

日本熱帯医学会雑誌

Japanese Journal of Tropical Medicine and Hygiene

第11巻 第2号

昭和58年6月15日

内 容

第24回日本熱帯医学会総会講演抄録

目 次	89-93
シンポジウム ハブの生態研究と駆除対策	94-97
マラリアの基礎的研究	98-102
パネルディスカッション 海外在留邦人の健康管理	103-109
ラウンドテーブルディスカッション ハブ毒作用における各毒性因子の役割	110-114
一般講演	115-137
英文抄録	139-201

会 報

昭和53, 54年度決算・昭和55, 56年度予算	202-203
昭和56年度役員会・会務総会記録	203-206
昭和57年度役員会・会務総会記録	206-210
第10回国際生気象学会議	210
日産科学振興財団研究助成	210
American Board of Tropical Medicineのアナウンスメント	211
会 則	212-215
投稿規定	

第24回日本熱帯医学会総会講演抄録

期 日： 昭和57年10月1日（金），2日（土），3日（日）
会 場： 群馬県立東毛少年自然の家
会 長： 日本蛇族学術研究所長 沢井 芳男

目 次

シンポジウム

I ハブの生態研究と駆除対策

司会 田中 寛 （東大・医科研・寄生虫）

- 1 ハブの生態研究と駆除対策
田中 寛 （東大・医科研・寄生虫）
- 2 電波追跡によるハブの行動研究
和田 芳武 （東京女子医大・寄生虫）
- 3 ハブ生息の地域分布について
吉田 朝啓 （沖縄県公害衛研）
赤嶺 博行 （沖縄公衛協会）
- 4 水納島におけるハブの生態研究と駆除
勝連 盛輝，吉田 朝啓
（沖縄県公害衛研）
- 5 電気柵を用いたハブの侵入防止
林 良博 （東大・医科研・寄生虫）
- 6 奄美群島におけるハブ駆除対策
三島 章義 （獨協医大・医動物）

II マラリアの基礎的研究

司会 中林 敏夫 （阪大・微研・原虫）

神田 鍊蔵
（聖マリアンナ医大・病害動物）

- 1 マラリア感染赤血球のカルシウム代謝
田辺 和裕 （阪市大・医・医動物）
R. B. Mikkelsen, D. F. H. Wallach
（Tufts New England Medical Center）
- 2 ワクチン開発をめざしたマラリア免疫学の研究

鈴木 守 （群馬大・医・寄生虫）

- 3 マラリアにおける重症化と凝固異常について
天野 博之 （天理病院・海外医療科）
- 4 東アジア地域におけるマラリア媒介者の進
化学的見解
神田 鍊蔵，高井 憲治，小川 賢一
（聖マリアンナ医大・病害動物）
- 5 2・3の酵素の電気泳動像より見たハマダ
ラカ
塚本 増久 （産業医大・医動物）
- 6 殺虫剤抵抗性のメカニズム
宮本 純之，小木曾重文
（住友化学・農業研）

パネルディスカッション

海外在留邦人の健康管理

司会 藤田紘一郎 （長崎大・医・医動物）

司会のことば 藤田紘一郎
（長崎大・医・医動物）

- 1 海外在留邦人の罹患している疾病
（1） マラリア
海老沢 功 （東邦大・医・公衆衛生）
- 2 海外在留邦人の罹患している疾病
（2） 肝炎
小幡 裕
（東京女子医大・消化器病センター内科）
- 3 海外在留邦人の罹患している疾病
（3） その他の寄生虫病及び熱帯病
谷 莊吉，小原 博
（金沢医大・医動物）

- 4 海外在留邦人の寄生虫感染率と飲料水汚染との相関
藤田紘一郎 (長崎大・医・医動物)
- 5 海外在留邦人の巡回健診とその問題点
松本 慶蔵 (長崎大・熱帯医研・内科)
- 6 海外プラント建設現場における医療対策とその問題点
中村 正樹, 井上 宏之, 澤田 幸雄,
下山 孝 (兵庫医大・第四内科)
- 7 総合商社(三井物産)海外勤務者の健康管理対策とその問題点
増山 幸男 (三井物産・人事部診療所)
- 8 海外在留邦人の罹患状況と健康管理上の問題点
渡辺 榮 (上野原町立病院)
- 9 海外在留邦人の健康管理
小西 芳三 (外務省・領事第一課)

ラウンドテーブルディスカッション

ハブ毒作用における各毒性因子の役割

司会 沢井 芳男 (日本蛇族学術研)
司会のことば 沢井 芳男
(日本蛇族学術研)

- 1 ハブ咬症の病理
本間 学 (群馬大・医・第一病理)
- 2 プロティナーゼ
前野 弘夫 (山之内製薬・中央研)
- 3 ホスホリパーゼ A₂
木原 大 (鹿児島大・医・第二生理)
- 4 ハブ毒の出血因子
佐藤 保 (予研・細菌第二)
- 5 筋壊死因子
鎮西 弘 (東京医歯大・医動物)
- 6 腫脹因子
山川 雅延, 野崎 真敏
(沖縄県公害衛研・ハブ支所)
- 7 蛋白分解酵素阻害物質 (ISV) がハブ毒の腫脹, 出血及び壊死に及ぼす作用について
徐 正 埧 (韓国・慶北大・応用微生物)

特別発言

倉茂 達徳 (群馬大・医)
杉原 久義 (名城大・薬・微生物)
深見 征治, 小此木 丘 (三共・生物研)

一般講演

- 1 温度順化過程における循環反射について
土屋 勝彦, 大渡 伸, 井元 孝章,
藤原真理子, 小坂 光男
(長崎大・熱帯医研・疫学・環境生理)
- 2 温度適応に関する研究— Habituation について—
小坂 光男, 大渡 伸, 藤原真理子,
土屋 勝彦, 井元 孝章
(長崎大・熱帯医研・疫学・環境生理)
- 3 ケニア産小哺乳動物寄生のシラミ類について
金子 清俊 (愛知医大・寄生虫)
鈴木 博
(長崎大・熱帯医研・ウイルス)
- 4 Microfilarial periodicity における光力学物質説— 夜間出現性仔虫内の Rhodopsin 様物質
榎屋 富一 (福岡市)
真喜志金造 (琉球大・医・内科)
- 5 東アフリカ, モザンビークのフィラリア症について(2)
藤田紘一郎, 小田 力, 森 章夫,
月舘 説子, 上田 正勝
(長崎大・医・医動物)
- 6 西サモア国におけるフィラリア症の疫学— 仔虫保有率及び仔虫密度 (MfD-50) について—
木村 英作
(長崎大・熱帯医研・寄生虫)
- L. Penaia (西サモア国厚生省)
G. F. S. Spears
(ニュージーランド・オタゴ大)
- 7 ハイティ・マラリア対策における殺虫剤散布効果の間接蛍光抗体法による疫学的アセスメント

- 鈴木 守 (群馬大・医・寄生虫)
 V. Jean-François, M. R. Hilaire,
 L. Lafontant Jr. (SNEM, Haiti)
- 8 インドネシアにおけるデングウイルスの分離
 五十嵐 章 (長崎大・熱帯医研・ウイルス)
 藤田 宣哉 (神戸大・医・微生物)
 奥野 良信 (阪大・微研・防疫)
 小田 力 (長崎大・医・医動物)
 船原 芳範 (神戸大・医・生理)
 白幡 聡 (産業医大・小児科)
 池内 春樹 (神戸大・医・小児科)
 堀田 進 (神戸大・国際交流センター)
 Agus Sujahrurahman, Sumarmo Sujidi (インドネシア大・医)
- 9 マウス腹腔マクロファージ培養におけるデングウイルス増殖に及ぼす二・三の生物活性物質の影響
 堀田 博 (神戸大・医・微生物)
 Agus S. Wiharta (インドネシア大・医・微生物)
 堀田 進 (神戸大・国際交流センター)
 辻 守康 (広島大・医・寄生虫)
- 10 中国におけるアカイエカ群の蚊の細胞質不融合性について
 末永 敏 (長崎大・熱帯医研・資料室)
 刘 維 徳, 徐 薇, 繆 建 吾 (中国科学院・上海昆虫研究所)
- 11 日本脳炎ワクチン接種に対する幼児の中和抗体応答
 莊 榮 豊, 奥野 良信, 只野 昌之, 福永 利彦, 深井孝之助 (阪大・微研・防疫)
 山田 明 (阪大・医・小児科)
- 12 熱帯アフリカにおける腸管系ウイルスの生態
 III ポリオウイルスの型内血清学的異同について
 大立目信六 (福島医大・細菌)
- 13 インドネシアにおけるネッタシマカとヒトスジシマカの生態とウイルスの分離
 小田 力 (長崎大・医・医動物)
 五十嵐 章 (長崎大・熱帯医研・ウイルス)
 堀田 進 (神戸大・国際交流センター)
 S. Djakaria, R. Hoedojo (インドネシア大・医・寄生虫)
- 14 ELISA 法によるトキソプラズマ IgG 抗体価測定及び Protein A 処理後 IHA による特異 IgM 検出法に関する研究
 宮崎 昭行, 土橋 賢治, 鈴木 寛, 中島ひとみ, 松本 慶蔵 (長崎大・熱帯医研・臨床)
- 15 細胞性免疫低下を示すフィラリア性乳糜尿管症とトキソプラズマ感染の臨床免疫学的検討
 吉田 俊昭, 山本 眞志, 松本 慶蔵 (長崎大・熱帯医研・内科)
- 16 酵素抗体法 (ELISA) による糸状虫症の免疫血清学的診断の試み
 富里 政秀 (東京医歯大・医動物)
 中島 康雄 (山梨医大・寄生虫)
 野上 貞雄 (東大・医科研・寄生虫)
- 17 *Trypanosoma* の K-DNA 及び N-DNA の *in situ* microfluorometry (第4報)
 猪木 正三 (奈良医大・寄生虫)
 尾崎 文雄 (高知医大)
 古谷 正人 (徳島大・医・寄生虫)
- 18 広東住血線虫症のフルベンダゾールによる治療に関する実験的研究
 牧 純, 柳沢十四男 (北里大・医・寄生虫)
- 19 日本住血吸虫虫卵のリンパ球に対する作用について
 石井 明, 川越千恵子, 八谷 敏子 (宮崎医大・寄生虫)
 芦沢 広三 (宮崎大・農・家畜病理)

- 20 *Toxoplasma* 感染マウス血清を使用した
Toxoplasma の抗原分析
矢野 健一, 中林 敏夫
(阪大・微研・原虫)
- 21 *Babesia rodhaini* 感染によるマウスの垂直
感染の可能性について
高橋 宏昌, 鈴木 直義
(帯広畜産大・獣医・生理)
- 22 *Trypanosoma cruzi* の培養条件による脂質
組成の変化
金田 良雅, 永倉 貢一, 橋 裕司,
合津 都世 (東海大・医・寄生虫)
- 23 わが国に定住を希望するインドシナ難民の
健康状況の解析
山口 直人 (慶大・医・公衆衛生)
浅見 敬三, 竹内 勤, 小林 正規,
三浦左千夫, 河村 康司
(慶大・医・寄生虫)
- 建野 正毅 (大和市立病院)
- 24 大和難民定住促進センター出所後のインド
シナ難民の健康調査
建野 正毅 (大和市立病院)
竹内 勤, 小林 正規, 三浦左千夫,
河村 康司, 浅見 敬三
(慶大・医・寄生虫)
- 山口 直人 (慶大・医・公衆衛生)
- 25 熱帯地方長期滞在日本人の疾病
小原 博, 谷 荘吉
(金沢医大・医動物)
- 海老沢 功 (東邦大・医・公衆衛生)
大利 昌久 (東大・医科研・感染症)
表 光代 (青年海外協力隊)
- 26 インドネシア在留邦人の寄生虫感染率と飲
料水汚染についての経年的観察
藤田紘一郎, 月舘 説子, 黒川 憲次
(長崎大・医・医動物)
- 奥脇 義行 (女子栄養大・微生物)
杉山 雅俊 (順天堂大・医・衛生)
朝倉 健夫 (熱帯医学協会)
- 27 インドネシア共和国北スマトラ州における
腸管寄生虫調査
今井 淳一 (宮崎医大・寄生虫)
O. Simanjuntak (北スマトラ州衛生局)
- 28 中央アフリカ共和国における寄生虫調査
(1981年9月) 特に腸管寄生原虫症の疫学
辻 守康 (広島大・医・寄生虫)
野上 貞雄 (東大・医科研・寄生虫)
畑本 典昭 (広島県公衆衛生課)
熊田 三由, 加藤 桂子, 林 滋生
(予研・寄生虫)
- 29 名古屋市のドブネズミから見出された広東
住血線虫 (*Angiostrongylus cantonensis*) に
ついて
真喜屋 清 (名古屋大・医・医動物)
鬼武 一夫 (名古屋大・医短・生物)
- 30 1972-1981年におけるわが国の輸入マラリ
アの現状
大友 弘士, 日置 敦巳
(岐阜大・医・寄生虫)
- 中林 敏夫 (阪大・微研・原虫)
- 31 新生児期に発症したマラリアの1例
金 光明, 上野山裕己, 吉村 文秀,
富沢 貞造 (甲賀病院・小児科)
中林 敏夫 (阪大・微研・原虫)
- 32 ベトナム難民に見られたアメーバ性肝膿瘍
例
天野 博之 (天理病院・海外医療科)
田畑 隆文 (同・腹部一般外科)
森田 博, 猪木 正三, 荒木 恒治
(奈良医大・寄生虫)
- 33 糞便中のシストからの赤痢アメーバ無菌株
の確立
小林 正規, 竹内 勤, 浅見 敬三
(慶大・医・寄生虫)
- 34 ビルマの感染症 1. 地理と気象条件及び
マラリア
海老沢 功 (東邦大・医・公衆衛生)
- 35 インドネシア各地における飲料水の細菌学
的研究
奥脇 義行, 矢内 寿恵, 豊 経子
(女子栄養大・微生物)
- 藤田紘一郎, 月舘 説子

- (長崎大・医・医動物)
- 杉山 雅俊 (順天堂大・医・衛生)
- 朝倉 健夫 (熱帯医学協会)
- 36 マラウイ共和国におけるコレラと髄膜炎の検査について
鹿住 祐子
(上尾中央総合病院, 青年海外協力隊)
- 赤尾 信吉 (防衛医大・寄生虫)
- 37 ハブの産卵・孵化と性比
木原 大 (鹿児島大・医・第二生理)
- 中本 英一 (奄美ハブセンター)
- 吉岡 満城 (鹿児島大・医・衛生)
- 林 良博 (東大・医科研・寄生虫)
- 38 1981年における奄美大島のハブ咬症の現況について
川村 善治
(日本蛇族学術研・沖縄支所)
- 沢井 芳男 (日本蛇族学術研)
- 39 沖縄県におけるハブ咬症について
新城 安哲, 西村 昌彦
(沖縄県公害衛研・ハブ支所)
- 照屋 寛善 (琉球大・医・保健管理)
- 40 ハプトキソイドの野外接種 (第9報)
福島 英雄, 水上 惟文, 鳥入 佳輝,
鮫島 洋子, 古賀 繁喜, 東 勝観,
川畑 英機, 山下 正策, 香月 恭史,
坂本 宗春
(鹿児島大・医)
- 村田 良介, 松橋 直, 近藤 了,
貞弘 省二 (予研・細菌第二)
- 大井 清, 近藤 久
- (千葉県血清研)
- 41 ハブ抗毒素の抗腫脹作用の研究
山川 雅延, 野崎 真敏
(沖縄県公害衛研・ハブ支所)
- 42 ハブ毒による腎障害に関する研究
(第II報)
原田 隆二, 中島 哲, 上田 博章,
横山 孝一, 水田 敏久, 尾辻 義人
(鹿児島大・医・第二内科)
- 43 精製柿タンニンを用いたハブ蛇毒の血清反応について—間接血球凝集反応—
福重潤一郎, 服部善八郎, 古川加奈子,
小此木 丘 (三共・生物研)
- 44 サキシマハブ毒の出血活性及び致死活性成分の精製に関する研究
山川 雅延, 野崎 真敏
(沖縄県公害衛研・ハブ支所)
- 45 蛇毒の出血因子に作用する微生物由来の阻害物質について
徐 正 埧
(韓国・慶北大・応用微生物)
- 46 ハブ毒に含まれる新しいタイプのプロティナーゼ: 精製と酵素的性質
佐藤 保, 貞弘 省二
(予研・細菌第二)
- 47 蛇毒の酵素化学的研究 (29) タイワンハブ毒中に含まれる数種のアルギニンエステラーゼの性質とその特徴
杉原 久義, 二改 俊章, 二村 敦子,
鬼頭 玲子 (名城大・薬・微生物)

シンポジウム

I ハブの生態研究と駆除対策

1. ハブの生態研究と駆除対策

田中 寛 (東大・医科研・寄生虫)

わが国におけるハブの生態研究はすでに20年以上前から始まっており、高良、木場の単行本はすでに1962年に発表されている。この時代は生物学あるいは博物学的研究が主体をなすが、その後、室内あるいは野外でのハブの行動の研究(田中, 1967)をはじめ、奄美大島では昭和45年度より系統的なグループ研究が始まり、昭和52年度からは沖縄県と奄美群島でハブの駆除法を目標にした生態研究が拡大されて行われるに至った。これらの研究の進展は、我々にとっては当然のことに受け止められているが、毒ヘビ1種について深く生物・生態学的研究の行われたものは世界に類がなく、1980年8月に那覇市で開かれた毒ヘビ咬症の国際セミナーで注目を集めた。

本シンポジウムでは、かなりまとまった研究成果につき、その主たる研究者に発表してもらうが、その他の注目すべき二・三の点を指摘しておく。

ハブの生息密度の測定は、1970年に連続捕獲法で行われ、奄美群島で5匹/ha以下、平均で3.16(田中ら, 1974)とされているが、その後の研究による補正ではその2倍の密度が推定される。ハブ咬症発生と環境の関係の解析で、奄美群島では部落別に咬症発生数をみると、実際に耕作している経営耕地面積と密な関係があった(田中ら, 1978)。この法則は沖縄で成立するとは考えられず、地域毎の検討が必要であろう。ネズミの密度が高い程、ハブ密度は高く(和田ら, 1981)、ネズミの密度低下はハブ密度の低下につながる(池田ら, 1971)という報告があるが、ハブ駆除がネズミの増加につながる可能性があり、相互関係をさらに検討する必要がある。

ハブの誘引効果は、沖縄におけるヒヨコの実験、奄美におけるネズミを入れた捕獲箱を用いた実験

(林ら, 1979)により証明されたが、さらに生理・生態学的な室内検定法を確立し、誘引物質の究明を行う必要があり、将来の最も重要課題であろう。

2 電波追跡によるハブの行動研究

和田 芳武 (東京女子医大・寄生虫)

ハブの行動を電波探知によって追跡するための小型のUHF発信器が開発され(池田ら, 1971)てから、1979年まで徳之島、奄美大島の野外で実験を続けて来た。計45匹のハブを用いたが、内29匹では野外での自発的行動観察を、残りの16匹では砂糖キビ刈取作業中の人間の活動に対する反応を観察した。ハブに発信器を取付けるには、初期は切開手術による植込みを行ったが、中期からは粘着テープで体表に巻き付けた。

自発的行動に関しては、下記の結果が得られた。ハブの活動は明らかに夜間に活発であるが、日中に移動する事もあり、一晩中ほとんど移動しないこともあった。夜間の活動は、通常1-2時間動くといふと1-2時間停止するといった具合で一晩中動き続ける事は極めて稀であった。5-10分毎の観察で見ると、移動速度は最高で3m/分、通常1m/分以下であった。詳細に連続探知が続けられた延15例について、一晩に動いた範囲をカバーする円の直径を取ってみると、雌は6例の平均で30m弱、雄9例で平均44m強であり、雌は狭い範囲内を動き回る事が多く、雄はより直線的に長距離を移動する例がよく見られた。前記の平均値には算入していないが一晩の最大移動距離は直線で320mというのが雄で記録された。またハブは水に入ると移動が速く、行動半径も大きくなる傾向があった。1週間の観察から、一旦好適な日中の隠場所を見つけたハブは、数日間はその場所を中心に動いて居り、あたかも行動圏を持つ様に見えた。観察終了後29匹の内12匹が木の根の下をはじ

め土中の隙間や穴から、11匹が濃密な茂みの中から回収された。

砂糖キビ生産組合によるキビ刈取りの際のハブの反応については以下の通りである。はじめに1-2名がキビ畑に入り、キビの梢頭部切落作業を行うが、この作業は人の移動が速い。この作業者の接近で逃げるハブは2例/10例であり、逆に1-2時間停止した後、動き出したものが6/10であった。この6例は人の速い接近で逃げる前に人が踏越えたため、攻撃姿勢を取って停止していたとも考えられる。キビの切倒作業はかなりの人数でゆっくりと前進するが、この作業者の接近でも2月には3/5が逃げずに発見捕獲された。しかし4月になると、5/6が数m~10m逃げた。結果として2月には1/4が、4月には3/5~5/7と半数以上が刈取中に捕獲されず、畑の外に逃亡した。

3 ハブ生息の地域分布について

吉田 朝啓 (沖縄県公害衛研)
赤嶺 博行 (沖縄公衛協会)

毒蛇問題への対応策として、抗毒素による咬症患者治療体系の確立が優先されているが、根本的な対策としては、ハブと人間の生活圏を人為的に分離して双方の接触を防止することが、またすすめられる。

現在沖縄県では年間200名余の咬症患者が発生しており、そのおよそ70%は農村集落内外及び都市内住宅地周辺での事例で占められている。そこで、都市と農村におけるハブの生息分布を調べる手法を考案し、分布の様相を知るために、那覇市(人口30万人、面積38km²)、西原町(1万6千人、15km²)、佐敷町(1万人、10km²)で実態調査を行った。

那覇市で85,000世帯中8,779世帯(約10%)、西原町で3,824世帯中1,256世帯(約33%)、佐敷町で全2,384世帯を戸別訪問し、居住歴5年以上の成人に対して最近5年以内に目撃した蛇類の種類・場所・年月について聞き取りを行い、脱皮・卵を含む総数でそれぞれ2,265件、439件、455件の目撃頻度を得た。これを地図化した目撃分布図と植物分布図・原色航空写真との照合、現地踏査

によりハブの生息分布を示す現況図が得られたが、その中、那覇市内の孤立したハブ生息地が29区、延面積が185ha、道路によって分断された生息地12区、383ha、他の市町村に連続している部分11区、856haが明示された。この現況図によれば、那覇市で全市域の45.3%を占めるハブ生息地に28,096世帯(32.3%、約100,000人)、西原町では90.9%の生息地に3,190世帯(83.4%、約16,000人)、佐敷町では80.9%の生息地に1,437世帯(60%、約6,000人)が住んでいることになる。

また那覇市内のハブは1,189件中98%は林・草地の辺縁から30m以内で目撃されており、佐敷町、西原町の農業地帯でも95%以上が50m以内で目撃されていて、ハブが草木に大きく依存している傾向がうかがわれた。

さらに那覇市内の2車線道路の夜間(9:00p.m.-5:00a.m.)の交通量から車間距離・車間時間を求めると、最も車の少ない道路で27秒間隔となり、市街地で13m道路(2車線)の両側の住宅地を含む40~50mの距離をハブが横断して他の林・草地に移動する可能性は極めて小さいことが推定された。

一方、典型的な沖縄の農村と思われる佐敷町で、全域に100mの方形区画を設け、目撃頻度と世帯数との関係を見ると、1世帯当たりの目撃率は世帯数の増加につれて減少し、1ha当たり25世帯のほぼ飽和状態でハブの目撃が0に近づくことがわかった。

これらのことから、都市でも農村でもハブの分布は大きく林・草地に依存し、それが住宅地によって包囲された状態では辺縁から僅か50m以内に移動が限られ、さらに単位面積当たりの住宅が増えるに従って生息分布は0に近づく様相が理解できる。また、これらの実態を把握するのに、戸別訪問による分布調査は有用な手段であると判断された。

4 水納島におけるハブの生態研究と駆除

勝連 盛輝, 吉田 朝啓
(沖縄県公害衛研)

ハブ駆除の手法は、人手による直接捕獲の他に、

トラップ、接触殺蛇剤、天敵、ヘビアメーバ、ハブ探索犬などが研究されてきており、現在も進行中である。我々は、環境汚染、生態系の攪乱の可能性の最も少ない方法として、トラップによる除去法により、分布、密度、個体群動態、食物連鎖に関する生態研究と、ハブの完全駆除を目的として、1957年より、沖縄県水納島でハブ駆除実験を行っている。水納島は長径1 km 標高12 m、面積約50 haの小島で約50人の住民が住む。外周をモクマオウとアダンの防風林でおおわれ、中央部は畑と牧草地で一角に約15軒の集落がある。同島にはハブの天敵が生息せず、他の地域ではハブの主要な餌であるネズミ類も生息せず、動物層は比較的単純である。小鳥やトカゲの数は極めて多く、ハブの主要な餌となっている。調査方法は、島全面に50 m 間隔で、185個のトラップを設置し、毎日または隔日点検した。調査は4月-11月まで行ったが、年により異なる。各年の調査日数、1日1畷当たり捕獲数は、1977年—114日・43匹・ 2×10^{-3} 匹、1978年—139日・37匹・ 1.4×10^{-3} 匹、1979年—123日・51匹・ 2.2×10^{-3} 匹、1980年—229日・40匹・ 0.9×10^{-3} 匹、1981年—229日・20匹・ 0.5×10^{-3} 匹と、減少してきている。5年間の捕獲総数は雄96、雌91、不明5の192匹で性比は1:1である。防風林、畑・草地での捕獲が多く、砂浜、住宅地で少ない。畑・草地での昼間のハブ目撃は稀なので、防風林とともにハブの主要な餌場となっていると考えられる。捕獲ハブの全長は75 cm~150.5 cm である。他の地域では200 cm 前後まで成長する事から、同島のハブは小型といえる。また、孵化直後のハブの大きさは30 cm 前後であり、孵化後1・2年はトラップに捕獲されることを示し、幼蛇は誘引餌のヒヨコを捕食しないものと考えられる。香村(1980)の“ハブの実験室内飼育”の飼育下のハブの体長に準じて作成した捕獲ハブの生命表によれば、1977年の同島のハブ数は雄74、雌59、計133となる。1978年は雄74・雌56・計130、1979年雄61・雌46・計105と、ほとんど変化しないが、1980年—雄27・雌24・計56、1981年—雄7・雌16・計23と減少している。トラップによる除去効果が3年間殆ど表

われないのは、幼蛇が捕獲されないことに起因する。実数は自然死やトラップに捕獲されない個体を加えることにより多少増えるが、4年目以後の、推定総数の減少、捕獲効率の低下、また平均体長の低下などから、同島のハブ個体群の縮小は明らかであり、数年以内のハブの完全除去が期待される。

5 電気柵を用いたハブの侵入防止

林 良博 (東大・医科研・寄生虫)

ハブ咬症において注目すべきことは、その大半が家敷内(20%)と耕地内(60%)で発生していることである。一方、奄美大島及び徳之島の家敷・耕地面積は全島面積のそれぞれ5%及び25%にすぎない。このことは林野をハブ駆除の対象から除いても、人家及び耕地のハブ生息数を激減させ、その再侵入を防止することができるならば、咬症数を著しく減少させることができることを示唆するものである。長期的な観点からハブの駆除を行うには、環境整備によるハブの生息適地の撤去がもっとも抜本的方法であることに疑う余地はない。しかし環境整備を進めるに際して2つの問題点がある。第一は面積当たりの費用が高く、短期間に広域で十分な効果をあげることが困難である。第二に、環境整備が時として環境の汚染を招く、あるいは住民にとって生活しづらい人工的な環境を増やすことになる恐れがある。電気柵はこうした問題点を解決するために開発が進められた。室内実験で明らかになったのは以下の2点である。1) 500オームの負荷で波高値480 mA、0.31 mQ、周期約1秒の高電圧パルス電流を用いると、全長平均140 cm のハブは50 cm 以上の高さの柵を越えることができない。2) 電気ショックを受けたハブは、それを記憶するイノシシなどの高等な動物と異なり、何度も柵を越えようと試みた。これは柵が完全に、しかも永続的に設置されない限り、ハブの侵入が起りうることを示唆するものである。一方、奄美大島の手安部落(6.75 ha)に設置した1,000 m の電気柵による野外実験では、設置前の半数以下のハブが柵内で観察されるにとどまった。現在、徳之島の3部落に合計7,000 m 以上の電

電気柵を設置して、本格的な野外実験を行っている。このなかで注目される二・三の点をあげると、1) 管理の簡素化をはかるために電源として太陽電池を用いていること。2) 電氣的なトラブルを減らすために金属製品をさけグラスファイバー製品を多用していること。3) ハブの侵入防止効果にとどまらず、積極的に捕獲するトラップ機能をもつ電気柵を用いている等である。

6 奄美群島におけるハブ駆除対策

三島 章義 (獨協医大・医動物)

奄美群島のハブ生息地では、例年ハブ咬症の55%以上が耕作地で発生しており、これについて人の居住区すなわち集落内が25%前後を占めている。従って奄美群島のハブ咬症を減らすには、住民の日常生活に密接したこれら耕作地帯と集落内におけるハブ咬症の発生を防止することが重要な課題である。

そこで国土庁と鹿児島県は、奄美群島振興開発事業の一環として、昭和52年度から3年間、基礎的なハブ駆除対策調査研究を推進した。調査と実験的研究は、ハブの生態・疫学研究に関係していた研究者を中心にハブ駆除対策研究会を組織し、ハブ駆除に関する基本的なハブの生態や駆除方法の研究開発を行った。

これらの調査研究では、ハブの出現頻度の高い場所や生息状況が明らかにされ、特に集落内では屋敷の境界構造をなす石垣や土手の多い場所が、ハブの出現頻度の高いことが判明した。また電気柵を使ったハブ防除網が、ハブの侵入防止に有効

であり、ネズミをおとりにしたハブ捕獲器の有効性も確認された。

昭和55年度からは、これらの研究成果をもとにして、総合ハブ駆除モデル研究を推進している。本研究は 1) 捕獲器によるハブの誘引捕獲実験と誘引物質の研究開発、2) 電気柵によるハブの侵入防止実験、3) ハブの主要食物であるネズミの駆除実験、4) ハブの生息所となる石垣や土手を撤去し、ブロック塀やコンクリート擁壁に改善する環境整備実験などの4項目について実験を進めている。

55年度は人家の密集した徳之島町手々地区、56年度は人家と耕作地が混在する同町轟木地区を実験区とした。実験は、周辺地域から実験区内へのハブの侵入を防止しながら、その中のハブを駆除し、ハブの生息所となる石垣や土手を撤去改善するという方法をとった。すなわちこのような方法によってハブの生息個体数を減らす努力と、ハブの生息環境を変えることによってその生息密度を下げ、さらに集落内および屋敷内へのハブの再侵入を防止しようとするものである。

これらの実験で、電気柵のハブ侵入防止効果、ハブトラップの捕獲率は人力によるハブ狩りよりも高く、有効であること、ネズミの駆除効果などが実証された。更にハブの生息所を撤去改善することとブロック塀やコンクリート擁壁が、ハブの防除効果に極めて有効であることが証明された。

以上の成績から、ハブ生息地域の集落内ハブ駆除対策を進めるには、これらの方法を広く実施することが最も有効な方策であると考えられる。

II マラリアの基礎的研究

1 マラリア感染赤血球のカルシウム代謝

田辺 和祐 (阪市大・医・医動物)

R. B. Mikkelsen, D. F. H. Wallach

(Tufts New England Medical Center)

マラリア原虫は赤血球内でヘモグロビンを取り込み、それを主なアミノ酸源にしたり、赤血球 NADPH を利用してオキシダント障害の防止をして、うまく赤血球内寄生に適応している。さらに、赤血球内は宿主の免疫監視機構の目は及びにくい。ところが、赤血球膜が各種アミノ酸・糖・無機イオン類などの透過性が限られているので、赤血球内寄生は原虫にとって不都合のように思える。ここで、マラリア原虫による宿主赤血球膜の性状の変化が問題となる。

真核細胞においてはカルシウムイオン (Ca^{2+}) が多くの基本的細胞活動・機能に重要な役割を果す。細胞膜の Ca^{2+} 透過性の変化による Ca^{2+} 濃度のわずかな上昇は数々の細胞障害を引き起こす。赤血球内で Ca^{2+} 量が増加すると赤血球の形態変化・可逆的変形能の低下・陽イオントランスポートの変化・膜蛋白質の変化・膜脂質の過酸化などの異常を引き起こす。マラリア原虫も真核細胞であり、 Ca^{2+} が原虫の生存・発育にとって重要な働きをしているはずである。しかし、原虫は Ca^{2+} 濃度の極めて低い赤血球内という環境に寄生する点が特殊である。このことはただちに、どのようなメカニズムで原虫は Ca^{2+} を細胞外から取り、細胞内 Ca^{2+} 量をコントロールしているのかという疑問を生じる。この点を *Plasmodium chabaudi* 感染 SD ラット赤血球を用いて調べてみた。

原子吸光分析による感染赤血球のカルシウム量の測定、及び $^{45}\text{Ca}^{2+}$ トランスポートの解析から次のような結果が得られた。1) メトリザマイドの比重勾配遠心により得られた感染赤血球では、感染により赤血球カルシウム量は増え、ことにシズント・生殖母細胞期では正常赤血球の10~20倍の増加が見られた。生殖母細胞では機能的なミト

コンドリアが現われてカルシウムを蓄積するからカルシウム量が増加するのであろう。2) 感染赤血球では Ca^{2+} の流入が増加し、流出は減少した。これは Ca^{2+} 透過性が感染赤血球膜において変化していることを示している。3) カルシウムイオノフォアの A23187 を使って正常赤血球に $^{45}\text{Ca}^{2+}$ を取り込ませ、これをトリス・塩化アンモニウムで溶血すると、90%以上の $^{45}\text{Ca}^{2+}$ が赤血球から溶出した。一方、同様な処理を感染赤血球について行くと、10~20%の $^{45}\text{Ca}^{2+}$ が出ただけで、残りは原虫内に含まれたままであった。この結果と、代謝阻害剤を用いた実験結果を考え合わせると、感染赤血球に取り込まれた Ca^{2+} の殆どは原虫内にあることを示している。

一方、 H^{+} -ATP ase の阻害剤の Dicyclohexylcarbodiimide (DCCD)、また H^{+} -イオノフォアの *m*-chlorophenylhydrazine (CCCP) で感染赤血球を処理すると Ca^{2+} の流入が抑えられ、 Ca^{2+} の流出は促進した。これらの結果はマラリア原虫の Ca^{2+} トランスポートは原虫原形質膜のプロトン濃度勾配に依存していることを示唆する。

2 ワクチン開発をめざしたマラリア免疫学の研究

鈴木 守 (群馬大・医・寄生虫)

マラリアのワクチンに関する実験的研究はすでに1910年の早きに *Sergent* によって行われた記録がある。1976年国連の熱帯病特別計画が、マラリア・ワクチン開発を目指す計画をうちだして以来、マラリア・ワクチンに対する関心は、単に実験室レベルでこの種の仕事に従事している研究者にとどまらず、実際のフィールドでマラリア対策を現実にするにすすめている従事者にとっても重要な関心事となった。実用可能なワクチンが開発されたとすると、マラリア対策事業全体にとっても革命的な変化が起こるに違いないからである。現在、マラリアワクチン開発計画の主流は、効果的な防御免疫を生体に誘導する、マラリア原虫の抗原をハイブリドーマ由来単一クローン抗体産生の技法

を使って単離することにあるように見受けられる。生体内に侵入してから後の原虫の各発育段階すなわち、スポロゾイト、赤血球内原虫、生殖母体などについて、すでに単一クローン抗体は得られている。しかしながら一方において少数派ではあるが、マラリア原虫を弱毒化し、生きた原虫そのものを「生ワクチン」として使ってみようとする考えもある。実際のマラリア流行地の観察、さらに実験室内の観察をあわせて考えてみても“premunition”という特殊な免疫状態が、すなわち弱毒化された原虫がごく少数生体内に存在することによって作りだされる免疫が、マラリアに対する生体の防御を形作るという点において、もっとも有効かつ持続性のある効果を生体に賦与することは明らかである。我々はこうした視点にたつて恒久的に弱毒化したマラリア原虫を作り出す研究に現在従事している。研究の発端は、たまたま胸腺欠損動物のマラリア感染の免疫反応を研究している最中に恒久的に弱毒化したマラリア原虫株 *Plasmodium berghei* (NK65 XAT) (以下 XAT 株) を分離したことにある。40Krad という高照射量の X 線により、完全に死滅したはずのマラリア原虫の中から免疫不全動物の中においてのみ増殖ができる原虫が回収された。XAT 株は極度に弱毒化しているため、正常マウス内では増殖しつづけることができず、ヌードマウス内においてのみ従って継代が可能であったが、50回の継代をくり返しても強毒株への逆もどり現象は見られなかった。XAT 株を生ワクチンに見たてて動物に接種したのち、強毒株を注射してみたところ、ワクチンをうたれた11匹中、7匹までが、攻撃に耐えて生存した。コントロール群のマウスは100%の致命率を示した。さらに死亡例について生存日数を比較すると生ワクチン接種グループは23.5日、コントロールグループは9.5日と明らかな差が認められた。ワクチンをうけた動物に特異的な IgG が長期にわたって検出された事より判断して弱毒原虫は長期にわたって生体内に生存しつづけて免疫応答を誘発しつづけているものと考えられた。「生」のワクチン計画の研究推進においては、マラリアの感染に伴う生体の反応を研究することは

不可欠である。我々は、現在マラリアの感染をうけたマウスにつき、特に生体内の T 細胞の動態につき、一連の研究をすすめて以下の所見を得ている。1) マラリア感染に伴って防御的に働く T 細胞と、逆に生体を障害する T 細胞とがでてくる。2) マラリアの感染をうけると胸腺内の T 細胞の大多数は放出され、流血中にて最終的に肝臓に局在するようになる。3) 肝臓を電顕でみると、マラリア原虫をとりこんだ細胞にリンパ球が接触している像がとらえられた。この所見は、感作 T 細胞がマラリア原虫と、それをとりこんだ細胞とを、同時に破壊していることを示唆するものと解釈された。

生ワクチンは、防御上必要な生体の免疫反応を持続的に賦活し、マラリアに対する持続的・効果的な抵抗力を生体に賦与するものと考えられるので、実際のコントロールに応用する上で有望な研究対象と考えられる。

3 マラリアにおける重症化と凝固異常について

天野 博之 (天理病院・海外医療科)

熱帯熱マラリア死亡例の主要病理所見は、各臓器におけるマラリア栓塞とマラリア色素の沈着である。加えて、諸臓器の出血傾向が存在し、DICの合併を疑わしめる。文献的にも、猿の実験、人症例において、病理的に血栓症を証明して、DICと確定診断されたものもある。しかしながら、一般に DIC の病理的診断は困難な場合が多く、むしろ DIC を臨床概念と考え臨床検査所見から診断の方が望ましい。かかる観点からは、自験例に見られたような PTAH 染色による軽微な Fibrin 析出も、DIC による変化の左証と考え得るであろうし、病理所見でマラリア栓塞のみとされる例においてさえ、その臨床検査所見が、DIC の臨床診断基準を満足するであろうと推察出来る。DIC の診断基準には、PLT, Fbg, 及び FDP を使用するが、重症マラリア例で DIC の合併があるとすれば、マラリアにおける PLT の減少を凝固異常に起因すると考えても不思議はない。さすればまた、PLT の変化により、マラリアの重篤化

の時期を知ること可能であろう。熱帯熱マラリアについて自験例に内外の文献に見られる症例を加えて検討するに、合併症を伴う重症例では、DIC の診断基準を満足するものが高率に認められる。さらに合併症のない例にさえ、PLT 減少、FDP 陽性の症例を散見する。Fbg は必ずしも減少しないごとくである。PLT と Parasitemia に関して、合併症のない Semi-immune 群では、相関していなかった。一方、Non-immune の白人群及び日本人群では、5%以上の Parasitemia と 70,000/mm³ 以下の PLT 減少を示す症例は、前者で11/12、後者で7/8と高率であった。但し5%以下の Parasitemia の例の中に重篤な血小板減少例、死亡例が含まれているので、単に Parasitemia の程度のみを重症化の指標にすることは出来ない。臨床病日と Parasitemia との検討では、日本人群で第1病日の平均 Parasitemia は 2,000/mm³ Parasitemia が5%の危険値を上回るのは、6.7日以後と考えられた。病日と血小板減少に関する検討では、血小板は経過と共に徐々に減少するのではなく、ある時期に急速に減少する傾向にあることが判明した。日本人群に於いて、その時期は4-5病日と読み取られた。したがって、この時期は、5%以上の Parasitemia になる以前に存在することになり、重症化への変換点、DIC 関与の出発点とみなすことが出来よう。この結論は、猿の実験によるこれまでの報告に見られる結果と相似するものである。なお、コンゴの熱帯熱マラリア例の検討では、大人例で、子供例に比し、Parasitemia が低いのに血小板が減少している症例が多いという結果であった。これは、免疫を獲得した大人では、獲得していない子供とは異なる因子の関与を考慮する必要を示すものであろう。以上、マラリアの病態生理の基礎的研究には、経過に左右される因子と、複雑に関係しあう因子に考慮を払う必要性を強調した。

