

# 間接血球凝集法에 의한 肺吸蟲症과 肝吸蟲症의 診斷的 研究

## Diagnostic Studies on the Paragonimiasis and Clonorchiasis by Indirect Hemagglutination Test

高麗大學校 醫科大學 臨床病理學教室\* 및 서울大學校 醫科大學 解剖學教室\*\*

金大源\* · 車重益\*\* · 趙士先\*\* · 白相豪\*\* · 張家鏞\*\*

### 서 론

간흡충은 McConnel(1874)이 인도의 Calcutta에서 한 중국인 목공의 난도에서 처음으로 발견하여, Looss(1907)에 의해 *Clonorchis sinensis*라 명명된 흡충류이며, 폐흡충은 Kerbert(1878)가 Amsterdam의 동물원 및 Hamburg에서 사망한 인도산호랑이의 폐에서 발견된 이후 Braun(1879)에 의해 *Paragonimus westermani*로 명명된 것으로, 우리나라에선 허준(1610)의 동의보감에 폐충이라 기재되었던 흡충류이다.

우리나라에서 이들 기생충증은 옛날부터 중요한 풍토병의 하나로 인식되어 왔으며 여러 임상적인 양상과 문제를 일으키고 있다(朱, 1972; 金등, 1974; 崔등, 1975).

간흡충증은 담즙이나 대변에서, 폐흡충증은 객담이나 대변에서, 총란을 증명하면 확진이 가능하다 하나(金, 1970; 金등, 1974), 특히 폐흡충증에선 폐부 감염흡충증에서도 반드시 총란 발견이 가능하지 않으며, 더욱 폐부이외의 장기에 기생하는 이소기생(ectopic parasitism)에 있어서나 만성환자의 경우 총란발견의 기대가 어려운 실정이다. 따라서 이들 흡충증 환자의 혈청에서 항체를 검출하기 위한 여러가지 면역학적 방법이 소개되고 있다. 피내반응(朱, 1959; 柳, 1964; 金등, 1974), 보체결합반응(Sadun, 1959), 면역확산법(Yogore, 1965; 崔등, 1976), 형광항체법(崔등, 1975; 崔, 1975) 등이 알려져 왔고, 최근에는 감수성과 특이성이 높고 재현성에 있어서 비교적 좋은 것으로 알려진 효소표식면역법(ELISA)(趙, 1981; 李등, 1981)과 그외에 thin layer immunoassay법(任, 1983) 등이 소개되고 있으나, 방법

에 따른 장단점이 있어 이들 방법들의 실질적 이용가치는 제한되고 있거나, 계속 연구가 진행중이다. 위의 면역학적 검사중 피내반응검사는 임상검사실의 통상 방법이나, 의양성(false positive)과 의음성(false negative)이 높고 교차반응이 있으며, 과거에 감염되었다가 치유된 사람에서 장기간 양성을 나타내어 현증진단이 어려운 점등이 지적되고 있다(Sadun, 1959; 金등, 1974; 趙, 1981).

이에 저자들은 기생충 질환중 폐흡충증과 간흡충증의 면역학적검사로써, 아직 국내에 도입되어 사용된 적이 없는, 매우 감수성과 특이성이 높고, 간편한 방법으로 알려진 간접혈구응집법(indirect hemagglutination)(Kessel, 1965; Fujita, 1969; Aljeboori, 1970; Farshy, 1974; Krupp, 1974; Rydzewski, 1975; Enagat, 1977)을 도입하여, 폐흡충증과 간흡충증 환자에서 어느 정도의 진단적 가치가 있는가를 알아보려고 하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험재료

#### 1. 정상대조군과 실험군(Table 1).

재료대상으로 정상대조군은 임상 및 이학적 소견이 정상이며 폐흡충 및 간흡충 피내반응검사 음성인 8명의

Table 1. Groups tested by indirect hemagglutination (IHA) test.

Group	Description	No. of case
Control	Healthy, negative <i>C.s</i> and <i>P.w</i> skin test	8
I	O.D. $\geq 0.25$ by micro-ELISA	10
	O.D. $< 0.25$ by micro-ELISA	2
II	Positive <i>C.s</i> eggs of feces	10
Total		30

*P.w*: *Paragonimus westermani*

*C.s*: *Clonorchis sinensis*

† 1984년 7월 11일 접수

\* 본 연구는 1984년도 서울대학교 병원 임상연구비 보조로 이루어진 것임.

