식이 단백질 수준의 차이가 흰쥐에서 무균 배양된 원충 감염시에 Caecal Content의 pH와 혈청 단백질에 미치는 영향

—Effect of Dietary Protein Level on Caecal Content pH and Serum Protein in Rats to Axenically Cultured Protozoa—

오산전문대학 전통조리과
명 춘 옥

Dept. of Traditional Cookery Osan Junior College
Myung, Choon Ok

〈목 차〉

Ⅰ. 서론
Ⅱ. 실험재료 및 방법
Ⅲ. 실험결과 및 고찰
Ⅳ. 요 약
참고문헌

〈Abstract〉

Cell structure is based on proteins. Since the antibody is proteous substance, the continuous low protein feeding decreases the resistance of host against pathogenic agents. The present study was designed to investigate the infectivity of protozoa to rats which were fed with variously prescribed diets. Experimental group was divided into 4 groups according to the level of casein in the diet, group Ⅰ : casein 0%, group Ⅱ : casein 5%, group Ⅲ : casein 15%, group Ⅳ : casein 30%. Each animal was fed for 5 weeks followed by inoculation of protozoa in cecum and sacrified each 1 week later of the infection. Each diet group, non infected with protozoa was recognized as the control. Result are summerized as follows :

1. All the rats of group Ⅰ died in 2~4 weeks and 2 of 12 rats in group Ⅱ were also died in the period.
2. The growth rate and FER were high in group Ⅲ and Ⅳ compared with group Ⅱ. Therefore low protein feeding decrease growth and feed efficaly ratio(FER)
3. The pH of caecal contents between the infected group and control showed no difference, but the values of group Ⅲ and Ⅳ were higher than the gorup Ⅱ. Low pH of the caecal contents provides a suitable condition for determining their susceptibility to Entameoeba histolytica trophozoite.
4. Amounts of serum total protein in group Ⅱ, Ⅲ and Ⅳ showed no significant

difference with the control and infected group, but amounts in group Ⅲ and Ⅳ were higher than the group Ⅱ. Therefore, continuous low protein feeding decrease serum total protein.

5. Albumin, α_1 gloulin, α_2 globulin, β globulin, γ gloulin of group Ⅲ and Ⅳ were all high to compare than the group Ⅱ. Albumins of group Ⅲ and Ⅳ of control was higher than infected group, but there was no difference in γ globulin between the infected and control group.

Ⅰ. 서 론

숙주의 영양상태에 따라 기생충 감염이 달라지기도 하고, 반대로 기생충 감염이 숙주의 영양상태에 영향을 미치기도 하는 것이 여러 사람들에 의해 보고되었다.[1) 2)] 그 예로써 비타민 B_1, B_2 및 B_6가 결핍된 사료를 먹인 흰쥐에서, [*Trypanosoma cruzi*]를 감염시켰을 때, 감염율이 증가되고,[3) 4) 5)] 나이아신과 트립토판이 결핍된 흰쥐에서는 병원체 감염에 대한 저항력이 저하되었다.[6)] 기생충과 영양과의 관계는 synergistic하기도 하고, antagonistic 하기도 하지만, 대체로 영양부족 상태인 사람이 감염되기 쉬운 것은, 저단백 상태에서는 항체형성이 낮기 때문인 것으로 생각된다.[7)] 그 예로 단백질 결핍사료로 사육한 흰쥐에서 항체 형성능력이 감소되고[8)] PCM(Protein Calorie Malnutrition) 상태인 어린이에게 단백질을 공급해 주면, dinitrophenol에 대한 세포성 면역이 증가된다.[9)] 또한 1%와 2%의 카제인이 포함된 식이로 사육된 흰쥐에 [*Nippostrongylus braziliensis*]를 감염시키면, 식이 섭취나 몸무게가 감소하며,[10)] 유충이 폐나 장에 도달하는 시간이 짧게 걸리고,[11)] 숙주의 저항력도 감소되었으며, acetylcholinesterase의 활성도 감소되었다.[12)] 철과 단백질이 부족한 상태일 때는 구충제의 효과도 약화되었다.[13)] 동물성 단백질 사료를 충분히 섭취하면 이질아메바 감염시에 충수가 감소되고 증세가 호전되며,[14)] 비타민 C가 결핍된 사료를 준 gunia pig의 경우는 표준 사료를 준 경우보다 이질 아메바 감염이 증가되고, 병변도 심해졌다.[15)] Ross 등은 저단백 식이를 준 흰쥐에 이질아메바를 감염시키면, 감염률은 낮으나 병해가 심하고, 저단백 고탄수화물 식이를 준 경우는 감염률은 높으나, 병해가 경미한 것으로 보아 탄수화물이 체내에서 이질아메바의 먹이가 됨을 시사하였다.[16)] 본 연구는 흰쥐에서 식이단백질 수준을 달리하였을 때, 실험실에서 무균배양된 이질아메바의 감염이 caecal content의 pH와 혈청 단백질 및 혈청 albumin과 globulin에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 기간

