

# 日本熱帯医学会雑誌

Japanese Journal of Tropical Medicine and Hygiene

---

第13巻 第2号

昭和60年6月15日

---

## 内 容

### 原 著

マラリア原虫感染マウス赤血球の膜タンパク質

I. 膜タンパク質の変動とリン酸化

..... 井上 文英, 佐藤 良也, 中田 福市, 大鶴 正満 111-117

### 第26回日本熱帯医学会講演抄録(2)

目 次 .....119-123

一般講演 .....124-154

英文抄録 .....155-203

### 投稿規定

# マラリア原虫感染マウス赤血球の膜タンパク質

## I. 膜タンパク質の変動とリン酸化

井上 文英<sup>1</sup>・佐藤 良也<sup>2</sup>・中田 福市<sup>1</sup>・大鶴 正満<sup>2</sup>

昭和59年10月3日 受付/昭和60年4月18日 受理

### 緒 言

マラリア感染に伴う貧血、脾腫などの症状は、感染赤血球の性状と関係していると考えられる。一般に、哺乳動物の赤血球が中くぼみ円盤形 (biconcave disc) を呈しているのは、表在性タンパク質である分子量  $210 \times 10^3 \sim 240 \times 10^3$  のスペクトリン分子とアクチン分子 (分子量  $43 \times 10^3$ ) がスペクトリン-アクチン網目構造を形成しているからであると考えられている。この網目構造は、細胞膜脂質二重層部位に相互作用を及ぼしている。それに関与しているのが赤血球膜の骨格タンパク質であるバンド3であり、さらにアンキリン (バンド2.1)、バンド4.1とも関係している (前田, 1983)。

一方、マラリア原虫 (*Plasmodium berghei*) が寄生したマウス赤血球の形態は、膜外表面がなだらかな biconcave disc を呈しておらず不規則に凹凸し、変形した形態を呈していることは光学顕微鏡的にも観察される (田辺, 1983)。このことは、赤血球内面のスペクトリン-アクチン網目構造がマラリア原虫に関与する何らかの影響 (例えばタンパク質分解酵素等) を受けて二次的に形態が変形したと考えられる (Cook *et al.*, 1961)。

ここでは、マラリア原虫が寄生することにより赤血球の膜タンパク質が、いかに影響を受けたかを知る目的で、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) 存在下のポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (PAGE) を用いて調べた。また、赤血球の形

態機能保持と膜のリン酸化能との関係についても [<sup>32</sup>P] オルトリン酸の取り込みをオートラジオグラフを用いて比較し、形態と機能保持の関係についても検討を試みた。

### 実験材料及び方法

マラリア原虫感染赤血球の調製: マラリア原虫 *P. berghei* NK 65株に感染した赤血球を、8週齢雄 BALB/c 系マウスに1匹当たり  $5 \times 10^6$  個腹腔内に投与して感染させた。投与後、5日目 (マラリア原虫感染率; 80%) に心臓からヘパリン添加 (10単位/ml 血液) で採血した。以後の処理は表示しない限り 2~4°C で操作を行った。

心臓採血した血液は、800×g で10分間遠心して血漿とパuffy画分を除去した。次に、血球画分の2倍量の 0.138 M NaCl-0.5 mM MgCl<sub>2</sub>-0.01 M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4)-10単位/ml ヘパリンの等張緩衝液で浮遊させ、スルホエチル-セルロース (セルバ社) カラムクロマトグラフィーを行い、赤血球画分のみを集めた (Kankura *et al.*, 1974)。赤血球の回収率は90%以上であった。なお、溶出した赤血球は、0.15 M NaCl で 800×g の遠心で2回洗った。

マラリア原虫感染赤血球と非感染赤血球との分離方法は、Parcoll (フェルマシアファインケミカル) の保存等浸透圧溶液と等量の 0.15 M NaCl を加えて得た混合溶液に赤血球試料を重層して、400×g で10分間遠心して分離した。Parcoll は、低速遠心で赤血球溶液から除去した。Parcoll 操作による赤血球の回収率は99%であった。

赤血球のリン酸化: リン酸化の基質となる赤血球は、90 mM KCl-45 mM NaCl-20 mM D-グル

1 琉球大学医学部第一生化学講座, 2 寄生虫学講座

コース-10mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.5)-1.0mM エチレンジアミン四酢酸 (EDTA) ナトリウム塩 (Medium I) でヘマトクリットを40%とした。1.0 ml の赤血球浮遊液に対して 20  $\mu$  Ci の Disodium hydrogen [ $^{32}$ P]orthophosphate (アマシャム, 比活性 200 m Ci/m mol) を加えて 30°C で60分振とうした。所定の振とう時間後, 未反応の  $^{32}$ P は10倍量の Medium I を加えて 800 $\times$ g で5分間遠心を3回繰り返して除去した。