**Table 2.** Findings in paragonimiasis patients (Group I)

Case		O.D by micro-ELISA	Skin test		Clinical and/or laboratory findings
No.	Age/Sex		Pw.	C.s.	
1	24/F	1.2	N.D	N.D	H. mole
2	50/—	1.0	N.D	N.D	Cerebral paragonimiasis, hemoptysis and positive sputum eggs.
3	33/M	1.2	+	—	Hemoptysis Eosinophil count: 1,400/mm <sup>3</sup>
4	38/M	0.47	—	—	Eosinophil count: 2,508/mm <sup>3</sup>
5	37/F	0.40	—	—	Eosinophil count: 3,949/mm <sup>3</sup>
6	—	0.83	+	—	Right pleurisy
7	46/F	0.60	N.D	N.D	Systemic paragonimiasis Eosinophils: 71% (WBC: 18,100/mm <sup>3</sup> )
8	56/M	0.67	N.D	N.D	Chronic cough with sputum
9	28/F	0.57	+	—	Abnormal Chest PA
10	50/F	1.2	N.D	N.D	Positive neurologic signs
11	49/M	0.05	+	+	Known paragonimiasis (follow up, initial O.D=0.25)
12	55/M	0.09	+	+	Known paragonimiasis (after medication)

N.D : Not determined

**Table 3.** Findings in clonorchiasis patients (Group II)

Case		E. P. G. (eggs per gram of feces)
No.	Age/Sex	
13	59/M	4,800
14	42/M	4,500
15	42/M	1,500
16	36/M	1,000
17	40/M	5,800
18	57/M	2,200
19	47/M	1,000
20	37/M	200
21	46/M	10,000
22	58/M	1,200

성인여자였다. 실험군의 대상은 22명으로서, 제 1 군은 중앙대학교 의과대학 기생충학교실에서 효소표식면역법 (ELISA)으로 optical density(이하 O.D라함)가 0.25이상인 폐흡충증의 현증으로 판단된 10명과, 0.25 미만으로 폐흡충증의 현증이 아닌 것으로 판단된 2명이였다(Table 2). 제 2 군은 경남 합천군에서 간흡충충란(eggs per gram: 이하 E.P.G라함)이 발견된 10명의 간흡충증 환자였다(Table 3).

각 실험 혈청은 56°C에서 30분간 비동화(inactivation)시켰고, -20°C로 동결 시킨 후 필요할 때 실온에

서 녹혀 검사 하였다.

## 2. 항 원

폐흡충과 간흡충 항원은 상품화(누십자)된 피내반응용 항원이었다. 이들 항원은 V.B.S.(veronal buffered saline)항원으로서 sulfosalicylic acid를 사용하여 분광광도계로 측정된 단백질 정량결과, 폐흡충 항원은 0.12 mg/ml이었고, 간흡충 항원은 0.10mg/ml이었다.

## 3. 회석액

사용한 회석액은 pH 7.2의 phosphate buffer saline 이었다(이하 PBS-7.2라 함).

## 4. 혈 구

O형 Rho(D)인 사람의 적혈구를 사용했다. 이들 혈구는 육안적으로 용혈이 없었으며, 채혈후 1일과 2일 사이의 ACD(acid citrate dextrose)항응고제가 들어 있는 혈액백에서 채취하였다.

## 5. Tannic acid

Tannic acid의 stock solution은 100mg의 tannic acid를 100ml의 증류수에 타서 1:1,000의 농도로 제조하였다. Stock solution은 냉장고에 보관하였으며 육안적으로 침전물이 생기지 않은 것을 확인하 후 사용하였다.

## 6. Microtiter plates

사용한 microtiter plate는 Flow Lab의 Titertek® U형 plate와 U형과 비교하기 위한 V형 plate였다.

**실험방법**

폐흡충 혹은 간흡충 항원으로 적혈구에 감작시키는 방법은 Kessel(1965) 등의 방법을 사용하여 다음과 같이 행하였다.

① O형인 사람의 적혈구를 PBS-7.2로 5차례 세척한 후 3% 적혈구 부유액을 만들었다. 적혈구를 세척하는 동안, tannic acid의 stock solution으로부터 1:10,000, 1:20,000, 1:40,000, 1:80,000, 1:100,000의 각 농도로 tannic acid를 제조하였고 4°C냉장고에 보관하였다.