체중 45-55g 되는 이유 직후의 Sprague-Dawley Strain(male) 흰쥐 48마리를 5일간 시판 배합사료를 주어 환경에 적응시킨 후 12마리씩 4군으로 나누어서 6주간 실험식이로 사육하였다. 각 실험동물은 철망으로된 사육장에 고립되어 ad libitum으로 사육되었다.

2. 식이 조성

식이 조성은 표 1과 같다. 무기질 혼합과 비타민 혼합은 Roger의 식이를 사용하였다.[17)] 식이단백질 수준은 0%, 5%, 15%, 30%이며 단백 급원은 casein을 사용하였다. Ⅰ군은 단백질 결핍군으로 casein 0%이며, methionine도 첨가하지 않았다.[18)] Ⅱ군은 저단백질군으로 casein 5%이며 methionine은 0.08% 첨가하였다. Ⅲ군은 표준 단백질군으로 casein은 15%이며, methionine은 0.23% 첨가하였다. Ⅳ군은 고단백질군으로 casein은 30%이며, methionine은 0.45% 첨가하였다. 각군의 단백질 차이는 탄수화물로 조절하여, 열량은 모두 같게 하였다. 탄수화물 급원으로는 starch: glucose: sucrose를 70:20:10의 비율로 배합하였다. 지방 수준은 13%이며, 옥수수 기름: 쇠기름의 비율은 1:1로 하여 polyunsaturated fatty acid: saturated fatty acid(P/S) ratio를 1이 되도록 조절하

〈표 1〉 Composition of experimental diets(Wt. %)

Ingredient	Experimental animal group			
	I	II	III	IV
Carbohydrate[1]	80	74.5	63.5	47
Protein: Casein	0	5.5	16.5	33
DL-Met.	0	0.08	0.23	0.45
Fat: Corn oil	6.5	6.5	6.5	6.5
Tallow	6.5	6.5	6.5	6.5
Salt mixture	4	4	4	4
Vitamin mixture	1	1	1	1
Celluflour	2	2	2	2

1. Starch: glucose: sucrose=70:20:10
2. Salt mixture(g per 100g salt mixture):
$CaCO_3$ 29.29; $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ 0.43; KH_2PO_4 34.31; NaCl 25.06; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 9.98; $Fe(C_6H_5O_7) \cdot 6H_2O$ 0.623; $CuSO_4 \cdot 5H_2O \cdot 0.156$; $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.121; $ZnCl_2$ 0.020; KI 0.0005; $Na_2SeO_3 \cdot H_2O$ 0.0015; $(NH_4)_6\ MO_7p_2 \cdot H_2O$ 0.0025
3. Vitamin mixture(mg per kg diet) Thiamin. HCl 5; Riboflavin 5; Niacinamide 25; Ca-pantothenate 20; Pyridoxine · HCl 5; Folic acid 0.5; Biotin 0.2; Vitamin B_{12} 0.03; DL-α-tocopherol acetate 100; Retinyl palmitate(in I.U.) 400; cholecalciferol(in I.U.) 400; Choline chloride 2000; Ascorbic acid 50; Menadione 0.5; Inositol 100.

였으며, 옥수수 기름은 D식품회사 제품을 구입하여 사용하였다.