4 東アジア地域におけるマラリア媒介者の進化的見解

神田 鍊蔵, 高井 憲治, 小川 賢一
(聖マリアンナ医大・病害動物)

東アジア分布のマラリア媒介者の5種群についてそれら種と関連する各種群内メンバーとの系統発生関係を知るため、進化的見地から形態、集団遺伝、細胞遺伝、そして蛋白体及びアイソザイムの遺伝子座の解析などによる分子遺伝学の立場をとり入れ分類学的に検討をしている。*hyrcanus* 群では *engarensis* が *sinensis* とは、2Rb なる逆位となって固定し、自然界では異型逆位を認めないことと、同所性で生殖的隔離が両者の間に見られることから別種であることを確認した。*lesteri* は *sinensis* とは完全に独立した種であるが、西日本に一部と韓国内陸に、*lesteri* との交配で F₁ の X 染色体のみが対合する集団の存在を認めた。しかも今尚 *Brugia malayi*, 及び三日熱マラリアの媒介者である。*lesteri* は北から沖縄までのものとマレーシアのものと蛋白体構成の相違が見られ形態上のわずかの相違と一致していた。*hyrcanus* 群 7種 *sinensis*, *lesteri*, *crawfordi*, *nitidus*, *nigerrimus*, *argyropus*, *peditaeniatus* の間には相互生殖隔離が見られる。*sinensis*, *lesteri*, *crawfordi*, *nitidus* では染色体相同型で種内多型は少ないが見られた。*sineroides* は *Anopheles koreicus* と同型で、*sinensis* とは X 染色体に異型を示した。

leucosphyrus 種群では *leucosphyrus* s. s. は他のメンバーからは完全に独立種とみなされる。この種群の形態をもつ台湾の1系統、タイの3系統そしてマレー半島の2系統とサバ州の1系統の媒介種7系統相互の遺伝的關係を調べ、相互に不完全な生殖的隔離が見られ、F₁ の多系染色体の対合するものと不对合のものとが見られた。同一種内亜種的關係にあるものと解せられ、アイソザイムの Esterase-1, Octanol dehydrogenase, Malic enzyme, Amylase をアクリルアミドゲル電気泳動法により、Nei の遺伝的隔離を算出したところ、タイ3系統と台湾1系統に同一で、サバ1系統は0.29 マレー半島2系統に1.38を示した。

pyrethoporus 群では *sundaicus* と *subpictus* の交配 F_1 は生存力はあるが雄の妊性がなく生殖的隔離が見られるが F_1 の染色体は対合し遺伝的に近いが、他の *vagus*, *indefinitus* は更に離れた関係を示した。*minimus* 種群のうち、石垣島の *minimus* とタイ、カンチャナブリの *minimus* 2系統との間で形態的に似た KCH-1 は生殖的隔離を認めるが、形態的に多少相違の見られる KCH-2 との間では生殖的隔離が見られなかった。しかし、アイソザイムは KCH-1, KCH-2 の2系統ともに相違が今のところ見られていない。*maculatus* は東南アジアでは8系が分けられているが、タイでは3系を発見し相互に *pgm*, *ldh*, *Malic enzyme* で異なった *alleles* を示し形態的にも相違が見られている。

5 2・3の酵素の電気泳動像より見たハマダラカ

塚本 増久 (産業医大・医動物)

蚊の系統分類については従来主として形態学に基づいて研究が進められ体系づけられてきたが、最近ではそのほかに交雑実験による類縁関係や唾腺染色体のバンドなどによる細胞遺伝学的方法も採用され著しい進歩をとげた。一方、電気泳動法による蛋白質やアイソザイムの研究は、主として同一種内または近縁種間における遺伝子レベルでの相違を蛋白質レベルでの相違として反映させる遺伝生化学的な概念を導入することとなった。今迄多くの研究者によって電気泳動的にアイソザイムの研究が始められてきたが、それらの大部分は殺虫剤抵抗性との関連で進められたためアカイエカ群やネッタシマカなど少数のグループの蚊やエステラーゼに関する論文が最も多かった。従ってハマダラカの系統分類について電気泳動的に検討された研究はそれほど多くない。演者は最近日本及びフィリピンにおいて亜科や族、属、亜属、群、亜種など種々の分類学的レベルの蚊についてポリアクリルアミド5%ゲル平板を用いて泳動を行い、乳酸脱水素酵素 (LDH), ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP), 非特異性エステラーゼ (Est) などの酵素のアイソザイムを比較した。

これらのうち *Anopheles* 亜属のハマダラカは *pinotum*, *lindesayi benguetensis*, *pseudobarbistrois*, *franciscoi*, *vanus*, *peditaeniatus*, *baezai*, *saperoi* 及び *sinensis* の9種類であり、*Cellia* 亜属のハマダラカは *flavistrois*, *balabacensis*, *indefinitus litoralis*, *ludlowae* 及び *stephensi* の6種、合計15種類である。多くの研究者は成虫を用いているが、蛹及び成虫における性別、吸血や卵巣の発達などの体内での生理的・生化学的変化を考慮して演者はすべて終齢期幼虫のホモジネートを遠沈した上清を用いた。蚊の種類や検出する酵素によって著しい個体変異の見られたものもあったが、その範囲を知った上で他種と比較すると、泳動像は種に特異的であるのみでなく、場合によってはグループや属に特徴的な酵素活性バンドの存在が推定された。ハマダラカでは一般に LAP や Est の主要活性バンドが適当な間隔で検出されるため、異なった種類やグループを比較する際の標準マーカーとして利用することも可能である。しかし、亜属やマラリア媒介性と直接結びつけられるような活性バンドは LAP や Est では検出されなかった。LDH の場合には調査できた8種類のハマダラカに関する限り、1本の主要バンドしか検出されなかったが、*Anopheles* 亜属のバンドよりも *Cellia* 亜属の活性バンドのほうが遅く泳動する傾向が見られた。従って、将来もっと多くの蚊でさらに多くの酵素について研究を進めることにより、直接マラリア媒介性や系統分類学的な種々のレベルを反映するような生化学的指標が発見される可能性があることがうかがえる。

6 殺虫剤抵抗性のメカニズム

宮本 純之, 小木曾重文

(住友化学・農業研)

殺虫剤にはシナプスのアセチルコリンエステラーゼ (AChE) を阻害することによって殺虫作用を示す有機リン剤及びカーバメイト剤、神経膜に直接作用し、神経伝達を攪乱・遮断して殺虫作用を示すピレスロイド剤及び有機塩素剤など、種々の作用機構をもつものがある。これら殺虫剤の使用量増大に伴い、害虫が淘汰・選抜を受けた

結果、現在 428 種の衛生害虫及び農業害虫が 1 つまたはそれ以上の殺虫剤に対して抵抗性を示すと報告されている。イエバエ、カなどの薬剤抵抗性昆虫を用いた研究により、抵抗性の主な要因として、1) 代謝分解酵素による解毒の増大、2) 作用点の感受性の低下、3) 皮膚透過性の減少、が明らかにされ、これらの要因の相互作用によって抵抗性レベルが決定されると考えられている。

有機リン剤及びカーバメイト剤抵抗性に関与する代謝分解酵素として、非特異的な酸化酵素 (mixed function oxidases, mfo) の他、グルタチオンS-転移酵素、加水分解酵素などがある。carbaryl 抵抗性イエバエでは mfo による解毒増大が抵抗性の主要因となっているが、piperonyl butoxide などの mfo 阻害剤によって解毒を抑えることができる。一方、malathion 抵抗性 *Anopheles stephensi* ではカルボキシルエステラーゼの活性増大が抵抗性の主要因となっており、トリフェニルリン酸 (TPP) などのエステラーゼ阻害剤で解毒を抑えることができる。有機リン剤及びカーバメイト剤の作用点である AChE の感受性が低下して強い抵抗性を示す例はイエバエ、ハマダラカ、ツマグロヨコバイ、ハダニなどで知られてい

る。parathion または propoxur 抵抗性の *Anopheles albimanus* の AChE は paraoxon, propoxur に対しおのおの 500 倍、15,300 倍の低感受性を示す。

DDT 抵抗性イエバエ、及び *Aedes aegypti* では、DDT を DDE に解毒する DDT 脱塩酸酵素の活性が高くなっており、DDT 抵抗性の一要因と考えられている。ピレスロイド類は昆虫において酸化的及び加水分解的に代謝分解される。しかし、これら代謝分解酵素がピレスロイド抵抗性発現に寄与する程度はあまり大きくない。

Permethrin などのピレスロイド及び DDT に対し 100 倍以上の高い抵抗性を示すイエバエ及び室内系統の *Culex quinquefasciatus* では、作用点である神経膜の感受性が低下している。神経膜の低感受性は Knock down resistance (Kdr) 遺伝子により発現し、ピレスロイド抵抗性の重要な要因であるが、Kdr 遺伝子の存在割合は少ない。

その他、薬剤の皮膚透過性の減少 (pen 因子) による抵抗性がイエバエ、ゴキブリ、*Aedes* sp. で知られている。透過性の減少は多剤抵抗性の原因になると考えられるが、その例は少ない。

パネルディスカッション

海外在留邦人の健康管理

司会のことば

藤田紘一郎 (長崎大・医・医動物)

わが国の経済の高度成長とともに、海外に渡航する日本人は増加の一途をたどり、昨年の海外への旅行者数は400万人を突破した。

また、発展途上国に対するわが国の協力援助も次第に増強され、それら諸国における開発プロジェクトは拡大化の傾向にある。それに伴い、わが国各企業の進出および一般邦人の渡航が著しく増加し、長期間海外に滞在している邦人数は20万人に達している。これらの医療水準の低い地域に在留する邦人の間に、最近、種々の熱帯病や風土病などに感染する例が多数報告されるようになった。

このような状況のもとに、わが国では、厚生省や外務省が中心となり、在留邦人の健康管理について種々の対策がなされてきた。また、(財)日本熱帯医学協会をはじめとする協会や、五大商社会および各民間会社内で、在留邦人の健康を如何に管理するかについて、種々の工夫がなされ実行に移されてきた。しかし、これらの諸策は、現実には、まだまだ不完全で、相変わらず、海外で発病し、犠牲となる邦人が数多く報告されているのが現状である。

本日のパネルディスカッションでは、まず「海外在留邦人がどのような疾患に罹患しているか」その現実を各専門の諸氏に話していただき、次いで、海外在留邦人の健康管理のために現実に実施されている「医療対策とその問題点」について話しをうかがいたいと思う。そして最後に、外務省側から今後の在留邦人の健康管理体制について、将来の抱負を含めて、述べていただく。

最後に、このパネルディスカッションが、在留邦人の健康管理を考える上で、現実的に実りあるものになるよう期待している。

1 海外在留邦人の罹患している疾病

(1) マラリア

海老沢 功 (東邦大・医・公衆衛生)

マラリア流行地に滞在する邦人のマラリア予防と治療に必要なことは、特にその地域の熱帯熱マラリア原虫の薬剤感受性を知ることである。

クロロキン耐性熱帯熱マラリアは西はタイからビルマ、インドまで達し、オセアニアでは西イリアンからパプア・ニューギニアを越えてニューヘブリズ島に達している。アフリカ大陸でもケニア、タンザニア、ナイジェリア等にその徴候が見えて来た。ピリメサミン耐性熱帯熱マラリアはタイとその周辺、アフリカ大陸(ナイジェリア、ケニア、中央アフリカ連邦等)では、かなり広汎な地域に広がっている。

三日熱マラリア原虫のプリマキン感受性もパプア・ニューギニア、カリマンタン、タイ、インド、フィリピン等で感染したものは1日15mg、14日間の内服では完治しない。1日30mg、7日間その他の変法が必要である。

同じく熱帯地方といっても現地の状況をよく知らないと正しい指導ができない。ケニアのナイロビは全くマラリアの心配はないがそこを離れて海岸地方に数日間滞在しただけで頻死の重症になった例、乾期で蚊が全くいなくなり、休業期間中の者が同国の海岸地方湿潤地に出張して罹患する例、あるいは熱帯アフリカの諸国を2日ごとの強行スケジュールで通過して来て死亡した例など、対策を考えるには個人単位でその居住地や旅行地を含めて内服計画を立てなければならない。

発病した場合はマラリア流行地で発症する方が非流行地(日本やヨーロッパ等)で発症するより安全である。流行地ではまずマラリアを疑って治療してもらえるが、非流行地ではマラリアを疑われなかったり、薬剤がないため治療が遅れる危険

があるからである。

マラリア予防に用いた薬剤が流行地のマラリア原虫に有効で、定期的内服の実施により好成績をおさめた1例としてラオスにおける経験にふれた。散在した集団のマラリア対策は、薬剤の入手難なども原因となって実施困難である。

2 海外在留邦人の罹患している疾病(2)肝炎

小幡 裕

(東京女子医大・消化器病センター内科)

ヒト肝炎ウイルスには A 型 (HAV), B 型 (HBV), 及び非 A 非 B 型 (NANBV) などがある。これらのウイルスの世界における蔓延状況について A 型, B 型は明らかにされ、蔓延度の高い熱帯, 亜熱帯地域における在留邦人の肝炎罹患の問題が重視されてきている。今回は海外で罹患した肝炎患者自験例を中心に、疫学及び臨床的事項について報告する。

世界の疫学からみると HAV は HA 抗体陽性率が蔓延度の指標となるが、80%以上の高蔓延国は東南アジア, オセアニア, アフリカ, 中南米などの諸国である。HBV は無症候性 HBsAg キャリアーの頻度から見て、高蔓延国は HAV とほぼ平行しているが一部に HAV に比し蔓延度の低い国も存在している。

過去約7年間に当施設に入院したいわゆる輸入肝炎患者は47例である。ウイルス型の確認は発病2カ月以内の血清中の IgM-anti HA (HAVABM法) 及び HBs Ag (R-PHA法) を検出し、前者陽性を A 型, 後者の一過性陽性を B 型, 両者陰性で EB ウイルスに関連した VCA Ig M 抗体陰性例を NANB 型とした。これによる型別頻度は、A 型 36 例 (76.6%), B 型 7 例 (14.9%), NANB 型 4 例 (8.5%) であり、平均年齢は A 型 29, B 型 37, NANB 型 33 歳である。罹患国は A 型では東南アジア, アフリカに多く、これらは母集団の多い地域に該当する。なお最多発生国はエジプトの 12 例であるが、うち 7 例は endemic に発生している。B 型は東南アジアの一部の地域であり、一方 NANB 型は散在的に発生している。

輸入肝炎の臨床症状は国内散发例と同様である

が、長期滞在罹患者のなかに合併症などによる遷延例が見られ、肝生検組織所見は殆どが定型的急性肝炎像であり、一部に胆汁うっ滞型、慢性肝炎像を示す例が認められた。予後は良好で全例治癒している。

予防及び対策は A 型では fecal-oral 感染のため個人衛生の徹底が重要であり、滞在状況職種に応じ ISG の投与が行われる。B 型は体液を介しての感染であり HBIG は有用であるが、濃厚な個人接触 (性行為など) は避けるべきである。NANB 型は今後の課題である。

3 海外在留邦人の罹患している疾病

(3) その他の寄生虫病及び熱帯病

谷 莊吉, 小原 博

(金沢医大・医動物)

日本人が熱帯地方に滞在する際、現地人の間に流行している熱帯病、風土病などの疾患に対する予防対策が重要なのは当然である。しかし、健康管理上問題となる疾患は、これらの疾患のみではない。渡航前の既往疾患や、現地人の間では必ずしも罹患率は高くないが、抗体を保有しない日本人が、病原体の蔓延している地域に入ることによって罹患する疾患なども極めて重要である。

青年海外協力隊員 1,469 名を対象に実施した調査結果によれば、熱帯地方滞在中に発生し医療を要した疾患の頻度は、急性上気道感染症 107 例、マラリア 101 例、急性肝炎 94 例、交通事故 71 例、慢性下痢症 59 例などとなっている。その他、 Dengue 熱, 性病, 精神病などが高率に発生している。性病, 精神病が実際に報告されることは比較的少ないが、実態はかなりの者が、これらに罹患したり、神経症様の症状を自覚しているようである。成人病, 慢性疾患の悪化または再発例も多く見られており、特に腰痛症, 胃炎, 高血圧, 歯疾患, 鼻疾患にその傾向が強い。

日本人若年者において、A 型肝炎の罹患率は極めて高く、2年間熱帯地方に滞在した後、抗 HA 抗体を測定した結果では、抗体保有率は出国前の 2.7 倍にも増加していた。

2年間熱帯地方に滞在後、帰国時点で実施され

た検査結果（山浦ら，1981）では，寄生虫陽性例は被験者の30.7%を占め，他の異常所見に比べるとかなり頻度が高い。内訳は原虫類ではランブル鞭毛虫が最も多く，被験者の17.3%に達し，次いで，大腸アメーバ2.1%，赤痢アメーバ1.6%となっている。蠕虫類では，鞭虫9.3%，回虫3.7%などが認められている。これらが慢性下痢症の原因となることもあると思われるが，消化管寄生虫感染は罹患率が高いが，一般に軽症または無症状の例が多いようである。住血吸虫症などの経皮感染症は，極めて稀であり，予防知識の普及によりかなり防げるものと考えられる。

消化器感染症以外のいわゆる“熱帯病”としては，マラリア，デング熱などの罹患率が高く，これらの疾患，及び熱帯病一般に関する知識と対策が重要であることはもちろんであるが，肝炎，交通事故，性病，精神病，既往歴のある疾患の悪化もしくは再発例も高率に見られており，日本人が熱帯地方に長期滞在する際には，これらの疾患に対する対策も重要であるといえる。

4 海外在留邦人の寄生虫感染率と飲料水汚染との相関

藤田紘一郎（長崎大・医・医動物）

海外在留邦人のうちで，環境の悪い，いわゆる発展途上国に在留している邦人から，A型肝炎，腸チフス及びアメーバ赤痢などの経口感染症にかかる人が，多数報告されている。

演者らは，これらの経口感染症の重要な感染源が，発展途上国における飲料水にあると考え，世界各地の発展途上国の飲料水を細菌学的及び化学的に調査した。同時に各地で実際にその飲料水を飲んでいる邦人の腸管内寄生虫感染率を調べた。また，小児には別にセロフェンテープ法による蟻虫検査を行った。

その結果，在留邦人の糞便から主として回虫卵が見出され，その他，鞭虫，鉤虫，異形吸虫，無鉤条虫，肝吸虫などの虫卵が検出された。腸管寄生虫感染率はインドネシア在留邦人に最も高く，次いで南西アジア，東アフリカ，中南米などに在留する邦人の順であり，中近東のカタール在留邦

人の場合は全員陰性となった。一方，これらの地域で，在留邦人が飲用している飲料水の水質検査を行うと，多くの検水から大腸菌群が検出された。そして，この検出率と邦人の腸管寄生虫陽性率との間に高い相関（ $r=0.957$ ）が認められた。しかし，寄生虫感染率と飲料水の KMnO_4 消費量との間には相関関係は見出されなかった。また，在留邦人の子供を対象に施行した蟻虫感染の有無は，飲料水の汚染とは全く無関係であった。

以上の事実は，腸管寄生虫と同様に糞便を介して感染される A 型肝炎など重篤な経口感染症の伝播に飲料水が重要な役割を演じていることを意味するものであろう。

今回のパネルディスカッションにおいては，世界各地の発展途上国に在留している邦人の寄生虫感染率と，彼らの飲用している飲料水の汚染度，さらに両者の関係などについて，最近の我々の調査結果に基づいて報告した。

5 海外在留邦人の巡回健診とその問題点

松本 慶蔵

（長崎大・熱帯医研・内科）

私共は1981年，1982年1-2月，2度にわたって東アフリカを中心とする外務省派遣の海外在留邦人の為の巡回健康相談に従事した。巡回国はマダガスカル，タンザニア，ザンビア，ジンバブエ，ザイル，スーダン，エチオピアの7カ国であった。私共はこの巡回健診を通じてこれらの国の在留邦人がかかえている最大の関心事の一つが健康に関するものであることを知り得た。そしてまた実際，在留邦人が罹患した時に，現地での病院，医師の対応がスムーズでなかったり，たとえその国の第一級の病院といえども近代的医療設備を見なれた日本人の目には不安なものに映ることもある。各国別の医療事情に関する正確な情報の重要性について述べたい。

巡回健診で診る在留邦人の疾患分類は軽症のものでは感冒，胃腸炎，皮膚疾患などが多く，日本で診る疾患と大差はない。しかるにアフリカ特有のものとしてエチオピアなど高地国での高山病や，タンザニア，ザイル，スーダンなど低地国共通

のマラリア、ナイル川周辺の住血吸虫症がある。そしてごく一部の国を除いて、経口感染症はたえず在留邦人の健康を脅かしている。私共は地方に入りこんで献身的な活動をしている海外青年協力隊員がすすめられるままに現地の蛋白源である生肉を食べてサナダムシに罹患しているのを数多く見、かかる仕事の困難な一面を痛感した。またハエ、ウジ症で胸腹部に小指が入る位の穴がいくつもあいた邦人の子供が居る国では、洗たく物には下着にいたるまですべてアイロンがけが必要である。以上のことは十分な予備知識があれば予防できる疾患が多いことを示しており、正確な情報を誤解なく在留邦人に伝達することの大切さを教えている。

その他、アフリカ全体でみるとライ病、結核などまだあまり手につけられていない大きな課題が残されている。私共もエチオピアのライ病院を見てこれらの事業の遠大なるを思った。他事ではなく在留邦人の健康を守る意味でもこれらの疾患を素通り出来ないと考えるので、そのことについても触れたい。

6 海外プラント建設現場における医療対策とその問題点

中村 正樹, 井上 宏之, 澤田 幸雄,
下山 孝 (兵庫医大・第四内科)

現在、海外に在住する邦人は商社、プラント企業や政府公官などを含めて約20万人と言われていた。教室では、ここ数年間西アフリカ、北アフリカ及び中近東の、海外プラント建設に従事する日本人の健康管理に協力してきた。今回は、1980年6月から1981年12月までの1年7カ月、西アフリカ、ナイジェリア北部カチナの従業員約120人の現場における診療状況とともに、海外プラント建設現場の医療対策と問題点について述べてみた。

現地における気候状態をみると、10月から翌4月までは乾季と言われ、最低気温は10°C位に落ちこみ、乾季の終り頃になると最高気温が35°C以上になる日も少なくない。湿度変化は、当然のごとく乾季では十数%と低下し、雨期には80%を越す日が多くなる。

疾病発生状況は、延べ人員1,964名の対象者で、感冒を含めた上気道感染症が最も多く218例、次いで下痢を含めた胃腸障害が155例であった。次いで白癬、湿疹などの皮膚疾患が54例となっており、日本で診る疾患と大差はなかった。他に耳・眼異物を含む外傷45例、肩、腰痛26例、淋病18例、マラリア14例、結膜炎9例、肝障害5例、尿路系疾患5例となっている。罹患頻度の高い上気道感染症と胃腸障害は、乾季に発生する頻度が多い。これは、クーラーの使用にも関係が深く、また、労働環境がよくなる乾季には労働時間延長などの要因もあって、体力の消耗が疾患の発生に関係が深いと考えている。

現地の風土病であるマラリアは、乾季、雨季を問わず年間を通じて発生し、全例が熱帯熱マラリアであった。マラリア予防薬の服用者は対象者の2/3程度であったが、服用者と非服用者との間でのマラリア罹患率には有意の差はないようである。しかし、マラリア罹患後の症状は予防薬服用者の方が明らかに軽症で、多くは感冒様症状を訴えるにとどまった。このような感冒様症状を訴えた患者でも血液を塗抹してみるとマラリア原虫が見つかっている。

前述の乾季の労働時間増加と疾患発生増加に関連して肝炎の発生を労働時間や γ -グロブリンの予防注射の有無で検討した成績をのべる。すなわち、同一地区、同一時期に異なる3社の従業員を対象に、 γ -グロブリン予防注射の有無、及び、労働時間の長短により比較してみた。 γ -グロブリンを予防的に注射せず、夜間まで超過勤務で労働時間の長かった会社が、一番多く肝炎が発生した。このことは、海外プラント現場では、労働時間を180~200時間以内とし、陽のあるうちに労働を切り上げて、洗濯も早目に終え、余暇を楽しむ余裕ある生活が疾病の発生や外傷事故の防止につながることを意味している。

次に、重症患者発生時の対処の仕方について述べてみたい。アフリカ諸国においては、専門医師の不足、並びに、現地医療設備の不備のために欧州の病院に重症患者を搬出することを第一と考えている。このために現地で健康管理する医師、看

護人、衛生管理者は、Trance-care 社と契約し、Air-Ambulance への塔乗並びに、英国医師会との連絡が出来るシステムを確保した。しかし、これとても必ずしも充分でなく、諸外国における他のプラントでの重症患者搬出は、それぞれの地域でそれぞれに対策が講じられているものの、まだまだ充分とはいえない点が多いようである。アフリカ諸国における重症患者の搬出手続きとルートを示したが、今後、プラントを始めるときはこの点を特に重視して、予め準備をして頂きたい強く希望しておく。

以上を簡単にまとめると、第1に気候条件、労働条件で疾病発生に差があること、第2に予防薬投与の実施の徹底、第3に現地医師、医療との連絡をとり合い、薬品の購入方法を確立するとともに、第4に重症患者の搬出方法を確立する。第5に日本人医師の現地での医療行為を保障する医師免許制度の確立、第6に外務省派遣の医務官の仕事内容の拡大、すなわち、民間人に対する医療の実施、第7に海外における日本人医療スタッフの充実、第8に最低必要限度の検査器具の設置などを提案したい。

以上、海外プラント建設現場の医療対策と問題点を述べた。

7 総合商社（三井物産）海外勤務者の健康管理対策とその問題点

増山 幸男

（三井物産・人事部診療所）

海外生活では、風俗、習慣、気象条件、衣食住、すべてにわたり日本のそれと異なる。そこで海外生活の実態を知った上で、海外勤務者の人選、健康管理の施策が立てられ、最終的には、現地の環境に適應するために、自分の健康は自分で守る自己管理が肝要となる。

赴任前の留意点として、環境の変化に弾力的に対応出来る海外医療の知識についての研修を行う。渡航前健康診断の結果、健康者であれば安心して赴任させられるが、慢性疾患がある場合、日常生活上の注意を与え、疾病の悪化を防ぐ。

海外勤務時の健康管理は、先進国においては、

一年に一回現地の医療機関に依頼して健康診断を行う。開発途上国では、巡回医療相談と静養休暇制度を利用しての健康診断を行う。現地での生活は人間味豊かに、お互いの意志の疎通を図り、うまくコミュニケーションすることはもちろん、スポーツやその国の文化になじませ、海外勤務者の文化ショック、不安の根を除くようにする。

海外勤務者は、心身ともに健康で、語学に堪能、先見性、決断力、行動力を持ち、忍耐力も合せもち、任務を成し遂げる力が必要となる。以上の力量、適性を兼ね備えた人を選べば、海外不適應が原因となって、任期途中で帰国を余儀なくされることはないはずである。しかし現実には、生活環境の変化が大きく、少数精鋭主義で担当業務の範囲もふえ、その上商習慣の違いに悩まされ、時として適應の障害が起こる。何故であろうか。完璧なまでの業務遂行意欲と現地と同化しようとする「過剰適應」との軋轢が心理的破綻や挫折感を引き起こす結果となっている。適應困難の悩みは自分達ばかりではないという心のゆとり、構えのない自然体の生活指導も必要となる。

帰国時には、外国の感染症、病原体を日本へ移入させないためにも念には念を入れて帰国時健康診断を行う。

海外勤務者の医療施策は、海外にあっても、本国の自国民と同様に、「何時でも」、「何処でも」、「誰でも」が一定のレベルで受診出来ることを最終目標にして企画立案してゆくことが望ましい。しかし海外での医療行為には、現地での医師免許の問題もあり、また派遣する医師の確保、国家補助、企業体の医療面への積極的な援助など解決すべき幾多の問題が多い。

今後は、各界の専門家の情報交換を積極的に行い、ノウハウを蓄積すると同時に、これを活用して海外邦人の医療を担当する海外の医療機関作り、また日本政府が考えている「病院船」構想を「世界は一つのチェーン」という考え方で相手国のためにもなる共存共栄の立場で官民一体となって実現されることを期待する。

8 海外在留邦人の罹患状況と健康管理上の問題点

渡辺 榮 (上野原町立病院)

海外在留邦人の罹患状況を外務省診療所で集計した国際疾病分類によって考察すると昭和55年5月より翌年4月までの1年間に12,039名が在外公館の医務室で受診している。この内一般邦人は4,440名、36.9%で、これを公館別に見るとパラッキが多くインドネシア、ソ連、中国が上位グループを占めタイの35名はタイ在留邦人数を考えると極端に少ない。全受診者を疾患別に大分類すると最も多いのは呼吸器系、次いで消化器系で関心の高い感染症及び寄生虫は6.2%で第5位である。この感染症について公館別にみると

- 1) 腸チフス、パラチフスはインドネシアにのみ22件ある。
- 2) ウイルス性肝炎は52件、10.4%でインドネシア、ケニア、ソ連、エジプトと続き東南アジア、中近東、アフリカ、ソ連など広い地域に見られる。
- 3) マラリアの32件、6.4%はケニア、ナイジェリア、象牙海岸、エジプトなどのアフリカに多い。
- 4) シラミ、ダニ、ハエ寄生は74件、全体の14.9%でアフリカ及び中近東に多い。
- 5) 細菌性赤痢、アメーバ症、細菌性胃腸炎を消化器感染症として一括してみると88件で全体の17.7%となりウイルス性肝炎と同様にアフリカ、中近東、インド、東南アジア、ソ連、メキシコに多い。

即ちこれによって地域の特殊性と衛生環境が推測される。

次に昭和52年12月より56年12月まで医務官として在インドネシア大使館に勤務した4年間に現地で死亡した在外邦人の疾病を挙げると、心筋梗塞3例、クモ膜下出血2例、マラリア、肝硬変+食道静脈瘤破裂、肝臓癌、急性黄色肝萎縮症、癒着性腸閉塞症、腹部大動脈瘤破裂、脳悪性腫瘍、各1例ずつと外因死として交通事故、電撃傷、自殺の各1例ずつ、計15例である。即ち感染症としてはマラリアのただ1例のみで外因死の3例を除け

ば主として成人病であり赴任前の健康診断を厳重にチェックしておればいずれも現地死亡を防止できた疾病である。

最後に海外在留邦人の健康管理についての問題点を要約する。メディカルライセンスの未解決の現在ではどうしても消極的にならざるを得ない。外務省領事部及び民間ベースによる巡回医師団も巡回地、滞在期間、携行資材などの点で制限され現地の要望を十分に満たし効果を拡大するには限界がある。現在海外に在って在留邦人の健康管理を担当できる唯一の邦人臨床医は、各公館に常駐する外務省医務官であるが、それも多くの制約下におかれている。問題点の一つとして国内的には訓令がある。しかし全受診者の9.1%は外国人でしかも投薬率は73.6%に及んでいる事実は任国の法令如何に拘らず医務官は現地人の診療にも関与していることを示している。在留邦人社会で医務官の診療を希求する要望が強いのは自然である。一般邦人に対する診療上の制約をはずすと共に医務官に対しては医療過誤に関する免責を含めて現行の諸規則を見直す。第2点は渡航前の厳重な健康チェックであり、家族も含めて実施する。検査種目は長期人間ドックを基準とし、既往症があれば更に精密に検査する。

9 海外在留邦人の健康管理

小西 芳三 (外務省・領事第一課)

外務省は、海外在留邦人の健康管理対策として、外務省巡回医師団の派遣、外務医務官の派遣、及び海外医療事情調査等の施策を推進している。

巡回医師団の目的は、年度内1回(医療事情の劣る国については、年度内2回)の巡回健康相談に応じることのほか、簡単な検査を行い、在留邦人の疾病を早期に発見して、現地での医療対策、第三国への移送、或いは本邦への帰国治療など、患者に対する適切な指示を行うものである。

外務医務官については、相手国政府との関係から、建前上は在外公館関係者を対象としているが、医務官の殆どは「海外日本人学校」の校医の役割りも果たし、児童の健康診断に当たっているほか、一般在留邦人に対する助言、相談、診療を行って

いるのが実情である。

現在、配置公館は20館に上っているが、今後更に増強して行く方針である。

このほか、日本語の通じる「日系人医師」や、日本政府留学制度により本邦において医学を研修して帰国した、「日本留学医師」が少なからず存在しているので、外務省ではこれら医師のリストを整備して在留邦人の利用に供している。

海外医療事情調査事業については、昭和56年度において「ドクター・バンク」開設準備調査が終了し、海外在留邦人のための医療活動に従事する

医師の個人データが整備されたので、昭和57年度からは地域別、国別邦人医療対策の確立のため、包括的な新調査事業を推進して行くべく検討中である。

海外邦人医療に関しては、日本人医師を海外に派遣することが望ましいことは言うまでもなく、外務省としても、このための民間のイニシアチブに協力してゆく用意はあるが、実際問題としては受入国側の「医師免許制度」の壁が厚く、難しい面が多い。

ラウンドテーブルディスカッション

ハブ毒作用における各毒性因子の役割

司会のことば

沢井 芳男 (日本蛇族学術研)

毒蛇咬症の治療あるいは予防を、特に血清あるいはワクチンという立場から考える場合には、それぞれの毒蛇咬症の病因を明らかにし、あるいは蛇毒の中の個々の毒性因子の役割を明らかにした上で、それらの毒性が果して免疫学的な方法で防ぐことができるかを検討していくのが最良の方法であると考えられる。

しかし現実には蛇毒の生化学的あるいは酵素学的な分析がかなり進められたにも拘らず、分離精製された毒性因子が粗毒の毒作用の中でどの様な役割を演じているか、あるいは実際の治療の上でどの様にそれらの毒性を抑えていくことができるかについては、あまり成果があげられていない。

そこで今回はハブ咬症の局所病変を一つのテーマにして、病変を形成している因子の役割を検討することによって、それらの病変の治療あるいは予防に貢献するために、これからの研究のヒントを得ようとするのが本討論の目的である。

1 ハブ咬症の病理

本間 学 (群馬大・医・第一病理)

ハブ咬症は局所病変と全身病変に分けられる。全身性変化は抗血清投与と適切な治療で軽減される。しかし、腫脹、出血、軟部組織の壊死を主体とした局所病変は咬症直後から速やかに進展し、血清治療に抵抗性である。すなわち、局所の壊死と続発する後遺症の発生率は、咬症数の減少と治療の進歩に拘らず、ほぼ一定しており、血清治療に限界のあることを示唆している。ここでは局所病変の成り立ちとその進展について報告する。

1. 出血：漸増性であり、毒注射後1分以内に注射部中心の蒼白化巣を囲むように点状から斑状の出血が現れ、次第にその範囲を遠心性に拡大す

る。出血は毛細血管レベルを主体とし、一部の後毛細血管細静脈でも認められる。形態学的には内皮細胞の変性、壊死、崩壊、間隙形成とともに周囲を囲む基底膜の消失の見られる微小血管からの赤血球流出である。ハブ毒の出血因子は注射局所でのみその出血作用を発揮し、吸収されて臓器内に出血をひき起こすことはない。

2. 腫脹：咬症直後から約1週間にわたり増強し、以後次第に消退する。ハブ毒による腫脹は単純な水腫でなく、漿液性滲出液の貯溜であり、腫脹の消退にはかなりの日数を要する。形態学的には間質に蛋白濃度の高い無構造物質の貯溜と微小血管の内皮細胞間隙の形成として認められ、しばしば好中球の血管外遊走を見る。

3. 筋壊死：毒注射1分後にすでに筋壊死を組織学的に認めることが出来、1-2日にわたり進行拡大する。蛇毒による筋壊死には、筋融解型と凝固優位型があり、ハブ毒は前者を、マムシ毒は後者を示す。筋壊死は粗毒のみならず、耐熱性筋壊死因子(HSMF)でもひき起こされるが、粗毒による筋壊死は出血、漿液性滲出液の貯溜、小血管の壊死崩壊などを伴うため、治療の遷延がある。これに比べて、HSMFによる壊死は局限し、治療、再生ともに比較的容易である。

4. 広範な筋壊死：下腿外脛骨部のハブ咬症例で広範な筋壊死を起こした組織を検索した。前脛骨筋と長母趾伸筋が壊死に陥り、隣接して伴走する前脛骨動脈の閉塞性変化を認めた。この閉塞性動脈病変は実験的に再現できたが、局所の混合感染を合併した場合にその発生頻度が高かった。

ハブ毒による変化は、出血、腫脹、壊死のいずれをとっても、毒注入直後から生じ、進展性である。現在、咬症後抗血清治療までには、少なくとも30分から1時間の経過を要しており、その間に生ずる局所病変は避け難いものである。また、運悪く毒が筋膜の発達した筋束や解剖学的に狭い区

画に位置する筋束に注入された場合、しばしばその筋束全体の壊死を招き、機能障害を残すことが多い。筋束内での強い出血、微小血管系の破壊、血漿性滲出液の貯溜などによる筋束内組織圧の異常な上昇、さらには隣接動脈の閉塞性変化などが該当筋全体の高度の阻血状態を招き、毒作用と相まって筋束全体の壊死を助長するものと推測される。

2 プロティナーゼ

前野 弘夫 (山之内製薬・中央研)

ハブ咬症患者の局所病変の特徴は、出血、腫脹及び筋の融解壊死であり、かような病変の生成機序を解明するには病変をひき起こす各因子を相互に分離し、その作用を明らかにすることが大切である。演者は三橋進教授指導の下に、主として蛋白分解酵素に着目し、この酵素がハブ毒による局所病変をひき起こすことが重要な一因子であることを小此木丘博士と共に明らかにした。

ハブ毒の蛋白分解酵素は易熱性で、SH 化合物や EDTA によって強く阻害される。EDTA により失われた蛋白分解酵素活性は2価金属イオンを添加することにより回復するので、ハブ毒の蛋白分解酵素は金属酵素と思われる。他の蛋白分解酵素、例えば *Streptomyces griseus* や *Bacillus subtilis* から得られた蛋白分解酵素およびトリプシンも出血、筋融解をひき起こすが、その程度はハブ毒酵素に比べて著しく弱い。即ち、ハブ毒の蛋白分解酵素はその病変の強さにおいて特徴的といえる。また蛋白分解酵素活性の認められない出血性因子、致死因子、筋融解性ホスホリパーゼ A 等も分離されたが、これらの因子が蛋白分解酵素とともに協調的に作用してハブ毒の悲惨な局所病変をひき起こすものと考えられる。

3 ホスホリパーゼ A₂

木原 大

(鹿児島大・医・第二生理)

ホスホリパーゼ A は蛇毒を代表する酵素の一つで、古くから溶血因子としてよく知られている。ハブ毒や他の蛇毒、ハチ毒、微生物及び哺乳動物

の臓腑やその他の臓器から分離精製され、分子量や酵素としての性質等が多数報告されている。一般にホスホリパーゼ A は蛋白質としては比較的分子量 (14,000~15,000) で、ジスルフィド結合を多く含み、熱に安定で有機溶媒中で基質に作用し得る事等に特徴がある。

ハブ毒ホスホリパーゼ A₂ は Sephadex G-100 によるゲル濾過、CM-セルロース、DEAE-セルロースによるイオン交換クロマトグラフィーによって、比較的簡単に精製できる。Sephadex G-75 によるゲル濾過とポリアクリルアミド電気泳動により、それぞれ28,000と14,000の分子量が得られた。この事から本酵素は分子量14,000の同じサブユニット2個から構成されていることがわかる。また等電点は7.9で、弱塩基性蛋白である。アミノ酸組成はアスパラギン酸、グリシン、チロシン、リジンを多く含み、ヒスチジンとメチオニンを各1個、そして8個のジスルフィド結合を含んでいる。

本酵素は p-ブロモフェナシルブロミド処理で失活し、この時アミノ酸分析によりヒスチジンの消失が認められた。即ち1個しか含まれていないヒスチジンが、活性発現に重要な役割をしている。

ブロムシアンで処理後ゲル濾過すると、本酵素はメチオニル結合が切断され、大小2つのフラグメントに分離できる。小フラグメントが N 端側ペプチドで、Pyr-Glu-Gly-Leu-Trp-Gln-Phe-Asn-Met- という構造を持ち、N 端が Pyr-Glu である点が他の蛇毒酵素と異なっている。大きいフラグメントは元のホスホリパーゼ A の約6%の活性を持っているが、これに小フラグメントを加えると、その量に応じて酵素活性が上昇し、同分子の再構成が起きることがわかる。

一方ホスホリパーゼ A が溶血を起こすことは先に述べたが、生体内での作用は殆ど不明のままである。精製酵素をラットに静注し、経時的に血漿の 550m μ の吸収を測定すると時間とともに増加した。また松村によると受傷患者のハプトグロビン量は減少し、場合によっては検出できないまでになる。また重症例では血色素尿が見られることなどから、生体内で溶血が起きている可能性が

強い。

ラット大腿筋に精製酵素を注射して、経時的に採血し CPK 活性を測定すると、時間経過とともに活性が上昇した。また一定時間経過後、局所の筋肉を取り出し組織学的に観察して見ると、出血を伴わない筋壊死が起きている事が確認された。これらの結果からハブ毒ホスホリパーゼ A₂ は、壊死形成に関与している可能性がある。