② 2ml의 3% 적혈구 부유액을 2ml의 희석된 tannic acid에 가하여 4°C에서 15분간 incubation시켰고, 5분 간격으로 잘 섞어 주었다. Tannic acid로 세척한 적혈구를 처리(tanning reaction)한 후 PBS-7.2로 2차례 세척하고, 2ml의 생리식염수에 부유시킨 후, 2ml의 폐흡충 혹은 간흡충 항원이 들어 있는 시험관에 넣어, 37°C 온수조에서 15분간 incubation시켰다. 이때 5분 간격으로 잘 섞어 주었다.

③ 원침후 PBS-7.2로 세척하여 2%의 페포 부유액 3ml을 만들었다.

④ Microtiter plate의 well에 PBS-7.2로 희석한 실험 혈청(1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, ………)을 25 $\mu$ 씩 분주한 후, 각 well에 항원(폐흡충 혹은 간흡충)으로 감작된 2% 페포 부유액 25 $\mu$ 를 가한 후 tray mixer에서 잘 섞고, 뚜껑을 덮어 2시간 실온에 둔 후 판독 기록

하였다. 다시 centrifuge carrier에다 위에서 실험한 microtiter plate를 올려 놓고 260g에서 15초 원침시킨 후, 약 70°경사가 진 판독관위에 놓고 5분후에 판독하였다. 적혈구 응집이 거칠게 덩어리를 이루어 70°의 경사에도 흐르지 않는 경우에는 양성으로 판정 하였으며 적혈구의 응집이 일어나지 않고 적혈구가 경사를 따라 균등하게 아래로 흐르는 양상을 보이는 경우에는 음성으로 판정하였다(Barbara, 1979; 김등, 1982).

**결 과**

**1. Tannic acid에 의한 용혈 관찰**

간접혈구응집법의 시약 제조 과정에서 적혈구를 tannic acid로 처리하면 흔히 용혈이 일어날 수 있다는 Onkel inx(1965) 등의 보고에 따라, tannic acid를 1:10,000, 1:20,000, 1:40,000, 1:80,000, 1:100,000의 5가지 농도를 만들었고, 용혈이 없는 적정 tannic acid의 농도를 결정하였다. Tannic acid로 적혈구를 처리한 후 희석액(PBS-7.2)으로 세척하기 전과 후의 양상은 Table 4와 같다.

서로 다른 사람의 O형 적혈구(A, B, C, D)에 tannic acid를 처리한 결과, PBS-7.2로 세척하기 전과 후에서 용혈현상이 전혀 관찰되지 않은 tannic acid의 농도는 1:100,000이었다.

**Table 4.** Observation of hemolysis after tanning reaction.

1) Before washing with diluent(PBS-7.2).

Human red blood cells	Concentration of tannic acid				
	1:10,000	1:20,000	1:40,000	1:80,000	1:100,000
A		+			
B	##				
C		##		##	
D	+		+		

Degree of hemolysis: +: slight hemolysis ##: complete hemolysis

2) After washing with diluent(PBS-7.2)

Human red blood cells	Concentration of tannic acid				
	1:10,000	1:20,000	1:40,000	1:80,000	1:100,000
A		+			
B	N.T				
C		N.T		N.T	
D	+		+		

N.T: not tested because of previous complete hemolysis

2. 적혈구 감각의 적정 항원농도 결정

용혈이 관찰되지 않은 1:1000,000의 tannic acid로서 적혈구를 처리한 후, 4가지 농도(1:1, 1:2, 1:5, 1:10)로 희석한 간흡충 항원으로 감각시켜 간흡충증이 확인된 두 환자(A, B)의 혈청과 반응하여 보았다.

A환자는 4가지의 농도 전부에서 1:512로, B환자는 4가지의 농도 전부에서 1:1024의 높은 항체가를 보였다(Table 5). 두 환자 모두에서 가장 확실한 혈구 응집 양상을 보인 것은 1:2로 희석한 항원 농도였다.

3. U형 microtiter plate와 V형 microtiter plate의 비교

혈구응집법에 사용되고 있는 U형과 V형 microtiter plate의 차이를 알아 보기 위하여 3명(A, B, C)의 공혈자로 부터 분리된 혈청 및 혈청대신 희석액(PBS-7.2)을 사용한 음성 대조에 대하여 두 microtiter plate에서의 항체가를 비교하였다. Table 6과 같이 U형과 V형과의 결과는 차이가 없었다.