3. 원충의 배양

Amoebic colitis 환자로부터 분리된 이질아메바 HK-9 strain을 무균 배지인 Diamond TPS-1 배지에서 2일마다 계대 배양하였으며, 배지의 처방은 TP broth를 15 lb에서 20분간 autoclave하고 여기에 horse serum 10.0ml과 vitamin mixture 2.5ml을 첨가하였다.[19]

TP broth의 처방은 다음과 같다.

Trypticase－1.00g
Panmede－2.00g
Glucose－0.50g
L-cysteine－0.10g
Ascorbic acid－0.02g
Sodium chloride－0.50g
Potassium phosphate, monobasic－0.06g
Potassium phosphate, dibasic－0.10g
Distilled water－87.50ml

4. 원충의 감염

실험 식이로 사육한지 5주째에 흰쥐를 ether로 마취시키고 개복하여 회맹 부위에 이질아메바 영양형 2×10^5을 함유한 배양액 1cc를 주사기로 주입하였으며, 대조군에는 아메바 함유액 대신 생리식염수를 주입한 뒤 각각 봉합하였다.

5. 측정

1) 성장률(growth rate)

매주 같은 요일에 한번씩 쥐의 체중을 측정하였다.

2) 사료효율(feed efficiency ratio)

매일 사료 섭취량(food intake)을 측정하였다. 사료효율은 한주일 동안의 체중 증가량을 같은 기간동안 섭취한 사료량으로 나누어 각군의 평균치를 구하였다.

FER=weight gain(g)/food intake(g)

3)Caecal content의 pH측정

Caecal content에 멸균된 종류수를 더해서 최종 농도가 1% weight/volume이 되게 한뒤, 잘 섞어서 동질성으로 한다음, pH를 측정하였다.

4) 혈청 총단백질량 측정

혈청 총단백질량은 이질아메바를 감염시킨 뒤, 1주일 후 흰쥐의 심장에서 채혈하여 원심분리한 혈청을 사용하였으며 standard로는 bovine serum albumin을 사용하여 spectrophotometer로 540nm서 측정하였다.

5) 혈청 단백질의 전기 영동

Tiselius와 kabat의 일반적인 방법에 의하여,[20] Spinco electrophoresis chamber를 사용하여 cellulose acetate strip(Sepraphore Ⅲ, Gelman Co.)을 현미경용 슬라이드상에 놓고, 시험 혈청을 떨어뜨린 후 250V에서 30분간 전기 영동한 뒤, Ponceau S로 염색하고, 초산을 거쳐, Densitometer 파장 525nm서 측정한 뒤, 농도는 혈청 총단백량에 대한 백분률로 계산하였다.

Ⅲ. 실험 결과 및 고찰

1. 동물의 외관상 변화

실험식이 섭취 2주째부터 casein 0%인 Ⅰ군에서 목과 다리 주위의 털이 누렇게 변하고, 빠지면서 3주째부터 사망하기 시작하여 5주전에 모두 사망하였다. Casein 5%인 Ⅱ군에서도 4주째부터 2마리가 같은 반응을 나타내다가 5주째에 사망하였다. *Choi*[21]의 경우 단백질 결핍사료로 사육한 흰쥐는4주째에도 모두 살아 있었는데, 이때의 식이 조성은 순수한 단백질 결핍 사료로 보기가 어려운 것으로 생각된다. 그러므로 순수한 식이를 썼을 때 단백질 결핍군은 3주 이상 연속되는 실험에서는 고려되어져야 할 것으로 사료된다.

2. 성장률 및 체중증가량

실험기간 동안의 체중의 변화는 표2에 나타나 있다.