赤血球に取り込まれたリン酸の量は, 標識した赤血球の一部 (10  $\mu$ l) をミニバイアルに入れ, 100  $\mu$ l の NCS 組織可溶化剤 (アマシャム) を加えて室温で10分間攪拌し, 更に 100  $\mu$ l の蒸留水を加えて可溶化し, キシレンベースのシンチレータ (ドータイトシンチゾル EXH, 同仁化学研究所) を 8ml 加えてよく混和して液体シンチレーションシステム LSC-903SP (アロカ) で測定した。

赤血球膜ゴーストの調製: 赤血球膜ゴーストの調製は Fairbanks らの方法 (Fairbanks *et al.*, 1971) に準じて以下のとおりに操作した。赤血球は 5mM リン酸緩衝液 (pH 8.0)-0.15 M NaCl (5p8-NaCl) に平衡化した。5p8-NaCl に平衡化した赤血球浮遊液 1 容に対して 10 容の 5p8-1.0 mM EDTA $\cdot$ 2Na-0.2 mM Phenylmethylsulfonyl Fluoride (5p8-EP) を加えて低張処理により溶血させ, 28,000 $\times$ g で10分間遠心した。得られた沈渣 (粗膜ゴースト) に対して同一容量の 5p8-EP で同一操作を 5 回繰り返して赤血球膜ゴースト標品を得た。調製した膜ゴーストは直ちに実験に使用した。膜ゴーストのタンパク質定量は, ウシ血清アルブミン (シグマ) を標準タンパク質として 0.1% SDS 存在下の Lowry 法 (Lowry *et al.*, 1951) で測定した。

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE): 0.1% SDS 存在下の PAGE は Laemmli の系 (Laemmli, 1970) に準じて行った。泳動試料の調製法は Fairbanks の方法 (Fairbanks *et al.*, 1971) に準じ以下の様に行った。泳動試料 3 容に対して 1 容の 1% SDS-10% Sucrose-10mM Tris-HCl (pH 8.0)-1 mM EDTA-20  $\mu$ g/ml Pyronin Y 溶液を加え, 必要に応じて還元剤 (2-メル

カプトエタノール) を添加して, 90°C で3分間加熱して試料を可溶化し, 室温に戻して泳動用試料とした。1 mm 厚の分離用ゲルに加えた試料のタンパク質量は 20  $\mu$ g とした。泳動はマリソル産業の二連スラブゲル電気泳動装置 KS-8200WSE を用い, 定電力 (2.5ワット, マリソル産業 KS-7533) でマーカーの Pyronin Y を目安に室温で2時間泳動した。泳動後, 25% イソプロパノール-10% 酢酸-0.025% Coomassie Blue R-250 (CB) 染色液で15分間染色した。脱染色は10%酢酸を用いて1時間行った。銀染色は Switzer らの方法 (Switzer *et al.*, 1979) に準じて行った。各バンドの定量は富士理研の自記濃度記録計 FD-A を用いた。

分子量の測定には, 標準分子量マーカーとして Soybean trypsin inhibitor (分子量, 21,500), Carbonic anhydrase (31,000), Ovalbumin (45,000), Bovin serum albumin (66,200), Phosphorylase B (92,500),  $\beta$ -galactosidase (116,250) それに Myosin (200,000) を用いた。

オートラジオグラフィー: CB 染色したスラブゲルは, ゲル乾燥器 (アトー, SJ-1060SH) を用い, ワットマン No. 3 の濾紙を支持体にして 65°C で1時間乾燥を行い, フィルム状にした。フィルム状のゲルは, Kodak X-Omat AR-5 フィルムと -80°C で2~14日間作用させた。

全ての実験は, 同一実験を2回を行い, 再現性を確かめた。

## 実験結果

マラリア原虫感染マウス (M) と非感染正常マウス (C) の赤血球膜タンパク質の 0.1% SDS-7.5% PAGE 後, CB 染色した結果を図1に示した。バンドの命名法は Steck の方法 (Steck, 1974) に準じた。図から明らかな様に, 本来正常マウスに存在すべき膜タンパク質成分が, マラリア原虫が感染することによって減少傾向を示した。CB 染色バンドでは, スペクトリン (バンド1と2), アンキリン (バンド2.1), バンド3, 4.1b, それにアクチン (バンド5) であった。