4. 정상 대조군에서 폐흡충과 간흡충 항체가

정상 대조군 8명에서 폐흡충 항체가는 1:4 또는 그 이하이었고, 간흡충 항체가는 1:8을 보인 1예를 제외하고는 전부가 1:4 또는 그 이하를 보였다(Table 7).

5. 폐흡충 감염 혈청의 항체가

Micro-ELISA법으로 optical density가 결정된 폐흡충 감염 12예의 혈청으로 간접혈구응집반응을 시행한 결과는 Table 8과 같다. 12예 전부에서 1:8이상의 항체

Table 5. Optimal antigen concentration necessary to sensitize red blood cells.

Concentration of antigen	Titers of sera from two clonorchiasis	
	A	B
1:1	1:512	1:1,024
1:2	1:512	1:1,024
1:5	1:512	1:1,024
1:10	1:512	1:1,024

Table 6. Comparison with U and V microtiter plate.

Donors	Titers of serum	
	U Plate	V Plate
A	1:4	1:4
B	1:2	1:2
C	1:8	1:8
Diluent control	0	0

Table 7. Antibody titers in healthy control group

Case No.	Titers by indirect hemagglutination	
	P.w	C.s
1	1:2	1:2
2	1:2	1:2
3	1:2	1:4
4	1:4	1:4
5	1:2	1:2
6	1:4	1:4
7	1:4	1:4
8	1:4	1:8
Diluent control	0	0

Table 8. Antibody titers in paragonimiasis patients(Group I)

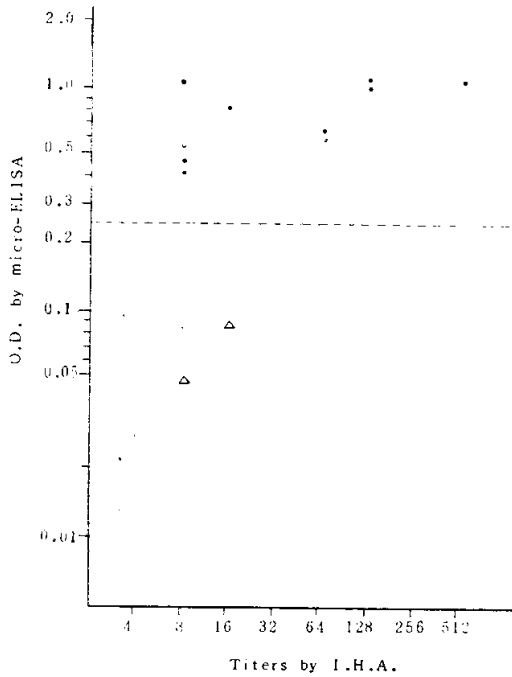
Case No	O.D by micro-ELISA	Titers by I. H. A.
1	1.2	1:128
2	1.0	1:128
3	1.2	1:512
4	0.47	1:8
5	0.40	1:8
6	0.83	1:16
7	0.60	1:64
8	0.67	1:64
9	0.57	1:8
10	1.2	1:8
11	0.05	1:8
12	0.09	1:16

가를 보여, 건강 대조군에서 보여 준 최대 항체가인 1:4보다 모두 높은 항체가를 나타냈다.

Micro-ELISA법으로 O.D가 0.25이상인 환자에서는 모두가 1:8이상의 항체가를 보였고 O.D가 0.25미만인 경우에는 정상 대조군의 최대 항체가인 1:4보다는 높으나, 1:8과 1:16으로 비교적 낮은 항체가를 나타내었다. O.D가 0.25 이상인 군(group)에서는 O.D와 간접혈구응집법에 의한 항체가 사이에 상관성이 없음을 알 수 있었다(Fig. 1).

6. 간흡충 감염 혈청의 항체가

간흡충 증란이 발견된 10예의 간흡충 감염 환자에서 혈청을 분리하여 간접혈구응집반응을 시행한 결과는 Table 9와 같다. 10예 전부에서 1:16이상의 항체가를 보여 건강 대조군에서 보여준 최대 항체가인 1:8보다



• ; O.D. ≥ 0.25 by micro-ELISA  
 △ ; O.D. < 0.25 by micro-ELISA

Fig. 1. O.D. by micro-ELISA and antibody titers by I.H.A. in paragonimiasis.

Table 9. Antibody titers in clonorchiasis patients(Group II).