〈표 2〉 Body weight during experimental period in rats[1]

(unit: gr)

Animal group	Experimental period(week)							Significance[5]	
	initial	1	2	3	4	5	6	a	b
Ⅰ	56.2±1.87	53.3±1.66	47.5±1.79	44.3±2.27	44.0±2.52	—[4]	—[4]		
Ⅱ	58.8±2.04	68.5±2.31	70.1±2.78	70.8±3.94	74.5±4.44	76.1±5.36	85.7±10.91[2]	p<0.05	
							61.4±5.86[3]		
Ⅲ	60.2±2.28	97.4±2.30	143.1±4.29	192.2±5.60	233.5±8.12	254.8±8.10	262.3±9.21[2]	NS	p<0.001
							244.8±13.63[3]		p<0.001
Ⅳ	62.3±2.13[6]	105.3±3.46	150.8±4.40	197.3±6.08	246.1±7.61	262.7±7.85	271.1±7.8[2]	NS	p<0.001
							260.2±23.35[3]		p<0.001

1. Mean±S.E.M.
2. Control
3. Infected with *Entamoeba histohytica*
4. All died
5. NS: Statistically not significant at the 0.05 level
   a: Compared between control and infected of each group
   b: Compared with group Ⅱ
6. Statistically significant at the 0.05 level compared with group Ⅰ

〈표 3〉 Body weight gain during experimental periods in rats[1]

(unit: gr)

Animal group	Experimental period(week)					
	1	2	3	4	5	6
Ⅰ	-2.8±0.64	-5.8±0.08	-3.5±0.07	-3.0±1.53	_4	_4
Ⅱ	9.7±0.79	2.9±0.92	0.8±1.42	1.8±1.37	0.5±1.55	1.2±1.28[2,5] -8.1±0.96[3]
Ⅲ	35.3±1.34	45.7±3.39	49.1±2.76	41.3±4.01	20.5±2.15	4.1±0.85[2,5,6] -7.2±1.71[3,6]
Ⅳ	42.9±2.69	45.6±2.05	46.4±2.13	40.5±1.16	16.5±1.16	4.0±0.30γ[2,5,6,7] -3.3±0.73[3,6]

1. Mean±S.E.M.
2. Control
3. Infected with *Entamoeba histolytica*
4. All died
5. Compared between control and infected of each group
6. Compared with group Ⅱ
7. Compared between infected Ⅲ group and infected Ⅳ group

Ⅰ군의 경우 실험 시작 5주전에 모두 사망하였으며, 대조군과 감염군 모두 Ⅲ군 및 Ⅳ군의 최종 체중이 Ⅱ군보다 통계적으로 높았으나($p<0.001$), Ⅲ군과 Ⅳ군 사이에는 유의적인 차이가 없었다. Ⅱ군에서, 감염군과 대조군의 최종 체중은 유의적인 차이가 있었으나($p<0.05$) Ⅲ군과 Ⅳ군에서는 차이가 없었다. 이는 감염후 1주일간만 관찰한 것이기 때문에 좀더 관찰되어야 할 것이나, 충분한 단백질 섭취는 감염에 대한 저항력을 증가시켜 주는 것으로 볼 수 있으며, 기초적인 성장 발율 지표인 체중을 parameter로 볼 때 식이 단백질 수준이 15% 이상의 섭취는 큰 의미가 없다고 볼 수 있다. 실험기간 동안 최종 체중 증가량은 표 3에 요약되어 있다.

Ⅱ군, Ⅲ군 및 Ⅳ군의 최종 체중 증가량은 대조군과 감염군 사이에 유의적인 차이가 있었으며, 대조군과 감염군 모두 Ⅲ군 및 Ⅳ군의 최종 체중 증가량이 Ⅱ군 보다 높았다($P<0.05$). 저단백 상태나 단백질이 결핍되었을 때, 체중이 감소하는 것은 여러 연구자에 의해 보고되어 있다.[22][23] 그러나 감염군의 체중이 대조군에 비해서 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 보아 무균 배양된 이질 아메바가 병원성이 약해진다고는 하나,[24][25] 아직도 약간의 병원성을 가지고 있는 것으로 볼 수 있으며, 단백질이 감염의 방어에 중요한 역할을 하는 것을 알 수 있다.

3. 사료효율

실험 기간 동안 흰쥐의 사료 효율의 변화를 살펴보면 Ⅱ군의 사료 효율은 Ⅲ군 및 Ⅳ군보다 낮았으나($p<0.05$), Ⅲ군과 Ⅳ군 사이에는 차이가 없었다(〈표 4〉).