4 ハブ毒の出血因子

佐藤 保 (予研・細菌第二)

Crotalidae に属する蛇毒が出血や壊死などの局所毒作用を示す一方、種々の加水分解酵素活性を持つことから、毒素と酵素の関係が注目されて来た。我々は 1960 年にハブ毒を使って出血活性の定量方法を確立したことを機に、ハブ毒出血因子の研究に着手した。そしてその際、出血因子はプロティナーゼであるという従来の定説に注目して、両者の異同を常に念頭に置いて研究を進めた。その結果、ハブ毒中には物理化学的性質や免疫学的特異性などが違う 2 種類の出血因子 (HR1 と HR2) が含まれることを見出し、それぞれを精製しつつ酵素との異同や出血作用の機作などを明らかにすることができた。さらに精製した出血因子からトキシイドを作り、ハブ咬傷の予後を軽減することにも努めて来た。今シンポジウムでは主として出血因子の精製を生化学的性質に重点を置いて討論した。

奄美大島産のハブ毒中の 2 種の出血因子がセファデックス G-100 によるゲル濾過で簡単に相互分離することを見出した。高分子画分には HR1 が、低分子画分には HR2 が溶出された。

HR1 は DEAE-セファデックス、TEAE-セルローズなどの陰イオン交換体によるクロマトグラフィやセファデックス G-200 によるゲル濾過法で精製した結果、最終的に HR1A と HR1B の 2 成分を得た。

一方、HR2 は Bio Rex70 (陽イオン交換体) で精製した結果、やはり HR2a と HR2b を得た。

精製した出血因子のうち HR1A にのみプロティナーゼ活性 (カゼイン基質) が見出された。

同時にハブ毒のプロティナーゼ活性の大部分を占める H₂-プロティナーゼが出血活性を持たない事実も明らかにした。したがってハブ毒出血活性の大部分がプロティナーゼとは別個の蛋白質によって発現されると結論した。HR1A と 1B には強い致死活性を認めた。

HR1A と 1B は分子量約 60,000 の酸性糖蛋白質で、一方 HR2a と 2b は分子量約 20,000 の塩基性蛋白質であった。HR1(A+B) と HR2(a+b) はそれぞれ免疫学的特異性が違っていた。いずれも易熱性で、酸性 pH, EDTA 及びシステイン等で容易に活性を失った。一方、DFP や大豆トリプシンインヒビターでは阻害されなかった。

腸内膜を使って出血の作用機作を見た実験では、赤血球は破壊されずに血管内皮細胞の間隙をくぐり抜け、基底膜の破れた部位から漏出することを明らかにした。

5 筋壊死因子

鎮西 弘 (東京医歯大・医動物)

毒蛇咬傷で筋壊死を惹起する毒蛇の種類は少ない。演者はハブ咬傷に見られる後遺症が主に筋壊死に起因するとの考えで、ハブ毒からアセトンによる分画沈殿で、筋壊死を速やかに起こす成分を分離し、これを筋壊死因子 (MNF) とした。MNF は耐熱性で、ゾーン電気泳動により 3 画分 (A, B, C) に分かれ、筋壊死活性 (予備的に CPK 活性の測定) は A と B 画分に、ウサギ血球を用いた間接溶血活性は B と C に認められ、A は分子量約 14,000、等電点 pH 9 の蛋白質で、活性の点からも、ホスホリパーゼ A は B であろうと考えられる。A 画分は MNF の約 80%(280m μ) を占める。

抗 MNF ウサギ (粗) 血清で最も高い力価の場合でも、その 0.05 ml が MNF 40 μ g までの中和能で、ハブ毒を抗原とした抗毒素ウマ血清は、1 mg 以上の毒による出血を中和しているにも拘らず、16 μ g の毒による筋壊死を阻止するに過ぎなかった。他方、ホルマリン処理による MNF トキシイドも筋壊死に対する防御能は低かった。これらの点から、MNF の免疫原性は低いものと

考えられる。

蛇毒の生体に及ぼす作用を検討する場合、種々の条件により粗毒の100~1,000倍、時にはそれ以上希釈された毒液を用いるのが一般的であるが、筋壊死のような受傷部位を中心とした局所的な組織障害の検討には、粗毒に近い高濃度の毒を用いてみる必要もあるとの考えで試みた結果、希釈毒に比べて大きな違いが見出された。即ち、後者では出血と筋壊死とが混在している病変であるが、高濃度(300mg/mlで30 μ lの筋注、50分後)の場合は、注射部位の限局された部分に出血、これを中心として遠心性に筋壊死が広範囲に認められ、従って出血の周辺部では、Crotalidaeに属する中でも出血毒の代表格の一つであるハブ毒による病変とは見えず、MNFのみによるものと似ている。

MNFは深見法により、ハブ粗毒の筋壊死活性の約30%に過ぎないことが明らかにされたが、これは、1)分離操作過程での部分的失活、2)MNFと他の生物活性因子との協同あるいは相乗作用による筋壊死活性の増強などが考えられる。

なお、抗HR1及び抗HR2力価の非常に高い抗血清(抗因子血清の場合)であっても、筋壊死を中和し得ない実験結果と、HR1やHR2とMNFとは免疫原性の異なる点などから、治療用抗血清の現行の力価項目のみでは、十分とは考えられない。

6 腫脹因子

山川 雅延, 野崎 真敏

(沖縄県公害衛研・ハブ支所)

マウス足蹠にハブ毒を注射して腫脹を起こしその足蹠重量を測定して腫脹作用を見ると注射後約30分に腫脹はピークに達するが足蹠内のヘモグロビン量はさらに2~3時間遅れてピークに達する。次にハブ粗毒をセファデックスやアンバーライトなどで精製して得られるHR1, HR2, H₂₋₀の各画分はいずれも強い腫脹作用を示すがHR1は同時に強い出血を伴って腫脹の回復が遅いのに対しHR2は殆ど出血のない腫脹で回復も早いことが認められる。またH₂₋₀画分も弱い出血を伴う腫脹作用を示す。このように腫脹には出血を伴うも

のと出血の殆どないものがある。

HR1画分は腫脹があまり強くなくてもかなり多くの出血を伴って長時間腫脹が持続するので出血効果の特に大きい毒画分である。このように蛇毒によるマウス足蹠の腫脹と出血の関係は毒成分の種類、注射量、観察時間などによって様々に変化するので一時点の腫脹量を測定しただけでは不十分であり経時的観察結果も併せて考察されるべきである。

マウス足蹠注射法によるとHR2の腫脹活性は注射後数時間以内に判定するとHR1よりもはるかに高い活性を示すが、注射後8時間~1晩経過して判定するとHR2の腫脹作用は殆ど回復しているのでHR1のみが腫脹作用を有することになる。

腫脹活性の判定は当初、注射後8時間に行っていたがその後注射後4時間に改められ、さらに測定機器の発達によって迅速に計測できるようになったので現在では注射後2時間に判定することができるようになった。

次にHR1, HR2及びH₂₋₀の腫脹活性と毒量との関係を示す各用量反応曲線は粗毒と共に一定の範囲内で直線かつほぼ平行な関係が認められた。この近似的平行関係はHR1とHR2を等量混合した液でも同様であるが混合液の活性は増強されることが認められた。特にHR1+H₂₋₀, HR2+H₂₋₀及びHR1+HR2+H₂₋₀の各等量混合液の用量反応曲線のスロープは、おのおの単独の場合のスロープに比較して急激に大きくなることが認められた。即ち、ハブ粗毒, HR1, HR2, H₂₋₀及びHR1+HR2の各毒液の用量反応曲線の直線部分のスロープb=26~31である。これに対して、HR1+H₂₋₀, HR2+H₂₋₀及びHR1+HR2+H₂₋₀の各混合液の示す用量反応曲線のスロープb=39~41である。このことは各混合液が混合前の各原液よりも活性が急激に強くなり相乗効果を現わしていることになる。しかし、H₂₋₀画分を含有する混合液の場合のみ急激なスロープの上昇が認められるのであるが、粗毒のスロープがb=27であり精製毒単独のスロープと近似しているのはなぜなのか疑問が残る。

7 蛋白分解酵素阻害物質 (ISV) がハブ毒の腫脹, 出血及び壊死に及ぼす作用について

徐正埏

(韓国・慶北大・応用微生物)

ペニシリウム属の1株から蛇毒のプロティナーゼ活性を強く阻害する物質 (ISV) が分離されたことは既に報告されたが, 本研究ではハブ毒の腫脹, 出血及び壊死活性に及ぼす ISV の作用から, 蛇毒の毒作用の機作の解明を行った。

ISV30, 120, 240 μ g にハブ毒を 120 μ g ずつ加えた後に, その 0.2ml を深見法によりウサギの大腿の筋肉内に注射し, 局所の腫脹, 出血及び壊

死を定量した結果, 最高では壊死活性の80%が低下し, 腫脹は40-60%に低下した。

またマウスの足蹠法によると, 毒量が2.5~20 μ g の範囲内での出血を比色計の OD で測定した容量反応曲線は 15 μ g 以下の毒量では直線になるが, この方法を用いて毒量を 10, 15 μ g に対し, ISV を 2.4, 3.6 μ g 混合してマウスに注射した後の病変を検討した結果, 腫脹及び出血に対して ISV が抑制効果を示すことが明らかにされた。

これらの結果から, ハブ毒中に含まれる蛋白分解酵素が, ハブ毒の壊死, 腫脹あるいは出血にかなりの程度に関与していることが推測された。

一般講演

1 温度順化過程における循環反射について

土屋 勝彦, 大渡 伸, 井元 孝章,
藤原真理子, 小坂 光男
(長崎大・熱帯医研・疫学・環境生理)

環境温度の変化が循環機能に与える影響についての報告は多いがその機序については不明な点が多い。本研究は特に皮膚の温度受容に起因する循環反射に注目し、これらの反射が温度順化によっていかに影響されるかを検討した。Wistar 系雄ラットを 30°C, 23°C, 10°C で4週間以上飼育し、おのおのを暑熱順化群 (H 群), 対照群, 寒冷順化群 (C 群) とした。

(実験 A) 室温 27°C から 28°C にて, ラットを Nembutal (50 mg/kg. i. p., 13 mg/hr/body) で麻酔し, 陰のう皮膚温 (Tsc) を 30°C から 42°C まで 2°C/3 min で段階的に変化させ, 血圧, 心拍, 直腸温, 尾部皮膚温を同時記録した。陰のう皮膚を局部的に加温すると, 血圧の下降と心拍の減少が観察された。陰のう皮膚加温による心拍減少反応は陰のう皮膚温 (Tsc) が 38°C のときに最も著しかった。Tsc が 30°C のときの平均心拍数 (Mean ± S. E.) は C 群 (444 ± 7 beats/min, N=9) > 対照群 (435 ± 6 beats/min, N=9) > H 群 (409 ± 7 beats/min, N=6) の順であった。陰のう皮膚温 (Tsc) が 30°C と 38°C のときにおける平均心拍数の差 (心拍数の減少幅, $|HR_{Tsc=38C} - HR_{Tsc=30C}|$) は H 群 (12 beats/min) > 対照群 (24 beats/min) > C 群 (33 beats/min) の順であった。
(実験 B) 無麻酔のラットを小型のケージ (5 × 10 × 20 cm) に入れ半拘束状態とし, 室温を 20°C から 30°C, または 10°C から 20°C の温度区間を 10°C/30 min で連続的に往復変化させた。その間の心拍数, 直腸温, 尾部皮膚温を連続描記した。室温の上昇により心拍数は減少し, 室温の下降により心拍数は増加した。室温と平均心拍数の間には有意の負の相関が見られた。回帰直線の勾配の平均値 (M ± SE) は 20°C から 30°C では

H 群で -10.4 ± 1.1 beats/min·°C (n=8), C 群で -5.0 ± 1.0 beats/min·°C (n=6) であった。一方 10°C から 20°C では H 群で -2.7 ± 0.3 beats/min·°C (n=7), C 群で -3.9 ± 0.8 beats/min·°C (n=7) であった。すなわち無麻酔半拘束状態において, 環境温と心拍は有意の負の相関を示したがその回帰直線の勾配は高温域 (20°C~30°C) では, H 群の方が C 群におけるより急峻であり, 低温域 (10°C~20°C) では H 群より C 群の方が急峻であった。

以上, 実験 A, B の結果から, 比較的高い温度域では皮膚に与えられた温度刺激に対して暑熱順化群の方が寒冷順化群より大きな循環機能の変化を示すことが示唆される。

2 温度適応に関する研究 — Habituation について—

小坂 光男, 大渡 伸, 藤原真理子,
土屋 勝彦, 井元 孝章
(長崎大・熱帯医研・疫学・環境生理)

環境温度の変化に対して, 生体側の温度適応性や体温調節機序がどのように変化していくかを探索するために, 暑熱及び寒冷順化ウサギを用いて実験を行った。

平常環境条件 (温度 25°C, 湿度 60%) 下で飼育したウサギ (非順化群) の視床前野 (PO/AH), 中脳網様体 (RF), 脊髄の各局所血流量はいずれも 36~37 ml/100 g/min で有意の差はないが, LPS 発熱物質投与による高体温時には, PO/AH, RF の血流量は共に 20% の有意の増加を示した。しかるに暑熱 (30°C, 60%~)・寒冷 (10°C, 60%~) 環境条件下で飼育した温度順化群ウサギでは, LPS-発熱期の血流量増加は殆ど観察されなかった。

25°C の常温環境下で, 暑熱順化ウサギの PO/AH・RF の血流量は 38.8・39.1 ml/100 g/min, 寒冷順化ウサギではそれぞれ 31.7・28.9 ml/100 g/min で, 両者の間には有意の差があった。

以上 3 群のウサギに皮膚加温 (室温 40°C), 冷

却 (15°C) を行って PO/AH の血流量を測定すると非順化対称群では加温によって18.8%, 冷却で-8.0%, 暑熱順化群では加温で1.6%, 冷却で-5.4%, 寒冷順化群ではそれぞれ5.5%, -2.8%の血流変化を認めた。これらの血流変化は非順化群の加温時の18.8% (P<0.005) を除いて全て有意の差ではなかった。この事は、LPS-発熱時や皮膚加温による高体温時には、温度非順化ウサギの PO/AH, RF の局所血流量は共に20%の増加を認めるが、温度順化ウサギでは、この量的変化が消失、または減少する事を示し、一種の Habituation の現象を示唆している。

以上の結果の温熱生理学的意義やその中枢機序に関しては、今後、温度順化形成過程における各種体温調節指標や器質的变化の経時的な観察を行うつつ、さらに詳しく解析していく所存である。

3 ケニア産小哺乳動物寄生のシラミ類について

金子 清俊 (愛知医大・寄生虫)
鈴木 博 (長崎大・熱帯医研・ウイルス)

アフリカ産のシラミ類については Johnson (1960) 及び Kim and Emerson (1973) によって多くの新種あるいは新記録種が報告されている。我々はケニア産のネズミ類6種より5種のシラミを得た。調査した宿主のなかにはラッサ熱の病原体保有動物である *Mastomys natalensis* 及びペストの病原体保有動物として重要な *Arvicanthis niloticus* も含まれており、吸血性の節足動物による動物間の伝播も考慮する必要がある。そこでケニア産げっ歯目を捕獲調査する機会に恵まれたので、このうちネズミ科 *Muridae* に寄生するシラミについて報告する。同定できたシラミ類は次に示す通りである。

1) *Hoplopleura zelotomydis* Johnson, 1960

Host: No. 8

Mastomys coucha

(=*M. natalensis*)

Zelotomys hildegardae

Locality: Kedong Valley, 25-XI-1979

2) *Hoplopleura intermedia* Kellogg and Ferris, 1915

Host: No. 1

Mastomys natalensis

Locality: Kedong Valley, 25-XI-1979

3) *Polyplax abyssinica* Ferris, 1916

Host: No. 21

Arvicanthis niloticus

Locality: Kedong Valley, 5-X-1979

4) *Polyplax otomydis* Cummings, 1912

Host: No. 40

Otomys tropicalis

(=*O. irroratus*)

Locality: Lemek, 30-X-1979

5) *Polyplax* sp. (nymph only)

Host: No. 28

Acomys wilsonii

Locality: Kedong Valley, 5-X-1979

6) *Polyplax cummingsi* Ferris, 1916

Host: No. 41

Aethomys kaisari

Locality: Lemek, 30-X-1979

4 Microfilarial periodicity における光力学物質説—夜間出現性仔虫内の Rhodopsin 様物質

榎屋 富一 (福岡市)
真喜志金造 (琉球大・医・内科)

Guzzo & Pool (1969) は Rhodopsin の蛍光 F max を 600 nm としたが諸家により該蛍光の存在は否定され Bridges (1975) は色素上皮内の蛍光は V. A ester によるとした。演者らは *Mf. immitis*, ミミズ表皮の蛍光顆粒とカエル、マウス網膜色素上皮の蛍光顆粒の蛍光曲線が酷似することを認めたが分光分析は *Mf* については成功していなかった。スリランカよりの *Mf. bancrofti* は顆粒が *immitis* のよりも多かつ大型顆粒を混し顕微分光分析が可能であった。その λ max は 406 nm, ミミズ表皮, マウス色素上皮顆粒の λ max は 414 nm 付近にあった。他方ウシの Metarhodopsin II (MR II) の λ max は 380 nm,

N-retinylideneopsin (NRO) のそれは酸性で 440 nm, アルカリ性で 365 nm に shift することが知られている。Mf. bancrofti, ミミズ表皮の螢光顆粒の λ max は共に酸性で 413 nm, アルカリ性で 406 nm とウシ NRO のそれに比し軽微であるが明らかな shift を示したがマウス色表上皮の螢光顆粒の λ max は pH 5.7-8.8 の範囲でなんらの shift を示さず前二者の螢光物質は V. A ester そのものでないことを示した。演者らの得た三者の顕微螢光スペクトル, 顕微分光スペクトルの所見と Rhodopsin 及びその bleached intermediates の F max, λ max に関する既知の所見を比較する時, 夜間出現性仔虫及びミミズ表皮の螢光顆粒は視色素の分解産物中に類似を求めればウシの NRO に近い物質と考えられた。下等動物の視色素の λ max が広汎に分布することも考慮に入れるべきであろう。Kuwabara ら (1968) の光による最初の組織変化が機体外節 Rhodopsin の在位から始まるとの所見を参照してこれら色素の組織障害作用 Photoirritator の作用に言及した。

5 東アフリカ, モザンビークのフィラリア症について(2)

藤田紘一郎, 小田 力, 森 章夫,
月舘 説子, 上田 正勝
(長崎大・医・医動物)

昨年引き続き, モザンビークのフィラリア症について基礎的調査を行った。

フィラリア患者 (バンクロフトと思われる) が多数居住するケリマン近郊の一部落を選び, 住家近くのヤシの木に小型のカヤを吊し, 内にフィラリア患者を 1 人入れ, さらに周囲に 10 人から 20 人の半ズボン, 裸足の現地人を置いて, 夕方 5 時より 11 時まで, 6 人が吸虫管を持って蚊を採集した (1982, 5 月 5, 6, 7 日, 晴天)。

乾燥標本にして持ち帰った蚊を調べると, 昨年同様, *Mansonia* (*M. uniformis* が主, 他に *M. africanus*), *Culex* (*C. p. quinquefasciatus* が主), *Anopheles* (*A. coustani* が主) 及び *Aedes* の 4 属であった。*Mansonia* 属の蚊は 5 時すぎに吸血に来て, 日没前後の 6 時 30 分頃吸血活動のピークを

示し, その後減少した。*Culex* 属の蚊も同様の傾向を示したが, 夜遅くなってもかなりの数が吸血に来ていた。*Anopheles* 属の蚊の吸血活動は, *Mansonia* や *Culex* 属に比べ 2 時間程遅れてピークを迎えた。

一方, 液浸標本を解剖した結果, *Mansonia* 属の蚊 83 個体のうち, 4 個体が II 期あるいは III 期のフィラリア幼虫を持っていた (自然感染率, 4.8%)。しかし, 本年度は 37 個体の *Culex* 属, 31 個体の *Anopheles* 属より, いずれもフィラリア幼虫を得ることができなかった。昨年, *C. p. quinquefasciatus* の胸部から得られた Ic 期及び *M. uniformis* の胸部から得られた Ib 期, 腹部から得られた III 期幼虫の大きさを測定すると, それぞれ, 137 μ , 248 μ (220~280) 及び 932 μ となった。これらを, 長崎で実験的に *C. p. pallens* に吸血させて得た, *W. bancrofti* の幼虫の長さと比較すると, Ic 期, 136-170 μ , Ib 期, 187-306 μ となり, いずれもこの範囲に入ったが, III 期は 1,190-1,870 μ であり, モザンビークで得られた幼虫は幾分小さいことがわかった。

同一部落で, 無症状の現地人より採血した標本より, 2 種類のマイクロフィラリアが得られた。1 つは有鞘で大きさ 160.6 μ (145-175), 他の 1 つは無鞘で 90.3 μ (83-105) の大きさであった。長崎県の *W. bancrofti* の患者から得られたマイクロフィラリアの大きさは 231.0 μ (220~240) であり, モザンビークの有鞘のマイクロフィラリアの大きさはかなり小さく, また当地の無鞘のマイクロフィラリアは大きさが小さすぎて, 該当するフィラリアは見当たらない。現在これらについて調査中である。

6 西サモア国におけるフィラリア症の疫学—仔虫保有率及び仔虫密度 (MfD-50) について—

木村 英作

(長崎大・熱帯医研・寄生虫)

L. Penaia (西サモア国厚生省)

G. F. S. Spears

(ニュージーランド・オタゴ大)

WHO 及び西サモア国 フィラリア症 研究プロ

ジェクトの一環として、1978年11月より1979年11月まで昼間亜定期出現性のバンクロフト糸状虫によるフィラリア症の仔虫保有率等に関する実態調査が実施された。28調査部落において、年齢1歳以下を除く約1万名（全人口16万人の約6%）を対象に、従来の60mm³ finger-prick 血液塗抹法（FP法）及び1ml Nuclepore filtration法（NP法）を用いた血液検査が行われ、総計8,385名がFP法及び（或いは）NP法で検査された。

西サモア全体の仔虫保有率はNP法で4.5%（陽性者381名）、FP法で3.8%（陽性者315名）であった。すなわちFP法では17%が偽陰性となった。4部落では10%を越す高い仔虫保有率が見られた。性別・年齢による仔虫保有率を見ると、従来の他地域での報告同様、成人男子に圧倒的多数の患者が集積し（女子の2.3倍、全陽性者の70%）、男子30歳以上の平均仔虫保有率は約20%であった。なお最年少保虫者は3歳の女兒であった。

西サモア国全体として仔虫密度を見ると、1979年における血液60mm³当たりのMfD-50は、平均18.6（男21.4、女14.2）で、性・年齢別の仔虫保有率とMfD-50との関係は不明瞭であったが、部落別仔虫保有率とMfD-50の間には正の相関が見られた。

ある集団における仔虫数の度数分布について、Pichonら（1980）の提唱するnegative binomial distribution (truncated, exponent=0.3)をサモアで得られた資料に適用してみると、対数正規分布を適用した場合より良好な結果（fitness）が得られた。この方法では偽陰性の数を推測することが可能で、それによる推定偽陰性者数はNP法で36.7人、FP法では100.6人であった。すなわち前者では発見された全仔虫保有者の約9%、後者では26%の偽陰性者が存在することを示唆している。

前述のようにFP法では17%の偽陰性があり、それにNP法の偽陰性9%を加えるとちょうど26%となり、理論値と実際に観察された結果は矛盾しない。しかしexponent=0.3を固定することには問題があり、さらに詳しく検討中である。

7 ハイティ・マラリア対策における殺虫剤散布効果の間の接蛍光抗体法による疫学的アセスメント

鈴木 守（群馬大・医・寄生虫）
V. Jean-François, M. R. Hilaire,
L. Lafontant Jr.（SNEM, Haiti）

ハイティにおいて1979年来すすめられている殺虫剤 Fenitrothion を主軸とした新しいマラリア対策が奏効したため、対象地域の年次マラリア有病率が著しい低値を示す状態が続いている。このような状況下にあっては通例の血液塗抹標本検査による parasite rate の算出によっては精密な疫学的アセスメントが不可能となる。しかもマラリア有病率が著明な低下を見たときこそ精密・正確な疫学的アセスメントをすすめて残った火種を追求し集中的に強力な対策をすすめるべきではない。今般、ハイティにおいてマラリア低下が最も顕著であった Worf Messe と、マラリア流行がもともと極めて低い Navarre を比較してみると原虫が顕微鏡検査で検出された例はそれぞれ1/136、1/151で、両地域の疫学的特性は解析不可能であった。しかし間接蛍光抗体法により有意の力価を示した例は Worf Messe で23.5%、Navarre 1.3%であり両者の差が顕著に反映された結果が得られた。マラリア流行が著しい Vincendron においては76.9%の例に1:160~1:10,240の高力価が見られた。以上の結果により効果的なマラリア対策が推進されるに伴い従来の顕微鏡検査だけによる疫学調査では感度が不十分であり、蛍光抗体法による血清疫学的手段により、感染フォーカスを決めていく方法が有効であることが示唆された。

8 インドネシアにおける Dengue ウイルスの分離

五十嵐 章

（長崎大・熱帯医研・ウイルス）

藤田 宣哉（神戸大・医・微生物）

奥野 良信（阪大・微研・防疫）

小田 力（長崎大・医・医動物）

船原 芳範（神戸大・医・生理）

白幡 聡（産業医大・小児科）

池内 春樹 (神戸大・医・小児科)
堀田 進 (神戸大・国際交流センター)
Agus Sujahrurahman, Sumarmo Sujidi
(インドネシア大・医)

デング出血熱 (DHF) は東南アジアにおける最も重要なウイルス感染症である。

我々は1981年と1982年の DHF 流行期に、インドネシア大学医学部小児科入院 DHF 患者及び外来不明熱 (FUO) 患者末梢血, さらに1982年には患者及びその周辺で採集した媒介蚊からのウイルス分離を, 主としてヒトスジシマカ培養細胞クローン C6/36 を用いて行った。分離ウイルスの型同定は, 免疫粘着血球凝集反応及びデングウイルスの各型に特異的な単一クローン抗体を用いた。

1981年には99名の FUO 患者中20名からデングウイルスが分離され, 1型, 2型, 3型のいずれかであることが判明したが, 10名の DHF 患者からのウイルス分離は不成功であった。1982年には16名の DHF 患者中2名よりそれぞれ3型ウイルスが, 56名の FUO 患者中1名から2型ウイルスと2名からそれぞれ3型ウイルスが, さらにネッタイシマカから2株の1型ウイルスが分離された他, ヒトスジシマカから C6/36 に細胞病変を示す未知ウイルスも検出された。

FUO 患者からデングウイルスが高率に分離されることは軽症のデングウイルス感染者が多数存在する事を直接証明すると共に, これらの軽症例が媒介蚊にウイルスを供給する増幅動物として作用している可能性を示すものとして疫学的に重要な知見である。

9 マウス腹腔 マクロファージ培養におけるデングウイルス増殖に及ぼす二・三の生物活性物質の影響

堀田 博 (神戸大・医・微生物)
Agus S. Wiharta
(インドネシア大・医・微生物)
堀田 進 (神戸大・国際交流センター)
辻 守康 (広島大・医・寄生虫)

マウス (BALB/c, 7-12週齢) 腹腔由来のマクロファージ (M ϕ) の培養はデングウイルス (DENV) に対し必ずしも感受性は高くない。しかしこの M ϕ 培養にある種の生物活性物質を加えると DENV 感受性が見掛け上増強され, ウイルスの増殖が有意に増大した。現在までに我々が検討した結果では, 増強作用を示すものとして phytohemagglutinin (PHA), *Salmonella enteritidis* lipopolysaccharide (LPS), 数種の細菌細胞壁及びその構築成分などがあつた。ただしその有効性は物質によって量的な差が示された。しかし一般に dose-response relationship というべきものが認められた。Pokeweed mitogen (PWM), concanavalin A (conA) は我々の検した限り効果はなく, carrageenan はウイルス増殖に抑制的に働いた。寄生虫抗原, たとえば *Ascaris suum*, *Parascaris equorum*, Anisakis larvae からの抽出抗原も同様の活性を有した。これら活性物質で処理された培養では, いわゆる infective center の数が増加しており, また蛍光抗体染色により抗 DEN 陽性反応を呈する M ϕ の数も増加した。一方, ある型の DENV で免疫されたマウスから得た M ϕ の培養は, 対照非免疫マウスから得た M ϕ 培養に比べて, 異なった型の DENV の増殖を有意に増強した。たとえば, DENV-1 免疫マウスから得た M ϕ 培養における DENV-2 の増殖は, 対照非免疫培養におけるよりも大であった。上記の諸成績は, 胸腺欠除ヌードマウス (BALB/c nu/nu) から得た M ϕ の培養を用いた実験においても同様に観察された。

10 中国におけるアカイエカ群の蚊の細胞質不和合性について

末永 敏 (長崎大・熱帯医研・資料室)
刘 維 德, 徐 薇, 繆 建 吾
(中国科学院・上海昆虫研究所)

中国におけるアカイエカ群の交雑型を明らかにするため, 主に上海で野外調査と交雑実験を行った。1981年8月初めに上海市内の一公園の片すみで水がめを設置して水をはり, 毎週1回少量のふ

すまを投入して毎朝観察し、蚊の卵塊が発見された場合にはその全部を採集し、実験に供した。1982年7月末までの1年間に採集された卵塊数は1,259で、この中1,245はアカイエカのものであった。これらの卵塊の中、1,228はよく孵化したが、7卵塊は孵化率が悪く、5卵塊はかなり多くの卵が途中まで発育したにも拘らず全く孵化せず、野外で不和交雑が行われたことを示唆した。また5卵塊は全く発育せず、不受精卵であったと思われる。上海市内の3カ所、即ち復興公園、閘北及び川沙から採集された多数の卵塊の一部について、孵化後卵塊別に飼育し、交雑実験を行った結果は、それらのすべてが同じ交雑種であることを示した。さらに、これらの上海の諸系統と中国内の他地区、即ち福建省の福州、広西壮族自治区の賀県、広東省の広州と佛山等から集められたアカイエカ群の各系統間の交雑実験の結果は福州系の雌が閘北系と賀県系の雄との間に不和合性を示した他はすべて和合性を示した。中国の7系統と日本の3系統との間の交雑実験の結果、沖縄系のネッタイエカと長崎系のチカイエカがそれぞれ中国の4系統のネッタイエカとの間に不和合性を示すこと、長崎のアカイエカの1系統の雌は賀県系を除く中国の6系統の雄との間に和合性を示すが、雄は閘北系を除く6系統の雌に対して不和合性を示すこと等が明らかになった。なお、調べた代表的な15系統の蚊はすべて雌の生殖細胞中に多数のリケッチア様微生物を保有していた。

11 日本脳炎ワクチン接種に対する幼児の中和抗体応答

莊 榮 豊, 奥野 良信, 只野 昌之,
福永 利彦, 深井孝之助
(阪大・微研・防疫)
山田 明 (阪大・医・小児科)

近年、日本国内での日本脳炎 (JE) の流行は減少しており、その原因の1つとして学童に対するワクチン接種の普及が考えられる。一方、いくつかのアジア諸国においては、現在なお、JE は大きな公衆衛生上の問題である。私達は、JE ワクチン接種による免疫応答がワクチン株である中山

株と野生株である JaGAr-01 株及び E-50 株に対してどのように異なるかを、中和抗体を測定することによって調べた (E-50は、コガタアカイエカより蚊培養細胞を用いて分離された株)。

ワクチンは1カ月間隔で2回接種し、採血はワクチン接種前、第2回接種前及び第2回接種1カ月後の3回行った。接種前に抗体が陰性で、3回目の採血ができた幼児は70名であった。

3回目の採血標本中の3つの株に対する対数中和抗体価の分布をみると、Anti-E-50 株と Anti-JaGAr-01 株の抗体価分布はよく似ているが、中山株に対する抗体価の分布は高い方にずれている。対数抗体価の幾何平均値をみると、E-50 株、JaGAr-01 株に対しては1.7と1.9であるが、中山株に対しては2.9であった。

また、3回の採血標本が全て得られた幼児は27名であった。ワクチン1回接種でも中山株に対してはかなりの抗体上昇が認められ、陽転しなかったものは1/27例だけであった。しかし、E-50 株に対しては陽転しないものが9/27例もあり、JaGAr-01 株に対しては3/27例であった。この結果から中山株ワクチンによってE-50 株に対する中和抗体の上昇を期待するには、初回免疫においては少なくとも2回の接種が必要と思われる。

日本脳炎の発症を抑えるには10倍、つまり対数で1.0の中和抗体価があればよいと考えられている。我々のこの実験の結果から、現在のワクチンは中山株に対してだけでなく、他の2種類の野生日本脳炎ウイルス株に対しても、2回接種により有効な中和抗体価の上昇が起こることが明らかとなった。

12 熱帯アフリカにおける腸管系ウイルスの生態 III. ポリオウイルスの型内血清学的異同について

大立目信六 (福島医大・細菌)

先に西アフリカ、ガーナの都市、農村における腸管系ウイルスの生態について報告した。今回はそのうちのポリオウイルス分離株について強毒株との間の血清学的な差異を解析し、近縁関係を検討した。

ポリオウイルスの強毒標準株である1型のMahoney株, 2型のMEF-1株, 3型のSaukette株とそれらを抗原として作った家兎免疫血清を用いた。分離株は1971年から78年にかけてガーナのアクラ市内外で分離したものの一部である。型内血清学的鑑別はMcBride法で中和恒数 Neutralizing coefficient (K値) を求めた。

中和恒数 K は反応0時間及び t 時間目のウイルス量をそれぞれ V_0 , V_t とし血清希釈率を D とすると次式で求められる。

$$\frac{V_t}{V_0} = e^{-k \frac{t}{D}} \text{ or } K = \frac{D}{t} \cdot 2.3 \log \frac{V_0}{V_t}$$

また強毒標準株の K 値を100として分離株のそれと比較した値 NK 値で型間の比較をした。

成績: ポリオ1型の分離株は強毒株の抗血清では中和されにくい, 異質 (Heterologous) な抗原性を持つものが多かった。2型では強毒株に対し同質とも異質ともいえず中間型 (Intermediate) が大部分であった。3型は多くが強毒株の抗血清によってよく中和される同質 (Homologous) であるが中には Heterologous なものもあった。1972年に周辺の農村でポリオ2型の潜在的流行が起こった時の分離株の K 値はほぼ近似しており, 単一型のウイルスによる寡占的流行であったことが示された。アクラ市内や農村部で継続的に調査した時の分離株の K 値は不定であり, 特徴的傾向はなかった。

結論: 西アフリカで分離したポリオウイルス1型は強毒株とは抗原性が異なっていたが, 3型は同質で, 2型は中間型であった。

13 インドネシアにおけるネッタイシマカとヒトスジシマカの生態とウイルスの分離

小田 力 (長崎大・医・医動物)

五十嵐 章

(長崎大・熱帯医研・ウイルス)

堀田 進

(神戸大・国際交流センター)

S. Djakaria, R. Hoedjo

(インドネシア大・医・寄生虫)

デング熱はネッタイシマカやヒトスジシマカに

よって伝搬され, 東南アジアにも広く分布している。我々は1982年1月中旬から約1カ月間インドネシアのジャカルタ市内の2, 3の地区で両種蚊の成虫を人家内と屋外で採集するとともに, 幼虫の発生状況をも調査した。さらに, 採集した蚊成虫についてヒトスジシマカ培養細胞クローン C6/36を用いてウイルス分離を行った。

ネッタイシマカの成虫は少数ではあるが, 人家内で採集され, その幼虫は室内のバクマンディーや水がめなどの人工的容器に発生している場合が多かったが, 屋外にある空き缶などにも発生していた。これに対してヒトスジシマカの成虫は人家内では採集されず, 屋外ではかなりのものが捕集された。その幼虫は戸外に放置されている水の溜った空き缶などに発生していた。

採集されたネッタイシマカからはデングウイルスの1型が2株, またヒトスジシマカからは不明ウイルスが分離された。蚊からのウイルス分離とは別にインドネシア大学医学部付属病院で患者の血液からもウイルス分離を行った。デング出血熱患者16名中2名からデングウイルス3型が分離され, また不明熱患者56名からはデングウイルス2型(1名)と3型(2名)が検出された。

ジャカルタ市内でもネッタイシマカがデング熱の主要伝搬蚊であることは間違いないが, ヒトスジシマカもかなり発生しているように思われるので, 場所によっては本種蚊も本病の伝搬に関与している可能性もある。

14 ELISA 法によるトキソプラズマ IgG 抗体価測定及び Protein A 処理後 IHA による特異 IgM 検出法に関する研究

宮崎 昭行, 土橋 賢治, 鈴木 寛,

中島ひとみ, 松本 慶蔵

(長崎大・熱帯医研・臨床)

トキソプラズマ IgG 抗体価を ELISA 法にて測定し, Dye test, IHA 法と感度を比較した。対象及び方法は Dye test (小林の変法) で抗体価が均等に分布するように70検体を選び, IHA をトキソ HA-KW (協和), ELISA をトキソエライザ・テスト・キット (旭メディカル) で測定した。

その結果、ELISA は Dye test とほぼ同等の感度を示し、一致率は 96% であった。IHA の感度は劣り、Dye test との一致率は 75% であった。しかし、ELISA は高抗体価群でプラトーを示すため、IHA 2,560 倍以上の域値での抗体価の変動を調べるには血清希釈等の操作が必要であった。

次に、特異 IgM 測定法に関して検討した。IHA 抗体陽性 179 検体について Protein A 処理にて IgG を除去し、IHA で特異 IgM 抗体価を測定した。その結果、9 症例 11 検体で Protein A 処理後抗体価は著しく低下したが IHA 80 倍以上を示した。これらの検体は全てレーザーネフェロメーターで IgG が検出されなかったため、特異 IgM の存在が強く疑われた。しかし、これらの患者血清に蔗糖密度勾配遠心法を行い、各分画中の IgG・IgM ならびに IHA 抗体価を測定した結果、全例 IgG 分画にのみ IHA 抗体が見られ、IgM 分画には 1 例も抗体価上昇を認めなかった。以上より、Protein A 処理後 IHA で抗体価上昇を認めても、多くの場合、レーザーネフェロメーター測定感度以下の残存 IgG、または非特異的反応によるものと推察された。

15 細胞性免疫低下を示すフィラリア性乳糜尿症とトキソプラズマ感染の臨床免疫学的検討

吉田 俊昭, 山本 眞志, 松本 慶蔵
(長崎大・熱帯医研・内科)

近年種々の寄生虫感染とその宿主の免疫応答に関しては多くの報告があり、特に細胞性免疫の関与については興味ある問題である。これまでフィラリア性乳糜尿症における細胞性免疫低下について本学会で報告してきた。今回、私共はフィラリア性乳糜尿症の細胞性免疫低下とトキソプラズマ易感染性との関連性について各種細胞性免疫の指標を用いて検討を行い若干の知見を得たので報告する。

対象：フィラリア性乳糜尿症 36 症例

方法：トキソプラズマ抗体価は IHA 法、T 細胞数は橋法、PHA によるリンパ球幼若化反応は ³H-thymidine 取込みにより測定した。

結果：フィラリア性乳糜尿症のトキソプラズマ抗体陽性率は 38.9% で、癌末期患者、流死産及び奇型児出産歴のある妊婦及び同年代の健康成人と比較して抗体陽性率は有意に高率であった。また抗体価も高値を示すものが多かった。トキソプラズマ抗体陽性者では陰性者と比較して末梢血リンパ球数、T 細胞数及び PHA によるリンパ球幼若化反応の有意な低下が見られたが、抗体価との間には相関は認められなかった。PPD 及び PHA 皮内反応陽性率に関してはトキソプラズマ抗体陽性者・陰性者で差は認められなかった。また細胞性免疫低下を示す 3 指標（リンパ球数、T 細胞数、リンパ球幼若化反応）の重複性とトキソプラズマ感染率との関連性も認められた。

考察：以上の結果から細胞性免疫低下を示すフィラリア性乳糜尿症とトキソプラズマ易感染性との関連性が認められ、さらにトキソプラズマ易感染に関する細胞性免疫の指標として末梢血リンパ球数、T 細胞数及びリンパ球幼若化反応の重要性が示唆された。

16 酵素抗体法 (ELISA) による糸状虫症の免疫血清学的診断の試み

富里 政秀 (東京医歯大・医動物)
中島 康雄 (山梨医大・寄生虫)
野上 貞雄 (東大・医科研・寄生虫)

Brugia pahangi の成虫 (Ad) とマイクロフィラリア (Mf) の炭酸塩緩衝液で抽出したものを抗原として用い、*B. pahangi* 感染スナネズミ及び、種々の寄生虫症患者血清について、IgG 抗体価の測定を酵素抗体法で行った。1) *B. pahangi* に感染した月齢 30 カ月以下のスナネズミは全て Ad 抗原と Mf 抗原両方に反応を示した。また抗 Ad 抗体と抗 Mf 抗体はほぼ同等の抗体価を示した。ところがフィラリア寄生があるにも拘らず、抗体を有さないスナネズミが一部に認められ、それらはいずれも月齢 30 カ月以上であった。2) 感染スナネズミ血清に *B. pahangi* オス成虫抽出液を加え抗体吸収を行ったところ、抗 Ad 抗体は 1/16 以下に、抗 Mf 抗体は 1/3 になった。このことはスナネズミ血清中に Mf に特異的に反応する抗体を含んで

