infection in hamster: enhancement and suppression of microfilaraemia. *Parasitology*, **76**:77-84.
- Jamieson, A. (1975) The effect of clotrimazole on *Naegleria fowleri*. *J. Clin. Pathol.*, **28**:446-449.
- John, D.T., Weik, R.R. and Adams, A.C. (1977) Immunization of mice against *Naegleria fowleri* infection. *Infect. Immun.*, **16**:817-820.
- Krahenbuhl, J.L., Ruskin, J. and Remington, J.S. (1972) The use of killed vaccines in immunization against an intracellular parasite; *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.*, **108**:425-430.
- 金昶奎, 崔興載, 任敬一, 蘇鎮璋 (1979) 자유생활 아메바의 병원성과 phytoagglutinin에 의한 응집반응. 연세의대논문집, **12**(2):140-150.
- Lawande, R.V. (1983) Recovery of soil amoebae from the air during the harmattan in Zaria, Nigeria. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **77**:45-49.
- 任敬一, 吳惠淑 (1978) 自由生活아메바 抗血清에 의한 免疫反應 I. 自由生活아메바 家兔抗血清에 의한 制動反應. 기생충학잡지, **16**(1):41-46.
- 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**:121-133.
- Murray, M., Robinson, P.B., Grierson, C. and Crawford, R.A. (1979) Immunization against *Nippostrongylus brasiliensis* in the rat. *Acta Tropica*, **36**:297-322.
- 吳惠淑 (1980) 톡소플라스마(*Toxoplasma gondii*)에 대한 마우스의 면역학적 반응. 연세대학교 대학원 석사학위논문.
- Thong, Y.H., Shepherd, C., Ferrante, A. and Rowan-Kelly, B. (1977) Growth inhibition of *Naegleria fowleri* by Tetracycline, Rifamycin and Miconazole. *Lancet*, **II**:876.
- Thong, Y.H., Ferrante, A., Shepherd, C. and Rowan-Kelly, B. (1978a) Protective to *Naegleria fowleri* in experimental amebic meningoencephalitis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **27**:238-240.
- Thong, Y.H., Ferrante, A., Shepherd, C. and Rowan-Kelly, B. (1978b) Resistance of mice to *Naegleria* meningoencephalitis transferred by immune serum. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **72**:650-652.
- Thong, Y.H. and Ferrante, A. (1979) Antibody induced capping and endocytosis of surface antigens in *Naegleria fowleri*. *Intern. J. Parasit.*, **9**:599-601.
- Thong, Y.H., Ferrante, A., Rowan-Kelly B. and O'Keefe, D.E. (1980) Immunization with live ameba, amebic lysate and culture supernatant in experimental *Naegleria* meningoencephalitis. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **74**:570-576.
- Thong, Y.H., Carter, R.F., Ferrante, A. and Roman-Kelly, B. (1983) Site of expression of immunity to *Naegleria fowleri* in immunized mice. *Parasite Immun.*, **5**:67-76.
- 黃瀚琦, 尹德鎮, 任敬一, 蘇鎮璋 (1976) 자유생활 아메바의 병원성에 관한 실험적 연구. 연세의대논문집, **9**(2):182-194.
- 黃英南, 閔得映, 蘇鎮璋 (1980) 자유생활 아메바(*Acanthamoeba* species)의 숙주에 대한 면역학적 반응. 연세의대논문집, **13**(2):259-273.
- Willaert, E. (1971) Isolement et culture in vitro des amibes du genre *Naegleria*. *Ann. Soc. Belge. Méd. Trop.*, **51**:701-708.
- Wong, M.M., Karr, S.L. and Balamuth, W.B. (1975) Experimental infections with pathogenic free-living amoebae in laboratory primate hosts: I. (A) A study on susceptibility to *Naegleria fowleri*. *J. Parasit.*, **61**:199-208.

=Abstract=

## Protective immunity against *Naegleria meningoencephalitis* in mice

Soon-Gone Lee

*Department of Obstetrics and Gynecology, Soon Chun Hyang University Hospital*

Kyung-Il Im and Keun-Tae Lee

*Department of Parasitology, College of Medicine, Yonsei University, Seoul 120, Korea*

This study is to verify the protective ability against experimental *Naegleria meningoencephalitis* by immunization with *Naegleria fowleri* in mice. *Naegleria fowleri*, strain 0359, and *Naegleria gruberi*, strain EGB, were used in this study, and cultured in CGVS medium axenically.

Inbred BALB/c mice, weighing about 20g, were immunized by three intraperitoneal injection of  $1 \times 10^6$  *N. fowleri* trophozoites at the interval of one week. This *N. fowleri* trophozoites antigen was fixed with 5% formaldehyde. *N. fowleri* trophozoites from culture were homogenized with sonicator at 4°C as monitored by phase contrast microscopy, and their membrane and cell content preparations were made for the immunization of mice. Their inoculation dose in volume was equivalent to the  $1 \times 10^6$  trophozoites in each injection for immunization. And *N. gruberi* trophozoites, which was fixed with 5% formaldehyde, were also used for immunization. Mice were inoculated intranasally with  $5 \times 10^4$  *N. fowleri* trophozoites in a  $5 \mu\text{l}$  suspension under anesthesia by as intraperitoneal injection of about 1 mg secobarbiturate.

Nervousness, rotation or sluggish behaviour were observed in the mice which were infected with *N. fowleri*. Necrotic lesion was demonstrated in the anterior portion of brain, especially in the olfactory lobe. The inflammatory cell infiltration with numerous *N. fowleri* trophozoites was noticed. This pathological changes were more extensive in the control than in the experimental groups.

Mice were dead due to experimental primary amoebic meningoencephalitis that developed between 8 days and 23 days after inoculation. Mortality rate of the mice was low in the immunized experimental group. Mean survival time, which is the survival duration of mice from the infection to death, was prolonged significantly in the immunized mice except in the mice immunized with *N. fowleri* membrane. Even in the mice immunized with *N. gruberi*, survival time was delayed.

In summary, the effectiveness of immunization is demonstrated in terms of protective immunity against *Naegleria meningoencephalitis* in mice.