4. Caecal content의 pH

대조군과 감염군 모두에서, caecal content의 pH가 Ⅲ군 및 Ⅳ군이 Ⅱ군 보다 높았다(($p<0.05$)〈표 5〉). 이질 아메바를 in vitro에서 기르는 데도 pH가 중요하고[26] 흰쥐의 faecal content의 pH가 이질아메바 감염에 영향을 준다고도 한다. 즉, caecal content의 pH가 낮은 경우, 이질아메바 영양형의 활동성이 좋아져서 감염이 더욱 심하게 일어날 수 있다. 충분한 단백질 섭취는 산, 알카리 평형에 관련되어 이질 아메바의 감염을 억제해 줄 수 있으리라 생각된다.

〈표 4〉 Feed Efficiency Ratio during experimental period in rats[1]

(unit: gr)

Animal group	Experimental period(week)					
	1	2	3	4	5	6
I	-0.075±0.016	-0.209±0.029	-0.122±0.034	-0.116±0.071	—4	—4
II	0.183±0.020	0.056±0.017	0.008±0.029	0.029±0.027	0.002±0.025	0.038±0.046[2]
		(-0.065-0.152)*	(-0.227-0.163)*	(-0.130-0.163)*	(-0.113-0.151)*	(-0.075-0.129)
						-0.385±0.092[3]
III	0.412±0.011	0.434±0.026	0.448±0.025	0.373±0.026	0.254±0.038	0.099±0.018[2]
						0.335±0.097[3]
IV	0.545±0.022	0.478±0.026	0.420±0.013	0.375±0.039	0.251±0.025	0.096±0.008[2]
						-0.105±0.018[3]

1. Mean±S.E.M.
2. Control
3. Infected with *Entamoeba histolytica*
4. All died

*: range

〈표 5〉 pH of caecal contents in control and *Entamoeba histolytica* infected rats[1]

Animal group	pH of caecal contents	
	Control	Infected
II	6.63±0.156	6.66±0.101
III	6.87±0.146[2]	6.85±0.208[2]
IV	6.90±0.120[2]	6.98±0.106[2]

1. Mean±S.E.M.
2. Statistically significant at the 0.05 level compared with group II

5. 혈청 총 단백질의 농도

혈청 총단백질은 대조군과 감염군 모두에서 III군 및 IV군이 II군 보다 유의하게 높았으나($p<0.05$), 각 군 모두 대조군과 감염군 사이에 차이가 없었다(〈표 6〉).

이는 Crompton 등이[10] Nipostrongylus를 2% 단백질 식이를 먹인 쥐에 감염시켰을 때의 결과와 일치하지 않는데, 이는 아마 선충류와 원충류의 차이 때문으로 볼 수 있으며, 실험기간이 짧은 것도 원인이

〈표 6〉 Protein concentrations in control and *Entamoeba histolytica* infected rats[1]

Animal group	Protein concentrations	
	Control	Infected
II	5.05±0.128	4.78±0.308
III	6.24±0.339[2]	5.82±0.242[2]
IV	6.36±0.243[2]	5.81±0.270[2]

1. Mean±S.E.M.
2. Statistically significant at the 0.05 level compared with group II

〈표 7〉 Electrophoretic fractionation of serum protein in control and *Entamoeba histolytica* infected rats[1]

(unit g/100 ml)

Animal group		Albumin	Globulin			
			α_1	α_2	β	γ
Ⅱ	Control	2.50±0.063	0.67±0.017	0.46±0.012	1.01±0.026	0.40±0.010
	Infected	2.36±0.152	0.63±0.040	0.44±0.028	0.94±0.061	0.39±0.025
Ⅲ	Control	3.09±0.168[2,3]	0.83±0.045[2]	0.57±0.031[2]	1.25±0.068[2]	0.50±0.027[2]
	Infected	2.81±0.112[2]	0.77±0.032[2]	0.54±0.222[2]	1.19±0.050[2]	0.51±0.025[2]
Ⅳ	Control	3.18±0.131[2,3]	0.85±0.032[2]	0.59±0.022[2]	1.27±0.049[2]	0.51±0.019[2]
	Infected	2.80±0.125[2]	0.77±0.036[2]	0.53±0.025[2]	1.19±0.055[2]	0.51±0.028[2]

1. Mean±S.E.M.
2. Statistically significant at the 0.05 level compared with group Ⅱ
3. Statistically significant at the 0.05 level between control and *Entamoeba histolytica* infected rats.