いる可能性を示している。3) 腹腔内に感染させたスナネズミの Ad と Mf の寄生数とその血清抗体価に相関は認められなかった。また Mf 血症の有無は抗体価に差を生じなかった。4) 感染経路(皮下もしくは腹腔内接種)によって、抗体価に差を認めなかった。5) 感染後経時的に抗体価を調べていくと、2~4週目に抗体は陽性となり、以後徐々に上昇し、Mf の出現する約8週目に抗体価の一時的低下が認められる。この抗体価の低下は、Mf 出現によって血清中の抗体が消費されたためによるものと思われる。6) *B. pahangi* の抽出抗原を用いて種々の寄生虫症患者血清について、交差反応をする抗体 (IgG) を ELISA にて測定した。*W. bancrofti*, *Loa loa*, *Gnathostoma spinigerum* の患者血清は、Ad 抗原と Mf 抗原両方に交差反応を示した。日本住血吸虫症患者血清においては弱陽性の反応を示した。このような陽性例において、抗 Ad 抗体価は抗 Mf 抗体価より高値を呈した。ただし *W. bancrofti* の患者で Mf 血症を有している症例については、抗 Ad と抗 Mf は同等の抗体価を示した。*Anisakis* (type 1), *Strongyloides stercoralis*, *Entamoeba histolytica*, *Echinococcus multilocularis* の患者血清は交差反応を示さなかった。

17 *Trypanosoma* の K-DNA 及び N-DNA の *in situ* microfluorometry (第4報)

猪木 正三 (奈良医大・寄生虫)
尾崎 文雄 (高知医大)
古谷 正人 (徳島大・医・寄生虫)

猪木らは、昨年(1981年)の本学会において、いわゆる half dry 法(本法では、あらかじめスライドガラス上に1.5%の寒天を薄く塗り、その上に遠心で集めた原虫を静かに塗抹し、これをドライヤーの冷風に当て、標本の表面が乾いた時期を見計ってすばやく ethanol-aceton 等量混和液に挿入し、4°C で30分間固定、さらに ethanol-buffer 等量混和液に10分間、続いて buffer に10分間浸した後、RNase 液に 37°C、30分間作用させ、混在する RNA を除去してから蛍光測光にかける)によって処理した原虫標本を蛍光色素

ethidium bromide 液で染色し、本色素を2重鎖の K-DNA, N-DNA の base pair 間に intercalate させ、波長 535-550 nm の光を照射し、そこに発生する蛍光の強度を Photon counter for cell fluorescence (山田・庄野)で測定する新しい方法を用い、40mg/kg 量の nifurtimox (Lampit®) を注射した *T. cruzi* 感染マウスの血流型原虫 (trypomastigote) の K-DNA 及び N-DNA の蛍光強度値変動を観察したが、上記の使用量では本原虫の両核酸にたいした影響が認められなかったと報告している。

そこで、今回は nifurtimox の投与量を倍増し、80mg/kg (マウスの感染致死を阻止するに充分な量)を感染マウスの腹腔内に注射して、前報の如く6時間後に原虫の K-DNA 及び N-DNA の蛍光測光を行ったが、このような治療に充分な nifurtimox 量を使用しても、*T. cruzi* の両核酸に著明な変化が認められなかった。しかし、この結論はなお再検討の余地を残している。例えば、本薬剤が核酸に障害を起こすと仮定した場合でも、測定を行った時期は投薬6時間後であるから、その間に傷が完全に修復 (repair) される可能性が考えられる。従って、この疑問の解決には、薬剤投与直後の両核酸の蛍光測光を行ってみる必要がある。

18 広東住血線虫症のフルベンダゾールによる治療に関する実験的研究

牧 純, 柳沢十四男
(北里大・医・寄生虫)

広東住血線虫症の治療薬開発のために種々の医薬品がスクリーニングに供されているが未だ適切なものはない。演者らはマウス及びラットに実験的に感染させた本虫に対するフルベンダゾール (Fb) 及びそれと近縁の化合物であるメベンダゾール (Mb) とサイアベンダゾール (Tb) の治療効果を検討したので報告する。〔材料・方法〕実験的中间宿主 *Biomphalaria glabrata* より得た本虫の第3期幼虫を50匹ずつ ddY または ICR 系マウス並びにウィスター系ラットにゾンデを用いて飲ませた。1%ツイーン80に懸濁させた Fb をマウスへは感染後 5-7日, 10-12日, 15-17日また

は5-10日に、ラットへは5-7日、15-17日、35-37日または47-49日に経口投与した(5-100 mg/kg/日)。対照群には1%ツイーン80のみを与えた。Mb及びTbの投与はマウスとラットへ感染後5-7日(10mg/kg/日×3日)及びマウスへ感染後5-10日(10mg/kg/日×6日)にそれぞれ行った。マウスでは投薬終了後通常5-6日に、ラットでは感染後60-63日に実体顕微鏡下で剖検した。〔成績〕マウスでは感染後5-7日または10-12日のFb投与ではほぼ完全な治療効果が認められた(10mg/kg/日×3日)。5-10日のFb投与では5mg/kg/日×6日に於てすら完全な治療効果が見られた。しかし15-17日のFb投与では効果が不明であった(10mg/kg/日×3日)。ラットでは感染後5-7日のFb投与で完全な治療効果を、15-17日のFb投与群で74%の虫体減少率を認めたがFbの35-37日及び47-49日の投与群では効果が見られなかった(いずれも10mg/kg/日×3日)。Mb投与群ではほぼ完全な効果が見られたが、Tb投与群では全く効果が認められなかった。以上マウス、ラットいずれに於ても感染後約2週間以内であればFbによる治療効果を十分期待出来よう。

19 日本住血吸虫虫卵のリンパ球に対する作用について

石井 明, 川越千恵子, 八谷 敏子
(宮崎医大・寄生虫)
芦沢 広三 (宮崎大・農・家畜病理)

4-6週齢 BALB/c マウスに日本住血吸虫(日住)セルカリア30匹を感染させ7-14週後に脾細胞と腸管膜リンパ節(LN)細胞を取り抗原とマイトジェンによる幼若化反応を³H-thymidineの取り込みにより測定した。週齢による対照値にやや変動が見られたが、日住感染で日住虫卵抗原(SEA-Sj), conA, 日住成虫抗原(Adult-Sj), マンソン住血吸虫虫卵抗原(SEA-Sm)の順序が脾細胞反応に見られ、LN細胞ではconA, Adult-Sj, SEA-Sjの順に幼若化が起きた。CBA/Jマウスでは脾細胞の反応が強く、SEA-Sj, Adult-Sj, SEA-Sm, conA, ダニ抗原の順に幼若化反応を示し、LN細胞では低くconA, SEA-Sj, ダニ抗原

の順であった。BALB/c マウスにマンソン住血吸虫(マ住)セルカリア30匹を感染させたものは、日住より反応が弱く、脾細胞でconA, LPS, SEA-Sj, SEA-Smの順で、LN細胞でconA, PHA, SEA-Sjの順であった。マ住100セルカリアを感染させたものでは、脾細胞でconA, SEA-Sm, SEA-Sjの順で、LN細胞でSEA-Sm, conA, ダニ抗原の順であった。BALB/cのT-cell欠損ヌードマウスに日住30セルカリアを感染させ10週後に虫卵結節を見ると、直径平均198 μ mで正常320 μ mに比し小さく、細胞反応、線維化は弱く、好酸球も稀であったが、肝実質の壊死所見は著明であった。腸管の結節でも同様で、内層に壊死変化が見られた。マウス骨髄細胞のコロニー形成作用は虫卵と脾細胞反応上清に見られたが、虫卵物質自体にはなかった。以上の成績を日住虫卵物質とリンパ球の反応、作用として報告する。

20 Toxoplasma 感染マウス血清を使用した Toxoplasma の抗原分析

矢野 健一, 中林 敏夫
(阪大・微研・原虫)

Toxoplasma gondii, RH strain 感染マウス腹水中のToxoplasma(Toxo)抗原には、正常マウス血清中には認められない11種の抗原が、家兎抗Toxo血清を使用した免疫電気泳動法により確認された(Biken J., 23, 33)。それら11種の中には、通常には血清中に存在しないが、Toxo感染により反応的に宿主マウスより産生されるもの(No. 1, No. 3)も含まれていることが確認された。それらマウスの非特異的反応物質を除外し、Toxo抗原のみを追求するために、マウスを1) Toxo抗原で免疫したもの〔anti-PE(m)〕, 2) 弱毒株(S-273 strain)に感染させたもの(anti-Toxo-S), 3) S-273株感染後にRH株を再感染させたもの(anti-Toxo-R)を用い、免疫電気泳動法でToxo抗原の分析を行った。

結果: 1) これらの抗血清では、マウスによる反応性物質(No. 1, 3)に対する抗体は認められなかった。2) anti-Toxo-Sでは、Latex Agglutination Test (LAT) 価の上昇とともに沈降抗体

の数は増加し、LAT 価が上限 (1:512) に達する感染後 4 週以後には、沈降線は 6 本 (No. 2, 4, 5, 6, 7, 9) 確認された。3) anti-Toxo-R では、沈降線の数は変わらなかったが、LAT 価は 1:16,384 で非常に高く、沈降線も個々の沈降線の抗血清側に全体が一本に fuse した沈降線を認めるようになる。また、この状態では Toxocidal であり、マウス当たり 10^7 の Toxo (RH 株) を腹腔内接種しても、3 日後には腹腔内に Toxo を認めない。4) anti-PE (m) では、初回免疫後 4 週目に二次免疫を行うと LAT 価は 1:2,048 と上昇し、沈降線は No. 2, 4, 5, 10 の 4 本を認め、 10^3 の Toxo の腹腔内接種に耐えられるようになる。5) Toxocidal の状態のマウスでは、おそらく糖鎖の部位に対する抗体ができた結果と思われる、全体に fuse した強い沈降線を生ずる。

21 *Babesia rodhaini* 感染によるマウスの垂直感染の可能性について

高橋 宏昌, 鈴木 直義

(帯広畜産大・獣医・生理)

Babesia rodhaini (以下 *B. rodhaini*) はゲッ歯類の赤血球内寄生原虫である。演者らはこの *B. rodhaini* 感染マウスを用いて垂直感染の有無についての実験を行った。

B. rodhaini のマウスに対する毒性を知るために原虫含有マウス赤血球の約 10^1 , 10^2 , 10^4 個をそれぞれ ICR-JCL 成熟マウス 3 頭ずつの腹腔内に接種した。最少量である 10^1 個接種マウスは 14 日目までに全頭死亡した。

B. rodhaini 感染に対するマウスの抵抗力獲得試験は感染の確実性の点から、原虫含有赤血球 10^2 個を、腹腔内接種によって行った。原虫接種マウスは接種後 1 週目より、ジアザミノベンツアミド製剤 (Ganaseg) 0.1 mg/マウス/日を 3 日間連用、以後 1 日休薬、ついで同薬剤同一量を 3 日間投薬した。これらのマウスは接種後 4 週目に 10^2 個の感染赤血球で攻撃し、4 週以上経過したものをバベシア感染耐過慢性マウスとした。

バベシア慢性マウス腹腔マクロファージの *B. rodhaini* 感染マウス赤血球貪食能を検討した。赤

血球は慢性あるいは健康マウス血清で 37°C , 30 分間感作後、マクロファージ単層培養液中に添加した。添加後 30, 60, 120 分に、マクロファージを固定、染色した。赤血球貪食能は慢性マウス・マクロファージに慢性マウス血清処理赤血球添加群において有意に亢進した。

ついで *B. rodhaini* 原虫の垂直感染の可能性を検討した。バベシア慢性雌マウスからの新生仔 1 匹ずつの内臓を乳剤化し、健康マウスに接種して、発症の有無を観察したが、全例陰性であった。妊娠中感染マウス (交配後 1 ないし 2 週目に 10^2 個感染赤血球接種) からの胎児または新生仔について同様な試験を行ったが、発症例は認められなかった。以上のことから、マウスにおける *B. rodhaini* の垂直感染は通常認められないと推察された。

22 *Trypanosoma cruzi* の培養条件による脂質組成の変化

金田 良雅, 永倉 貢一, 橋 裕司,
合津 都世 (東海大・医・寄生虫)

Trypanosoma cruzi に感染して起こるシャーガス病は現在もなお有効な治療薬が見出されていない。虫体の脂質代謝を明らかにすることによってその代謝阻害による治療の可能性について検討を行うため、まず虫体の脂質組成及び培養条件の変化による脂質組成の変動を観察した。新しい LIT medium 中へ虫体を接種してから虫体の各増殖期における脂質組成の検討を行った。接種後 1, 4, 7, 15, 30 日目に虫体を集め、Folch の方法により全脂質を抽出した。抽出した脂質をシリカゲル板に添加し、薄層クロマトグラフィーを行った。各分画をかきとり、中性脂質については Dichomate reagent を用い、リン脂質についてはリンの定量を行い、各分画の組成比を求めた。中性脂質の組成比をみると、Free fatty acid と Diglyceride に相当する分画が、対数増殖期の終りから定常期にかけて増加してくるのが観察された。リン脂質組成にはあまり大きな変化は見られなかった。次いで培地中に脂肪酸を添加することによる虫体脂質組成の変化を各分画に分けて観察した。中性脂質に関してはいずれの培地で培養し

でも大きな変化は見られなかった。リン脂質に関しては palmitic acid 添加培地において sterol の減少がわずかに見られた以外は大きな変化は見られなかった。この全脂質をガスクロマトグラフィーによって脂肪酸組成を観察した。stearic acid 添加培地で培養した虫体で18:1が増加していた。また、stearic acid 及び palmitic acid 添加の培地で培養した虫体では18:2が減少していた。このことは stearic acid 及び palmitic acid が存在すると虫体自身の linoleic acid を消費することを示唆する結果とも考えられる。培地中へ添加する脂肪酸種が異なると虫体が脂肪酸を利用する方法にも違いが生ずる可能性が考えられる。

23 わが国に定住を希望するインドシナ難民の健康状況の解析

山口 直人 (慶大・医・公衆衛生)
浅見 敬三, 竹内 勤, 小林 正規,
三浦左千夫, 河村 康司
(慶大・医・寄生虫)
建野 正毅 (大和市立病院)

1980年以来、わが国に定住を希望して入国したインドシナ難民の数は、すでに1,000名を越えているが、寄生虫感染症を中心に、健康上の問題もいくつか明らかとなっている。本調査では、大和市に設立された難民定住促進センターに入所した難民385名を対象とし、健康診断等により得られた情報をもとに、難民の健康状況の解析を行った。

寄生虫感染症は75%と非常に高率に認められ、その対策が重要であることが判明したが、中でも多いのは、鉤虫41%、タイ肝吸虫24%、鞭虫22%などである。鉤虫感染では合併症として貧血症が問題となるが、鉤虫感染が認められた者は、認められなかった者と比較して、血中血色素濃度、ヘマトクリットが有意に低いという結果が得られた。また、鉤虫、糞線虫、小形条虫、Rhabditis 属の認められた者には、好酸球増多症が見られることが多く、健診時には注意を要する。

健診時には数項目の肝機能検査を実施したが、そのうち、血清 Alkaline phosphatase 活性値

(ALP) が高値を示す者が多数認められ、問題となっている。isozyme の測定を行っていないため、その由来を直接知ることはできないが、主成分分析、重回帰分析等により、他の肝機能検査との相関を検討した結果、ALP の変動の75%程度は肝由来の isozyme によると推定された。しかし、他の肝機能検査が全く正常で、ALP のみが非常に高値を示す例が、カンボジア難民を中心に多数認められ、骨由来の isozyme によると考えられる症例も含まれており、今後、さらに検討を加えてゆく必要があると考えられる。

以上述べた如く、インドシナ難民には、寄生虫感染症を中心にさまざまな健康上の問題が見出されており、今後さらに健康保護のための体制を整備、充実させてゆく必要があると考えられる。本研究は、トヨタ財団の援助によってなされた。

24 大和難民定住促進センター出所後のインドシナ難民の健康調査

建野 正毅 (大和市立病院)
竹内 勤, 小林 正規, 三浦左千夫,
河村 康司, 浅見 敬三
(慶大・医・寄生虫)
山口 直人 (慶大・医・公衆衛生)

日本政府がインドシナ難民対策として設置した定住促進センター開所以来、2年余が経過している。本年3月末日までに大和定住促進センターを出所し、日本各地に定住した者は423名(男230名、女193名)に達している。演者等は日本社会で生活を始めたこれら難民の健康状態を知るためにアンケート調査、寄生虫学的検査及び血液検査等を施行して来たのでその一部を報告する。

アンケート調査は日本語及び難民の母国語の2カ国語の用紙を作製し、各雇用主に対して郵送で依頼した。アンケートの内容は生活状況、健康管理の状況、最近の健康状態等に関する78項目である。300名に発送し、217名(72.3%)の回答が得られた。回答者の64.8%が出所後何らかの医療機関を受診しており、感冒、腹痛、歯痛、外傷等がその主な原因となっている。受診率を見ると、国別ではラオス人が他の国に較べて有意に低く、年

年齢別では10歳未満が高く、10歳台が低かった。最近の症状としては「よく風邪をひく」と答えたものが55%、肩こり、めまい、虫菌等があると答えたものが40%以上であった。

寄生虫感染率は入所時の78.1%が51.6%と減少している。然しながら、ラオス人のタイ肝吸虫の感染は依然として高く、このことはラオス人の感染率を他の2国に比べて有意に高くしている。一方、フルベンダゾール投与例ではタイ肝吸虫排出卵数の著明な減少をみており、他の蠕虫類では鞭虫保有者の1例を除き全例が陰性化していた。

貧血状態をHb, Ht でみると著明な改善が見られており、この傾向は女性の方により強く表れていた。本研究はトヨタ財団の援助によってなされた。

25 熱帯地方長期滞在日本人の疾病

小原 博, 谷 莊吉

(金沢医大・医動物)

海老沢 功 (東邦大・医・公衆衛生)

大利 昌久 (東大・医科研・感染症)

表 光代 (青年海外協力隊)

海外長期滞在者の健康管理上の資料とするために、途上国に滞在し技術協力を行う青年海外協力隊員の疾患罹患状況と検査成績を調査し分析した。対象者は、過去3年間に3カ月以上滞在した者1,469名である。なお、一部の対象者については、詳細な実態調査を実施した。

主要疾患について見ると、マラリア101例、急性肝炎94例、交通事故71例、慢性下痢症59例などが上位を占めている。マラリア、デング熱については未報告例も多いと考えられるため、さらに詳細な調査を行った。その結果、熱帯アフリカでは53.2%がマラリアに、東南アジアでは16.4%がデング熱に罹患していると考えられる成績が得られた。精神病は11例報告されたが、精神症状を呈する者は、かなり高率であると考えられている。

急性肝炎は、極めて罹患率の高い疾患となっており、過去3年間に発生した94例の内訳は、A型73例、B型9例、非A非B型2例、型別不明のもの10例であった。2年間滞在後に測定した抗

HA及び抗HB抗体保有率は、出国前に比しそれぞれ、2.7倍、1.3倍に増加していた。

帰国時の検査結果では、年次により、頻度はやや異なるが、寄生虫陽性例(山浦ら, 1981)は、1980年では被験者の30.7%を占めていた。3年間の総計では、好酸球増多症5.9%、肝機能異常5.4%、尿道炎5.2%となっている。尿道炎は大部分非淋菌性であった。好酸球増多症のうち、寄生虫感染が疑われたものは80%であった。

既往歴のある疾患の悪化、または再発例も高率に認められており、特に腰痛症、胃炎、高血圧、歯疾患、鼻疾患にその傾向が強い。日本人が、熱帯・亜熱帯地方に長期滞在する際には、肝炎、交通事故、精神病、性病に関する対策、及び成人病の管理が、現地で流行している疾患に対する対策同様に、極めて重要であると考えられる。

26 インドネシア在留邦人の寄生虫感染率と飲料水汚染についての経年的観察

藤田紘一郎, 月舘 説子, 黒川 憲次

(長崎大・医・医動物)

奥脇 義行 (女子栄養大・微生物)

杉山 雅俊 (順天堂大・医・衛生)

朝倉 健夫 (熱帯医学協会)

前回の本学会総会において、我々は世界各地に在留する邦人の腸管寄生虫感染率について報告した。そして、この邦人の寄生虫陽性率はそれらの地域に供給されている飲料水から大腸菌群が検出される度合と高率に相関($r=0.957$)することを証明した。

今回はインドネシア在留邦人の腸管寄生虫感染率について1978年度から本年度までにわたる調査結果を報告し、併せて飲料水水質検査の経年的変化及び飲料水汚染と寄生虫感染率の相互関係を検討した。

1978年度の邦人の腸管内寄生虫感染率は8.0%であった。また蟻虫感染率も8.3%であった。これらの陽性者にコンバントリンを1クール分だけ与えて翌年まで放置し、さらに翌年検査したところ、腸管内寄生虫陽性率は4.8%に減少し、以後も減少したが、1981年度より増加傾向を示し、本

年度は6.1%にまで陽性率が増加した。しかし、蟯虫の感染率はあまり変化せず、むしろ最近では逆に増加する傾向が見られた。寄生虫のうちで、回虫の感染率は減少したが、鞭虫の感染率は増加の傾向にあった。

一方、インドネシアの飲料水の汚染度も、1978年より経年的に調べた。汚染の度合は常に高い割合で見られたが、最近ではさらに糞便系汚染が進行しているように思えた。次に、寄生虫陽性者が飲用している飲料水のみを取り上げて、全体の水質検査成績と比較したところ、腸管内寄生虫陽性者が飲用している水は全体の飲料水より、糞便汚染されている度合が幾分高いという結果がでた。しかし、この結果は調査年度により異なり、今後の調査が必要である。例えば、1979年度においては、寄生虫卵陽性者全員が大腸菌群陽性の飲料水を使用していたが、1982年度においては、特に対照との差は見出せなかった。

27 インドネシア共和国北スマトラ州における腸管寄生虫調査

今井 淳一 (宮崎医大・寄生虫)

O. Simanjuntak

(北スマトラ州衛生局)

インドネシア共和国北スマトラ州アサハン県の3カ村(6部落)の一般住民977名について腸管寄生蠕虫の感染調査を行い、同時に集団駆虫、血中ヘモグロビンの測定も実施した。以下にその成績を要約する。1) 調査した3カ村全体について見ると虫卵陽性率は97.5%で、虫種別では回虫85.4%、鞭虫93.0%、鉤虫83.5%(ズビニ鉤虫53.6%、アメリカ鉤虫63.3%)、糞線虫1.2%、桿線虫類2.1%、小形条虫0.8%などであった。2) 混合感染は3種保虫者が虫卵陽性者の71.8%を占め最も多く、更にこの中の98.7%が回虫、鞭虫、鉤虫の保有者であった。3) 部落別、性別に見た虫卵陽性率は何れの虫種も大差ないが、ズビニ鉤虫(A. d.)とアメリカ鉤虫(N. a.)の感染には著しい地域差が認められた。即ち、水田地帯の2村落ではA. d. 優占と両種均衡の分布が、ゴムや油椰子農園の丘陵地帯に存在する村落ではN. a. 優占の

分布傾向が観察された。4) 年齢別に見た虫卵陽性率は全体的には横ばいであるが、回虫、鞭虫の低年齢層における陽性率が高く、1歳台で62%を示し、3歳台では既に90%に達している。鉤虫でも率は少々低いが同様の傾向を示し、5歳台で成人層と同程度の感染率に達している。5) インドネシアで市販されている Trivexan (pyrantal pamoate 100mg+mebendazole 150mg/錠) と Combantrin の2種駆虫剤を用いて回虫、鞭虫、鉤虫の各保虫者111-139名についての駆虫効果を比較した。回虫、鉤虫に対する陰転率は Combantrin で91.5~94.0%、Trivexan では98.4~99.2%を示し、鞭虫に対しては Trivexan が64.7%の陰転率に比べ Combantrin では22.0%と低く、全体的に Trivexan が良好な駆虫効果を示した。6) 血中Hbはメトヘモグロビン-アザイド法により測定した。北スマトラ農村住民の平均Hb値はWHO方式により区分してみると2-6歳群: 9.9g/dl, 7-14歳群: 11.2g/dl, 15歳以上の男性: 13.2g/dl, 女性: 11.7g/dlであった。これは日本人の平均正常値と比べて著しく低く、平均赤血球色素濃度(MCHC)の平均値が26.9~30.0%であることから低色性小球性貧血を窺わせ、この傾向は低年齢層程顕著であった。鉤虫感染との関連については今回の調査で追究できなかった。

28 中央アフリカ共和国における寄生虫調査(1981年9月)特に腸管寄生原虫の疫学

辻 守康 (広島大・医・寄生虫)

野上 貞雄 (東大・医科研・寄生虫)

畑本 典昭 (広島県公衆衛生課)

熊田 三由, 加藤 桂子, 林 滋生
(予研・寄生虫)

中央アフリカ共和国における寄生虫感染の第7次(1981)調査には、ブアール地区住民の他に首府バンギーの2街区住民を新たに選び、総計303名について検診を行い、特に腸管内寄生原虫についての疫学的特性の解析結果を示す。前回同様の検査により10種の蠕虫、7種の前虫感染が見出され、いずれかの1種に罹患するものが87%を越え、多くの者が2種以上の感染を受けていた。各種別

では検便で鉤虫34.3, 回虫2.5, 鞭虫5.0, 糞線虫・蟯虫各0.4, マンソン住血吸虫19.3, 赤痢アメーバ15.6, 大腸アメーバ19.9, ヨードアメーバ6.5, 小形アメーバ27.5, ランブル鞭毛虫3.3%, 尿検査(バンギーのみ)でビルハルツ住血吸虫14.6%, 皮膚生検でオンコセルカ25.7%, 血液検査でロア糸状虫7.4, 常在糸状虫14.4, 四日熱マラリア6.0, 熱帯熱マラリア11.4%であった。本地域の特色として回虫が極めて少ないこと, 鉤虫(アメリカ鉤虫)の感染が多いこと, またマンソン住血吸虫は首府地区よりブアール地区に多く, 逆にビルハルツ住血吸虫は殆どブアール地区に見られないがバンギーにはかなり浸淫が見られることである。その他は概して地方のブアールも首府の市街区も大きな差異はない。寄生虫感染を起こす状況は首府でも大同小異ということである。ブアールの村落のみについて見れば感染率は全体に他地区よりも高い。腸管内寄生原虫の5種について見ると, 地区により若干の種類構成の差異はあるが性別による差は見出されない。恐らく共通した感染経路をもつものと思われるが, 各種間の感染の関連を検定すると意外にも赤痢アメーバ, 大腸アメーバ, ヨードアメーバ, 小形アメーバの4種の間には有意な正の関連が存在するのにランブル鞭毛虫のみは, 独立または負の関連が証明された。これは前者のグループは年齢が増すにつれ感染が増加するのに, 後者は10歳以下の小児に多く, 以後急激に感染率が減少するという年齢分布の特徴に差があることに由来する。ランブル鞭毛虫感染の年齢分布における特色は注目すべきことである。

29 名古屋市ドブネズミから見出された広東住血線虫 (*Angiostrongylus cantonensis*) について

真喜屋 清 (名古屋大・医・医動物)
鬼武 一夫 (名古屋大・医短・生物)

広東住血線虫は太平洋地域に広く分布し, 好酸球性髄膜脳炎の原因虫として重視されている。わが国では南西諸島(西表島: Nishimura ら, 1964; 沖縄・宮古・石垣島: Nishimura ら, 1966), 東日本(横浜・川崎: 堀ら, 1969; 東京: 内田ら,

1982), 小笠原諸島(堀ら, 1973)及び北日本(札幌: 大林ら, 1968; 奥尻島・江差町: 服部ら, 1981, 1982; 青函海底トンネル: 高田ら, 1982)の家鼠から報告されているが, 西日本地域における分布はまだ報告されていない。

今回演者らは, 名古屋市内で捕獲したドブネズミ1匹から同線虫と見られる虫体4匹(♂3, ♀1)を見出したので, その概要を報告する。ネズミの肺から得られた線虫の雄は体長が23.4~23.9mm, 最大体幅0.35~0.37, 食道長0.29~0.33及び交接刺長1.21~1.22mmで, 特徴的な交接囊を持ち6対の助条が発達する。走査電顕による観察では, 2対の助条(anterolateralとexternodorsal)先端の外側表面に乳頭状の突起(4個)が認められた。雌は虫体が切断されたため, 体長は正確さを欠くが約42mm, 体幅0.58, 食道長0.36, 尾端・陰門間距離0.25そして尾端・肛門間0.05mmで, 子宮内に多数の虫卵(平均64.3×37.5 μ)が内蔵され, 腸管はらせん状を呈する。また, ネズミの糞便から多数の第1期幼虫(体長0.26mm)が検出された。以上の結果から, この線虫は広東住血線虫と同定された。

宿主のネズミは名古屋市名東区の住宅地で1982年2月に捕獲されたもので, 頭胴長21.3cm, 体重170gの雌成獣である。この地域は港湾地区から約14km離れた市東部の丘陵地で, 中間宿主になり得るカタツムリ, ナメクジ類が多数棲息するが, 現在のところ第3期幼虫の検索は陰性である。

30 1972-1981年におけるわが国の輸入マラリアの現状

大友 弘士, 日置 敦巳

(岐阜大・医・寄生虫)

中林 敏夫

(阪大・微研・原虫)

近年, 熱帯・亜熱帯諸国への海外渡航者の激増に伴い, わが国における輸入マラリア症例の増加が見られるが, その実態は十分に究明されていないのが現状である。演者らが1972年から実施している医療機関1,300カ所に対するアンケート調査によれば, 1972年の40例から1980年の90例に及ぶ

年間平均65例の輸入症例が存在し、1981年までの10年間に646例が集計された。これらの輸入症例の感染地はアフリカや南米よりオセアニアを含む南アジアが多く、南アジアで感染した症例の72.0%が三日熱マラリア、アフリカ諸国で感染した症例の53.6%が熱帯熱マラリアであった。また、14例の卵型マラリアはすべてアフリカ諸国での感染であった。

一方、熱帯熱マラリアの場合は診断と適正治療開始の遅延が重篤な合併症を惹起する危険が知られている。アンケートに示された熱帯熱マラリア14人の死亡例はこの事実を示唆するものと考えられる。アンケート項目について報告された収集症例の他の所見についても集計した。

31 新生児期に発症したマラリアの1例

金 光明, 上野山裕己, 吉村 文秀,
富沢 貞造 (甲賀病院・小児科)
中林 敏夫 (阪大・微研・原虫)

ベトナム難民の婦人より出生し、新生児期にマラリアを発症した1例を報告する。新生児期に発症するマラリアは流行地においても稀であり、日本国内では我々の調べた限り報告例はなく、恐らくこれが初めてのものと思われる。

患児の母親は1981年5月にベトナムから難民として来日した。彼女は妊娠中に3回、三日熱マラリアの再発をきたし、妊娠後期には切迫早産を起こした。患児は1981年8月12日母親の3回目のマラリア再発中に満期安産、生下時体重2,680gで出生した。生後の経過は順調で黄疸も軽度であった。ただ生後13日のIgM値は125mg/dlと上昇していた。

生後18日の朝より戦慄とともに39°C台の発熱が出現し、生後20日には著明な肝脾腫大が認められた。血液塗抹標本より三日熱マラリア原虫が見出されたためただちにファンシダールで治療された。症状及び所見は生後22日頃まで進行し、以後次第に回復していった。

発熱は生後18日から20日まで持続し、生後22日に再び一過性の発熱が見られた。血液中のマラリア原虫は生後22日まで認められた。生後23日の検

査所見は以下の通りである。

肝 3.5 cm, 脾 3.5 cm (いずれも肋弓下), CRP (卅), 赤血球 $254 \times 10^4/\text{mm}^3$, 血色素 8.3 g/dl, ヘマトクリット24%, 血小板 $5.6 \times 10^4/\text{mm}^3$, 白血球 $6,900/\text{mm}^3$ (好中球55%, リンパ球39%), 網赤血球16%, GOT 157単位, GPT 75単位, LDH 940単位, ALP 19.0単位, 総ビリルビン値 1.1 mg/dl, 腎機能及び検尿; WNL. なお生後37日のIgM値は220 mg/dlとさらに上昇していた。

本症例では生直後よりマラリア感染の予防処置がとられており、生後の感染は考え難い。胎内感染または分娩時の感染と考えられるが、そのいずれであるかは決定できなかった。

なお本症例では症状出現以前にIgM値が上昇しており、新生児のマラリア感染の早期診断にIgM値が実際的方法としてある程度利用できるように思われる。

32 ベトナム難民に見られたアメーバ性肝膿瘍例

天野 博之 (天理病院・海外医療科)
田畑 隆文 (同・腹部一般外科)
森田 博, 猪木 正三, 荒木 恒治
(奈良医大・寄生虫)

症例は34歳、ベトナム人男性。1981年5月12日ベトナム出国、同5月20日に日本へ入国した。悪寒、発熱、右側胸部痛、黄色下痢便出現し、7月17日、当院入院となった。入院時、体温37.8°C、右下胸部に濁音あり、肝3横指触知、右側胸部叩打痛あり。脾・腎触知せず。RBC $375 \times 10^4/\text{mm}^3$, Hb 10.0 g/dl, WBC $11,100/\text{mm}^3$ (Lymph. 25.5%, Mon. 6.5%, Eos. 1.0%, Bas. 0.5%, N. Seg. 64.5%, N. Band 1.5%, N. Metamyelo. 0.5%), PLT $58.9 \times 10^4/\text{mm}^3$, CRP 6.5 mg/dl, T. P. 7.6 g/dl, Alb 3.0 g/dl, Glb 4.6 g/dl, T. Bil. 0.3 mg/dl, GOT 35 KU, GPT 33 KU, LDH 27.1 HU/dl (21-47), ALP 6.8 B. U., γ -GTP 103 mIU, T. Cholest. 153 mg/dl, IgG 2,657 mg/dl, IgA 406 mg/dl, IgM 158 mg/dl, IgE 268 U/ml. 尿異常なし、検便にて潜血(-), 回虫卵(+), 鞭虫卵(+), アメーバ(-)。胸部レ線像にて右胸水貯留、腹部エコーで

肝右葉に直径 10cm の mass echo を認め、経皮的膿瘍穿刺により暗赤褐色排液を得、同液より *E. histolytica* 栄養型を証明。また、同液及び患者血清に対し Serameba® test を施行、両者とも陽性所見を得てアメーバ性肝膿瘍と確診した。7月21日より Metronidazole (2g/日×10日×2クール) を投与し、解熱、自覚症状の消失、肝膿瘍の著明な縮小、右胸水の消失等著効を見て8月14日軽快退院した。その後、再発の徴は認められない。そこで、不顕性感染者の発見を目的として、彼の属するベトナム難民集団に対して、Serameba® test 及び赤痢アメーバ抗原に対するゲル内沈降反応を実施した。対象は14歳以上の32名(男21名、女11名)で、Serameba® test 陽性1名(3.1%)、ゲル内沈降反応陽性4名(12.5%)の結果を得た。これらの陽性者は糞便中アメーバ囊子陰性で、肝膿瘍も認められなかった。同時期に施行した糞便検査(MGL変法)では、虫卵保有率34.4%なるも、アメーバ囊子は全例陰性であった。また血液標本上、好酸球増多は34.4%に認められ、マラリア症例は認められなかった。最近、アメーバ性肝膿瘍の報告が散発ながら増加傾向を示しており、本邦土着の保虫者のみならず輸入例の二次感染が危惧されている折、感染源となり得る症例として報告した。

33 糞便中のシストからの赤痢アメーバ無菌株の確立

小林 正規, 竹内 勤, 浅見 敬三
(慶大・医・寄生虫)

従来報告されている赤痢アメーバの無菌化の殆どは細菌と共棲培養された栄養型を無菌化の材料として用いていた。また、糞便中の囊子から無菌化を試みた例においても囊子を一度細菌共棲培地において脱囊させ栄養型とした後に無菌化されている。我々は今回一種のみの培地を用いて糞便中の囊子から赤痢アメーバ栄養型の無菌株を確立したのでその方法の概要を報告する。用いた材料は大和難民定住センターに居住していたラオス難民の糞便で、糞便検査によって赤痢アメーバ、大腸アメーバ、小形アメーバの囊子、及びタイ肝吸虫

の虫卵が見出されている。

このアメーバ囊子を含む糞便約1gを10mlの生理的食塩水に溶解させた後ガーゼにて濾過し、3回遠沈洗浄した。次いで5mlの蒸留水に浮遊させ35% sucrose 溶液(W/V)に重層して遠沈し、中間層を回収した。これを更に遠沈洗浄した後5mlの蒸留水に浮遊させ25% sucrose 溶液(W/V)に重層し、同様に遠沈した。この操作を回転数を変えて二度行い、二度目の遠心操作によって得られた中間層を洗って1%塩酸に浮遊させ15分間室温にて処理し殺菌と脱囊のための前処置とした。この後抗生剤を含むダルベッコのPBSにて5回洗った後得られた囊子を *Trypanosoma cruzi* の Epimastigote を含む BI-S-33 培地に浮遊し 35.5°C で培養した。培養開始後2日目に活発に運動するアメーバ栄養型が見出された。この後4-6日毎に同じ培地を用いて継代していったが、約半年後に至って増殖速度が速くなったのでトリパノソーマを含まない培地に移した。以来3か月以上無菌株として保存されているが増殖は良好である。本分離株の同定はゲル内沈降反応と蛍光抗体法を用いて実施し、赤痢アメーバと認めた。この方法は赤痢アメーバの無菌化を容易にするものと思われる。

34 ビルマの感染症 1. 地理と気象条件及びマラリア

海老沢 功 (東邦大・医・公衆衛生)

ビルマは社会主義共和国で正式名は The Socialist Republic of the Union of Burma である。地理的には 18-28°N, 92-102°E にわたる熱帯亜熱帯に位置し北部は山岳地帯、南はインド洋に面する。行政的には7つの州 State と7つの地区 Division に分かれる。全国19カ所の気象観測所の5年間(1963, 1973-1976)の最高と最低気温、年間雨量を日本の30年間(1951-1980)の値と比較してみた。ラングーンでは(以下平均値をのべる)最高 32°C, 最低 22°C, その他の地域でもインド洋に面するかそれに近い地点ではほぼ同様の値を示す。これに反し中、北部の山岳地帯ないし高地では最高 22.6°C, 最低 14°C で鹿児島に近

い気温を示すところがある。降雨量は Tavoy (5,900mm), ラングーン (2,900mm) から Pakokku (900mm) と多雨から乾燥地も含む。気温と同じくインド洋に近い地域に雨がが多い。上記降雨量は5-9月の雨期に集中して記録されるのでその間の1日当たりの雨量はかなり多い。

医療は原則として国営、無料であるが自由診療も認められている。全国の病院と診療施設から毎月入院患者数と死亡数その他が疾患ごとに厚生省に届出されることになっているが必ずしも完全に報告されているわけではない。不完全とはいえビルマにおける諸疾患の概略を知ることができる。1978年度のマラリア患者と死亡数(いずれも入院)は10,891人と2,208人、各地区、州の入院患者数のうち1-2位を占める所が多い。罹患率は人口10万人当たり333で一般に人口密度と逆比例して罹患率が高い。年齢別では15-24歳群に率が高く、死亡は25-34歳群に高率である。季節的には7-10月に多い地区、3-6月に多い地区、あるいは年間を通じて患者数の変動に差が少ない地域がある。マラリア原虫種は熱帯熱：三日熱が3:1である。一般にスライド陽性率は薬剤内服と殺虫剤散布地域で約6%、監視地区で約3%である。クロロキン耐性熱帯熱マラリアは1974年に13カ所見つかっており、全域に広がりつつある。

35 インドネシア各地における飲料水の細菌学的研究

奥脇 義行, 矢内 寿恵, 豊 経子
(女子栄養大・微生物)

藤田 絏一郎, 月館 説子
(長崎大・医・医動物)

杉山 雅俊 (順天堂大・医・衛生)
朝倉 健夫 (熱帯医学協会)

我々は、インドネシア各地の飲料水について、経年的にその水質について調査を行っている。

今回の研究では、インドネシア各地の飲料水から、皮膚あるいは皮下の感染症または炎症との関連に注目し、グラム陽性球菌類の検出を試みた。

調査は、1981年7月から8月にかけての約1カ月間で、インドネシア各地で採取した飲料水を検

水とした。検水は、その場で滅菌キャピラールで0.2mlをとり、我々が考案した輸送培地に滴下して、日本に持ち帰って分離培養し、出現菌は鑑別を実施した。

今回の結果は、1カ月間の調査期間中にグラム陽性球菌は死滅しやすいためか、必ずしも良い成績は得られておらず、今後、さらに十分な検討が必要と考えられる。

36 マラウイ共和国におけるコレラと髄膜炎の検査について

鹿住 祐子

(上尾中央総合病院, 青年海外協力隊)

赤尾 信吉 (防衛医大・寄生虫)