Case No	Eggs per gram (E.P.G) of feces	Titers by I.H.A.
13	4,800	1:256
14	4,500	1:65
15	1,500	1:32
16	1,000	1:256
17	5,800	1:64
18	2,200	1:128
19	1,000	1:128
20	200	1:128
21	10,000	1:32
22	1,200	1:16

전부 높은 항체가를 나타냈다.

간접혈구응집법에 의한 항체가와 간흡충 총란 수와는 상관성이 없음을 알 수 있었다(Fig. 2).

7. 교차반응의 관찰

폐흡충과 간흡충 사이에 교차반응이 있는 가를 알아

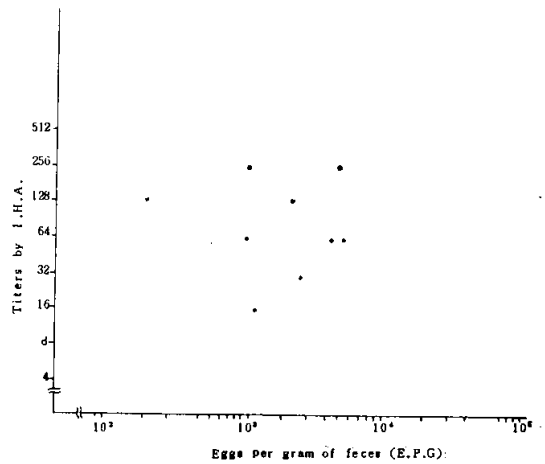


Fig. 2. Antibody titers by I.H.A. in clonorchiasis by E.P.G.

Table 10. Titers of C.s-IHA test against sera from P.w-IHA test

Case No.	O.D by micro-ELISA	Titers by I.H.A	
		P.w	C.s
1	1.2	1:128	1:32
2	1.0	1:128	1:64
3	1.2	1:512	1:32
4	0.47	1:8	1:128
5	0.40	1:8	1:128
6	0.83	1:16	1:256
7	0.60	1:64	1:4
8	0.67	1:64	1:4
9	0.57	1:8	1:32
10	1.2	1:8	1:16
11	0.05	1:8	1:64
12	0.09	1:16	1:8

보기 위하여 폐흡충증 12예에 대한 간접혈구응집반응의 결과를 얻은 후 이들 혈청으로 간흡충 간접혈구응집법을 시행했고(Table 10), 간흡충의 총란이 발견된 환자의 혈청에서 간흡충 간접혈구응집반응의 결과를 얻은 후 이들 혈청으로 폐흡충 간접혈구응집법을 시행했다(Table 11).

Table 10과 11의 결과로 간접혈구응집법에 의한 간흡충과 폐흡충 사이에는 교차반응이 있음을 관찰하였다.

**Table 11.** Titers of *P.w*-IHA test against sera from *C.s*-IHA test

Case No.	Eggs per gram (E.P.G) of feces	Titers by I.H.A.	
		<i>C.s</i>	<i>P.w</i>
13	4,800	1:256	1:256
14	4,500	1:64	1:64
15	1,500	1:32	1:16
16	1,000	1:256	1:8
17	5,800	1:64	1:8
18	2,200	1:128	1:16
19	1,000	1:128	1:16
20	200	1:128	1:16
21	10,000	1:32	1:16
22	1,200	1:16	1:8

고 찰

간접혈구응집법은 Boyden(1951)에 의해 소개된 이후 여러 세균(Sequeira, 1973; Luger, 1981), 바이러스(Takahashi, 1977; Chung, 1981), 진균(Tonder, 1974), 기생충(Kessel, 1965; Fujita, 1969; Aljeboori, 1970; Farshy, 1974; Krupp, 1974; Rydzewski, 1975; Enayat, 1977) 등(Lewis, 1972)에 의한 감염 질환에서 면역학적 검사방법으로 널리 이용되고 있으며, 최근에는 자동화(Chung, 1981; Luger, 1981)가 될 정도로 임상 검사실에서의 그 유용도는 크다 하겠다.