된다고 생각된다.

6. 혈청 단백질의 전기영동

혈청 단백질의 전기영동을 살펴보면 〈표 7〉과 같다.

혈청 albumin, $\alpha_1$globulin, $\alpha_2$globuin, βglobulin γ globulin은 대조군과 감염군 모두에서 Ⅲ군과 Ⅳ군이 Ⅱ군에 비해 통계적으로 유의하게 증가하였으며($p<.05$), Ⅲ군과 Ⅳ군에서 감염군의 albumin은 대조군 보다 감소하였으나($p<0.05$), γ-globulin은 증가하지 않았다. 단백질 수준이 적정하거나 충분한 경우에, 면역 반응과 관련이 되어 있는 γ-globulin이 저 단백식이를 준 경우보다 높게 나타났다.

Ⅳ. 요 약

1. 실험식이로 6주간 사육한 흰쥐의 외관상 변화로는 casein 0%인 Ⅰ군에서 실험 시작 2주째부터 목과 다리주위의 털이 빠지며, 사망하기 시작하여 5주전에 모두 사망하였다. casein 5%인 Ⅱ군에서도 2마리가 같은 반응으로 사망하였다. 그러므로 단백질 결핍군의 실험은 3주이상 연속될 때는 고려되어져야 할 것으로 생각된다.

2. 실험기간 중 흰쥐의 성장률과 사료효율은 casein 15%와 30%인 Ⅲ군과 Ⅳ군은 5%인 Ⅱ군 보다 높았다($p<0.05$). 즉 단백질 섭취수준이 낮을 경우에는 성장도 지연되고 사료효율도 떨어짐을 알 수 있다.

3. 이질아메바의 감수성을 나타내는 것으로 알려진 caecal content의 pH는 Ⅱ군이 Ⅲ군과 Ⅳ군에 비해서 유의하게 낮았다($p<0.05$). Caecal content의 pH가 낮은경우, 이질아메바의 영양형이 활발하게 증식되므로 감염이 더 심하게 일어난다. 식이 단백질 수준과 caecal content의 pH 및 감염 등의 상호관계는 더 연구되어져야 할 것이다.

4. 혈청 총 단백질량은 Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ군 모두 감염군과 대조군 사이에 통계적인 차이는 없었지만, 대조군과 감염군 모두 Ⅲ군과 Ⅳ군이 Ⅱ군에 비해서 유의하게 높았다($p<0.05$). 즉, 단백질 섭취 수준이 낮을 경우, 혈청 총단백질량이 낮았다. 또한 혈청 단백질을 전기 영동한 결과 Ⅲ군과 Ⅳ군에서 감염군의 albumin은 대조군에 비해 유의하게 감소되었으나($p<0.05$), γ-globulin에는 유의적인 차이가 없었다.

【참고문헌】

1) 소진탁, 이근태, 김상준, 임경일, 기생충감염과 영양과의 상호관계에 관한 연구, 동아자연과학연구논문집, 1: 87-110, 1972.

2) Symons, L.E.A., Digestion and absorption of maltose in rats infected by the Nematode *Nippostrongylus brasiliensis,* Exp. Parasitol. 18:12-24, 1966.

3) Yeager, R.G. and O.N. Miller, Effect of malnu-

trition on susceptibility of rats to *Trypanosoma cruzi* Ⅰ. Thiamin deficiency. Exp. Parasitol. 9:215-222, 1960.

4) Yeager, R.G. and O.N. Miller, Effect of malnutrition on susceptibility of rats to *Trypanosoma cruzi* Ⅲ. Pantothenate deficiency. Exp. Parasitol 10: 232-237, 1960.

5) Yeager, R.G. and O.N. Miller, Effect of malnutrition on susceptibility of rats to *Trypanosoma cruzi* Ⅳ. Pyridoxine deficiency, Exp. Parasitol, 10: 238-244, 1960.