1979年10月から、1981年10月までの2年間、マラウイ共和国のQueen Elizabeth Hospitalの細菌検査室で、南部地方と、中部地方の一部からの検体を対象に検査を行った。

1979年12月から、1981年8月までのコレラ菌検査用総検体数は6,309で、そのうち*V. cholerae*陽性は1,453であった。1972年にモザンビークから入った*V. cholerae*はその後減少し、1979年12月から1980年5月に急増し、この6カ月間で*V. cholerae*陽性は、1,092であった。例年には少ない地域から検出が目立った。1980年11月末から1981年4月までの*V. cholerae*陽性184について血清型別を行ったところ、稲葉型はZomba, Chikwawaなどから全体の95%で、残りの5%はChiradzuluからの小川型であった。

髄膜炎については、髄液の細胞数を算定し、細菌学的検査と生化学的に糖、蛋白量を測定した。1980年10月から1981年2月までの総髄液検査数337のうち、細菌性髄膜炎は22で、原因菌は*S. pneumoniae*, *Haemophilus* 属, *N. meningitidis*, *S. enteritidis*で全体の60%以上が*S. pneumoniae*であった。問題はマラリアの熱発作と髄膜炎の症状が似ているため、マラリア患者から髄液がとられることが多いことである。

Salmonella, *Shigella*の検査において、これらは一年を通じて検出され、オンコセルカ症は、Thyolo地方で見られた。

37 ハブの産卵・孵化と性比

木原 大

(鹿児島大・医・第二生理)

中本 英一 (奄美ハブセンター)

吉岡 満城 (鹿児島大・医・衛生)

林 良博 (東大・医科研・寄生虫)

奄美・徳之島両島で捕獲されるハブは、毎年雄が雌の約2倍を占める。その原因として雄が雌より活動的であることがあげられている。我々は自然状態での雌雄の比を知る目的で、ハブの孵化実験を試みた。38個体の親ハブから240個の卵を得、そのうち218個が孵化した(孵化率; 約90%)。幼蛇の性比は雄151匹に対し雌は67匹で、約7:3になり、捕獲ハブの性比と良い一致を見た。この事から捕獲ハブの性比の偏りは、孵化時の性比を反映しているものと考えられた。

実験に用いた親ハブの体長は124~185cmで、平均体長は 142.9 ± 12.6 cmであり、1個体当たりの産卵数は3~14個で、平均 6.7 ± 2.3 個であった。また親ハブの体長と産卵数とは密接な関係があり、その関係は $Y = -16.3 + 0.16X$ (X; 体長, cm) で示される。

孵化直後の仔ハブの平均体長は 41.6 ± 3.0 cmで、雄と雌との間には有意差があるが、体重には雌雄の差が認められず、成蛇で観察される雄のほっそりした感じは、孵化時より存在する。

孵化に要する日数は温度に強く影響され、室温放置すると 42.5 ± 1.7 日で、従来いわれてきた41~42日という日数と良く一致した。しかし25°Cと28°Cの部屋で孵化を試みると、孵化日数はそれぞれ 51.9 ± 2.0 日と 48.0 ± 1.2 日に延長した。

産卵は7月5日から8月6日の期間に行われたが、そのうち約70%は7月14日から27日までの2週間にわたって行われた。

38 1981年における奄美大島のハブ咬症の現況について

川村 善治

(日本蛇族学術研・沖縄支所)

沢井 芳男

(日本蛇族学術研)

我々は1957年以来奄美大島のハブ咬症患者の疫学及び治療・予防・予後に関する調査を行って来たが、今回は前年に引続いて1981年の調査について報告する。患者数は153名で前年より15名減少し最低の記録を更新した。

その内徳之島が97名(19減)で全咬症数の63%を占め奄美本島が56名(4増)で37%であった。地域別受傷者数を町村別に見ると、本島では瀬戸内町での受傷が14で最も多く、名瀬市12、笠利町10、竜郷町9、宇検町6、大和村3、住用村2の順であった。徳之島では天城町が36で最も多く、伊仙町34、徳之島町が27であった。月別発生数では、4月が28で最も多く、6月22、9月17、5月16、10月15、7月14の順であった。

即ち3月-10月までの8カ月に136(89%)が、受傷していた。年齢別で最も多いのは40代の44(28.8%)、50代の32(20.9%)、60代30(19.6%)であった。男性の受傷は109(71.2%)、女性44(28.7%)で、2倍以上にのぼっている。受傷場所は、田畑で農作業中に受傷したものが81(52.9%)で最も多く、屋敷内が33(21.6%)でこれに次いでいたが両者が全咬症数の70%以上を占めていた。これを地区別にみると田畑での受傷率は徳之島が本島より明らかに高い傾向を示している。受傷部位では上肢と下肢がそれぞれ87(56.1%)及び66(42.6%)で受傷の大部分を占めていた。最も多いのは手指48(31%)で手の30(19.4%)を加えると50%を超える。下肢では下腿及び足がそれぞれ28(18.1%)、26(16.8%)であった。受傷時刻では午前6時から午後6時までの明るい時刻に108(72.5%)、午後6時から午前6時までの暗い時刻に41(27.5%)が受傷しているが、田畑では87.5%が昼間に受傷しているのが特徴的である。これに反して屋敷内及び道路では夜間の受傷が目立っている。ハブ咬傷の予後は受傷数153という最低記録が作られたにも拘らず死亡2名が発生し1976年以来5年間続いた死亡0の記録はストップした。軽症例は131(85.6%)及び高度の腫脹あるいは、嘔気、嘔吐など全身症状を呈したが全治した4例、壊死12例、或いは全身症状を合併した5例中両者から後遺症

は6例(3.9%)見られた。その内1名が死亡、他の死亡例は経過が不明であり、致命率は1.3%であった。受傷者は年々減少の傾向にあるにも拘らず、ハブ取扱い中、或いは捕獲中の受傷は相変わらず多く、13例(8.5%)にのぼっている事は注意を要する。受傷の最も多いのが耕作地で52.9%であり、これに次いで屋敷内の受傷が21.6%である。今年の死亡2名の内、1名は屋内で発生している。この予防の為に外からのハブの侵入源となる環境の整備、ハブ侵入防御壁あるいは屋内のネズミの駆除等も必要である。受傷部位で最も多いのは手指、手で両者で50%を占めている。また後遺症の半数が手指である為、作業時に手指を防御する事が必要である。

39 沖縄県におけるハブ咬症について

新城 安哲, 西村 昌彦

(沖縄県公害衛研・ハブ支所)

照屋 寛善 (琉球大・医・保健管理)

沖縄県においては近年ハブ・サキシマハブによる咬症が減少傾向にあるとはいえ、現在でも年間約250人の咬症が発生している。演者らは約20年間のハブ咬症患者の咬症の起こり方について解析を行ったので報告する。

1962-1971年まで米国民政府の施政権下では毎年300~370人咬まれており受傷率も高かったが、日本復帰以後の1974年以後は300人以下になり減少し始めている。

咬症時の人の活動・咬症の月変化や日変化には年による大きな差は見られず、用便中の咬症が若干少なくなっていることと、ハブ採集・取扱い中の咬症がわずかに増加傾向にあるだけである。

ハブ生息地を4つの地域に分けて咬症の推移を見ると、咬症の最も多く発生しているのが石灰岩地域にある農村、次いで山林の多い農村でありいずれも最近では減少し始めている。しかし、その他の農村や都市での咬症はあまり変化していない。

これらの4つの地域での屋内及び道路での1,000人当たり受傷率とキビ畑での100ha当たりの受傷率では、山林の多い農村・石灰岩地域の農村・その他の農村・都市の順に低くなっている。

屋内及び道路での咬症は山林の多い農村と石灰岩地域の農村ではほぼ半分に減少しているが、その他の農村や都市では変化していない。またキビ畑ではいずれの地域でも年による変化は見られない。

このように山林の多い農村と石灰岩地域の農村の咬症の割合が急激に変化し、70%から40%まで減少している。最近5年間の咬症数は急激に変化しているが、沖縄県におけるハブ咬症の減少の原因は、山林の多い農村や石灰岩地域の農村における屋内や道路での咬症の減少が最も大きいといえる。

40 ハプトキシドの野外交種 (第9報)

福島 英雄, 水上 惟文, 鳥入 佳輝,
鮫島 洋子, 古賀 繁喜, 東 勝観,
川畑 英機, 山下 正策, 香月 恭史,
坂本 宗春

(鹿児島大・医)

村田 良介, 松橋 直, 近藤 了,
貞弘 省二 (予研・細菌第二)
大井 清, 近藤 久

(千葉県血清研)

新しい沈降ハプトキシド Lot C-2 の基礎免疫時、追加免疫時(第3, 4-5, 6回接種)の免疫原性と副反応、トキシド反復接種群における皮内反応成績ならびにハプトキシドの臨床的な有効性を確認するのを目的として研究を行った。

ハプトキシド Lot C-2 の力価は、HR1は5.47 IMU/ml, HR2は3.87 IMU/mlである。

基礎免疫時(対象, 昭和56年度接種群47名)の抗毒素価は、抗出血1価が1単位以上を示す者40.4%, 抗出血2価は平均16.10単位で、追加免疫時の抗毒素価は接種回数毎に述べると、第3回接種群(昭和55年度接種)の抗出血1価は、接種直前(24名)(第2回接種後11ヵ月後)の1単位以上の者83.3%, 接種後(17名)88.2%, うち5単位以上の者17.6%, 抗出血2価はそれぞれ13.35単位, 13.68単位で、抗毒素産生は良好である。第5-4回接種群(昭和53年度接種)の抗出血1価は、接種直前(第4-3回接種25ヵ月後)

の1単位以上の者はA群(14名)100.0%, B群(14名)92.8%, C群(5名)80.0%, うち5単位以上の者はそれぞれ, 42.9%, 35.7%, 20.0%で, 抗出血2価はそれぞれ15.96%, 20.63%, 20.46%で, 接種後は抗出血1価は1単位以上の者は3群(12, 13, 4名)とも100.0%で, 5単位以上の者が83.3%, 76.9%, 75.0%である。抗出血2価はそれぞれ21.28単位, 14.45単位, 15.98単位である。いずれも良好な抗毒素産生である。

次に副反応であるが, Lot C-2, 0.5ml 接種の基礎免疫群(2回接種), 追加免疫群(第3-6回接種)に於ても2,185名中, 接種局所の疼痛, 腫脹, かゆみ, 硬結, 発赤, 仕事を休んだ者などは認められたが, 重篤なアレルギー反応を示す者は認められず, ハプトキソイド Lot C-2 は, 充分, 人体接種に適したものと考えられる。但し, 第6回接種群は皮内反応の成績により減量した。

ハプトキソイドの反復接種によるアレルギー反応を防止する為, 皮内反應用ハプトキソイド(診断用, 蛋白0.01mg/ml含有)による皮内反応(0.1ml注射)を行った。陽性(発赤直径15mm以上)の者が, 5回接種者のうち, 15分後16.2%, 24時間後10.3%である。

さらにトキソイドの有効性を確認するため, 昭和55年7月-56年6月迄のハブ咬症者中ハプトキソイドの接種をうけている19例について, その経過, 予後を調査した。その結果, 壊死は3例に認められたが, 全身反応, 後遺症は認められず, 入院期間も0-66日である。以上の成績から臨床的にも, ハプトキソイドは有効と考えられる。

41 ハブ抗毒素の抗腫脹作用の研究

山川 雅延, 野崎 真敏

(沖縄県公害衛研・ハブ支所)

我々は本学会においてたびたび蛇毒の腫脹作用について報告してきた。今回はハブ毒の腫脹活性測定法を利用してハブ抗毒素の抗腫脹作用の測定を試みたので報告する。

ハブ粗毒をセファデックス G 100 カラムでゲル濾過し HR1 及び粗 HR2 画分を得た。次に粗 HR2 画分はさらにアンバーライト CG 50 で HR2

と H₂-₀ 画分に分離した。この3種(HR1, HR2, H₂-₀)の毒画分は強い腫脹作用を有しているので, これを試験毒素として各抗毒素製品の抗腫脹作用をおのおの測定した。

1.6倍間隔に希釈した抗毒素液に一定量の試験毒素を加え室温に1時間放置した後3,200rpm, 10分遠心してその上清を1群5匹のマウス右足蹠にそれぞれ20μl宛注射。注射2時間後にマウスの左右両足蹠を足関節より切断して腫脹率を求めた。各試験毒素の毒力は160%~180%の腫脹率を示す程度に調整し, これに抗毒素を加えて中和させたときの腫脹率と抗毒素量との関係を求めた。その結果, 腫脹率と抗毒素量との間には一定の範囲内ではほぼ平行かつ直線的な関係を認めた。この関係を利用して各種抗毒素製品の抗腫脹効果を比較した。本法は注射後2時間で判定できるし, 各抗毒素の原液は数倍から100倍の希釈範囲で測定できる。また, H₂-₀ 画分は出血作用が弱いので本法による測定法に適している。

42 ハブ毒による腎障害に関する研究

(第II報)

原田 隆二, 中島 哲, 上田 博章,

横山 孝一, 水田 敏久, 尾辻 義人

(鹿児島大・医・第二内科)

私共は前回の本学会において家兎にハブ粗毒を投与した時の腎の変化について報告した。今回は, ハブ粗毒を Sephadex G 75 で, ゲル濾過して得られた分画 FI, FIIa, FIIb, FIII をおのおの単独に雄家兎に体重当たり0.5mgを投与して腎の変化を観察した。分画 FI 投与後24時間目に糸球体毛細血管のう胞状変化を認め, その内腔にフィブリン, 赤血球, 多核白血球が見られたが, 次第にこの胞状変化は少なくなり, 増殖性変化が増加し, それと同時にフィブリンの析出が見られなくなった。この障害腎に FITC 標識抗家兎γ-グロブリン抗血清を用いての蛍光抗体法で見ると全く蛍光は見られなかった。また電顕での electron dense deposit も見られなくなった。分画 FIIa, FIIb, FIII 投与群ではこの胞状変化も増殖性変化も見られなかった。また, FI 投与によっ

て腎糸球体で増殖した単核細胞の貪食能を見るために墨粒を投与すると著明に墨粒が貪食されているのが見られた。

FI にのみヒト血小板凝集惹起作用があり, FI, FIIa, FIIb, FIII おのおの単独投与で実際腎障害を起こすのは FI のみで, しかも障害腎には血小板凝集, フィブリンの析出を認め, フィブリンの減少につれて単核細胞の増加が見られることより, ハブ毒による腎障害の発症には血小板が関与していることが示唆される。

43 精製柿タンニンを用いたハブ蛇毒の血清反応について—間接血球凝集反応—

福重潤一郎, 服部善八郎, 古川加奈子,
小此木 丘 (三共・生物研)

蛇毒と抗毒素との間の試験管内血清反応は, 従来種々行われてきたが, 定量的反応としては実用の域に達していないように思われ, 現在では主として, 動物を用いた中和反応による抗体価の測定が行われている。

今回我々は, タンパク抗原に対する抗体の定量等に用いられている間接血球凝集反応, すなわち Middlebrook-Dubos 反応とタンニン酸を用いる Boyden 試験が, ハブ毒に関する試験管内血清反応に利用できるのではないかと考え, 実験を行い中和反応との比較を試みた。

また Boyden 試験においては, 通常局方タンニン酸を使用するが, タンニン酸の純度・規格が一定でないため, 我々の開発した精製柿タンニンを用い比較検討した。その結果

1) ハブ毒の定量的試験管内血清反応として, 間接血球凝集反応は十分利用できるだけでなく, 従来中和反応に比べ, 微量定量が可能であることが明らかとなった。2) 血球処理の条件は, 抗原量 0.25-0.5 mg/ml, タンニン量 0.05-0.1 mg/ml が最適と思われた。3) 抗体過剰の場合に見られる前地帯現象は, 抗体希釈によって解決できた。4) Boyden 試験に用いるタンニン酸は, 局方タンニン酸よりも柿タンニンの方が優れているように思われた。5) 測定可能な抗体 N 量は, 通常の沈降反応におけるより遥かに微量で可能である点が判

明した。

44 サキシマハブ毒の出血活性及び致死活性成分の精製に関する研究

山川 雅延, 野崎 真敏
(沖縄県公害衛研・ハブ支所)

沖縄県の八重山諸島には, 沖縄諸島及び奄美諸島に生息するハブ (*Trimeresurus flavoviridis*) とは別種のサキシマハブ (*Trimeresurus elegans*) が生息し, 最近では年間おおよそ50名の人がその被害を被っている。

サキシマハブ咬症は, ハブ咬症に比べて重篤な後遺症を残す例は極めて少ないが, 出血, 腫脹等の局所病変はかなり激しく決して軽視すべきではない。

我々は, 1973年 Sephadex G-75, DEAE-Sephadex A-50 及び Amberlite CG-50 を用いてサキシマハブ毒中の出血活性成分ならびに致死活性成分を部分精製し第20回毒素シンポジウム(東京)で報告したが, 今回は Sephadex G-200 Superfine 及び Sephadex IEF を用いてさらに精製しその性質や性状等について検討した。

その結果 1) サキシマハブ毒中には3種 (S_2 , S_3-f , S_3-g) の主要な毒成分があり, S_2 は出血活性と致死活性, S_3-f は出血活性のみ, S_3-g は致死活性のみを有していた。2) 主要な出血活性画分である S_2 は, 分子量58,000, 等電点4.3の酸性蛋白質で, ハブ毒の HR-1 によく似た性質のものであった。3) S_3-f は分子量24,500, 等電点8.2の塩基性蛋白質でハブ毒の HR-2 によく似た性質のものであった。4) 主要な致死活性画分である S_3-g は分子量14,000, 等電点9.8の pH ならびに熱に強い抵抗性を示す塩基性蛋白質でハブ毒にはないサキシマハブ固有のものであった。

45 蛇毒の出血因子に作用する微生物由来の阻害物質について

徐 正 埴
(韓国・慶北大・応用微生物)

Penicillium 属の菌株より分離した蛇毒の Pro-teïnase inhibitor についてはすでに報告したが,

今回は *Aspergillus* 属の菌株より得た蛇毒出血因子阻害物質について報告する。

本試料は土壌から分離した菌株を常法により培養した培養濾液より有機溶媒沈殿によって得た物質で、ゲル濾過法により単一のピークを示した。

蛇毒の腫脹及び出血活性の測定には試料をマウスの足蹠に注射し、一定時間後に下肢を切断し、その重量の増加により腫脹を判定し、さらに水を加えてホモジナイズし、その遠心上清の一定量を取りヘモグロビン量を定量した。

本試料はハブの粗毒、分画毒 HR1 及び HR2 に作用してその出血作用を強く抑えた。またこの試料は韓国産 マムシ *Agkistrodon blomhoffi brevicaudus* 及び *Agkistrodon saxatilis* 毒の出血因子にも強く作用し、ハブ毒による腫脹をも部分的に抑えることを知った。この試料は耐熱性で 90°C, 1 時間の処理にも安定であった。

46 ハブ毒に含まれる新しいタイプのプロテイナーゼ：精製と酵素的性質

佐藤 保, 貞弘 省二

(予研・細菌第二)

反応の過程で基質カゼインを白濁させるプロテイナーゼを HR2 画分から分離し、酵素的性質を明らかにした。その結果、本酵素は 1) 分子量約 25,000, 2) pH 9 に至適 pH を持つ, 3) EDTA, システイン及び DFP では阻害されたが NEM では阻害されない, 4) Zn^{+2} , Mn^{+2} で若干阻害されるがその他の 2 価金属の影響を受けない, 5) アゾコラーゲン以外の各種蛋白質基質を分解するが、 H_2 -プロテイナーゼとは異なり Z-Gly-Pro-Leu-Gly-Pro-OH を水解しない。また酸化インシュリン A, B 鎖の水解位置から H_2 -プロテイナーゼとは違った基質特異性を持つことなどが分った。

47 蛇毒の酵素化学的研究 (29) タイワンハブ毒中に含まれる数種のアルギニンエステラーゼの性質とその特徴

杉原 久義, 二改 俊章, 二村 敦子,
鬼頭 玲子 (名城大・薬・微生物)

タイワンハブ毒より 4 種のアルギニンエステル水解酵素が Sephadex G-100 ゲル濾過, CM-Sephadex C-50, DEAE-Sephadex A-50, DEAE-Sephacel 各 column chromatography 及び chromatofocusing などの精製操作を経て単離された。これらは ME-1, ME-2, ME-3 及び ME-4 と命名された。これらの分子量はそれぞれ 27,000, 29,800, 33,000, 28,500 と測定され、その等電点は pH 5.95, 5.62, 6.93, 5.31 である。

これら 4 つの酵素の中、ME-1 と ME-2 は収量が多く、活性も強い。4 つの酵素は総て高い基質特異性を有し、しかも極めて類似している。即ち合成アルギニンエステル (TAME, BAEE) は水解するが、リジンエステル (TLME), チロシンエステル (ATEE), アルギニンアミド (TAA, BAA), カゼイン及びジメチルカゼインなどは水解しない。

これら 4 種の酵素の Arginine esterase 活性は SBTI, LBTI, EWTI, trasylol, heparin, cysteine, EDTA, PCMB などによっては阻害を受けないが、Benzamidine では阻害され、しかもその阻害は拮抗性である。また ME-3 と ME-4 は DFP によって阻害されるが、ME-1 と ME-2 は阻害されない。これ迄に報告されている蛇毒中の Arginine esterase は総て DFP で阻害されるセリン酵素であることから、この ME-1 と ME-2 は極めて珍らしく、蛇毒中からは始めて報告されたものである。

これらは耐熱性の酵素であるが、その中でも ME-1 と ME-3 が一層耐熱性に富んでいる。これら 4 つの酵素は総て毛細血管透過性亢進作用を持っているが、ME-2 と ME-4 はさらにキニン遊離活性をも併せ持っている。しかし、他の多くの蛇毒から報告されている血液凝固活性を示すものはなかった。

PROCEEDINGS OF XXIV ANNUAL MEETING OF
JAPANESE SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE

1-3 October 1982 Yabuzukahoncho, Gunma

CONTENTS

Symposium: Behavior and control of Habu, *Trimeresurus flavoviridis*, a venomous snake

- 1 Behavior and control of Habu, *Trimeresurus flavoviridis*, a venomous snake
H. Tanaka
- 2 A study on the movement of Habu by radio tracking
Y. Wada
- 3 Distribution of Habu (*Trimeresurus flavoviridis*) in urban and rural areas
C. Yoshida and H. Akamine
- 4 Population study and experiment of extermination of *Trimeresurus flavoviridis* in Minna Island, Okinawa
S. Katsuren and C. Yoshida
- 5 Prevention of invasion of the snake, Habu, *Trimeresurus flavoviridis*, using an electric fence
Y. Hayashi
- 6 Study on control of Habu on the Amami Island
S. Mishima

Symposium: Basic research in malaria

- 1 Calcium metabolism of malaria-infected erythrocytes
K. Tanabe et al.
- 2 Studies on malaria immunology referring to development of a live type attenuated vaccine
M. Suzuki
- 3 The severity of malaria and the coagulopathy
H. Amano
- 4 Evolutionary genetics on the vectors of malaria and filariasis in East Asia
T. Kanda et al.
- 5 Electrophoretic patterns of some enzymes observed in anopheline mosquito larvae
M. Tsukamoto
- 6 Mechanism of insecticide resistance
J. Miyamoto and S. Kogiso

Panel discussion: Diseases contracted by Japanese overseas residents

- 1 Diseases which affect the Japanese overseas
I. Malaria and its prevention
I. Ebisawa
- 2 Diseases affecting oversea Japanese residents
II. Hepatitis
H. Obata et al.
- 3 Diseases affecting oversea Japanese residents
III. Other parasitic and/or tropical diseases
S. Tani and H. Ohara
- 4 Correlation of infection rate of intestinal helminths among Japanese inhabitants in the tropical countries with degrees of drinking water pollution
K. Fujita
- 5 The traveling medical consultation and its problems of Japanese residents in tropical countries
K. Matsumoto
- 6 Health care and its problems at oversea plant construction
M. Nakamura et al.
- 7 Practices and considerations of health care for expatriate employees of "Sogo Shosha" (MBK)
Y. Masuyama
- 8 Diseases of Japanese residents in foreign countries and problems in their health management
S. Watanabe
- 9 Health management for Japanese residents in foreign countries
Y. Konishi

Round table discussion: Biological activities of toxic factors in Habu venom

- | | | |
|---|--|---------------------------|
| 1 | Introduction to the round table discussion | Y. Sawai |
| 2 | Pathology of Habu-bite | M. Honma |
| 3 | Proteinases in Habu venom | H. Maeno |
| 4 | Phospholipase A ₂ of Habu venom | H. Kihara |
| 5 | Hemorrhagic principles in Habu venom | T. Omori-Satoh |
| 6 | Myonecrotic factors in Habu venom | H. Chinzei |
| 7 | Swelling factor | M. Yamakawa and M. Nozaki |
| 8 | The effect of proteinase inhibitory substance (ISV) on edema, hemorrhage and necrosis of Habu (<i>Trimeresurus flavoviridis</i>) venom | J-H. Seu |

General presentation

- | | | |
|----|--|----------------------------|
| 1 | Effect of thermal acclimation on cardiovascular reflex | K. Tsuchiya et al. |
| 2 | Studies on thermal acclimation -Thermal habituation- | M. Kosaka et al. |
| 3 | The murine lice (Anoplura) from Kenya | K. Kaneko and H. Suzuki |
| 4 | Photodynamic substance theory in the microfilarial periodicity -Rhodopsin-like substance in the nocturnal microfilariae- | T. Masuya and K. Makishi |
| 5 | Studies on filariasis in Mozambique (2) | K. Fujita et al. |
| 6 | Epidemiology of filariasis in Western Samoa -Studies on microfilarial prevalence and density (MfD-50) | E. Kimura et al. |
| 7 | A large scale malaria immunofluorescent test studied for measurement of lowered malaria endemicity following fenitrothion spray in Haiti | M. Suzuki et al. |
| 8 | Isolation of dengue viruses in Indonesia | A. Igarashi et al. |
| 9 | Effects of biologic activators on the multiplication of dengue viruses in mouse peritoneal macrophage cultures | H. Hotta et al. |
| 10 | On the cytoplasmic incompatibility in natural populations of <i>Culex pipiens</i> complex in China | O. Suenaga et al. |
| 11 | Neutralizing antibody responses of children administered with Japanese encephalitis vaccine | R-F. Juang et al. |
| 12 | Ecology of enterovirus in tropical Africa III. Intratypic antigenic differences of polioviruses | S. Otatsume |
| 13 | On bionomics of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> with the data on the virus isolation in Jakarta, Indonesia | T. Oda et al. |
| 14 | Toxoplasma antibody measurement by IgG-ELISA and a study of toxoplasma specific IgM measurement | T. Miyazaki et al. |
| 15 | A clinico-immunological study of the relationship between filarial chyluria and toxoplasmosis | T. Yoshida et al. |
| 16 | <i>Brugia pahangi</i> : Antibody responses to adult worms and microfilarial antigens in mongolian jirds and human cases as measured by the enzyme-linked immunosorbent assay | M. Tomisato et al. |
| 17 | <i>In situ</i> microfluorometry of K-DNA and N-DNA in <i>Trypanosoma</i> (IV) | S. Inoki et al. |
| 18 | Effect of flubendazole on <i>Angiostrongylus cantonensis</i> in mice and rats | J. Maki and T. Yanagisawa |
| 19 | Biological activities of the egg extract of <i>Schistosoma japonicum</i> on lymphocytes | A. Ishii et al. |
| 20 | Immuno-electrophoretic analysis of toxoplasma antigens by using mouse sera of experimental toxoplasmosis | K. Yano and T. Nakabayashi |
| 21 | Possibility of the vertical transmission to fetuses in mice infected with <i>Babesia rodhaini</i> | |

- H. Takahashi and N. Suzuki
- 22 Effects of cultivating conditions on the lipid compositions of *Trypanosoma cruzi*
Y. Kaneda et al.
- 23 Further analyses of health status of Indo-China refugees in Yamato Refugee Center,
Kanagawa Pref., Japan N. Yamaguchi et al.
- 24 Health status of Indo-China refugees as examined after their settlement in Japan
S. Tateno et al.
- 25 Diseases of the Japanese who stay long in the tropics H. Ohara et al.
- 26 The parasitological infection of Japanese inhabiting in Indonesia and the pollution
of the drinking water K. Fujita et al.
- 27 Survey on the intestinal helminths infections in Indonesia; North Sumatra, Asahan
areas J. Imai and O. Simanjuntak
- 28 Survey on the parasitic infections in The Republic of Central Africa (Results in
Sep.-Oct., 1981) M. Tsuji et al.
- 29 On the occurrence of *Angiostrongylus cantonensis* in the brown rat (*Rattus norvegicus*) in
Nagoya City K. Makiya and K. Onitake
- 30 The present situation of imported malaria in Japan in 1972-1981
H. Ohtomo et al.
- 31 A case of malaria in the neonatal period K-M. Kim et al.
- 32 A Vietnamese refugee case of amebic liver abscess and the results of Serameba® test
to his associate H. Amano et al.
- 33 A simple method of axenization of *Entamoeba histolytica* from cysts, by passing bac-
teria-associated cultures S. Kobayashi et al.
- 34 Infectious diseases in Burma I. Geographical and climatic conditions, and malaria
I. Ebisawa
- 35 Microbiological studies of drinking waters in Indonesia Y. Okuwaki et al.
- 36 An epidemiological aspect of *Vibrio cholerae* and meningitis in Republic of Malawi
Y. Kazumi and S. Akao
- 37 Egg-laying, hatching and sex composition of Habu H. Kihara et al.
- 38 Snakebites on the Amami Islands in 1981 Y. Kawamura and Y. Sawai
- 39 Decrease of snake-bites (Bites of Habu, *Trimeresurus flavoviridis*) in Okinawa Prefec-
ture Y. Araki et al.
- 40 Studies on prophylaxis against Habu snake (*Trimeresurus flavoviridis*) bite with Habu
toxoids in the Amami Islands, Kagoshima Prefecture, Japan (9)
H. Fukushima et al.
- 41 Study of antismelling potencies of Habu (*Trimeresurus flavoviridis*) antivenom
M. Yamakawa and M. Nozaki
- 42 Renal injury caused Habu snake (*Trimeresurus flavoviridis*) venom Report II
R. Harada et al.
- 43 Serologic reaction of Habu venom with persimmon extracts -Passive hemaggluti-
nation- J. Fukushige et al.
- 44 Purification and characterization of hemorrhagic and lethal activity in the venom
of Sakishima-Habu (*Trimeresurus elegans*) M. Nozaki and M. Yamakawa
- 45 The effect of an inhibitory substance isolated from microorganism on hemorrhagic
action of venoms J-W. Seu
- 46 A nonel proteinase in the venom of *Trimeresurus flavoviridis*
T. Omori-Satoh and S. Sadahiro
- 47 Enzymochemical studies on snake venom (29) Properties and their characteristics
of arginine esterases in the venom of *Trimeresurus mucrosquamatus* H. Sugihara et al.

Symposium

Behavior and control of Habu, *Trimeresurus flavoviridis*, a venomous snake**1 BEHAVIOR AND CONTROL OF HABU, *Trimeresurus flavoviridis*, A VENOMOUS SNAKE**

HIROSHI TANAKA

Department of Parasitology, Institute of Medical Science, The University of Tokyo

Behavioral studies of Habu were initiated more than 20 years ago in this country and monographs on this subject written by Takara or Koba and already been published in 1962. The contents of the study and researches on the fundamental and descriptive biology of Habu expanded to the population ecology and to the movement observed in the enclosure and in the field (Tanaka *et al.*, 1967). The joint studies with various researchers started on the Amami Islands from the fiscal year (FY) 1970. Since FY 1977, systematic larger scale researches on behavior aiming at the control of Habu have been performed in Okinawa Prefecture and on the Amami Islands. The behavioral research on the particular species of venomous snakes must be unique in the world, and was highly evaluated at the International Seminar on Epidemiology and Treatment of Snakebite held at Naha in August 1980.

In the present symposium, results of the studies will be discussed by the main researchers on specific subjects. In addition to the topics to be presented a few remarkable findings are pointed out as follows;

The density of Habu in the field, measured by the catch curve method in 1970, demonstrated to be no more than 5/ha and 3.16 on the average (Tanaka *et al.*, 1974) but by the later studies, it should be corrected to be doubled. Out of many epidemiological analyses on the relationship between snakebite and environment, the number of snakebite in a village was well correlated with the area of actually cultivating field (Tanaka *et al.*, 1978). Since this relationship may not be applied in Okinawa, more analyses based on the local conditions must be necessary. The population of Habu was larger in the area with larger population of field rats (Wada *et al.*, 1981), and the snake population was reduced (Ikeda *et al.*, 1971) by the control of rats. A possible constraint is the growth of rat population after a successful snake control. The relationship between both populations should be carefully studied further more.

Attractancy to Habu has been proven in live chickens in Okinawa and in live rats on the Amami Islands where the box trap with a live rat as bait was developed (Hayashi *et al.*, 1979). The important subject of study will be to find out a chemical attractant, aside from the live baits, which will be screened from chemical samples by physiological and/or ecological assessments in the laboratory.

2 A STUDY ON THE MOVEMENT OF HABU BY RADIO TRACKING

YOSHITAKE WADA

Department of Parasitology, Tokyo Women's Medical College

In order to observe the movement of nocturnally active "Habu", *Trimeresurus flavoviridis*, miniature UHF transmitter and receiver were developed by Dr. Ikeda in 1970. Using this system, a total of 45 Habu were released in the field from 1970 to 1979, and their autonomous movement or reaction to the contact with man were observed. At first, the transmitter was implanted subcutaneously, and later, it was improved to attach on the body surface of Habu by adhesive plastic tape. Receiving the radio wave from Habu, its direction was detected from two or more points at the same time and the position of Habu was decided on a map by triangulation.

The results of the studies were as follows:

- 1) Obviously, Habu was active nocturnally, but in some case, the snake showed almost no movement all through the night or Habu moved around in the daytime.
- 2) Usually, Habu moved not continuously through out the night. In many cases, cyclic activity was revealed: after 1-2 hours of movement, Habu stopped moving for 1-2 hours.
- 3) The speed of movement measured by every 5-10 minute location was usually lower than 1 meter per minute and 3 meters per minute at its maximum.
- 4) The range of action of the male was larger than that of the female. Most of the female moved around within a small range of less than 30 meter diameter to and fro, but many males run straight and moved longer distance. The longest trip of 320 meters was recorded on a male during one night.
- 5) When the snake got into the water, it could go faster than on the land and the range of action tended to be wider.
- 6) Once Habu found some good place for the daytime rest, it stayed there in the daytime of the following few days. It appears that Habu might set up a "home range".
- 7) At the recapture of 29 released Habu, twelve of them were found in the space of ground, such as hole like the nest of rodent, the crevice in the ground and tree root or rock, and so on. And 11 snakes were found in the heavy thicket, 3 were under the pile of dead leaves.

The reactions to the contact with men at suger cane cropping:

- 1) When a man approached fast to Habu, many Habu did not run or escape from him but were not found. Then a man passed through the site where a Habu was, and most of Habus held still at the site for 1-2 hours. Then the snakes moved and changed the site. It was thought that the Habu, pressed under the leaves of cane by the step of a man, took precautions with the posture of attack for 1-2 hours.
- 2) When croppers cut down the cane and approach slowly to Habu, many Habus

can run away from men, especially in the warm season. In April, more than half of the snakes in the sugar cane field had escaped from capture by the cropper.

3 DISTRIBUTION OF HABU (*Trimeresurus flavoviridis*) IN URBAN AND RURAL AREAS

CHOKEI YOSHIDA¹ AND HIROYUKI AKAMINE²

Okinawa Prefectural Institute of Public Health¹ and Okinawa Public Health Association²

Aside from the countermeasures of first priority such as subjecting snake-bitten patients to well prepared anti-venom treatment, it is also considered a drastic measure of vital importance to isolate people from venomous snakes in terms of "artificial segregation of niche".

In Okinawa Prefecture, annual incidence of Habu-bites still remains higher than 200 and most of these cases occur in residential areas of rural and urban districts, where habitats of snakes overlaps those of man.

In order to get a modus operandi of circumscribing the habitats of Habu in certain municipal districts, thorough investigations were carried out at Naha City (principal city of Okinawa Prefecture—population; 300 thousands, area; 38 km²) and other two adjacent rural districts Nishihara and Sashiki.

Approximately 10% of all the households in Naha City and 30% in the other two towns were visited by well trained university graduates and questionairing were conducted on the adults with at least 5 year history of residence to gather informations about sighting snakes. Total numbers of sightings of Habus including eggs and sheddings in those municipalities were 2,265, 439 and 455 respectively, and were spotted on maps with a scale of 1 to 2,500.

Demarcation of habitats or "dangerous areas" was made by circumscribing a closed shortest line around the outermost spots of sightings which could be thought to share common eco-system to the adjacent green portion of land and by adding a surplus zone of 50 m width around the closed line for the sake of safety. These habitats or "dangerous areas" were coloured green.

"Cautionary areas" coloured with yellow were set further 50 m outside of every one of the "dangerous area". All the rest of the municipal areas was coloured pink as non-habitat or "safe area".

Tricolour maps were thus made up as the result of demarcating the target areas of eradication of Habus, showing the dangerous areas with green, the cautionary areas with yellow and the safe areas with pink.

Approximately 100 thousands or 32.3% of the whole population of Naha City were found to live within the green "dangerous" areas, while in the other two towns 16 thousands or 83% (Nishihara), 6 thousands or 60% (Sashiki) live within the green areas which cover 91% and 81% of the whole municipal areas respectively.

98% of all the 1,189 points of sightings of Habus occurred within the distance of 30 m from the edge of woods and thickets in Naha City, whereas 95% were found not more than 50 m far from the edges of forests and grassy areas in the other two rural districts.

Interval time and distance between two sequent automobiles passing on the double-lane roads in Naha City, calculated from the data of traffic census, revealed that Habus could hardly sprawl from one thicket to another across a road in 27 seconds, the longest interval time at midnight (21:00–05:00) optimum for the activity of Habus.

In the rural district Sashiki, on the other hand, overall quadrates (net of 100 m meshes) revealed a significant negative correlation between the frequency of sighting Habus per household and the number of household in a quadrate (1 ha).

Judging from all these findings, it was concluded that Habus could hardly expand their habitats beyond the outskirt of a thicket on which they depend greatly. Motor traffic, housings and other human activities play an important role in dividing the original habitats of Habus into smaller ones giving a hint to us of the systematized partial eradication of Habus in these patchy habitats and of the procedures which lead to the goal of our "artificial segregation of niche". Questioning was verified to be effective for the overall investigation on the distribution of Habus in rural and urban residential areas.

4 POPULATION STUDY AND EXPERIMENT OF EXTERMINATION OF *Trimeresurus flavoviridis* IN MINNA ISLAND, OKINAWA

SEIKI KATSUREN AND CHOKEI YOSHIDA
Okinawa Prefectural Institute of Public Health

This paper presents a prototype of eradication programme of one of the Okinawan venomous snakes Habu in a small island and the ecological features clarified by the operations carried out for five years since 1977.

On the island Minna which resembles a horse-shoe extending 1 km in the distance across and has an area of 50 ha and an altitude of 12 m above sea level, there live approximately 50 people raising sweet potatoes, carrots, water-melons and cattles, etc. There inhabits no wild mammal such as mongoose, rat and mouse, etc. Habus were supposed to feed on birds, lizards and other small animals.

One hundred and eighty five traps were set on every center of quadrates ruled into 50 m covering all the land surface. Traps baited with live chickens (and mice later) captured 43 Habus (0.002/trap-day) in 1977, 37 (0.0013) in 1978, 43 (0.002) in 1979, 41 (0.0009) in 1980 and 20 (0.0005) in 1981, all of them with the estimated age of more than 1 year. Sex, body length and weight, gastric contents of the captured were examined and their distribution in relation to the flora, atmospheric phenomena and other environmental conditions were discussed.

5 PREVENTION OF INVASION OF THE SNAKE, HABU, *Trimeresurus flavoviridis*, USING AN ELECTRIC FENCE

YOSHIHIRO HAYASHI

Department of Parasitology, Institute of Medical Science, The University of Tokyo

It is reported that more than 80% of Habu-bite cases has occurred in agricultural field and in residential areas in the Amami Islands of Japan. Amami-oshima which is the biggest island having an area of 819 km². Therefore, it seems difficult to control all the Habu from the island. However, it seems to be easy to remove Habu from the human habitation, which is less than 1% of the whole area of the island, after protecting human habitation from the invasion of Habu. To prevent the invasion of the snake, the experiment of the efficacy of the electric fence was carried out in this study.

It is widely known that the fence of 150 cm in height is needed to prevent the invasion of Habu. In this experiment using an open enclosure, however, it was found that the invasion of Habu was perfectly prevented by the electric fence of 65 cm in height; the highest current is 480 mA under 500 ohm resistor, and the electric power is 5VA flowing intermittently. When the animals have high intelligence, e.g. wild boars, they can recognize the danger of the electric fence and never come up to the fence after suffering a single electric shock. In the case of Habu, however, it was observed that they did not stop the trial to climb the fence after suffering the shock.