간접혈구응집법은 적혈구를 stabilizing agent로 처리한 후 원하는 항원을 흡착시켜 혈청내 항체를 발견하는 방법이다(Ling, 1961; Onkelinx, 1969; Sanderson, 1971). 흡착제로는 tannic acid와 bivalent reagent인 bis-diazotized benzidine, 1,3 difluoro-4,6-dinitrobenzene, tolylene-2,4-diiso cyanate, 1-ethyl-3(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide 등이 있으나 이들 시약의 단점은 흔히 용혈을 일으키어 결과적으로 판독에 방해하는 것이 지적되고 있다(Onkelinx, 1969). 기생충 질환의 간접혈구응집법으로는 tannic acid(Kessel, 1965; Aljeboori, 1970; Krupp, 1974; Farshy, 1974; Enayat, 1977)가 가장 많이 쓰이고 있어 본 실험도 tannic acid를 이용한 Kessel(1965) 등의 방법을 따랐다. 본 실험에서도 tannic acid에 의한 용혈현상이 관찰되었으나 여러 농도의 tannic acid를 비교한 결과 1:100,000에선 용혈이 없어, 폐흡충과 간흡충의 간접혈구응집법에 사용해야 할 tannic acid의 농도는 1:100,000으로 판정되

었다. Boyden(1951)은 보체의 존재시 tannic acid로 처리한 적혈구는 용혈이 생길 수 있다 했으며, 이러한 이유로 tannic acid를 사용하는 간접혈구응집법에선 보체를 비동화 시키기 위하여 56°C에서 30분간 혈청을 incubation시킨다(Kessel, 1965; Aljeboori, 1970).

본 실험에서 폐흡충과 간흡충의 교차반응이 있음이 관찰되었다. 이는 폐흡충과 간흡충의 동시감염에 의해서 생길 수 있겠고, 공동항원성에 의한 것이거나 아니면 항원성이 유사하여 이러한 교차반응이 있을 수 있다고 생각되지만(崔등, 1976; 任, 1983) 확인할 수는 없었다. 폐흡충과 간흡충의 교차반응은 피내반응에서는 물론 다른 여러 면역학적 검사에서도 관찰된다(崔등, 1975; 李등, 1981; Sadun, 1959).

任(1983)은 TIA(thin layer immunoassay)법에서 대변내 간흡충 총란수(E.P.G.)와 말초 혈액중 호산구수(eosinophil count)는 항체가와 상관이 없다고 보고 하였는데 이는 본 실험의 결과와 일치되는 소견이었다.

피내반응검사는 본 실험의 재료에서 보여 주듯이 폐흡충증으로 확진된 환자에서도 의음성(false negative)을 보였고, 치료후 현증이 아닌 2예 모두에서 폐흡충과 간흡충 피내반응검사 양성을 보였다. 간접혈구응집법을 사용한 본 실험에서 폐흡충증과 간흡충증 환자에서는 모두가 정상군의 최고역가(폐흡충 1:4, 간흡충 1:8)보다 높은 항체를 보여 간접혈구응집법은 매우 감수성이 높으나 특이성은 낮은 검사법으로 판정되어 이들 흡충에 의한 감염의 유무를 판정하는 데는 크게 도움이 되나 현증환자를 발견할수있는 특이성이 높은 방법로서는 좀더 연구가 필요하다고 생각된다.

任(1983)은 항원의 재료인 흡충의 발육시기가 있고, 그 시기에 따른 항원성이 다르므로 항원 제조법에 따라 그 결과도 다를 것이라 하였다. 좀더 감수성과 특이성이 높은 간접혈구응집법이 되기 위해서는 잘 정제된 단백질 항원이나 특이항원을 개발하는 것도 필요하다고 생각된다.

본 실험을 통하여 간접 혈구응집법은 감수성이 높은 결과를 나타냈으며, 특수 검사장비 없이도 검사할수 있어 경제적이며 검사방법이 간단하며 빨리 결과를 얻을수 있고 또한 본 실험재료에서 보여준 피내반응의 의음성이 관찰되지 않아 폐흡충증과 간흡충증의 역학적 조사나 집단검사에서 screening검사로 좋은 방법이라 생각되었다.

(본 연구를 위하여 물심양면으로 큰 도움을 주신 중앙대학교 의과대학 기생충학교실 조승열교수님께 감사드립니다.)

### 결 론

Tannic acid를 사용한 간접혈구응집법을 사용하여 폐흡충증과 간흡충증의 면역진단법으로서, 그 효용성을 알고자 시도한 본 실험을 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 용혈이 관찰되지 않은 tannic acid의 적정농도는 1:100,000이었고, 적정 항원농도는 원액의 1:2희석 농도였다.
2. 정상 대조군에서 폐흡충의 항체가는 1:4 또는 그 이하였고, 간흡충의 항체가는 1:8을 보인 1예를 제외하고는 1:4 또는 그 이하였다.
3. 실험군의 폐흡충증 환자에선 모두가 1:8이상의 항체를 나타냈으며, 간흡충증 환자에선 모두 1:16이상의 항체를 나타내었다.
4. 폐흡충증과 간흡충증의 진단법으로 간접혈구응집법은 감수성이 높은 검사법으로 판정되었으나 교차반응이 관찰되었다.
5. 간접혈구응집법은 감수성이 높고 비용이 적게 들며 간단하며 빨리 결과를 얻을 수 있으므로 폐흡충증과 간흡충증의 역학적 조사나 집단검사시 screening검사로 좋은 방법으로 생각된다.