6) Wertman, K., L.W. Smith and W.M.O Leary, The effect of vitamin deficiencies on some physiological factors of importance in resistance to infection, I. Niacin tryptophan deficiency, J. Immunol, 72; 196, 1954.

7) Solomons, N.W., and G.T. Keusch, Nutritional implications of parasitic infections, Nutri, Rew. 39: 149-160, 1981.

8) Wissler, R.W., R.L. Woolridge, C.H. Steffee Influence of amino acid feeding upon antibody production in protein depleted rats, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 62:199-203, 1946.

9) Koster, F., A. Graffer and T.M. Jackson, Recovery of cellular Immune competence during treatment of protein calorie malnutrition, Am. J.Clin, Nutri, 34:887-891, 1981.

10) Crompton, D.W.T., D.E. Walters and S.Arnold, Changes in the food intake and body weight of protein malnourished rats infected with *Nippostrongylus brasiliensis.*(Nematoda), Parasltol, 82:23-39, 1981.

11) Clarke, K.R., The effect of low protein diet and a glucose and filter paper diet on the course of infection of *Nippostrongylus brasiliensis,* Parasitol, 58:325-339, 1968.

12) Martin, J., Acetylcholinesterase activity *Nippostrongylus brasiliensis* during the course of a primary infection in normal and in a protein deficient diet rats. Parasitol, 83:43-50, 1981.

13) Dumcombe, V.M., T.D. Bolin, A.D. Davis and J.D. Kelly, *Nippostrongylus brasiliensis* infection in rats: effect of iron and protein deficiency and dexamethasone on the efficacy of benzimidazole anthelmintics, Gut, 18:892-896, 1977.

14) Taylor, D.J., J.Josephson, The effect of two different diets on experimental amoebiasis in the gunia pig and in the rats. Am. J. Trop. Med. and Hyg. 1:559-566, 1952.

15) Saudin, E.H., J.L. Bradin, and E.C. Faust, The effect of ascorbic acid deficiency on the resistance of gunia pigs to infection with *Entamoeba histolytica* of human origin. Am. J. Trop. Med. Hyg. 31:426, 1951.

16) Ross, G.W. and R. Knight, Dietary factors affecting the pathogenecity of *Entamoeba histolytica* in rats. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 67: 560-567, 1973,

17) Rogers, Q.R., and A.E. Harper, Amino acid diet and maximal growth in the rats. J. Nutri, 89: 267-273, 1965.

18) Turkki, P.R. and P.G. Holtzapple, Growth and riboflavin status of rats feed different diet levels of protein and riboflavin, J. Nutri, 112:1940-1952, 1982.

19) Tylor, A.E.R., and J.R. Baker, Methods of cultivating parasites in vitro. Academic press, 1978.

20) Tiselius, O.R. and E.A. Kabat, Significance of *gamma* globulin in relation to antibodies, J. Exp. Med. 69:119, 1939.

21) Choi, K.J., Experimental studies of the effect of protein deficiency on the infectivity of *Entamoeba histolutica* Yonsei J. Med. Sci. 2:107-119, 1969.

22) Stewart, R.J.C., and H.G. Sheppard, Protein calorie deficiency in rats. Br. J. Nutri, 25:175-180, 1971.

23) Munoz, E., Marcos, A., and M.T. Unzaga, Effect of protein deficiency on the lysosomal enzyme activities of the spleen and thymus of weanling rats J. Nutri, Ⅲ:2133-2141, 1981.

24) Kim, S.C., Epidemiological studies on protozon infection in Gyeng-gi Do and Jeonra Bug Do

areas. Yousei J.Med. Sci. 15:183-184, 1982.

25) Gold, D., and L. Norman, Studies on the preservation and enhancement of the virulence of some strains *Entamoeba histolytica* in axenic and monoxenic cultures, J. Parasitol. 65: 970-972, 1979.

26) Harinasuta, C., and T. Harinasuta, Studies on the growth in vitro of strains of *Entamoeba histolytica*, Ann, Trop. Med. Parasitol., 49: 331-350, 1955.

27) Krishna Prasad, B.N., and Indu Basal, Interrelationship between faecal pH and susceptibility to *Entamoeba histolytica* in rats. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 77:271-273, 1983.