To clarify the efficacy of the electric fence in the field, the fence of 1,000 m in length was constructed in Te-an Village (6.75 ha) in 1977. To compare the number of Habu observed before setting the fence, less than 50% of Habu was observed by the village people in 1980.

The subsequent experiments are being carried out in three villages in Tokunoshima using the electric fence of more than 7,000 m in length.

6 STUDY ON CONTROL OF HABU ON THE AMAMI ISLAND

SHOGI MISHIMA

Department of Medical Zoology, School of Medicine, Dokkyo University

It is reported that more than 55% of the Habu-bites occurred in the agricultural fields, whereas 25% occurred in residences. Thus it is important to decrease the number of bites in these area.

Since 1977, members of the Research Committee for Studies on the Control of

Habu in the Amami Islands (Chairman: Y. Sawai) engaged in the basic studies on ecology and the method to control Habu. From these studies, it has been elucidated that places where Habus appear frequently were around the stone fence which consisted of boundary between residences and banks. It was found that a net combined with electric fence were effective to prevent the invasion of Habu. Effectiveness of a trap with live rat as bait was also confirmed.

Based on these results, field trials were carried out at Tete and Todoroki area in 1980 and 1981 respectively. The results indicated that the electric fences encircled with the model areas were effective to prevent the invasion of Habu into villages, and Habu traps put along the fence were effective to collect Habus that run against the fence. It was also confirmed that removal of nests of Habu by substituting fence of stones or banks for fence of block or concrete is also effective to decrease the number of Habu.

Symposium

Basic research in malaria

**1 CALCIUM METABOLISM OF MALARIA-INFECTED
ERYTHROCYTES**KAZUYUKI TANABE¹, ROSS B. MIKKELSEN² AND
DONALD F. H. WALLACH²Department of Medical Zoology, Osaka City University Medical School¹ and
Radiobiology Division, Tufts New England Medical Center²

Mammalian plasmodial parasite incorporates erythrocyte hemoglobin as amino acid source and utilizes a host cell reductant, NADPH, to avoid oxidant damage. Moreover, the parasite in an erythrocyte evades host immune surveillance. These features benefit plasmodial growth in the host erythrocyte. On the other hand, a selected metabolite (amino acids, sugars and ions) transport seen in the normal erythrocyte membrane seems to restrict plasmodial survival in the host cell. Thus, parasitization of *Plasmodium* in the host erythrocyte provides an intriguing question about the parasite metabolism and the erythrocyte membrane transport.

The calcium ion is an essential component of many cellular regulatory processes. An elevation of Ca^{2+} induced by altered membrane Ca^{2+} transport leads to toxic death of the cell. An increase in erythrocyte Ca^{2+} causes several cell lesions: alteration of the cell shape, decrease in deformability, change in cation transport, modification of membrane protein, and membrane peroxidation. Cellular functions of malarial parasite also must be regulated by Ca^{2+} . Asexual development of the parasite occurs within the host erythrocyte which has extremely low levels of Ca^{2+} . Then we addressed the question of how the parasites take Ca^{2+} from the host cell and how they control cellular Ca^{2+} level.

The calcium content and transport processes of the *Plasmodium chabaudi*-infected rat erythrocytes were analysed by atomic absorption spectroscopy and $^{45}\text{Ca}^{2+}$ flux measurements. The infected erythrocytes, after fractionation on metrizamide gradients according to stage of parasite development, exhibited progressively increasing levels of Ca^{2+} with schizont and gametocytes containing 10~20-fold greater calcium levels than normal cells. Increased Ca^{2+} amount in the gametocyte-infected cells may be due to calcium accumulation by the gametocyte mitochondria. $^{45}\text{Ca}^{2+}$ flux experiments showed both increased influx and decreased efflux in the infected erythrocytes. Thus, change in Ca^{2+} transport contributes to an increase in Ca^{2+} levels in the infected cells. Tris/ NH_4Cl lysis of normal erythrocytes preloaded with $^{45}\text{Ca}^{2+}$ with the Ca^{2+} ionophore A23187 released >90% of cell calcium after incubation in ethyleneglycol bis (aminoethylether) N, N'-tetra-acetic acid containing buffer, whereas lysis of the infected erythrocyte membrane resulted in release of 10-20% cell

Ca²⁺, with the remaining portion associated with the isolated parasite fraction. These results together with the effects of various metabolic inhibitors indicate the presence of a parasite Ca²⁺ compartment in the *P. chabaudi*-infected erythrocytes.

Dicyclohexylcarbodiimide (DCCD), an inhibitor of proton ATPases, and the proton ionophore, carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazone (CCCP), inhibited Ca²⁺ influx and stimulated Ca²⁺ efflux from the infected cells. These results suggest that Ca²⁺ transport of intraerythrocytic parasites is coupled to a proton-motive force across the *Plasmodia* plasma membrane.

2 STUDIES ON MALARIA IMMUNOLOGY REFERRING TO DEVELOPMENT OF A LIVE TYPE ATTENUATED VACCINE

MAMORU SUZUKI

Department of Parasitology, Gunma University School of Medicine

Vaccination against malaria was experimentally attempted as early as 1910 by Sergent. Since the promotion by TDR programme which started in 1976, production of a safe and effective vaccine against malaria has become the biggest concern not only to those who are engaged in laboratory studies but also, to those who are working in practical field operation. In fact, if an applicable vaccine should be successfully developed, it will revolutionize total malaria control campaign. Major efforts are now being concentrated to define antigen of the parasite which induces resistance in the host. Sporozoite, intraerythrocytic parasite and gametocyte are now being analyzed using the techniques of hybridoma derived monoclonal antibodies aiming at the final goal to define the parasite substance which provokes protective immunity in the host. On the other hand, a minor group of researchers are interested in the production of a live type malaria vaccine which will cause much more effective resistance in terms of long lasting immunity. Enough reasons will be raised to justify the studies on the induction of a living attenuated parasite aiming at the final goal to produce live type vaccine. Field observation as well as laboratory findings has shown that premunition derives the most potent and long lasting resistance.

Our group of Gunma University have been engaged in the studies to create permanently attenuated parasite derivatives from the original parasite of high virulence. While we studied immune responses of athymic nude mice using high virulent parasite irradiated by 40 Krad X-ray, by chance, we were able to pick up an extremely attenuated parasite derivative which could grow only in the immune deficient nude mice. The attenuated parasite was stable; reversion to virulence was not occurred, even after 50 times passage through nude mice. A single vaccination with the attenuated strain induced complete resistance against challenge inoculation with the virulent parasite in 7 mice out of 11 tested, and average survival time of the dead 4 was 23.5 days. While control mice showed 100% lethality (11/11) and the mean survival time was 9.5 days. Specific IgG persisted at high titer for more than 9 weeks in mice receiving a single inoculation of the attenuated strain. The finding suggested

that small number of attenuated parasite latently survived in the mice giving continuous stimulation to immune system of the host. In the studies on the live type vaccine, host responses occurring after parasite inoculation is indispensable. At this moment, our attentions are concentrated to the behavior of T-lymphocytes of mice receiving virulent original *P. berghei*. In a series of studies on T-cell dynamism in the infected host, following findings were obtained. 1) Some T-cell induce deterioration in the host, while others work for protection against the reinvading parasites. 2) When mice were at the acute stage of infection, remarkable lymphorrhexis occurred in the thymus and other T-cell dependent region of lymphoid organs. The released T-cells circulated in the blood and eventually localized in the liver. 3) Electron microscopic studies on the involved liver tissue demonstrated lymphocyte attachment onto the cells harbouring malaria parasites. The observations implied destruction of the host cells as well as parasites in the cells by the reaction of the attached T-cells. Thus, two aspects of immune reaction by sensitized T-cells were suggested. The live type vaccine looks to induce a succession of immune responses of the host including cellular immunity leading host to create a long lasting effective resistance against malaria.

3 THE SEVERITY OF MALARIA AND THE COAGULOPATHY

HIROYUKI AMANO

Department of Overseas Medical Services, Tenri Hospital

The main pathological findings in the fatal cases of malaria caused by *P. falciparum* are malaria embolism and deposition of malaria pigments in many organs. And bleeding tendency is usually found in those organs, and it reminds us of DIC. According to some previous reports, the "true" DIC, diagnosed pathologically, occurred certainly in both experimental monkey and human cases of malaria. However, since the pathological diagnosis of DIC is generally difficult in most cases, it is considered that DIC is one of the clinical entities and should be diagnosed by clinical laboratory data. Therefore, the slight fibrin deposits by PTAH staining in some organs of our case may be regarded to be the results of DIC changes. And, even in those cases which show only the pathological change of malaria embolism, the clinical laboratory data will indicate the evidence of DIC, according to the clinical criteria of DIC. When DIC occurred in the severe case of malaria, thrombocytopenia would be said to be due to the coagulopathy of malaria. Moreover, we can presume the period of the severity of malaria by the examination of the changes of PLT counts. Therefore, in this report, attempts were made to analyse the correlation between the coagulopathy, especially the changes of PLT counts, and the progress of falciparum malaria, in the case of internal and external reports as well as in our own cases.

The cases with clinical DIC were demonstrated in high rate among severe cases of falciparum malaria with complications. And even in the cases without complications, decrease of PLT and positive on FDP were occasionally observed. Fbg was

not always decreased in all of these cases. In the semi-immune group without complication, PLT was not correlated with parasitemia. On the other hand, in non-immune Caucasian group and Japanese group, the cases, which revealed 5% or more of parasitemia and $7 \times 10^4/\text{mm}^3$ or less of thrombocytopenia, were 11/12 in the former and 7/8 in the latter. However, for the determination of severity of malaria, it will not be simply agreed to employ only the parasitemia because the severe thrombocytopenic case and fatal case occurred among the cases with 5% or less of parasitemia.

Concerning the days of illness and parasitemia, it was concluded that average parasitemia was $0.2 \times 10^4/\text{mm}^3$ on the first ill-day and the parasitemia became 5% or more on the 6.7th ill-day in Japanese group. On the days of illness and thrombocytopenia, it was thought that PLT counts decreased not gradually but suddenly at a certain period of illness, and it occurred on the 4th or 5th ill-day in the Japanese group. This period was before the day when the parasitemia became 5% or more, and it could be said to be the turning point to the severity or the starting point of the DIC mechanisms. This conclusion resembles to the results of the previous reports on the experimental monkey malaria.

Additionally, on the study of falciparum malaria cases in Congo, the cases with low parasitemia and thrombocytopenia were more frequently noted in the adult's cases than in the children's cases. This would indicate that some factors of the acquired immunity to malaria, might be more active in adults than in children.

In conclusion, it is emphasized that the course dependent factors of the disease and the manifold related factors should be discussed in the basic studies for the pathophysiology of malaria.

4 EVOLUTIONARY GENETICS ON THE VECTORS OF MALARIA AND FILARIASIS IN EAST ASIA

TOZO KANDA, KENJI TAKAI AND KEN-ICHI OGAWA

Department of Pathogenic Zoology, St. Marianna University School of Medicine

Phylogenetic studies have been performed on the vectors and the related members of their species groups of malaria and filariasis in East Asia based on the informations from morphology, cytogenetics, hybridization experiments, molecular taxonomy by electrophoretic analysis on protein components and isozyme gene analysis, and population genetics.

In the *hyrcanus* group *engarensis* was cytotaxonomically separated from *sinensis* by the finding of homozygote inversion of 2Rb. No heterozygote inversion was found among natural population at the sympatric area, Engaru, Hokkaido. Although *An. lesteri* is completely separated from *sinensis*, there exists a group of *sinensis* with synaptic X chromosomes of F_1 hybrid between *lesteri*, instead of others with asynaptic X chromosomes of the one populaly distributed in Japan. The group distributed in Korea and western Japan is the vector of *Brugia malayi* and vivax malaria in Korea. Some differences in protein components which are coresponding with a few morpho-

logical differences were found between northern 3 strains from Okinawa, Japan and southern 2 strains from Malaysia. Reproductive isolations existed among 7 members of the group, *sinensis*, *lesteri*, *crawfordi*, *nitidus*, *nigerrinus*, *argiropus* and *peditaeniatus*. Homosequential banding sequences among *sinensis*, *crawfordi*, *lesteri* and *nitidus*, whereas intraspecific floating polymorphism were found in a few cases. *Sineroides* has homosequential X chromosomes in comparison with *An. koricus*.

Among the members of the *leucosphyrus* group, *leucosphyrus* s. s. is a separate species from other malaria vector members of the group. In the comparisons of genetic relationships among 7 strains, 1 from Taiwan, 3 from Thailand, 2 from the Peninsular Malaya and 1 from Sabah, East Malaysia, they had incomplete reproductive isolation, and some synaptic or some asynaptic polytene chromosomes were found in the salivary gland of their F_1 hybrids. Therefore, they were diverged respectively each other combinations in different grades, and indicated that they had subspecific or racial relationships in respective combinations instead of specific interdependency. Isozyme analysis was also performed on esterase-1, octanol dehydrogenase, malic enzyme and amylase by using acrylamide gel electrophoresis. They resulted that 3 strains from Thailand and 1 strain from Taiwan were in same genetic distance in racial level. One strain from Sabah showed 0.29 and 2 strains from Malaysia (Peninsula) showed 1.38 due to Nei's genetic distance value.

In the *pyrethophorus* group, the F_1 hybrid from cross between *sundaicus* and *subpictus* showed synaptic homosequential polytene salivary gland chromosomes, but their F_1 male were sterile. *Vegus* and *indefinitus* were completely separated from *sundaicus*.

Among the *minimus* group, there existed some reproductive isolations due to geographical isolation between a strain from Ishigaki and Kanchanaburi (KCH)-1 with similar morphological characters, whereas KCH-2 with different morphological characters, pale spots on the distal end of the hind tibia etc. had no reproductive isolation between Ishigaki strain. No different enzyme allele was found yet among these strains.

Anopheles maculatus in Thailand can be separated for 3 groups by using isozyme electrophoretic analysis in relation to their morphological differences among the groups.

5 ELECTROPHORETIC PATTERNS OF SOME ENZYMES OBSERVED IN ANOPHELINE MOSQUITO LARVAE

MASUHISA TSUKAMOTO

Department of Medical Zoology, School of Medicine, University of Occupational and
Environmental Health

Phylogenetic studies of mosquitoes have usually been based on morphological characters. More recently, comparison of isozyme patterns using electrophoresis has also been utilized in various ranges of mosquito studies. Although one of the most

extensively examined enzymes by previous investigators is esterase mainly in relation to insecticide-resistance problems in mosquitoes, such an approach has been proved to be a useful tool to study intra- and inter-specific biochemical relationship. Started from 1981, extensive studies on mosquito isozymes of various grades of taxa, such as subfamily, tribe, genus, subgenus, group, species and subspecies, have been attempted using about one hundred species of mosquitoes in Japan and the Philippines. The enzymes examined after polyacrylamide gel electrophoresis are lactate dehydrogenase (LDH), leucine aminopeptidase (LAP), and non-specific esterase (Est). Preliminary analysis of data of isozyme patterns does not show any direct relationship between such biochemical characters and ability for malaria transmission in 15 species of anopheline mosquitoes examined for LAP or Est so far, but at least a tendency has been suggested, using 8 species of anopheline mosquitoes, that 4 members of subgenus *Anopheles* demonstrated LDH activity bands which moves rather fast than those of subgenus *Cellia*. Much more extensive researches for general biochemical background of the mosquito are necessary to understand the ability of malaria transmission, insecticides resistance and phylogenetic relationship.

6 MECHANISM OF INSECTICIDE RESISTANCE

JUNSHI MIYAMOTO AND SHIGEHUMI KOGISO

Research Department, Pesticides Division, Sumitomo Chemical Co. Ltd.

Insecticides are classified into several groups by their mode of action. Organophosphate and carbamate insecticides inhibit acetylcholinesterases and exhibit insecticidal activities. On the other hand, pyrethroid and organochlorine insecticides directly act on nervous system and disturb and blockade membrane conductance.

According to the increase of the usage of insecticides, 428 species of arthropod pests, which are of agricultural and medical importance, show resistance to one or more insecticides. Biochemical and electrophysiological study using resistant houseflies and mosquitoes revealed that major factors of resistance are: 1) increased detoxification of insecticides by metabolic degradation enzymes, 2) decreased sensitivity of site of action, 3) decreased penetration of insecticide into cuticle. It is thought that the level of resistance in one particular insect is determined by the combined result of these above resistance factors.

The metabolizing enzymes of organophosphate and carbamate insecticides are mixed-function oxidases (mfo), glutathione S-transferases, hydrolases and esterases. The major factor in carbaryl resistant housefly is the increased activity of mfo, which was inhibited by the addition of piperonyl butoxide (mfo inhibitor). On the other hand, increased activity of carboxylesterases is a major factor of resistance in malathion resistant *Anopheles stephensi*. The degradation of malathion was inhibited by the addition of an esterase inhibitor, triphenyl phosphate (TPP).

The sensitivity of acetylcholinesterases, which are the site of action of both organophosphate and carbamate insecticides, has decreased to show insecticide

resistance in housefly, anopheline mosquitos, rice plant hoppers and acarine. Acetylcholinesterases of *Anopheles albimanus*, which is resistant to parathion and propoxur, are 500 and 15,300 fold less sensitive than that of susceptible mosquito to paraoxon and propoxur, respectively.

The activity of DDT-dehydrochlorinase, which is an enzyme detoxifying DDT to DDE, was increased in DDT-resistant housefly and *Aedes aegypti*. Some pyrethroids are metabolised oxidatively and hydrolytically into less toxic metabolites in insects. But the enzymes detoxifying pyrethroids do not play a prominent role in pyrethroid resistance.

The susceptibility of nerve membrane is decreased in housefly and a laboratory strain of *Culex quinquefasciatus*, which is more than 100-fold resistant to DDT and pyrethroids such as permethrin. The decreased sensitivity of nerve membrane, which is an important factor in pyrethroid resistance, were controlled by knock-down resistant (*kdr*) gene. But the rate of existence of *kdr* gene are rare.

Another factor of resistance, decreased penetration of insecticides to cuticle, is known in resistant strains of housefly, cockroach and *Aedes* species. The decreased penetration is considered to cause multiresistance in insect, but there are a few examples of resistance caused by decreased penetration.

Panel discussion

Diseases contracted by Japanese overseas residents

1 DISEASES WHICH AFFECT THE JAPANESE OVERSEAS I. MALARIA AND ITS PREVENTION

ISAO EBISAWA

Department of Public Health, Toho University School of Medicine

It is important to know the drug-sensitivity of *P. falciparum* of the particular region when plans are made to suppress malaria among the Japanese stationed in the malaria-endemic areas. The areas where the chloroquine-resistant *P. falciparum* is prevalent have extended into Burma and India in the west, and beyond Papua-New Guinea to New Hebrides Islands in the Oceania. Signs of prevalence of chloroquine-resistant *P. falciparum* are noticed in Nigeria, Kenya and Tanzania on the African continent. Pyrimethamine-resistance has been known in Thailand and in its surrounding areas. It is also widespread in Africa, i.e. Nigeria, Central African Republic, Ghana etc. Chlorguanide-resistance has been reported from the Malayan Peninsula.

The radical cure of *P. vivax* infection can not be achieved in the patients infected in India, Thailand, Kalimantan, Papua-New Guinea, and the Philippine Islands with the ordinary primaquine dosage of 15 mg daily for 14 days. Some patients may be cured with primaquine 30 mg for 7 days, repeated 2 to 3 months later.

It is important to take into account the local condition when a malaria suppressive regimen is planned. Nairobi in Kenya is free of malaria, but a Japanese, a 3 month-resident in that city, developed near-fatal malaria after a short trip to Mombasa, a sea-side town, and to a Natural Game Park. A Japanese in the central part of Nigeria, who stopped medication as it was a dry season for some months and no malaria transmission was present, made a short trip to Lagos where the weather was humid and mosquitoes were present. He caught malaria and an instruction, "Antimalarial drug may be suspended during the dry season" became void.

When a traveller or a resident in the malaria endemic area develop malaria, it is safer for the patient to become ill in the endemic area than in Japan. The doctors in the former place consider malaria first and there will be no delay in the inception of treatment. The doctors in the non-endemic area are unfamiliar with malaria, or antimalarial drug may not be available and the inception of treatment is unduely delayed.

2 DISEASES AFFECTING OVERSEA JAPANESE RESIDENTS

II. HEPATITIS

HIROSHI OBATA, NOBUYUKI FUJINO AND TOJU HISAMITSU

Institute of Gastroenterology, Tokyo Women's Medical College

There are three main types of human hepatitis viruses, namely, type A (HAV), type B (HBV) and type non-A non-B (NANBV). The prevalence of these viruses throughout the world has been clarified in the case of types A and B. Here we are particularly concerned with the hepatitis contraction rate among Japanese residing in the tropical and subtropical regions with high prevalence rates. In this paper we report on the epidemiological and clinical aspects of Japanese hepatitis patients who contracted the disease overseas and whom we had a chance to observe personally.

From the standpoint of global epidemiology, the anti-HA positive rate serves as an index for HAV and the countries in Southeast Asia, Oceania, Africa, and Central and South America are known to have prevalency rates above 80%. If we look at HBV based on the frequency of asymptomatic HB_sAg carriers, the countries with high prevalency rates are for the most part the same countries but in some countries the HBV prevalence rate is lower than the HAV prevalence rate.

During the past 7 years 58 patients with imported hepatitis have been hospitalized at our hospital. In order to identify the virus type, within two months of onset we have detected IgM-antiHA (HAVAB M method) and HB_sAg (R-PHA method). If the first test proved positive we judged such cases as type A, and if the latter test showed a transitory positivity as type B. If both proved negative and all cases that proved negative to anti-VCA IgM relating to the EB virus, we classified such cases as NANB. Based on these test results, the frequency rates for the various types were 41 cases with type A (70.7%), 11 cases with type B (19.0%) and 6 cases with type NANB (10.3%). The mean age of the patients for type A was 29, for type B 36 and for type NANB 33. The country of contraction was mainly in Southeast Asia and Africa for type A. The country with the greatest occurrence rate was Egypt with 12 cases among whom 7 cases developed endemically. B-type occurred mostly in some regions of Southeast Asia and NANB developed sporadically.

The clinical symptoms of imported hepatitis are similar to symptoms of sporadic domestic cases of hepatitis but among the long-term residents prolonged cases are observed due to complications. The histological findings of biopsy show in most cases a picture of typical acute hepatitis but in some cases a picture of chronic hepatitis or cholestatic hepatitis was observed. The prognosis is favorable and a cure can be effected in all cases.

Prevention and countermeasures are as follows. For type A, since it is due to fecal-oral infection, thorough personal hygiene is very important and ISG should be administered according to residency and working conditions. Since B type infects via the body fluids, HBIG is useful but it is necessary to avoid all close human contact

(including sexual relations). Future studies are necessary to determine the infectious route of NANB.

3 DISEASES AFFECTING OVERSEA JAPANESE RESIDENTS III. OTHER PARASITIC AND/OR TROPICAL DISEASES

SHOKICHI TANI AND HIROSHI OHARA

Department of Medical Zoology, Kanazawa Medical University

It is quite important for the Japanese who stay in the tropics to take precautions against tropical diseases or endemic diseases which are prevalent among natives. But these are not only diseases that are important for health administration of the Japanese staying in the tropical area.

According to the studies on 1,469 members of the Japan Overseas Cooperation Volunteers, the incidences of major diseases that occurred during their stay abroad were as follows; malaria (101 cases), acute hepatitis (94 cases), traffic accidents (71 cases), chronic diarrhea (59 cases) and dengue fever (12 cases). The reported cases of venereal diseases or mental diseases are rather few, but it is estimated that the actual incidence of these diseases must be much higher.

There is a high incidence of hepatitis A among young Japanese who stay in the tropical or sub-tropical district. According to the results that measured anti-HAV of both before and after assignment, the positive rate of the returned volunteers increased 2.7 times compared with that of before assignment.

The stool examinations on the returned volunteers after two year stay in the tropical or sub-tropical area were carried out, and the infection rate was 30.7%. This was the highest among abnormal laboratory findings of the returned volunteers. The highest infection rate among protozoas was observed on *Giardia lamblia* (17.3%), and among helminths, *Trichuris trichiura* was recorded in 9.3% and *Ascaris lumbricoides* in 3.7% (Yamaura *et al.*, 1981). These parasites can be causes of chronic diarrhea, but in general it is quite rare that parasitic infections cause severe symptoms.

It is true that such tropical diseases as malaria, dengue fever and intestinal infections show high incidences, but acute hepatitis, traffic accidents, mental diseases, venereal diseases and the recurrent or aggravated cases of the diseases which have past history are also seen frequently. This fact shows that it is important for a Japanese who stays long in the tropical area to consider a counterplan for these diseases as well as for the other tropical diseases.

4 CORRELATION OF INFECTION RATE OF INTESTINAL HELMINTHS AMONG JAPANESE INHABITANTS IN THE TROPICAL COUNTRIES WITH DEGREES OF DRINKING WATER POLLUTION

KOICHIRO FUJITA

Department of Medical Zoology, Nagasaki University School of Medicine

Many Japanese are living in the tropical countries, and some of them are suffering from the infectious diseases which was brought through the mouth. In this panel discussion, I would like to emphasize the importance of the drinking water in the prevalence of these infectious diseases such as infectious hepatitis, typhoid fever and amebic dysentery.

In total, over 300 samples of drinking water from the countries of Southeast and Southwest Asia, Middle East, East Africa and Central and South America were tested with potassium permanganate consumed test, and number of coliform bacilli from the drinking water was counted after cultivation.

Relatively high proportion of samples appeared to be polluted by fecal matters. Then, we checked parasite eggs in the stool samples of those Japanese who actually used water samples in the tropical countries. Eggs of *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Taenia saginata* and *Clonorchis sinensis* were found among those Japanese.

The infection rate of intestinal helminths was proved to be highest among the Japanese in Indonesia, and the rate was followed by those of people in Southwest Asia, in East Africa and in Central and South America. The relationship between the infection rate of intestinal helminths and the degree of the pollution of the drinking water was studied. Significant relationship was observed between the infection rate of intestinal parasites of Japanese and the rate of water containing 10^2 or more/ml of coliform and of total microorganisms ($\gamma=0.957$). However, no relationship between the infection rate of *Enterovirus vermicularis* in Japanese children there and the degree of the pollution of drinking water was found. These results above mentioned will suggest us that the drinking water still plays an important role in the prevalence of the water-borne diseases.

5 THE TRAVELING MEDICAL CONSULTATION AND ITS PROBLEMS OF JAPANESE RESIDENTS IN TROPICAL COUNTRIES

KEIZO MATSUMOTO

Department of Internal Medicine, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

(Abstract not received in time)

6 HEALTH CARE AND ITS PROBLEMS AT OVERSEA PLANT CONSTRUCTION

MASAKI NAKAMURA, HIROYUKI INOUE, YUKIO SAWADA AND
TAKASHI SHIMOYAMA

The 4th Department of Internal Medicine, Hyogo Medical College

A Japanese population working at overseas is said to be about 200,000 altogether. We have been practising a medical care of Japanese working at West Africa, North Africa and Middle East to construct industrial plants. We report their medical situation and discuss about the medical care and its problems.

The medical practice among about 120 employees at north Katsina, Nigeria between May in 1980 to December in 1981 was as follows. Common cold and diarrhea were the highest incidence diseases, 218 and 155 cases being found respectively. Then, dermal diseases such as eczema 54 cases, trauma including eye problems 45 cases, shoulder pain and lumbago 26 cases, gonorrhoea 18 cases, malaria 14 cases and liver damage 5 cases followed.

The most serious problems were malaria and accidents. The different occurrence of malaria was observed by seasons, taking preventive pills, places such as city or rural areas and degree of tiredness, on which points of view preventive measures should be established urgently. In some cases certain drug resistant malaria were reported. Industrial hazards were reported to be the same as in Japan. The medical care available in the local area was limited. Therefore, when a serious accident happened, one should seek a way of sending the patient to a developed country, not only contact with the local hospitals. Furthermore, the problem of hepatitis A was discussed.

7 PRACTICES AND CONSIDERATIONS OF HEALTH CARE FOR EXPATRIATE EMPLOYEES OF "SOGO SHOSHA" (MBK)

YUKIO MASUYAMA

General Manager of Medical Clinic, Mitsui & Co., Ltd.

For the Mitsui employees assigned to overseas posts, the living conditions abroad are generally quite different from those in Japan particularly in regard to manners and customs, weather, clothing, food, housing, etc. Therefore, overseas appointments and health management measures are based on the accurate information and knowledge of the living conditions overseas, and eventually the importance is placed on

individual health management by which each employee looks after his own health in accordance with the local environment.

As a precautionary step prior to despatching an employee overseas, he is made to attend training courses on medical care overseas so that he can deal with environmental changes with versatility. If the physical checkup prior to departure indicates that he is in normal health, he can be despatched without any anxiety, but if he is found to have some chronic disorder, he is given instructions concerning his daily life in order to prevent the disorder from getting worse.

For managing the health of persons stationed abroad, a physical checkup is conducted once a year by a local medical institution at the request of the Company, in case the persons are serving in the advanced nations. If the persons are stationed in the developing countries, the physical checkup is performed by utilizing the touring clinic and the Rest and Recuperation System.

Life in a foreign country should be spent in a humane atmosphere in which mutual understanding is maintained by good communication, and in addition the expatriate employee should familiarize himself with the sports, culture, etc., of the host country so that he will be free from any culture shock or apprehension.

Employees serving overseas should be healthy and mentally alert, having a good command of a foreign language while being possessed of such qualities as foresight, resolution, vitality, perseverance and the ability to discharge their duties. If all overseas posts are filled with persons meeting the above criteria, there will be no dropouts who are unable to complete their tour of duty, and have to be sent home halfway through. In practice, however, we are at times faced with cases of improper adaptation due to the large difference in the living conditions and the need to have a small number of employees handle a great variety of commodities according to different trade customs. Why does this happen? The zealotry in performing one's duties to perfection and an extreme wish for local adaptation seem to collide, causing friction and leading to a psychological breakdown and mental frustration. It is necessary to provide consultation of life-style in which the affected person is advised to set his mind at ease and act naturally since he is not alone in suffering.

At the time of returning home, a physical examination is made to make sure that no person will enter Japan with foreign infectious bacteria. It is desirable that medical facilities for persons serving overseas should be planned with the final target of enabling every one of them to receive the same medical care as that in Japan at any time and locality.

In providing such medical care overseas, however, we must solve many problems such as local licences to practice medicine, the recruiting of doctors, government subsidy, and business enterprises' positive assistance to medical services.

In future, the exchange of information with experts in all fields should be positively promoted with a view to accumulating know-how, and by utilizing such knowledge, it is hoped that medical facilities can be established in foreign countries for Japanese residents abroad and that the hospital ship project as conceived by the Japanese Government will be materialized on the idea that all people in the world are bound in common and should help each other in improving their lives.

8 DISEASES OF JAPANESE RESIDENTS IN FOREIGN COUNTRIES AND PROBLEMS IN THEIR HEALTH MANAGEMENT

SAKAE WATANABE

Uenohara Hospital

This research of the diseases of Japanese residents in foreign countries was based on the statistics collected by the clinics of the Ministry of Foreign Affairs according to the International Classification of Diseases (WHO). In the years from May 1980 to April 1981, a total of 12,039 persons visited the medical facilities at Japanese diplomatic offices. Among these patients, 4,440 persons (36.9%) were civilian Japanese whose numbers varied greatly with location. There were proportionately more patients in Indonesia, Russia, and China, but only 35 patients in Thailand was extremely low considering the number of Japanese residents there. In the classification of the patients' diseases, respiratory diseases were the greatest in number, followed by digestive ones. Serious infections and parasitic diseases were 6.2%, being 5th in occurrence frequency. The following is a breakdown of the infectious cases.

- 1) 22 cases of typhoid fever and paratyphoid fever in Indonesia only.
- 2) 52 cases of virus hepatitis (10.4%) in Indonesia, Kenya, Russia, Egypt, etc., that is, over a wide range of districts such as Southeast Asia, Middle and Near East, Africa, and Russia.
- 3) 32 cases of malaria (6.4%), mostly in Africa and around Kenya, Nigeria, Cote d'Ivoire, and Egypt.
- 4) Lice, ticks and flies were found in 74 cases (14.9%), mostly in Africa and the Middle and Near East.
- 5) Bacillary dysentery, amoebic diseases and bacterial gastroenteritis were grouped as digestive infectious diseases, and had 88 cases (17.7%); these diseases were more frequent in Africa, Middle and Near East, India, Southeast Asia, Russia and Mexico, as was virus hepatitis. These results suggest a relationship between the particular conditions of the individual districts and their hygienic environments.

The author stayed in Indonesia as a medical officer in the Japanese diplomatic office for 4 years from December 1977 to December 1981 and treated 15 Japanese residents who ultimately died from various causes such as myocardial infarction (3), subarachnoid hemorrhage (2) and malaria, cirrhosis of the liver with bleeding esophageal varices, cancer of the liver, acute yellow atrophy of the liver, and malignant brain tumor (1 each), and external causes of traffic accident, electric injury and suicide (also 1 each). Except for the 1 case of malaria, the all other diseases except the 3 external etiological cases were adult diseases, resulting in death which could have

been prevented, had the patients had a thoroughly physical examination before leaving Japan.

Finally, the problems of health management of Japanese residents in foreign countries will be briefly described. The activities of medical officers in diplomatic offices are somewhat restricted because of the problems of medical license. Doctor groups are sent abroad by Ministry of Foreign Affairs and other private organizations, but they cannot fully satisfy the needs of patients because of limitations of the districts, short term of visit and shortages of materials. The Japanese medical officers who are sent by the Ministry of Foreign Affairs to stay in Japanese foreign diplomatic offices are under the various restricting conditions even though they can only be in charge of the health management of Japanese residents. One of the problems is the instruction in Japan. Of all the patients of the medical officers, 9.1% were foreigners and their ratio of medication was 73.6%. However, in actuality, the medical officers treat residents regardless of the law of the country, and thus it is reasonable for Japanese residents there to expect the Japanese doctors' services. The author proposes to eliminate restrictions for the medical treatment to Japanese residents as well as to revise the current regulations, including the means to discharge the medical officers from the responsibility for inadequate treatment. Secondly, it is necessary for those who are going abroad with their families to new posts to be subject to thorough health examination according to standard check items for adults.

9 HEALTH MANAGEMENT FOR JAPANESE RESIDENTS IN FOREIGN COUNTRIES

YOSHIZO KONISHI

Ministry of Foreign Affairs, Japan

(Abstract not received in time)

Round table discussion

Biological activities of toxic factors in Habu venom

1 INTRODUCTION TO THE ROUND TABLE DISCUSSION

YOSHIO SAWAI (Chairman)

The Japan Snake Institute

From the therapeutical and preventive purpose of snakebite, it is necessary to elucidate the pathogenesis of envenomation and to clarify the role of each toxic factor in the venom, and to investigate the feasibility to prevent the toxic effect by immunological method.

Thus, the role of venom factors such as proteinases, phospholipase A, hemorrhagic principles (HR1 and HR2), necrotic factor, edema-forming factor etc. separated from crude venom will be discussed in this meeting. Methods of quantitative determination of local swelling, hemorrhage and necrosis and results of analysis of local lesion using proteinase inhibitor will be discussed.

2 PATHOLOGY OF HABU-BITE

MANABU HONMA

The 1st Department of Pathology, School of Medicine, Gunma University

(Abstract not received in time)

3 PROTEINASES IN HABU VENOM

HIROO MAENO

Central Laboratories, Yamanouchi Pharmaceutical Co.

Local lesions of Habu-bites is characterized by hemorrhage, edema and necrosis. Thus, it is important to separate each pathogenic factor from the crude venom for the clarification of cause of the intoxication.

The author and Professor S. Mitsuhashi and T. Okonogi elucidated that the Habu proteinases were one of the main factors correlated with local lesion due to Habu venom. Habu proteinases are heat labile and easily inhibited by SH-compounds and EDTA. It is suggested that Habu proteinases are a kind of metallic

enzyme, since they were activated by the addition of the di-valent metallic ions. It is also suggested that the characteristic nature of the proteinases is the ability to induce intensive necrotic lesion of muscle tissues as compared with other proteinases obtained from *Streptomyces griseus* or *Bacillus subtilis* and trypsin. Thus, it is concluded that the Habu proteinases resulted severe local necrosis, cooperating with other factors of hemorrhagic and necrotic principles and phospholipase A which are free of proteinase activity.

4 PHOSPHOLIPASE A₂ OF HABU VENOM

HIROSHI KIHARA

Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kagoshima University

Many proteins with phospholipase A₂ activity have been isolated from venom of snakes and bees and from mammalian tissues. Phospholipase A₂ of Habu (*Trimeresurus flavoviridis*) venom was purified *via* three steps consisting of Sephadex G-100, CM-cellulose and DEAE-cellulose column chromatographies. The apparent molecular weights determined by gel filtration on Sephadex G-75 and by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis were 28,000 and 14,000, respectively, suggesting that the enzyme is composed of two identical subunits. The isoelectric point was 7.9.

The enzyme is characterized by high contents of aspartic acid, tyrosine, glycine and lysine and contains one residue each of histidine and methionine and eight disulfide bonds per subunit. The enzyme was inactivated by reaction with p-bromophenacyl bromide following pseudo first order kinetics. The loss of activity was accompanied by loss of histidine, indicating that a single histidine residue is essential for activity.

This enzyme is split into two fragments by cyanogen bromide treatment. When these two fragments lost the enzyme activity were mixed, the activity recovered. It indicates that the reconstitution of this enzyme occurs. N-terminal residue is pyroglutamyl, unlike other phospholipase A₂.

It is well known that phospholipases A₂ cause hemolysis *in vitro*, but is unknown whether the enzyme cause hemolysis *in vivo* or not. When purified phospholipase A₂ of Habu venom was injected into rat, spectrophotometric absorption of the plasma at 550 nm increased. And haptoglobine contents of patients bitten by Habu were decreased, rapidly. These results suggest occurrences of hemolysis *in vivo*.

The measurements of CPK-activity in plasma of the rat showed increase of activity when this enzyme was injected into the muscle. This enhancement of CPK-activity was related with the dose and the passage of time from the injection. In histological studies the formations of necrosis were observed at the injected region of the rat muscle without hemorrhagia. These results suggest that phospholipase A₂ of Habu venom may be one of factors causing the necrosis.

5 HEMORRHAGIC PRINCIPLES IN HABU VENOM

TAMOTSU OMORI-SATOH

The 2nd Department of Bacteriology, National Institute of Health, Tokyo

In 1960 we established a quantitative determination method for the hemorrhagic activity of snake venoms. This enabled us to purify two hemorrhagic principles (HR1 and HR2) in the venom of Amami Habu (*Trimeresurus flavoviridis*) and to understand the correlation of the hemorrhagic principles to other ingredients in the venom. We prepared toxoids from the purified hemorrhagic principles for the clinical use. We investigated also the mechanism of the hemorrhagic reaction. This article deals with the hemorrhagic principles in Habu venom in special reference to purification and characterization.

The two hemorrhagic principles were separated from each other by gel filtration on Sephadex G-100. HR1 was purified by column chromatographies on anion exchangers such as DEAE-Sephadex and TEAE-cellulose, and it was shown to be resolved into two fractions (HR1A and HR1B). HR2 was purified on a column of Bio Rex 70 (cation exchanger) being separated into two fractions (HR2a and HR2b). Among these hemorrhagic principles, only HR1A was associated with proteinase activity (casein substrate). On the other hand, the main proteinase (designated as H₂-proteinase) in the venom was separated from the hemorrhagic activity. These results indicated that the most part of hemorrhagic activity evoked by the venom was not due to proteinase. HR1A and HR1B were associated with potent lethal toxicity in mice.

HR1 (A+B) was an acidic glycoprotein having the molecular weight about 60,000, while HR2 (a+b) was a basic protein having the molecular weight of about 20,000. HR1 and HR2 were distinguishable immunologically, and they were inactivated by heat, acidic milieu, EDTA and cysteine, but not by DEP and soy bean trypsin inhibitor.

Investigation on the mechanism of hemorrhagic reaction using the great omentum of rat indicated that the spurting of intact erythrocytes occurred at the sites of disrupted basement membrane through junctions of the vascular endothelial cells.

6 MYONECROTIC FACTORS IN HABU VENOM

HIROSHI CHINZEI

Department of Medical Zoology, Faculty of Medicine, Tokyo Medical and Dental University

The kind of snake venoms, which cause myonecrosis, is not so few. We are interested in the sequela found in Habu (*Trimeresurus flavoviridis*) bite and assume that it is mainly based on myonecrosis.

A part of the component fractionated using gel-filtration (Sephadex G-100) was found to cause primarily myonecrosis, so we have isolated the fraction from Habu venom with acetone, which had myonecrotic activity without hemorrhagic one, and it was termed myonecrotic factor (MNF). It was observed histopathologically that MNF began to cause myolysis within one minute after being injected intramuscularly and was thermo stable. The value of creatine phosphokinase activity in the serum of mouse injected was referred to myonecrosis, because its value corresponded to the degree of myonecrosis caused by MNF and Habu venom.

Three components (A, B and C) were separated from MNF with zone electrophoresis, and myonecrotic activity was detected in A (MW: 14,000) and B, but indirect hemolytic activity to the rabbit red blood cell in B and C, besides pH of A was approximately 9 and that of B was 8. These results indicated that phospholipase A was B rather than A.