### —ABSTRACT—

#### Diagnostic Studies on the Paragonimiasis and Clonorchiasis by Indirect Hemagglutination test

Dae Won Kim\*, Choong Ik Cha\*\*, Sa Sun Cho\*\*, Sang Ho Baik\*\*, Ka Young Chang\*\*

Department of Clinical Pathology\*  
College of Medicine, Korea University  
Department of Anatomy\*\*, College of Medicine  
Seoul National University

Indirect hemagglutination test using tannic acid was performed to know the efficiency as a serodiagnostic tool in paragonimiasis and clonorchiasis patients.

The results of the study are summarized as follows:

1. The optimal concentration of tannic acid without hemolysis was 1:100,000 and optimal concentration of antigen was 1:2 dilution.
2. In healthy control group, antibody titers of Pa-

ragonimus and Clonorchis showed less than 1:4 and 1:8 respectively.

3. Antibody titers were more than 1:8 in Paragonimiasis patients and more than 1:16 in clonorchiasis patients.

4. Indirect hemagglutination test showed high sensitivity in detecting the paragonimiasis and clonorchiasis.

5. There was cross reaction between paragonimiasis and clonorchiasis.

6. It was considered that indirect hemagglutination test is useful for the screening test of Paragonimiasis and clonorchiasis due to its high sensitivity, simple rapid processes and low cost.

### REFERENCES

- 김경동, 조한익, 김진규, 박명희, 김상인: *Spinned Reverse Passive Haemagglutination(S-RPHA)*법에 의한 HBs Ag검사. 임상병리와 정도관리: 4(1):29, 1982.
- 金貞順: 肺吸蟲症診斷을 위한 咯痰 및 糞便檢査에 의한 蟲卵檢出率의 비교와 反復咯痰檢査時의 蟲卵檢出率. 기생충학잡지, 8(1):22, 1970.
- 金貞順·朴性淳: 肺吸蟲症診斷에 있어서의 皮內反應檢査와 *Petri Dish*를 이용한 直接檢鏡方法 및 複數咯痰檢査의 價値. 기생충학잡지, 12(2):119, 1974.
- 柳載植: 肺디스토마의 皮內反應에 관한 研究補遺. 카톨릭대학의학부 논문집, 8:231, 1964.
- 李重根, 閔得映, 任敬一, 李根泰, 蘇鎮璋: 肝吸蟲 감염診斷을 위한 *ELISA*법의 효용성에 관한 연구. 연세의대 논문집, 14:133, 1981.
- 任敬一: 肝吸蟲에 對한 抗體檢出을 위한 *Thin Layer Immunoassy(TIA)*. 기생충학잡지, 21(1):1, 1983.
- 조승열: 효소면역진단법(*ELISA*)를 이용한 폐디스토마증의 면역진단. 기생충학잡지, 19(2):151, 1981.
- 朱一: 디스토마의 診斷用 皮內反應. 종합의학, 4:477, 1959.
- 崔源永·李元求·李玉蘭: 間接螢光抗體法에 의한 肺디스토마症의 診斷法 研究. 기생충학잡지, 13(2):152, 1975.
- 崔源永·李玉蘭: 血清反應에 의한 吸蟲類의 宿主와 寄生蟲의 相互關係. 기생충학잡지, 14(2):90, 1976.
- 崔源永: 螢光抗體法에 의한 肝디스토마의 診斷法에 관한 研究. 중앙의학, 28:533, 1975.