A-component comprised about 80% of MNF (280 m μ), and it was thought to have main and primary myonecrotic activity in Habu venom. However, the activity of MNF was roughly 30% of that of the crude venom according to Fukami's method, and the reasons why that of MNF was low in comparison with the activity of the crude venom may be as follows: 1) The lowering activity of MNF on isolating technique, and 2) The multiple actions of MNF and other biological activating substances.

Generally, the main therapy for snake-bite is antivenomtherapy, but is it effective enough to protect myonecrosis? Our experiments showed that very high potency of anti HR1 and anti HR2 horse serum could not always neutralize myonecrosis and that the immunogenicity of MNF was not so high. Therefore, we think that only these two kinds of potency applied now are incomplete in determining the potency of Habu antivenom for therapy.

7 SWELLING FACTOR

MASANOBU YAMAKAWA AND MASATOSHI NOZAKI

Division of Venomous Snakes, Okinawa Prefectural Institute of Public Health

Swelling activity of Habu (*Trimeresurus flavoviridis*) venoms was determined by injection into the foot pads of mice. The swelling caused by Habu venom developed quite quickly and reached the maximum in about 30 minutes after injection. However, hemoglobin content in a mouse leg reached the peak more than 2-3 hours after the injection.

Fractionated venoms of HR 1, HR 2 and H₂₋₀ which were separated from crude Habu venom by Sephadex and Amberlite column chromatography showed potent swelling effect. The time course curves of swelling of these venoms showed various patterns with or without hemorrhage. For example, the edema caused by HR 2 recovered more rapidly than that of HR 1. It was found that fraction HR 1 has much swelling activity as well as hemorrhagic activity. Fraction HR 2 had also

intensive edema forming effect without hemorrhage 1–3 hours after the injection, but it recovered rapidly after 8 hours.

Determination of edema forming activity two hours after injection is more superior than original method (Yamakawa *et al.*, 1973) which determined after 8 hours, for the reason of higher sensitivity and enshorterning the experimental time required.

It was demonstrated that there is linearity and parallelism between log doses of each frationated venoms and edema ratio. However, the equivalent volume of mixture of the fractions (such as HR 1+H₂₋₀, HR 2+H₂₋₀ and HR 1+HR 2+H₂₋₀) showed synergistic effects of swelling activity with up-slope of dosage-response curves (slope b=39~41) than that of each corresponding original venom solution (slope b=26~30). The swelling activity of the other mixture of HR 1 with HR 2 also increased with certain severity without changing of slope (b=30) from original venoms.

From above experiments, it was deduced that fraction H₂₋₀ assumed to be the activator to potentiate swelling effect in Habu venom.

8 THE EFFECT OF PROTEINASE INHIBITORY SUBSTANCE (ISV) ON EDEMA, HEMORRHAGE AND NECROSIS OF HABU (*Trimeresurus flavoviridis*) VENOM

JUNG-HWN SEU

Department of Chemistry, Agricultural College, Kyung-Pook National University, Taegu, Korea

Using venom proteinase inhibiting substance (ISV) on the venom of Habu, it was elucidated that ISV in amount of 30–240 μg decreased 80 % of necrosis and 60 % of edema at maximum induced by 120 μg of the venom without any influence on hemorrhage by intramuscular method in rabbits (Fukami's method).

A procedure of photometric determination of hemorrhage induced in the mouse pad by the venom was designed. By this method, it was elucidated that dose-response curve in O. D. amount for the hemorrhage was linear in less than 15 μg of the venom used.

The results of inhibitory action of ISV on local lesions induced by the venom by mouse pad method indicated that 2.4 or 3.6 μg of ISV decreased lesions of edema and hemorrhage. Those results suggested that proteinase of the venom is strongly correlated with necrosis, edema and even hemorrhage due to the venom.

General presentation

**1 EFFECT OF THERMAL ACCLIMATION ON
CARDIOVASCULAR REFLEX**

KATSUHIKO TSUCHIYA, NOBU OHWATARI, TAKAAKIRA INOMOTO,
MARIKO FUJIWARA AND MITSUO KOSAKA

Department of Epidemiology and Environmental Physiology,
Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

The effect of thermal acclimation on the cardiovascular reflex triggered by cutaneous thermal reception was studied. Adult Wistar rats were thermally acclimated at 10°C, 24°C and 30°C for more than 4 weeks.

Experiment A: Scrotal skin was heated selectively by a thermode, of which temperature was changed stepwise 30°C to 42°C (2°C/3 min) in three groups of thermally acclimated rats anesthetized with sodium pentobarbital (50 mg/kg, i.p., 13 mg/hr/body, i.v.). Heart rate and blood pressure decreased during scrotal heating, although these decreases were most marked in the scrotal temperature at 38°C in three groups. The maximal change of heart rate due to scrotal heating was recorded in heat acclimated rats. The minimal change of heart rate was recorded in cold acclimated rats.

Experiment B: Conscious rats were kept in a small wire-netted cage (5 cm × 10 cm × 20 cm) individually. Environmental temperature was changed from 10°C to 20°C and 20°C to 30°C at constant rate of 1°C/3 min and *vice versa*, respectively. Heart rate was counted continuously on electrocardiogram. An increase in heart rate was observed during a fall of environmental temperature, while a decrease in heart rate was observed during a rise of environmental air temperature.

These relationship vanished in rats anesthetized with sodium pentobarbital, whereas heart rate increased with an increase of rectal temperature. When values of heart rate were plotted against the air temperature, slopes of the regression lines were steeper in the heat acclimated rats than those in cold ones in warm range of the environmental air temperature (20°C to 30°C), while in cold range of the environmental air temperature (10°C to 20°C), the slopes of the regression lines were steeper in cold acclimated rats than those in warm acclimated ones.

From these results of experiments A and B, it is suggested that these cardiovascular responses to cutaneous thermal reception in this range are affected in the process of thermal acclimation.

2 STUDIES ON THERMAL ACCLIMATION —THERMAL HABITUATION—

MITSUO KOSAKA, NOBU OHWATARI, MARIKO FUJIWARA,
KATSUHIKO TSUCHIYA AND TAKAAKIRA INOMOTO

Department of Epidemiology and Environmental Physiology,
Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

Experiments were performed on conscious rabbits to explore the mechanism of thermal acclimation. Blood flows of local cerebral tissues (hypothalamus and reticular formation) and spinal cord were calculated from the initial slope of hydrogen clearance curves. In thermally acclimated rabbits (30°C, 60%~; 10°C, 60%~), decrease of flow rate such as "thermal habituation" was observed.

3 THE MURINE LICE (ANOPLURA) FROM KENYA

KIYOTOSHI KANEKO¹ AND HIROSHI SUZUKI²

Department of Parasitology, Aichi Medical University¹ and Department of Virology,
Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University²

The first report of the Anoplura fauna of Africa was made by Johnson (1960). Subsequently, papers pertaining to the East African Anoplura have been published by Kim and Emerson (1968, 1973). This report deals with the Anoplura of Kenya, including 2 genera and 5 species: 1) *Hoplopleura zelotomydis* Johnson, 1960 on *Zelotomys hildegardae*, 2) *H. intermedia* Kellogg and Ferris, 1915 on *Mastomys natalensis*, 3) *Polyplax abyssinica* Ferris, 1916 on *Arvicanthis niloticus*, 4) *P. otomydis* Cummings, 1912 on *Otomys tropicalis*, 5) *P. cummingsi* Ferris, 1916 on *Aethomys kaisari*, 6) *Polyplax* sp. on *Acomys wilsonii*.

4 PHOTODYNAMIC SUBSTANCE THEORY IN THE MICROFILARIAL PERIODICITY —RHODOPSIN-LIKE SUBSTANCE IN THE NOCTURNAL MICROFILARIAE—

TOMIICHI MASUYA¹ AND KINZO MAKISHI²

Fukuoka City¹ and Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,
University of the Ryukyus²

V. A has already been detected in the autofluorescent granules in *Mf. immitis* by means of Laser-Raman analysis and histochemistry. The fluorescence in the

pigment epithelium (PE) of the retina is known to be due to V. A ester. Lambda max of cattle metarhodopsin II is known to be 380 nm and that of N-retinylidene opsin (NRO) to be 440 nm in acid and 365 nm in alkali. Microscopic absorption spectra of fluorescent granules in *Mf. bancrofti* gave λ max at 406 nm. Those granules in earthworm epidermis and in PE of mouse retina gave λ max near 414 nm. Those granules in *Mf.* and in earthworm epidermis showed a shift of λ max by pH (413 nm in acid, 406 nm in alkali), while those granules in PE showed no shift in λ max by pH. The fluorescent granules in the two worms are considered not to be V. A ester itself. So far as concerned with microscopic fluorescence and spectroscopic findings, heretofore obtained, the fluorescent granules in the nocturnal *Mf.* and in earthworm epidermis were considered to contain certain common substance(s), containing V. A. Looking for the similarity among the bleached intermediates of rhodopsin, it was surmised to be similar to NRO. The noxious effects of such substances, including rhodopsin, were discussed, referring to the earliest changes in the outer rod segment, induced by light, by Kuwabara *et al* (1968).

5 STUDIES ON FILARIASIS IN MOZAMBIQUE (2)

KOICHIRO FUJITA¹, TSUTOMU ODA¹, AKIO MORI¹, SETSUKO TSUKIDATE¹,
MASAKATSU UEDA¹ AND TAKEO ASAKURA²

Department of Medical Zoology, Nagasaki University School of Medicine¹ and
Japan Association for Tropical Medicine²

The basic studies on the filariasis in Mozambique were carried out also in this year. We have visited the village where many filarial patients, probably due to *W. bancrofti* infection, were found, and collected mosquitoes which appeared to take human blood meals during 5 to 10 p. m. The *Mansonia* spp. (mainly *M. uniformis* and small number of *M. africanus*) were found most frequently in this year too, and the *Anopheles* spp. (mainly *A. coustani*) and the *Culex* spp. (mainly *C. p. quinquefasciatus*) were collected next to the *Mansonia* spp. The mosquitoes of *Mansonia* as well as *Culex* appeared to take the human blood from 5 p. m., and the most number of these mosquitoes fed the human blood in 6:30 p. m. of the time of sunset in this village. The number of these kinds of mosquitoes gradually decreased by 11 p. m. But, the mosquitoes of *Anopheles* appeared about 2 hours later than the appearance of the mosquitoes of *Mansonia* and *Culex*. Some of the mosquitoes were preserved in 70% alcohol before dissection. Among 83 *Mansonia* mosquitoes, four had 2nd or 3rd stage of larvae of filaria, but among 37 *Culex* and 31 *Anopheles*, no larva was observed. The lengths of the I_c larva dissected from the thorax of *C. p. quinquefasciatus* in the last year and I_b larvae from the thorax and 3rd larva from the abdomen of *M. uniformis* were compared with those of the larvae dissected from *C. p. pallens* experimentally infected with *W. bancrofti* in Nagasaki. The length of I_c larva was 137 μ , while that in Nagasaki was 136 to 170 μ . I_b was 248 μ (220–280) in Mozambique, but 187 to 306 μ in Nagasaki, and 3rd larva was 932 μ , but longer in Nagasaki, 1,190 to 1,870 μ .

The blood specimen taken from people living in this village showed two kinds of microfilariae; one had the sheath and the length was 160.6 μ (145 – 175), and the other had no sheath and the length was 90.3 μ (83 – 105). The microfilariae obtained from the patient suffered from *W. bancrofti* in Nagasaki had the sheath and was 231.0 μ (220 – 240). The filaria of Mozambique was said to be nocturnally periodic form of *W. bancrofti*, but more detail identification of the two kinds of filariae was necessary and conducted in our laboratory.

6 EPIDEMIOLOGY OF FILARIASIS IN WESTERN SAMOA —STUDIES ON MICROFILARIAL PREVALENCE AND DENSITY (MfD-50)

EISAKU KIMURA¹, L. PENAI² AND G. F. S. SPEARS³

Department of Parasitology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University¹,
Filariasis Project, Department of Health, Government of Western Samoa² and
Department of Preventive and Social Medicine, Medical School, Otago University³

WHO/Samoa Filariasis Research Project has conducted microfilarial prevalence and density studies of diurnally subperiodic bancroftian filariasis in Western Samoa from November 1978 to November 1979.

28 sample villages were selected so that they would be representative of the whole Samoa. A total of 9,745 people, roughly 6% of the total population in Western Samoa, was covered by the study. Of these, 8,385 people were actually examined by the conventional 60 mm³ finger-prick blood smear method (FP method hereafter) and/or 1 ml Nuclepore membrane filtration method (NP method hereafter) which used 1 ml of venous blood.

The overall positive rate in Western Samoa was 4.5% by the NP method (381 positives) and 3.8% by the FP method (315 positives), implying that the FP method resulted in some 17% false negatives. In four villages, their prevalence rates exceeded 10%. The analysis of age-sex distribution of the positive cases revealed that the average prevalence of males was 2.3 times higher than that of females, i.e., the males accounted for 70% (270 cases) of the total positives, and that the positive rate among adult males of age 30 and upward was as high as 20%. The youngest carrier found was a 3-year-old girl.

Microfilarial density (MfD-50) was analysed by sex and age. The relationship between village prevalence rate and MfD-50 was also studied. The results of these studies indicated that MfD-50 in 1979 was 18.6 (male: 21.4, female: 14.2), that there was no relation between the positive rate of a given age group and the corresponding MfD-50 and that the MfD-50 moved in parallel with the village prevalence rate.

In analysing a frequency distribution of microfilarial counts in a population, Pichon *et al.* (1980) proposed the application of truncated negative binomial distribution (BN). The BN was fitted to the data obtained by the NP method using a value of the exponent of 0.3 as recommended. The fit to the data was excellent,

whereas the fit of the more customary log-normal distribution was not good. Having fitted the BN, it is possible to determine the size of the class with zero count, i.e., the false negatives. The number of these was estimated as 36.7, which was about 9% of the total cases in the survey population when the NP method was used.

A similar form of analysis was carried out upon 315 positives detected by the FP method. This time, the estimated number of false negatives was 100.6, which was about 26% of the total positive cases. This figure will be confirmed by the facts that the FP method resulted in 17% false negatives and that if the number positive by the NP method is inflated by 9% to allow for false negatives due to that method, then the percentage of false negatives by the FP method will be 26%.

7 A LARGE SCALE MALARIA IMMUNOFLUORESCENT TEST STUDIED FOR MEASUREMENT OF LOWERED MALARIA ENDEMICITY FOLLOWING FENTROTHION SPRAY IN HAITI

MAMORU SUZUKI¹, V. JEAN-FRANÇOIS M. R. HILAIRE²
AND L. LAFONTANT JR.²

Department of Parasitology, Gunma University School of Medicine¹ and
SNEM, Republic of Haiti²

New anti-malaria operation since 1979 using fenitrothion resulted in a successful reduction of morbidity in SUMIT III region in Zone III, Haiti. Usefulness of indirect immunofluorescent test on serum specimens taken from inhabitants in Zone III was studied during December 1981, because malaria transmission rate is highest in December, in Haiti. In totalling 447 blood specimens were collected by filter paper method from highly endemic uncontrolled area (Vincendron, 160 specimens), from low endemic area (Navarre, 151 specimens), and also from well controlled malarious area (Worf Messe, 136 blood specimens). Parasite rate in the examined 3 localities was 49/160 in Vincendron, 1/151 in Navarre, 1/136 in Worf Messe. Hence the difference of malariometry between Worf Messe and Navarre was not shown by parasite rate, whereas, characteristic epidemiological features of the 3 localities were differentiated clearly by indirect immunofluorescent antibody test. Frequency distributions of titers by IFAT demonstrated that the titer higher than 1:160 was specific and significant. In Worf Messe, blood from 64.7% of examined inhabitants had no significant level of specific antibody. Levels of anti-malarial antibody was 1:160 or greater in 23.5% of these examined population. In Navarre, the serosurvey revealed that 93.3% of the collected blood specimens had insignificant level of antibody and only 1.3% of the blood specimens had significant titer of antibody. In highly endemic Vincendron, frequency of insignificant (1:10) titer decreased to 32%, and 76.9% of examined specimens were as high as 1:160 – 1:10,240. Comparative study at each age groups in respective localities indicated that in the studied localities so far, evaluation by parasite rate might be replaced by indirect immunofluorescent

test which was much more sensitive to make surveillance of epidemiological aspects of malaria and derive some detailed information after effective insecticide spray.

8 ISOLATION OF DENGUE VIRUSES IN INDONESIA

AKIRA IGARASHI¹, NOBUYA FUJITA², YOSHINOBU OKUNO³,
TSUTOMU ODA⁴, YOSHINORI FUNAHARA⁵, AKIRA SHIRAHATA⁶,
HARUKI IKEUCHI⁷, SUSUMU HOTTA⁸, AGUS SUJAHURAHMAN⁹,
SUMARMO⁹ AND SUJUDI⁹

Department of Virology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University¹,
Department of Microbiology, Kobe University School of Medicine², Depart-
ment of Preventive Medicine, Research Institute for Microbial Diseases,
Osaka University³, Department of Medical Zoology, Nagasaki Uni-
versity School of Medicine⁴, Department of Physiology, Kobe
University School of Medicine⁵, Department of Pediatrics,
School of Medicine, University of Occupational and
Environmental Health⁶, Department of Pediatrics,
Kobe University School of Medicine⁷, Interna-
tional Center of Medical Research, Kobe
University School of Medicine⁸ and
Indonesia University, School of
Medicine⁹

During epidemic seasons of dengue hemorrhagic fever (DHF) in 1981 and 1982, isolation of viruses were performed from peripheral blood of DHF and fever of unknown origin (FUO) patients as well as from vector mosquitoes collected in Jakarta, Indonesia. In 1981, 20 strains of dengue viruses (type 1, 2, and 3) were isolated from FUO. In 1982, 2 strains of dengue viruses (type 3) from DHF, and 3 strains of dengue viruses (type 2 and 3) from FUO patients were isolated, whereas 2 stains of type 1 dengue viruses were isolated from *Aedes aegypti*.

9 EFFECTS OF BIOLOGIC ACTIVATORS ON THE MULTIPLICATION OF DENGUE VIRUSES IN MOUSE PERITONEAL MACROPHAGE CULTURES

HAKU HOTTA¹, AGUS S. WIHARTA², SUSUMU HOTTA³
AND MORIYASU TSUJI⁴

Department of Microbiology, Kobe University School of Medicine¹, Department of
Microbiology, Faculty of Medicine, University of Indonesia², International Center
of Medical Research, Kobe University School of Medicine³ and Department of
Parasitology, Hiroshima University School of Medicine⁴

Cultures of peritoneal macrophages (M ϕ) from mice (BALB/c, 7–12 weeks old) are of comparatively low susceptibility to infection of dengue virus (DENV). When treated with certain biologically active substances, e.g., phytohemagglutinin (PHA), *Salmonella enteritidis* lipopolysaccharide (LPS), bacterial cell wall preparations and their subcomponents, however, the M ϕ cultures produced larger amounts of DENV than those produced by control non-treated cultures. The enhancing effect for virus production differed quantitatively from one substance to another, while there was a tendency of what could be called dose-response relationship between the amounts of substances administered and viruses produced. Pokeweed mitogen (PWM) and concanavalin A (conA) were not effective and carrageenan suppressed the viral multiplication. Parasitic antigens from *Ascaris suum*, *Parascaris equorum* and *Anisakis* larvae also showed the virus production enhancing effect. In the cultures treated with those active substances, numbers of 'infective centers' and positive anti-DEN immunofluorescent M ϕ 's increased compared with those in control non-treated cultures. When M ϕ cultures from mice immunized with DENV of a particular immunologic type were inoculated with DENV of a different type, titers of the latter virus newly produced were significantly high compared with that in control cultures from non-immunized mice. Essentially the same results were obtained in experiments similarly conducted using athymic nude mice (BALB/c nu/nu).

10 ON THE CYTOPLASMIC INCOMPATIBILITY IN NATURAL POPULATIONS OF *Culex pipiens* COMPLEX IN CHINA

OSAMU SUENAGA¹, WEI-DE LIU², JIAN-WU MIAO² AND WEI XU²

Reference Center, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University¹ and
Shanghai Institute of Entomology, Academia Sinica²

To make clear the crossing types of natural populations of *Culex pipiens* complex in China, field survey and crossing experiments were made in Shanghai from August

1981 through July 1982. An earthen jar of about 18 liters in size and containing wheat bran solution was set up as an ovi-trap for house mosquitoes in a corner of a park in Shanghai. All egg rafts of *Culex pipiens* complex which were deposited on the water surface in the jar were picked up every morning and incubated for 2 or 3 days in a polyethylene cup of 90 ml separately in an insectarium of 27°C for observations of the hatching conditions. Some of the egg rafts hatched were reared for several generations separately in the insectarium for crossing experiments. Although 1,228, or 98.6%, out of 1,245 egg rafts of *Cx. pipiens* complex collected have hatched well, 17 egg rafts produced no larvae or few larvae. Five out of 10 egg rafts unhatched have contained some developed eggs respectively, and the others have not developed. The appearance of unhatched egg rafts containing some developed eggs in the field suggest that the egg rafts have been laid by females which mated with incompatible males. The results of the crossing experiments with many Chinese strains and some Japanese strains of *Cx. pipiens* complex are as follows: All Chinese strains examined were compatible each other, although the females of a Fuzhou strains were incompatible with the males of Zhabei and Hexian strains. An Okinawa strain of *Cx. pipiens quinquefasciatus* and a Nagasaki strain of *Cx. pipiens molestus* were incompatible with Fuzhou, Hexian, Guangzhou and Fushan strains of *Cx. pipiens quinquefasciatus*. The females of a Nagasaki strain of *Cx. pipiens pallens* were compatible with the males of 6 Chinese strains except Hexian, but the males of the same strain were incompatible with 6 Chinese strains except Zhabei. All of 15 Chinese strains examined and also used for the crossing experiments have been heavily infected with wolbachiae respectively.

11 NEUTRALIZING ANTIBODY RESPONSES OF CHILDREN ADMINISTERED WITH JAPANESE ENCEPHALITIS VACCINE

RONG-FENG JUANG¹, YOSHINOBU OKUNO¹, MASAYUKI TADANO¹,
TOSHIHIKO FUKUNAGA¹, KONOSUKE FUKAI¹ AND AKIRA YAMADA²

Department of Preventive Medicine, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University¹ and Department of Pediatrics, School of Medicine, Osaka University²

In recent years, the cases of Japanese encephalitis (JE) have been decreasing in Japan. The pervasion of the JE vaccination among the school children may be considered to be one of the reasons of the decrease. However, JE is still one of the big public health problems in some Asian countries, where the administration of JE vaccine have not been practiced on a large scale.

The current JE vaccine employed in Japan is prepared with the Nakayama strain and the antigenicity of the strain may not be the same as those of the wild strains of JE virus. To compare the antibody responses against wild strains and that against the homologous Nakayama strain, we have administered the current vaccine to children and their immune responses were examined by titration of the neutralizing antibodies against three JE virus strains; the Nakayama strain and two wild strains

of JaGAR-01 and E-50 strains. The children were given two shots of the vaccine in an interval of one month and were bled three times, the first bleeding before the first vaccination, the second bleeding before the second vaccination and the third bleeding one month after the second vaccination. The number of the vaccinees who had had no antibody against JE before the first shot and bled one month after the second vaccination was 70. The distribution patterns of the neutralizing antibody titers of the third bleeding specimens against E-50 and JaGAR-01 strains appeared to be similar but the distribution pattern of the titers against the Nakayama strain revealed to be apparently shifted to the higher titers than those of the formers. The geometric mean titers (GMT) of the neutralizing antibody titers against E-50 and JaGAR-01 strains were 1.7 and 1.9 in logarithm, respectively, and the GMT against Nakayama strain was 2.9.

The number of the vaccinees who were bled for all three times were 27. Most of them showed considerably high immune response after the first vaccination and only one failed to show the seroconversion against the Nakayama strain. However, the antibody response to the E-50 strain after the first vaccination appeared to be rather low and 9 of 29 children did not show the seroconversion. Against the JaGAR-01 strain, 3 of 27 children failed to show the seroconversion. The results indicate that two shots, at least, of the current vaccine is necessary to provoke the effective immune responses to the wild strains of JE virus for the initial immunization.

A neutralizing antibody titer of 1:10 that is 1.0 in logarithm, is considered to be effective to prevent JE virus infection. Therefore, the results mentioned above indicate that the current vaccine is effective not only against the homologous Nakayama strain but also against the wild strains of JE viruses.

12 ECOLOGY OF ENTEROVIRUS IN TROPICAL AFRICA

III. INTRATYPIC ANTIGENIC DIFFERENCES OF POLIOVIRUSES

SINROKU OTATSUME

Department of Bacteriology, Fukushima Medical School

Neutralizing kinetics of polioviruses isolated in West Africa was tested using McBride method.

Neutralizing coefficients of type 1 polioviruses differed from the virulent standard strain, Mahoney strain. Therefore, those isolates were decided as heterologous. Meanwhile, most of type 2 seemed to be intermediate, and type 3 were found to be homologous.

**13 ON BIONOMICS OF *Aedes aegypti* AND *Aedes albopictus*
WITH THE DATA ON THE VIRUS ISOLATION
IN JAKARTA, INDONESIA**

TSUTOMU ODA¹, AKIRA IGARASHI², SUSUMU HOTTA³, S. DJAKARIA⁴
AND R. HOEDOJO⁴

Department of Medical Zoology, Nagasaki University School of Medicine¹, Department of Virology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University², International Center for Medical Research, Kobe University School of Medicine³ and Department of Parasitology, School of Medicine, University of Indonesia⁴

Dengue fever in Southeast Asia is generally transmitted by *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. To know the habitat and distribution of these mosquitoes, collections were made in certain areas of Jakarta City for about one month from the middle of January 1982. In addition, isolation of viruses was attempted from the collected females of *aegypti* and *albopictus* by inoculation to *albopictus* clone C6/36 cells. A small number of *aegypti* females were caught indoors, but they were scarcely found outdoors. The immature stages of this species were also found more abundantly inside of houses than outside. The important breeding places for *aegypti* were artificial container such as bak mandi or glass flower vases indoors, and tins and earthen jars outdoors. On the other hand, many immature stages and adults of *albopictus* were usually collected only outside of houses. Their major breeding sites were small artificial containers such as tins.

Dengue virus of type 1 and unknown virus were isolated from *aegypti* and *albopictus*, respectively. The results of this investigation showed that *Ae. aegypti* is the principal vector of dengue fever, but it is probable that *Ae. albopictus* females also transmits this disease in Jakarta, as they are commonly found.

**14 TOXOPLASMA ANTIBODY MEASUREMENT BY
IgG-ELISA AND A STUDY OF TOXOPLASMA
SPECIFIC IgM MEASUREMENT**

TERUYUKI MIYAZAKI, KENJI TSUCHIHASHI, HIROSHI SUZUKI,
HITOMI NAKASHIMA AND KEIZO MATSUMOTO

Department of Internal Medicine, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

Toxoplasma antibody measured by IgG-ELISA was compared with that of the Dye test and IHA. We chose 70 sera which distributed evenly in every titer of the Dye test. Thus we examined samples by ELISA and IHA. We used the Toxolisa Test Kit manufactured by M. A. Bioproducts in order to perform ELISA and Toxo HA-KW manufactured by Kyowa Product in order to perform IHA. The

results showed that ELISA was the same as the Dye test and better than IHA in sensitivity at low titers. Also ELISA was superior to IHA in detecting antibody titer change. But we had to dilute serum in high titer range in ELISA, because the antibody titer according to ELISA didn't rise in accordance with that shown by IHA.

In order to detect *Toxoplasma* IgM we used the IHA method after treating the serum with Protein A. In this way we found 11 samples which probably had *Toxoplasma* IgM. These Protein A treated samples showed no IgG in the Hyland Laser Nephelometer. But with the sucrose gradient method we detected *Toxoplasma* antibody with IHA in the IgG fractions. Therefore we supposed that rise of the IHA titer with Protein A treated serum was caused by a little remainder of IgG or by a nonspecific reaction.

15 A CLINICO-IMMUNOLOGICAL STUDY OF THE RELATIONSHIP BETWEEN FILARIAL CHYLURIA AND TOXOPLASMOSIS

TOSHIAKI YOSHIDA, MASASHI YAMAMOTO AND KEIZO MATSUMOTO

Department of Internal Medicine, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

We have studied clinico-immunological relationship between hypercellular immunity and toxoplasma infection in filarial chyluria. *Toxoplasma* antibody was measured by the IHA method in 36 cases with filarial chyluria.

Toxoplasma antibody titer was positive in 38.9% of these cases. The positive rate of toxoplasma antibody in these cases was significantly higher than in cancer and pregnancy. In chyluria patients whose toxoplasma antibody titer was positive, the number of lymphocytes and T cells, as well as lymphocyte blastformation was significantly reduced, but there was not a significant difference on the PPD and PHA skin tests. Overlapping of markers (Lymphocyte, T cell, Lymphocyte blastformation) resulted in an increase of toxoplasma infection.

Therefore, these results suggest that hypocellular immunity in filarial chyluria results in toxoplasma infection.

**16 *Brugia pahangi*: ANTIBODY RESPONSES TO ADULT
WORMS AND MICROFILARIAL ANTIGENS IN MONGOLIAN
JIRDS AND HUMAN CASES AS MEASURED BY THE
ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY**

MASAHIDE TOMISATO¹, YASUO NAKAZIMA² AND SADA0 NOGAMI³

Department of Medical Zoology, Faculty of Medicine, Tokyo Medical and Dental
University¹, Department of Parasitology, Yamanashi Medical College² and
Department of Parasitology, Institute of Medical Science, The
University of Tokyo³

The antibody (IgG) of the serum from jirds infected with *B. pahangi* or human cases of various parasitosis was detected by ELISA using crude extracts of adult worms (Ad) or microfilariae (Mf) of *B. pahangi* recovered from the peritoneal cavity of jirds as antigen. 1) All jirds younger than 30 months had the antibodies against Ad and Mf antigens for 6–24 months after an inoculation of *B. pahangi*. No significant difference of antibody titers between anti-Ad and anti-Mf was observed. A small part of jirds older than 30 months with Ad and Mf had no antibody detected by ELISA because of a emaciation due to chronic infection of parasites. 2) Although the titers of anti-Ad antibodies were parallel to those of anti-Mf antibodies in jirds, after the absorption by the male adult worms extracts, the titer of anti-Ad became a sixteenth, and the titer of anti-Mf became a third. It indicates the possibility that there is a part of Mf antigens different from Ad antigens in point of antigenic determinants. 3) There was no significant difference of antibody titers among the groups of jirds divided by the numbers of worms recovered. And no differences of antibody titers against Mf between microfilaremic and amicrofilaremic jirds was observed. 4) The comparison between subcutaneous and intraperitoneal inoculations indicated no difference of antibody responses between them. 5) The transient decrease of antibody titers in the course of infection by an intraperitoneal inoculation occurred just after the first Mf appearance in the peritoneal cavity of jirds, it seems to be caused by antibody consumptions. 6) The sera from the human cases infected with *W. bancrofti*, *Loa loa* or *Gnathostoma spinigerum* had antibodies cross-reacting against Ad and Mf antigens of *B. pahangi*. The serum of the patients infected with *Schistosoma japonicum* was weakly positive. In these positive cases, the titers of anti-Ad antibody were higher than those of anti-Mf antibody except the cases of *W. bancrofti* with microfilaremia. The patients with *Anisakis* (Type 1), *Strongyloides stercoralis*, *Entamoeba histolytica* or *Echinococcus multilocularis* had no antibody cross-reacting by ELISA.

17 *IN SITU* MICROFLUOROMETRY OF K-DNA AND N-DNA IN *Trypanosoma* (IV)

SHOZO INOKI¹, HUMIO OSAKI² AND MASATO FURUYA³

Department of Parasitology, Nara Medical University¹, Kochi Medical School²
and Department of Parasitology, School of Medicine,
The University of Tokushima³

Utilizing the half dry method and the photon counter for cell fluorescence, Inoki and his associates first revealed that 40 mg/kg nifurtimox (Lampit®) caused no break damage to either K-DNA or N-DNA in each bloodstream form (trypomastigote) of *T. cruzi*.

In this study, similar experiment was attempted in order to determine if an increased dose of nifurtimox, 80 mg/kg, would effect on the DNAs but this observation also failed in showing the strand break in DNA, although it was a sufficient dosage to save the fatally infected mice from their death. Further studies are needed to reach the final conclusion.

18 EFFECT OF FLUBENDAZOLE ON *Angiostrongylus cantonensis* IN MICE AND RATS

JUN MAKI AND TOSHIO YANAGISAWA

Department of Parasitology, Kitasato University School of Medicine

Angiostrongylus cantonensis, a nematode parasitic in the pulmonary artery and heart of wild rats, has been recognized as a causative agent of eosinophilic meningoencephalitis in Japan as well as Formosa, Southeast Asia and some Pacific islands (Alicata, 1965, Adv. Parasit, 3, 223-248; Yii, 1976, Jap. J. Parasit., 25 (Suppl.), 26; Kojima *et al.*, 1979, Amer. J. Trop. Med. Hyg., 28,36-41). In spite of the medical importance of this nematode and many attempts to search for suitable chemotherapeutic agents, no results have been obtained until now without leaving anything to be desired. In the present studies, mice and rats experimentally infected with *A. cantonensis* have successfully treated with flubendazole (Fb).

Fifty 3rd-stage larvae isolated from experimentally infected *Biomphalaria glabrata* by peptic digestion (1% pepsin/1% HCl) for 3 h at 37°C were given orally with the aid of a stomach tube to each mouse (ddY or ICR strain) or rat (Wistar). The infected mice and rats were divided into experimental and control groups of 4 to 7 mice or rats. These animals were orally given flubendazole suspended in 1% Tween 80 (W/V) at the dose of 5, 10, 50 and 100 mg/kg/day for 3 consecutive days (5-7, 10-12 or 15-17 days post-infection) or 6 consecutive days (5-10 days post-infection). In some experiments, thiabendazole or mebendazole was additionally examined for

comparison. The control mice were given 1% Tween 80 alone. The brains removed from the crania of mice killed by cervical dislocation and lungs and hearts from rats were closely scrutinized for the larvae under a dissecting microscope usually 4–6 days after the termination of drug administration (mice) or 60–63 days post-infection (rats). In the prophylactic study, oral administration of Fb at the dose of 50 mg/kg/day was made for 3 days before infection. The necropsy was performed 13–15 days post-infection.

Results obtained in mice were as follows. Fb, given 5–10 days post-infection, has been found to have high anthelmintic efficacy on larval *A. cantonensis* even when the dose is as low as 5 mg/kg/day for 6 consecutive days. Several larvae have been found moving in or on the brain of the control mice and the mice treated with thiabendazole at the dose of 10 mg/kg/day for 6 consecutive days, while no larvae have been found in the brain of the mice medicated with Fb. Fb given 5–7 or 10–12 days post-infection (10 mg/kg/day) has also been found to have high anthelmintic efficacy on larval *A. cantonensis*. The effect of mebendazole given 5–7 days post-infection at the dose of 10 mg/kg/day on the larvae has been comparable to that of Fb. However, no difference between the worm recovery of the experimental and control group has been recognized, when Fb is given 15–17 days post-infection at the dose of 10 mg/kg/day. No prophylactic effect of Fb on the infection of mice with *A. cantonensis* has been found so far as the present experiment is concerned.

Results obtained in rats were as follows. Fb and mebendazole, given 5–7 days post-infection, have been found to show complete anthelmintic efficacy at the dose of 10 mg/kg/day for 3 days. Fairly high anthelmintic efficacy (worm reduction was 74%) was seen in the rats treated with Fb at the dose of 10 mg/kg/day 15–17 days post-infection. Fb was given also to rats 35–37 or 47–49 days post-infection at the dose of 10 mg/kg/day. In these groups, however, no efficacy was seen.

In conclusion, Fb was found to be effective in the treatment of *A. cantonensis* in mice and rats, when it was administered to these animals within 15 days post-infection. The LD₅₀ of Fb in acute toxicity tests has been more than 2,560 mg/kg in albino mice (Thienpont *et al.*, 1978, *Arzm. -Forsch.*, 28, 605–612). And no side effects with respect to blood pictures, liver function tests and other clinical symptoms have been found in adult Southeast Asian refugees in Japan infected with *Trichuris trichiura* and given Fb at the dose of 1.5 g/day for 5 days (Tateno *et al.*, 1981, *Jap. J. Parasit.*, 30, 485–496). Therefore, Fb is probably a drug of great potential utility in the treatment of human angiostrongyliasis.

19 BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE EGG EXTRACT OF *Schistosoma japonicum* ON LYMPHOCYTES

AKIRA ISHII¹, CHIEKO KAWAGOE¹, TOSHIKO YATANI¹
AND KOZO ASHIZAWA²

Department of Parasitology, Miyazaki Medical College¹ and Department of
Veterinary Pathology, University of Miyazaki²

Lymphocyte blastogenesis was examined in BALB/c mice infected with 30 cercariae of *Schistosoma japonicum*. Spleen cells and mesenteric lymph node (LN) cells were exposed to antigens or mitogens after 7–14 weeks of infection. Uptake of ³H-thymidine by the spleen cells occurred in the order of stimulants; egg antigen (SEA-Sj), conA, adult worm antigen (adult-Sj) and egg antigen of *S. mansoni* (SEA-Sm). That of by LN cells was in the order of conA, adult-Sj, SEA-Sj and others. The reaction was stronger in CBA/J mice with *S. japonicum* infection. The order for spleen cells were SEA-Sj, adult-Sj, SEA-Sm, conA and mite antigen. The order for LN cells were conA, SEA-Sj, and mite antigen. BALB/c mice infected with *Schistosoma mansoni* showed lesser reaction values. Pathological findings were compared in T-cell deficient BALB/c nude mice infected with 30 cercariae of *S. japonicum* with that of normal BALB/c mice after 10 weeks of infection. Granuloma size in the liver was smaller (198 μ m in average) than normal mice (320 μ m). Cellular reactions and fibrosis were weak and eosinophil was rare. However, necrotic finding in the parenchymal cells was rather conspicuous. Findings in the intestinal egg granuloma were the same as above and necrotic change in the inner layer was conspicuous. Colony forming activity of the bone marrow cells was stimulated by the supernatant fluid of spleen cells and the egg antigen, but the activity was not induced by the egg antigen itself. These biological activities are reported as the results of interaction between the lymphocytes and the egg extract of *S. japonicum*.

20 IMMUNOELECTROPHORETIC ANALYSIS OF TOXOPLASMA ANTIGENS BY USING MOUSE SERA OF EXPERIMENTAL TOXOPLASMOSIS

KENYICHI YANO AND TOSHIO NAKABAYASHI

Department of Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University

Antigens of *Toxoplasma gondii* (Toxo) have been investigated in mouse experimental toxoplasmosis with anti-Toxo sera obtained from mice infected with Toxo, RH strain (virulent) and S-273 strain (low virulent).

Anti-Toxo-S was obtained from mice infected with S-273 strain after 4 weeks. Anti-Toxo-R was got after 4 weeks from mice which had been primarily infected with

Toxo S-273 strain, and then 4 weeks later, RH strain.

These mouse anti-Toxo sera did not precipitate reactive mouse substances which were produced in ascites by stimulation of Toxoplasma infection.

Anti-Toxo-S was 1: 512 as the titer of latex agglutination test (LAT) and anti-Toxo-R was 1: 16,384.

Anti-Toxo-S and anti-Toxo-R precipitated No. 2, 4, 5, 6, 7 and 9 antigen, and recognized the same toxoplasma antigens contrary to their different virulence. The mice from which anti-Toxo-R was obtained could resist to the rechallenge of Toxo, RH strain (10^7 /mouse). Anti-Toxo-R produced a wholly fused line near trough, and would probably react to the carbohydrate part of Toxoplasma antigens and be significant for toxocidal state of mice.

21. POSSIBILITY OF THE VERTICAL TRANSMISSION TO FETUSES IN MICE INFECTED WITH *Babesia rodhaini*

HIROAKI TAKAHASHI AND NAOYOSHI SUZUKI

Department of Veterinary Physiology, Obihiro University

To examine the vertical transmission of *B. rodhaini* to fetuses from the acute or subchronical infected mothers, mice were inoculated with approximate 1×10^2 parasitized erythrocytes intraperitoneally. In general, all mice died within 2 weeks after inoculation. Parasite isolation from infants was made by inoculating pooled material consisting of the infant organs into mice intraperitoneally and by examining parasitemia and mortality in these mice thereafter. In results, neither parasite was isolated nor mouse was died in all cases. In cosequence, the authors presumed that the vertical transmission of *B. rodhaini* might not be found in mice.

22. EFFECTS OF CULTIVATING CONDITIONS ON THE LIPID COMPOSITIONS OF *Trypanosoma cruzi*

YOSHIMASA KANEDA, KOICHI NAGAKURA, HIROSHI TACHIBANA
AND TOYO GOHTSU

Department of Parasitology, School of Medicine, Tokai University

Very few studies have been done so far on the lipid metabolism of *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). We have investigated the influences of cultivating conditions on lipid composition of *T. cruzi*. Lipids were extracted according to the method of Folch *et al.* (1957). The separation of neutral and phospholipids in the total extracted lipid was accomplished by thin-layer chromatography. The individual fractions of

neutral and phospholipids were removed from the appreciate areas of the plates and estimated by the method of dichromate reagent or phosphorus determinants, respectively. The percentage distribution of neutral and phospholipids fractions was observed throughout the growth of *T. cruzi* in Liver-Infusion-Tryptose medium. The results show the similarity in percentage distribution of neutral lipids throughout the growth, being sterol-ester, triglyceride and sterol the three major components. Free fatty acids and diglyceride are detected in minor amounts in the exponential and stationary growth phases. The distribution of phospholipids showed similar pattern during the growth of culture.

In order to determine the influence of long chain fatty acids of the environment on lipid composition of the organisms, *T. cruzi* cultured in basal medium supplmented stearic, palmitic and linoleic acids in place of calf serum, hemoglobin and liver infusion. In this case, the percentual distribution of neutral and phospholipids did not vary significantly. Next, the composition of fatty acids of total lipid from the organisms was checked by gas-liquid chromatography. It was observed that the ratio of 18:2 which was the major component in total lipids from the cultures in stearic and palmitic acids, decreased as compared with the cultures in defatted albumin, linoleic acid and LIT medium. These differences in the ratio of fatty acids may be related to the metabolic functions of the parasites.

23 FURTHER ANALYSES OF HEALTH STATUS OF INDO-CHINA REFUGEES IN YAMATO REFUGEE CENTER, KANAGAWA PREF., JAPAN

NAOHITO YAMAGUCHI¹, KEIZO ASAMI², TSUTOMU TAKEUCHI²,
SEIKI KOBAYASHI², SACHIO MIURA², KOJI KAWAMURA²
AND SEIKI TATENO³

Department of Public Health, School of Medicine, Keio University¹, Department of
Parasitology, School of Medicine, Keio University² and Yamato City Hospital³

Since the Refugee center was opened in 1980, more than 1,000 refugees have entered Japan to settle in this country. Our previous health examination of these immigrants at Yamato City Hospital have demonstrated numerous problems with regard to their health status. In particular, parasitic infections seemed most important. More than 75% of the immigrants were found to be infected with at least one species of intestinal parasites. Among the parasites detected, hookworms, *Opisthorchis viverrini* and *Trichuris trichiura* exhibited high prevalence rates. In the present study, a relationship between hookworm infection and anemia, the major complication of the infection, was investigated. Our statistical analyses indicated that Hb content and hematocrit were significantly lower with the immigrants infected with hookworms. It was also demonstrated that infection with hookworms, *Strongyloides stercoralis*, *Hymenolepis nana* and *Rhabditis* sp. resulted in the higher prevalence of eosinophilia. In regards to liver function tests, we have found many immigrants with abnormally

high serum alkaline phosphatase (ALP) activity. Since we have not analyzed isoenzymes of ALP, it is not known what contributed to the increment of activity. At present, however, our principal component analysis and multiple regression analysis suggested that approximately 75% of the increment of ALP activity was attributable to the isoenzyme from liver. Moreover, because many Cambodian immigrants, who only exhibited significant increment of serum ALP activity, were found, we feel that further characterization of the increment of this enzyme appears to be needed. We are currently analyzing other data in more detail and trying to improve our system of health examination of Indo-China refugees.

This study was partially supported by the research grant from the Toyota Foundation.

24 HEALTH STATUS OF INDO-CHINA REFUGEES AS EXAMINED AFTER THEIR SETTLEMENT IN JAPAN

SEIKI TATENO¹, TSUTOMU TAKEUCHI², SEIKI KOBAYASHI²,
SACHIO MIURA², KOJI KAWAMURA², KEIZO ASAMI²
AND NAOHITO YAMAGUCHI³

Yamato City Hospital¹, Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University²
and Department of Public Health, School of Medicine, Keio University³

Approximately 2 years have passed since the Japanese Government constructed and opened Yamato Refugee Center in Yamato City, Kanagawa Prefecture. Up to the end of this March, 423 immigrants (male: 230; female: 193) have finished their courses in the Center, and started their settlement in Japan. In order to know health status of the immigrants after settlement in various areas of Japan, we have sent questionnaires to employers of the immigrants, and collected blood and stool from them. The questionnaire was written in their mother languages, and was composed of 78 questions with regard to status of daily life and health. In a few months, more than 70% of the immigrants replied. Subsequent analyses of these replies indicated that 64.8% of them had consulted with doctors due to common cold, abdominal pain, tooth ache and trauma. The frequency of consultation with doctors was significantly lower with Laotian immigrants and those of 10–19 years of age. Approximately 55% of the immigrants complained of repeated common cold, and 40% had shoulder stiffness, dizziness and tooth ache. The prevalence rate of intestinal parasites decreased to 51.6%. However, that of *Opisthorchis viverrini* was found to be still high, which made the prevalence rate of Laotian immigrants significantly higher than those of other immigrants of different nationalities, although the number of eggs of this trematode in stool was lowered by treatment with Flubendazole. Prevalence of anemia was also lowered as judged from HB content and hematocrit. This was more evident with female than with male.

This study was supported by the research grant from the Toyota Foundation.

25 DISEASES OF THE JAPANESE WHO STAY LONG IN THE TROPICS

HIROSHI OHARA¹, SHOKICHI TANI¹, ISAO EBISAWA², MASAHISA OHRI³
AND MITSUYO OMOTE⁴

Department of Medical Zoology, Kanazawa Medical University¹, Department of Public
Health, Toho University School of Medicine², Department of Infectious
Disease, Institute of Medical Science, The University of
Tokyo³ and Headquarters of the Japan
Overseas Cooperation Volunteers⁴

Major diseases and laboratory findings of the 1,469 members of the Japan Overseas Cooperation Volunteers were studied.

Among major diseases reported to the head office, malaria (101 cases), acute hepatitis (94 cases), traffic accidents (71 cases) and chronic diarrhea (59 cases) ranked high. As to malaria, there seemed to be many unreported cases, detailed study was carried out and revealed that the incidence was within the range of 35.5–65.7% in tropical Africa. Some suffered from malaria in spite of regular preventive ingestion of pyrimethamine-sulfamonomethoxine mixture. Venereal diseases and mental diseases were reported 15 and 12 cases respectively, but actual incidence is estimated much higher.

Among the results of laboratory findings in the returned volunteers, positive cases of parasite infection (30.7%), eosinophilia (5.9%), abnormal hepatic function (5.4%) showed high incidence.

It is important for the Japanese who stay long in the tropics to take precautions against traffic accidents, mental diseases, venereal diseases and hepatitis as well as diseases which are prevalent in the tropics.

26 THE PARASITOLOGICAL INFECTION OF JAPANESE INHABITING IN INDONESIA AND THE POLLUTION OF THE DRINKING WATER

KOICHIRO FUJITA¹, SETSUKO TSUKIDATE¹, KENJI KUROKAWA¹,
YOSHIYUKI OKUWAKI², MASATOSHI SUGIYAMA³
AND TAKEO ASAKURA⁴

Department of Medical Zoology, Nagasaki University School of Medicine¹, Department of
Microbiology, Kagawa Nutrition College², Department of Hygiene,
Juntendo University School of Medicine³ and Japan
Association for Tropical Medicine⁴

In the previous meeting of this society, we have clearly demonstrated the signifi-

cant relationship between the infection rate of intestinal parasites among Japanese living in the tropical countries and the rate of the drinking water containing 10^2 or more/ml of coliform ($\gamma=0.957$). In this meeting, we will show the time course changes of the infection rate of intestinal helminths among Japanese living in Indonesia as well as the rate of the drinking water polluted by fecal matters from 1978 to 1982.

Infection rate of parasitosis among Japanese living in Indonesia in 1978 was 8.0%. The infection rate of *Enterovius vermicularis* showed also 8.3%. Those who were infected with helminths were given 10 mg/kg of Combantrin®, and the rate was studied revealing the value as low as 4.8%, in the next year but recently the value gradually increased to 6.1% in 1982, except the rate of *E. vermicularis*. The infection rate of the *E. vermicularis* was 7.7% in 1979, 20.0% in 1980, 14% in 1981 and 18.9% in 1982, although the treatment was carried out exactly the same every year. The infection rate of *Ascaris lumbricoides* gradually decreased, but that of *Trichuris trichiura* increased.

On the other hand, the drinking water was also studied in Indonesia during 1978 to 1982. High proportion of samples appeared to be polluted by fecal matters throughout these periods. The water samples which Japanese infected with these helminths used in actually in Indonesia were picked up, and the degree of the pollution of these samples was studied. The drinking water used by these infected person was proved to be polluted in relatively higher proportion than the control water samples used by whole Japanese in Indonesia.

27 SURVEY ON THE INTESTINAL HELMINTHS INFECTIONS IN INDONESIA; NORTH SUMATRA, ASAHAN AREAS

JUN-ICHI IMAI¹ AND O. SIMANJUNTAK²

Department of Parasitology, Miyazaki Medical College¹ and Provincial
Health Service of North Sumatra, Indonesia²

Parasitological surveys were conducted to study the trend of intestinal helminths infections in rural areas of North Sumatra, Indonesia during the period from October to December, 1981. The stool examination on 977 fecal specimens collected from the inhabitants of three villages showed that 85.4% were positive for *Ascaris lumbricoides*, 93.0% for *Trichuris trichiura*, 83.5% for hookworm, and *Strongyloides stercoralis*, *Trichostrongylus orientalis*, *Rhabditis* sp. and *Hymenolepis nana* were also detected, but their prevalence was less than 4.8% in total. The overall prevalence rate of the two kinds of hookworm infections were 53.6% for *Ancylostoma duodenale* and 63.3% for *Necator americanus*. The dominancy of the two hookworms have shown a remarkable difference among the three villages, though the prevalence rate of the hookworm egg carriers were almost the same in every village.

Some mass treatment trials were carried out to determine the relative efficacy

of mass chemotherapy with the drugs of pyrantel pamoate (Combantrin, Pfizer) and a combination of mebendazole 150 mg and pyrantel pamoate 100 mg (Trivexan, Mecosin).

Combantrin had an efficacy of 91.5–94.0% estimated by negative conversion rate (n. c. rate) in standard dosage against ascaris worms and hookworms, while Trivexan showed an efficacy of 98.4–99.2% by n. c. rate in the dosage of one tablet/day for 3 consecutive days, irrespective of age and body weight, and this drug was also very effective against trichuris worms with cure rate of 64.7%.

Average hemoglobin values in the blood obtained from rural inhabitants were 9.9 g/dl in 2 to 6-year-old children, 11.2 g/dl in 7 to 14-year-old children, 13.2 g/dl in adult men and 11.7 g/dl in adult women over 15 years of age. These values were on low levels in comparison with normal values of individuals living in the city of North Sumatra. Therefore, the incidence of anemia was very high as 69.4%, 69.4%, 38.6% and 64.4%, respectively in each age groups mentioned above.

In the present study, the difference of anemia or average hemoglobin levels between hookworm carriers and uninfected groups could not be observed clearly among these high endemic areas of the hookworm infection.

28 SURVEY ON THE PARASITIC INFECTIONS IN THE REPUBLIC OF CENTRAL AFRICA (RESULTS IN SEP.-OCT., 1981)

MORIYASU TSUJI¹, SADA0 NOGAMI², NORIAKI HATAMOTO³,
MITSUYOSHI KUMADA⁴, KEIKO KATO⁴ AND
SHIGEO HAYASHI⁴

Department of Parasitology, School of Medicine, Hiroshima University¹, Department of
Parasitology, Institute of Medical Science, The University of Tokyo²,
Department of Public Health, Hiroshima Prefecture³ and
Department of Parasitology, National Institute
of Health, Tokyo⁴

The seventh systematic survey on the parasitic infections in the Republic of Central Africa was conducted in two areas; Bangui, Capital City and Bouar, a local town in rural district; during the period from Sept. to Oct. in 1981. In total 303 inhabitants were subjected to fecal examinations for helminthic and intestinal protozoan infections, urine examination for haematobian schistosome ova, blood examination for malaria parasites and for filarial microfilariae and skin biopsies for onchocercal microfilariae. Seventeen parasites were detected including 10 helminths and 7 protozoa. Eighty seven per cent of the examinees was found infected with at least one parasite and the majority of them showed combined infections by more than two kinds of parasites. Remarkably high prevalence was noted with *Necator americanus* in 34.3%, *Schistosoma mansoni* in 19.3%, *Entamoeba histolytica* 15.6%, *E. coli*

19.9%, *Endolimax nana* 27.5%, *Plasmodium falciparum* 11.4%, *Pl. malariae* 6.0%, *Dipetalonema perstans* 14.4%, *Loa loa* 7.4% and *Onchocerca volvulus* 25.7%. No remarkable differences in the status of parasitic infections were observed between the Capital City area and the rural area except for that the infection of *S. haematobium* was as high as 14.6% in the urban area.

The epidemiological features were analyzed in more detail with the intestinal protozoan infections. It was indicated that the infections of *Ent. histolytica*, *Ent. coli*, *End. nana* and *Iodamoeba bütschlii* were statistically significantly associated with each other, but the infection of *Giardia lamblia* seemed to be independent from the other infections. This was confirmed not due to the difference in the way of getting infections but the difference in the age distributions of the infections. In contrast to other intestinal protozoan infections *Giardia* infection showed the highest peak in the age group of below 10 and decreased rapidly and constantly according to the increase of age. This might suggest that the protective immunity could be produced more easily against *Giardia* than against others.

29 ON THE OCCURRENCE OF *Angiostrongylus cantonensis* IN THE BROWN RAT (*Rattus norvegicus*) IN NAGOYA CITY

KIYOSHI MAKIYA¹ AND KAZUO ONITAKE²

Department of Medical Zoology, Nagoya University School of Medicine¹ and
Biological Laboratory, Nagoya University College of Medical Technology²

The lung worm of the rat, *Angiostrongylus cantonensis*, is known to be widely distributed in many islands of the Pacific Ocean and nearby areas, and has been recognized as a major cause of eosinophilic meningoencephalitis. In Japan, the worms were reported from the house rats captured in Ryukyu Islands (Iriomote-jima: Nishimura *et al.*, 1964; Okinawa-, Miyako- and Ishigaki-jima: Nishimura *et al.*, 1966), Eastern Japan (Yokohama and Kawasaki: Hori *et al.*, 1969; Tokyo: Uchida *et al.*, 1982), Bonin Islands (Hori *et al.*, 1973) and Northern Japan (Sapporo: Ohbayashi *et al.*, 1968; Okushiri-jima, Esashi-cho: Hattori *et al.*, 1981, 1982; Seikan Undersea Tunnel: Takada *et al.*, 1982). However, no report was made on the occurrence of the lung worms from the western parts of Japan.

The present report outlines the occurrence of 4 nematodes (3 males and 1 female) which were found from the lung of a brown rat in Nagoya City. The body length of male worms ranges from 23.4 to 23.9 mm, maximum body width 0.35 to 0.37, oesophagus length 0.29 to 0.33 and spicule length 1.21 to 1.22. The copulatory bursa develops well and 6 pairs of rays are recognized.

Observation by scanning electron microscopy showed the existence of two pairs of papilla-like structures which lied on the outer surface of the bursa at the tip of the anterolateral and externodorsal rays.

In female worm (cut apart into two pieces), body length is about 42 mm,

maximum body width 0.58, oesophagus length 0.36, vulva to tail-end distance 0.25 and anus to tail-end distance 0.05. The female has many eggs ($64.3 \times 37.5 \mu$ on average) in the uterus and a characteristic spiral intestine.

A number of the first-stage larvae (0.26 mm long) were found in the feces of the rat.

Judging from these results, the worms were identified as *Angiostrongylus cantonensis*.

The rat was captured in a residential quarter of Meito-ku, Nagoya City in February 1982, and it was an adult female measuring 21.3 cm (head and body length) and weighing 170 g. This residential area is on a hill about 14 km northeast of the sea port. At present, the third-stage larvae have not yet been detected from the possible intermediate snail and slug hosts in this area.

30 THE PRESENT SITUATION OF IMPORTED MALARIA IN JAPAN IN 1972-1981

HIROSHI OHTOMO¹, ATSUMI HIOKI¹ AND TOSHIO NAKABAYASHI²

Department of Parasitology, Gifu University School of Medicine¹ and Department of Protozoology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University²

With the drastic increase in overseas travellers to the tropical and subtropical countries in recent years, the imported malaria cases have been increasing year after year. However, its actual situation has not been studied yet. Since 1972, we have tried to summarize the imported malaria cases by the questionnaire technique on malaria patients treated at 1,300 medical institutions in Japan. The number of malaria cases for ten years from 1972 to 1981, inclusive, was 646, average 65 per annum, ranging from 40 in 1972 to 90 in 1980. Geographically, infections in South Asia (including Oceania) were most comparable to those in Africa and in South America. *P. vivax* was responsible for 72.0 % of the patients infected in the South Asia countries and *P. falciparum* for 53.6 % of these infected in the African countries. All the fourteen patients infected with *P. ovale* were those infected in the African countries. On the other hand, it is known that a delay in diagnosis and the start of adequate treatment of *falciparum* malaria involves the risk of causing serious complications. The fourteen patients with *falciparum* malaria infection who have died and who are reported in the answers to the questionnaire suggest this fact. Other findings of the collected cases reported according to the items summarized.

31 A CASE OF MALARIA IN THE NEONATAL PERIOD

KWANG-MYONG KIM¹, YASUSHI UENOYAMA¹, TOMOHIDE YOSHIMURA¹,
TEIZO TOMISAWA¹ AND TOSHIO NAKABAYASHI²

Department of Pediatrics, Koga Hospital¹ and Department of Protozoology, Research
Institute for Microbial Diseases, Osaka University²

A case of malaria in a Vietnamese neonate is reported. Malaria in the neonatal period is extremely rare even in endemic areas and, so far as we know, this is the first case reported in Japan.

Patient's mother, who arrived at Japan from Vietnam in May 1981 as a refugee, suffered from relapses of vivax malaria and a threatening premature labor during her pregnancy. A female baby was delivered at full term with a birth weight 2,680 g on 12 August 1981, when her mother was in the course of malarial relapse. Except for an increased level of IgM (125 mg/dl) on the 13th day of age, she was apparently well till 18th day when she developed high fever. On the 20th day physical examination revealed remarkable hepatosplenomegaly, and peripheral smear demonstrated ring form trophozoites of *Plasmodium vivax*. Therapy was immediately started with Fansidar.

Symptoms and findings developed till about 22 days of age, and then improved gradually. Fever subsided in three days and recurred transiently at an interval of about 48 hours. Malarial parasites were seen in peripheral smears till 22 days of age. Physical examination and laboratory data on the 23rd day were as follows; Liver 3.5 cm, Spleen 3.5 cm (both below the costal margin), CRP (3+), RBC $254 \times 10^4/\text{mm}^3$, Hb 8.3 g/dl, Ht 24.0%, Platelet $5.6 \times 10^4/\text{mm}^3$, WBC $6,900/\text{mm}^3$ (Neutro. 55%, Lym. 39%), Reticulocyte 16%, GOT 157U, GPT 75U, LDH 940U, ALP 19.0U, Total Bilirubin 1.1 mg/dl, Renal function & Urinalysis; WNL.

In addition, IgM level on the 37th day of age was 220 mg/dl.

It was not likely to be infected postnatally in this case because several preventive measures of malarial infection had been performed. Congenital infection or infection during the birth process was probable, but it was not able to clarify which of them had been the mode of infection.

**32 A VIETNAMESE REFUGEE CASE OF AMEBIC LIVER
ABSCISS AND THE RESULTS OF SERAMEBEA®
TEST TO HIS ASSOCIATE**

HIROYUKI AMANO¹, TAKAFUMI TABATA², HIROSHI MORITA³
SHOZO INOKI³ AND TSUNEJI ARAKI³

Department of Overseas Medical Services, Tenri Hospital¹, Department of General
Surgery, Tenri Hospital² and Department of Parasitology,
Nara Medical University³

Recently, cases of amebic liver abscess have been sporadically reported and seem to be increasing in Japan. On these infectious source, one is apprehensive of second infection from the imported cases by international travellers and refugees as well as the problem of the Japanese native carriers.

We report a 34-year-old Vietnamese refugee male case of amebic liver abscess. He came to Japan in May 1981, and was admitted to our hospital in July 1981, suffering from fever and right lateral chest pain. Although *E. histolytica* was not demonstrated in his feces, the mass echo, 10 cm in diameter, in right lobe of liver was revealed by abdominal echography and the vegetative forms of *E. histolytica* were detected in the exhausted fluid by puncture of this abscess. Serameba® test was positive. He was discharged after complete cure by the treatment with Metronidazole (2 g/day × 10 days × 2 courses).

Serameba® tests were carried out on 32 cases (21 male, 11 female) of his associate and only one case (3.1%) was found to be positive. This positive case had fortunately no liver abscess and amebas in his feces.

**33 A SIMPLE METHOD OF AXENIZATION OF *Entamoeba*
histolytica FROM CYSTS, BY PASSING BACTERIA-
ASSOCIATED CULTURES**

SEIKI KOBAYASHI, TSUTOMU TAKEUCHI AND KEIZO ASAMI

Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University

A method for axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* was first established by Diamond in 1961. Also in the several laboratories, axenization of trophozoites of *E. histolytica* has been improved. But up to present, there have been no reports on the establishment of axenized *E. histolytica* from cysts in stools, bypassing bacteria-associated cultures. Accordingly, an attempt was done to axenize trophozoites of *E. histolytica*, bypassing bacteria-associated cultures.

Cysts of the parasite were enriched from a stool of an asymptomatic carrier by repeated centrifugation and density gradient centrifugation. After incubation

in 1% HCl solution for 15 min at the room temperature, isolated cysts were washed, transferred into 15 ml of BI-S-33 medium containing 2×10^8 epimastigotes of *Trypanosoma cruzi* with penicillin and streptomycin, and placed at 35.5°C. Two days after the transfer, a few actively motile trophozoites of amoeba were observed. Because the amoeba grew as rapidly as previously axenized *E. histolytica* (H-303: NIH) after 37 transfers in the monoxenic culture, we inoculated these amoebae into the same medium with no trypanosomes. Subsequent observation of the cultures over a period of 3 months suggested that the amoebae grew under axenic conditions. The axenized amoebae were identified as *E. histolytica* by immunofluorescence antibody and gel diffusion precipitin tests. Our procedure may significantly simplify axenization of *E. histolytica* from cysts.

34 INFECTIOUS DISEASES IN BURMA I. GEOGRAPHICAL AND CLIMATIC CONDITIONS, AND MALARIA

ISAO EBISAWA

Department of Public Health, Toho University School of Medicine

The official name of Burma is The Socialist Republic of the Union of Burma. It is located between 18–28°N and 92–102°E, hilly in the north, and faces the Indian Ocean in the south. Politically it is divided into 7 States and 7 Divisions. Climatic observation spots are located in 19 places in the country. Maximal and minimal temperatures and the rainfall during the 5 years of 1963, 1973–1976 in Burma, and those parameters in Japan during the 30 years from 1951 to 1980 are compared. The average values are mentioned in the following. The maximal and minimal temperatures in Rangoon are 32 and 22°C. Similar values are found in the areas which are faced to, or near to the Indian Ocean. However, the max. and min. temperatures in the areas in the northern hilly or plateau regions are max. 22.6 and min. 14°C. These values are similar to those in Kagoshima. The rainfall in Tavoy (5,900 mm) and Rangoon (2,900 mm) is heavy in the southern parts and mild in the north such as Pakokku (900 mm). However, as the rainfall is usually limited to the months of May to September, the per day rainfall must be very heavy in the southern parts of the country.

The medical care is usually nationalized and is free of charge. The hospital manager is requested to report monthly every diseases they treat, although this request is not always completely met with. However, the report from the Ministry of Health, based on the monthly reports, nevertheless indicate general trend of diseases in that country.

The number of patients and fatal cases of malaria in 1,978 was 10,891 and 2,208. Malaria occupies the first or second place among the leading causes of admission to the hospital in most States/Divisions. The morbidity of malaria per 10^5 population is 333. It is usually high in reverse relation to the population density per square km. The morbidity is highest in the 15 to 24-year-old group, and the mortality is highest

in the 25 to 34-year-old group. The seasonal variation differs from place to place. It is more prevalent in June-October in some areas, in March-June in some, and almost equal during the year in some areas. *P. falciparum*: *P. vivax* ratio is 3: 1. The slide-positivity rates range from 6% to 3% in an average. Chloroquine-resistant *P. falciparum* malaria was reported from 13 places in 1974 and is considered to be expanding in its prevalence.

35 MICROBIOLOGICAL STUDIES OF DRINKING WATERS IN INDONESIA

YOSHIYUKI OKUWAKI¹, HISAE YANAI¹, KYOKO YUTAKA¹,
KOICHIRO FUJITA², SETSUKO TSUKIDATE², MASATOSHI SUGIYAMA³
AND TAKEO ASAKURA⁴

Department of Microbiology, Kagawa Nutrition College¹, Department of Medical Zoology,
Nagasaki University School of Medicine², Department of Hygiene, Juntendo Uni-
versity School of Medicine³ and Japan Association for Tropical Medicine⁴

We have continued the examination of drinking water in Indonesia for 14 years. This time, we report the results of Gram positive cocci in the drinking water in Indonesia.

During the period from July to August 1981 in Jakarta, and other main cities of Java, Kalimantan and Sulawesi, we collected samples. Each samples of 0.2 ml was dropped into the transport medium which we have modified. After coming back to Japan, these were cultivated with Horse blood agar, Phenylethyl alcohol agar, Mannitol salt agar and others. The isolated colonies were identified.

Bacteriological examination revealed that *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus faecalis* were isolated frequently. However, isolation of Gram positive cocci in the drinking water in Indonesia was not successful.

36 AN EPIDEMIOLOGICAL ASPECT OF *Vibrio cholerae* AND MENINGITIS IN REPUBLIC OF MALAWI

YUHKO KAZUMI¹ AND SHINKICHI AKAO²

Ageo Central Hospital, Japan Overseas Cooperation Volunteers¹ and
National Defense Medical College²

Surveys were carried out during the period from December 1979 to August 1981 in Malawi. A total number 6,309 specimens were examined, *Vibrio cholerae* were detected in 1,453 of them. *Vibrio cholerae* in Malawi invaded from Mozambique was due to bio-type El-tor and sero-type Inaba, but the disease has become less and endemic.

However, it has shown upward trend during December 1979 to May 1980. In November 1980 to April 1981, *Vibrio cholerae* was found in 184. The ratio of Inaba type was 95%, and that of Ogawa type was 5%.

Concerning to Meningitis, bacterial meningitis were caused by *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus* and *Neisseria meningitidis*.

37 EGG-LAYING, HATCHING AND SEX COMPOSITION OF HABU

HIROSHI KIHARA¹, MITSUKI YOSHIOKA², YOSHIHIRO HAYASHI³
AND EIICHI NAKAMOTO⁴

Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kagoshima University¹, Department of Hygiene, Faculty of Medicine, Kagoshima University², Department of Parasitology, Institute of Medical Science, The University of Tokyo³ and Amami Kanko Habu Center⁴

A significant difference in sex composition of Habu snakes collected at islands of Amamiyoshima and Tokunoshima has been observed. It has been believed that the difference is due to the fact that the male snakes are usually more active than female snakes. To study the native sex ratio of Habu snakes, we have observed the hatching of Habu.

The parent snakes of 38 laid 240 eggs, and 218 of them were hatched (hatching rate; about 90%). The sex composition was 151 males and 67 females. The sex ratio was about 7: 3, and it agreed with the sex ratio of captured Habu snakes.

The number of laid eggs of each snake had a close relation with one's body length, and the relation can be expressed by the following equation; $Y = -16.3 + 0.16X$ (X; body length, cm). The average body length of juvenile snakes was 41.6 ± 3.0 cm and male snakes were usually longer than female snakes.

The hatching days closely related to temperature and they were 42.5 ± 1.7 days under the un-controlled room temperature, 51.9 ± 2.0 days under 25°C and 48.0 ± 1.2 days under 28°C. The egg-layings were observed during the period from July 5 to August 6 and the most were in two weeks from July 14 to 27.

38 SNAKEBITES ON THE AMAMI ISLANDS IN 1981

YOSHIHARU KAWAMURA AND YOSHIO SAWAI

The Japan Snake Institute

In 1981, 153 cases of Habu (*Trimeresurus flavoviridis*) bites were reported in the Amami Islands, in which 97 cases (63%) from the Tokunoshima and 56 (37%) were from the Amami Main Islands.

In the warmer months from March to October, 136 or 89 per cent of the total bites occurred. Snakebites in males were two times as frequent as those in females. During daylight hours from 6 a.m. to 6 p.m., almost 72% of the total bites were reported and 28% were between 6 p.m. to 6 a.m. Most bites occurred on the extremities. More than 50% of the bites occurred in fingers and hands, whereas 18% of the bites occurred in lower legs. Fifty-three per cent of the bites occurred in agricultural field, 22% in residences and 7% on road.

In 153 cases, two (1.3%) were fatal and local necrosis occurred in 17 cases in which 6 (3.9%) left some motor disturbances after the wound had healed.

39 DECREASE OF SNAKE-BITES (BITES OF HABU, *Trimeresurus flavoviridis*) IN OKINAWA PREFECTURE

YASUTETSU ARAKI¹, MASAHIKO NISHIMURA¹ AND KANZEN TERUYA²
Okinawa Prefectural Institute of Public Health¹ and Department of Public Health,
Faculty of Medicine, University of the Ryukyus²

Data of Habu-bites during 1962–1981 in Okinawa Prefecture were analyzed. Number of bites has decreased from 350 to 250 in these 20 years.

There were few changes in the distribution of causes of bites, except decrease in number of bites during stool. There were no changes in both diurnal and seasonal distribution of bites, and selecting the bites caused by Habu's activity, i.e., for example, the bites that occurred while sleeping or walking, these distributions revealed diurnal and seasonal activities of Habu.

From the point of view of environments and rates of Habu-bite, Okinawa Prefecture can be divided into four areas, 1) mountainous areas, 2) rural areas with limestone, 3) rural areas with little limestone and 4) urban areas. Decrease of bites during past 20 years was most distinct in areas 1) and 2), where the rates of Habu-bite were high. In these areas, frequencies of bites at the farmland have not decreased but bites inside the house and on the road have decreased much, which might be brought by modernization of the village life.

**40 STUDIES ON PROPHYLAXIS AGAINST HABU SNAKE
(*Trimeresurus flavoviridis*) BITE WITH HABU TOXOIDS
IN THE AMAMI ISLANDS, KAGOSHIMA PREFECTURE,
JAPAN (9)**

HIDEO FUKUSHIMA¹, KOREBUMI MINAKAMI¹, YOSHITERU TORIIRE¹,
YOKO SAMESHIMA¹, SHIGEKI KOGA¹, KATSUMI HIGASHI¹,
HIDEKI KAWABATA¹, SHOSAKU YAMASHITA¹,
YASUFUMI KATSUKI¹, MUNEHARU SAKAMOTO¹,
RYOSUKE MURATA², CHOKU MATSUBASHI²,
TOORU KONDO², SEIJI SADAHIRO²,
KIYOSHI OHI³ AND HISASHI KONDO³

Faculty of Medicine, Kagoshima University¹, The 2nd Department of Bacteriology,
National Institute of Health, Tokyo² and Chiba Serum Institute³

Good production of serum antitoxin was observed after 0.5 ml basic immunization and booster immunization (vaccinations 3, 4 and 5) with Habu mixed toxoid lot C-2 (HR1: 5.47 IMU/ml, HR2: 3.87 IMU/ml). Further, no severe side reactions were observed at the time of basic immunization (2 vaccinations) and booster immunization (3-6 vaccinations) in 2,185 persons. From these results lot C-2 was found to be a suitable toxoid for vaccination in humans.

Habu toxoid for intradermal reaction (protein: 0.01 mg/ml) was injected intradermally into the repeatedly vaccinated group (228 persons were vaccinated five times). As a result, after 15 minutes 16.2% of the persons showed positive reactions (diameter of redness was more than 15 mm). As the result, the amount of injection was adjusted in the repeatedly vaccinated group.

Among 19 cases bitten by Habu and immunized with Habu toxoid between July 1980 and June 1981, 3 had necrosis and non developed shock or sequelae, and their prognosis was good.

**41 STUDY OF ANTISWELLING POTENCIES OF HABU
(*Trimeresurus flavoviridis*) ANTIVENOM**

MASANOBU YAMAKAWA AND MASATOSHI NOZAKI

Division of Venomous Snakes, Okinawa Prefectural Institute of Public Health

Determination of antismelling potencies of Habu antivenoms was performed using the method of mouse pads injection reported previously (Yamakawa *et al.*, 1973). The test toxins (HR 1, HR 2 & H₂₋₀) were prepared by gel filtration (Sephadex G-100) and Amberlite CG-50 column chromatography and represented main part of swelling effect in a crude Habu venom.

Serial dilutions of an antivenom were made with each test toxin, graded at 1.6 fold intervals. The venom-antivenom mixture was kept at room temperature for about one hour, centrifuged at 3,200 rpm for 10 minutes, and 20 μ l of the supernatant fluid were injected into the right foot pads of each mouse. Two hours after the injection, the swelling ratio was estimated.

It was proved that there is linearity and parallelism between the log dose of antivenom and swelling ratio. Using these results, the antismelling units of each Habu antivenom were determined by employing parallel line assay method.

42 RENAL INJURY CAUSED HABU SNAKE (*Trimeresurus flavoviridis*) VENOM REPORT II

RYUJI HARADA, AKIRA NAKASHIMA, HIROAKI UEDA, KOICHI YOKOYAMA,
TOSHIHISA MIZUTA AND YOSHIHITO OTSUJI

The 2nd Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kagoshima University

We have studied the glomerular changes caused by intravenous injection of a single dose of each fraction (FI, FIIa, FIIb, FIII) collected by gelfiltration method from the crude Habu snake venom to individual outbred Japanese rabbits.

The following results have been obtained.

- 1) Cystic lesions were observable 24 hours after FI administration in a single dose of 0.5 mg/kg B. W. . Fibrin strands, erythrocytes and polymorphonuclear leukocytes were present within the cystic lesions. Observations made in series for 8 days after intravenous administration of the venom revealed decreasing changes as well as disappearance of fibrin strands.
- 2) Neither cystic lesions nor proliferative changes were observable in the glomeruli of FIIa, FIIb and FIII administered rabbits, respectively.
- 3) Enhanced phagocytosis was seen in the proliferative cells as a result of fraction FI administration.
- 4) When observed under a fluorescent microscope, fluorescence substances could not be recognized in the damaged glomeruli by means of fluorescent antibody technique using anti-rabbit γ -globulin antiserum conjugated FITC after fraction FI administration.

43 SEROLOGIC REACTION OF HABU VENOM WITH PERSIMMON EXTRACTS –PASSIVE HEMAGGLU- TINATION–

JUN-ICHIRO FUKUSHIGE, ZENPACHIRO HATTORI, KANAKO FURUKAWA
AND TAKASHI OKONOJI

Biological Research Laboratories, Sankyo Company Ltd.

Passive Hemagglutination (PHA) was found to be a sensitive method for quantification of Habu snake venom. As reagents for PHA reaction, we used persimmon extracts (P-EX) and Japan pharmacopoeia tannic acid (JP-T). This method was superior in its sensitivity as compared with the neutralization test of venom-antivenin. P-EX, which was prepared in our laboratories, gave a more clear-cut result than JP-T in this reaction.

44 PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF HEMORRHAGIC AND LETHAL ACTIVITY IN THE VENOM OF SAKISHIMA-HABU (*Trimeresurus elegans*)

MASATOSHI NOZAKI AND MASANOBU YAMAKAWA

Division of Venomous Snakes, Okinawa Prefectural Institute of Public Health

Sakishima-Habu (*Trimeresurus elegans*) venom was chromatographed on Sephadex G-150, DEAE-Sephadex A-50, Amberlite CG-50, Sephadex G-200 superfine and Sephadex IEF, then following results were obtained.

- 1) The three toxic fractions S_2 , S_{3-f} and S_{3-g} were separated from Sakishima-Habu venom. The fraction of S_2 contained both hemorrhagic activity and lethal toxicity, those of S_{3-f} and S_{3-g} contained the hemorrhagic activity and lethal toxicity respectively.
- 2) The molecular weight (M. W.) of S_2 , the 1st hemorrhagic fraction of the Sakishima-Habu venom, was approximately 58,000, isoelectric point (pI) was about 4.3, and S_2 was closely resemble to the HR-1 purified from the Habu (*Trimeresurus flavoviridis*) venom.
- 3) The M. W. of S_{3-f} , 2nd hemorrhagic fraction of the Sakishima-Habu venom, was approximately 24,500, pI was about 8.2, and S_{3-f} was closely resemble to the HR-2 purified from the Habu venom.
- 4) The M. W. of S_{3-g} , the main lethal toxic fraction of the Sakishima-Habu venom, was approximately 14,000, pI was about 9.8, and the corresponding to this fraction lacked in the venom of Habu.

45 THE EFFECT OF AN INHIBITORY SUBSTANCE ISOLATED FROM MICROORGANISM ON HEMORRHAGIC ACTION OF VENOMS

JUNG-WHUN SEU

Kyung-Pook National University, Taegu, Korea

This report concerns with the inhibitory effect of a substance separated from a culture of *Aspergillus* species upon hemorrhagic action of some venoms. The filtrate of the culture was treated by organic solvents and proved to be uniform by gel filtration.

Measurement of edema-forming effect of venom was tested by mouse pad method. The amputated legs of envenomated mice as above were homogenized in water, and the total hemoglobin contained in the supernatant was measured photomerically.

The result indicated that inhibitory effect of the substance on hemorrhage induced by crude Habu venom and purified HR1 and HR2 was marked. The substance also inhibited the hemorrhagic effect due to venoms of Korean Mamushi of *A. blomhoffi brevicaudus* and *A. saxatilis*. The edema due to the Habu venom was inhibited by the substance. It was heat-stable and tolerated against heating at 90°C for one hour.

46 A NONEL PROTEINASE IN THE VENOM OF *Trimeresurus flavoviridis*

TAMOTSU OMORI-SATOH AND SEIJI SADAHIRO

The 2nd Department of Bacteriology, National Institute of Health, Tokyo

A proteinase which muddies substrate casein during the course of enzymatic reaction was isolated from the venom of Habu (*Trimeresurus flavoviridis*), and enzymatic properties were investigated.

The following results were obtained;

- 1) it has a molecular weight of about 25,000 dalton,
- 2) it prefers to have alkaline milieus for enzymatic reaction (optimum pH is 9),
- 3) it is inactivated by EDTA, cysteine and DFP but not by NEM,
- 4) it hydrolyzes various protein substrates except azocollagen but not Z-Gly-Pro-Leu-Gly-Pro-OH which is a good substrate for H₂-proteinase. Analyses of the sites hydrolyzed by the proteinase in oxidized insulin A- and B-chains indicate that it has a different substrate specificity being compared with H₂-proteinase.

**47 ENZYMOCHEMICAL STUDIES ON SNAKE VENOM (29)
PROPERTIES AND THEIR CHARACTERISTICS OF
ARGININE ESTERASES IN THE VENOM OF
*Trimeresurus mucrosquamatus***

HISAYOSHI SUGIHARA, TOSHIAKI NIKAI, ATSUKO NIMURA
AND REIKO KITO

Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Meijo University

Four arginine ester hydrolases were isolated from the venom of *Trimeresurus mucrosquamatus* by a combination of gel filtration on Sephadex G-100 and ion exchange column chromatographies. These enzymes were designated ME-1, ME-2, ME-3 and ME-4. Their molecular weights were determined to be 27,000, 29,800, 33,000 and 28,500 and their isoelectric points were found to be pH 5.95, 5.62, 6.93 and 5.31 respectively.

The purified enzymes were specific for synthetic arginine ester such as N-tosyl-L-arginine methyl ester (TAME) or N-benzoyl-L-arginine ethyl ester (BAEE), but not for lysine ester, tyrosine ester, argininamide, casein or dimethylcasein.

The esterolytic activities of the enzymes were inhibited by benzamidine but not by trasylol, SBTI, LBTI, EWTI, heparin, cysteine, EDTA or PCMB. ME-3 and ME-4 were also inhibited by diisopropylfluorophosphate (DFP) or p-tosyl-L-phenylalanine-chloromethyl ketone (TPCK), but ME-1 and ME-2 did not inhibit by them. These enzymes were stable to heat treatment, and between pH 5 and 9. All of the enzymes had capillary permeability-increasing activity. Moreover, ME-2 and ME-4 had kinin-releasing activity. However, these enzymes did not possess clotting activity.

JAPANESE JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE

Vol. 11 No. 2

June, 1983

CONTENTS

Proceedings of XXIV Annual Meeting of Japanese Society of Tropical Medicine

Contents	139-141
Symposium Behavior and Control of Habu, <i>Trimeresurus flavoviridis</i> , a Venomous Snake	142-147
Basic Research in Malaria	148-154
Panel discussion Diseases Contracted by Japanese Overseas Residents	155-162
Round table discussion Biological Activities of Toxic Factors in Habu Venom	163-167
General presentation	168-201

Published by

JAPANESE SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE

c/o Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University
12-4 Sakamoto-machi, Nagasaki, 852, Japan