- 許 浚: 東醫寶鑑, 內景篇, 卷三, 158, 1975. 남산당.
- Aljeboori, T.I. and Ivey, M.H.: *An improved hemagglutination technique for detecting antibody against Toxocara canis. Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, 19: 244, 1970.
- Barbara, J.A., Harrison, P.J., Howell, D.R., Cleghorn, T.E., Dane, D.S., Briggs, M., Cameron, C.H.: *A sensitive single reverse passive haemagglutination test for detecting both HBsAg and anti-HBs. Journal of Clinical Pathology*, 1180, 1970.
- Boyden, S.V.: *The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by anti-protein sera. J. Exp. Med.*, 93:107, 1951.
- Chopra, J.S., Kaur, U., and Mahajan, R.C.: *Cysticerciasis and epilepsy: a clinical and serological study. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, 75:518, 1981.
- Chung, A., Naylor, D.H.: *Detection of Anti-Vaircella-Zoster Virus antibodies in blood donors by automated passive haemagglutination. Vox. Sang.* 41:245, 1981.
- Enayat, M.S., Pezeshki, M.: *The comparison of counterimmunoelectrophoresis with indirect hemagglutination test for detection of antibodies in experimentally infected guinea pigs with Toxocara canis. Journal of Helminthology.* 51:143, 1977.
- Farshy, D.C., Healy, G.B.: *Use of stable, sensitized cells in Indirect Micro homagglutination test for Amebiasis. Appl. Microbiol.*, 11, Jan. 1974.
- Faust, E.C.: *Human Helminthology. 3rd ed. Philadelphia, Lea and Febiger*, 1979.
- Fujita, K., Kamei, K., Fujita, T., Shioiri, K., Nakano., and Tsunematsu, Y.: *Purification of Toxoplasma antigen for hemagglutination tests. Am. J. Trop. Med & Hyg.*, 18:892, 1969.
- Kessel, J.F., Lewis, W.P., Pasquel, C.M. and Turner, J.A.: *Indirect hemogglutination and Complement fixation tests in Amebiasis. Am. J. Trop. Med & Hyg.* 14(4):540, 1965.
- K-upp, I.M.: *Hemagglutination test for the detection of antibodies specific for Ascaris and Toxocara antigens in patients with suspected visceral larva migrans. Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, 23:378, 1974.
- McConnel, J.F.P.: *Remarks on the anatomical and pathological relations of a new species of liver fluke. Lancet*, 11:271, 1875.
- Lewis, V.J., Thacker, W.L. and Engelman, H.M.: *Indirect hemagglutination test for Chlamydidibodies. Applied Microbiology.* 24:22, 1972.
- Ling, N.R.: *The attachment of proteins to Aldehyde-Tanned cells. Brit. J. Haemat.* 7:499, 1961.
- Looss, A.: *On some parasites in the museum of the School of Tropical Medicine, Liverpool. Ann. Trop. Med. Parasit.*, 1:123, 1907.
- Luger, A., Schmidt, B.L., Spendlingwimmer, I. and Steyrer, K.: *Specificity of the Treponemal pallidum haemagglutination test. Brit. J. Vener. Dis.*, 57: 178, 1981.
- Onkelinelinx, E., Meuldermans, W., Joniau, M. and Lontie, R.: *Glutaraldehyde as a coupling reagents in passive hemagglutination. Immunology*, 16:35, 1969.
- Rydzewski, A.K., Chisholm, E.S., and Kagan, I.G.: *Comparison of serologic tests for human cysticercosis by Indirect hemagglutination, Indirect immunofluorescent antibody and Agar gel precipitin tests. J. Parasitol.* 61:154, 1975.
- Sadun, E.H., Walton, B.C., Buck, A.A. and Lee, B.K.: *The use of purified antigens in the diagnosis of Clonorchiasis sinensis by of Intradermal and Complement fixation tests. J. Parasitol.*: 45:129, 1959.
- Sanderson, C.J.: *The detection of antibody and demonstration of immunoglobulin class, with particles and indicator Red cells. Immunology.* 21:719, 1971.
- Sequeira, P.J.L., Eldridge, A.: *Treponemal hemagglutination test. Brit. J. Vener. Dis.*, 49:242, 1973.
- Takahashi, K., Fukuda, M., Baba, K., Imai, M., Miyakawa, Y.: and Mayumi, K.: *Determination of Antigen and Antibody to e by means of passive hemagglutination method. The Journal of Immunology.* 119:1556, Nov, 1977.
- Tonder, O., and RÖDSAETHER, M.: *Indirect haemagglutination for demonstration of antibodies to Aspergillus Fumigatus Acta. Path. Microbiol. Scand. Sect. B.* 82:871, 1974.
- Yogore, M.G., Lowert, R.M. and Madraso, E.D.: *Immunodiffusion studies on paragonimiasis. Am. J. Trop. Med & Hyg.*, 14(4):586, 1965.