一方、マラリア原虫が感染することにより新たに赤血球膜成分として出現するバンドは図1 (M) から、バンド2と3の領域に少なくとも3種類の

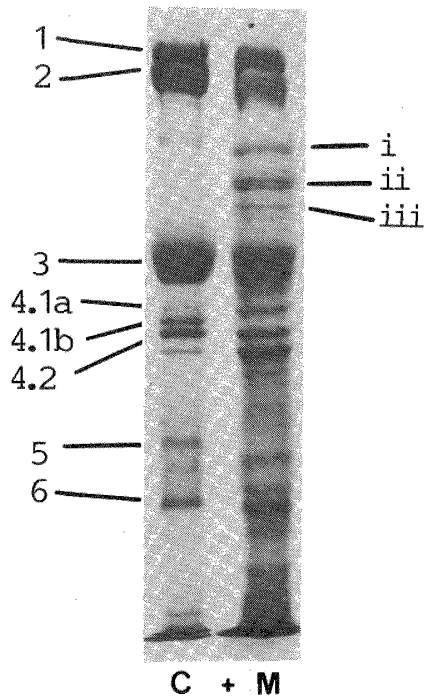


Figure 1 Gel electrophoretic profiles of membrane proteins from mouse erythrocytes infected with *Plasmodium berghei* NK 65 strain. Freshly drawn blood, treated with heparin sulfate, was used for all studies presented here. Erythrocyte ghosts were prepared essentially according to the method of Fairbanks *et al.* (1971). Ghosts were dissolved in one per cent sodium dodecylsulfate (SDS) and electrophoresed in 7.5 per cent polyacrylamide gels in 0.1 per cent SDS. Electrophoresis was carried out for 2 h with a constant power at 2.5 watts per 1 mm slab gel. The nomenclature of individual protein bands was adapted from that of Steck (1974). The amount of protein in a sample well was 20  $\mu$ g. C; control uninfected mouse erythrocyte membrane, M; malaria infected mouse erythrocyte membrane.

ポリペプチド CB 染色バンドが出現した。これら3種類のポリペプチドの分子量は、大きい方から (i)  $135 \times 10^3$ , (ii)  $117 \times 10^3$  及び (iii)  $110 \times 10^3$  であった。

他方、0.1% SDS-5.0% PAGE 後、銀染色して得られた結果が図2である。銀染色用の SDS-PAGE の試料のタンパク質量は 10  $\mu$ g であった。染色されたバンドの様相は CB 染色と異なっていた。特にスペクトリンのバンド1は感染 (M) と非感染 (C) 膜タンパク質に限らず、染色されなかった。明確な差が出たのはバンド2である。マラリア原虫に感染した膜成分では、バンド2は極

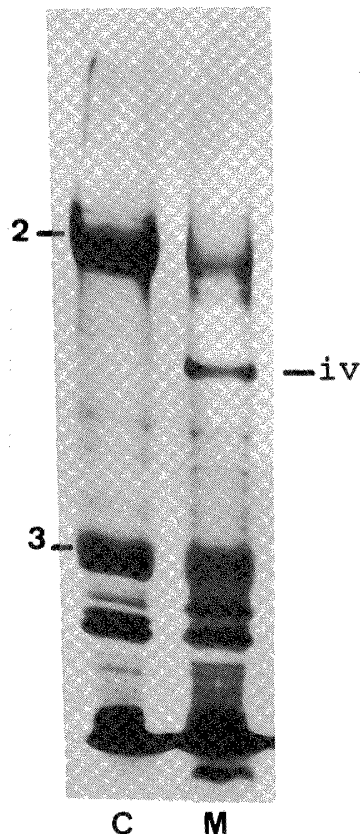


Figure 2 Gel electrophoretic profiles of membrane protein from mouse erythrocytes infected with *Plasmodium berghei*. The protein amount in sample well was 10  $\mu$ g. Electrophoresis was conducted on a 0.1 per cent SDS-5.0 per cent polyacrylamide gel. Polypeptide bands detected with the silver staining procedure.

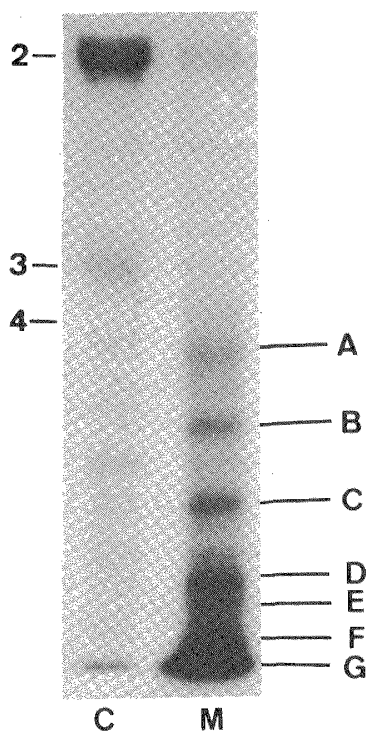


Figure 3 Autoradiography of  $^{32}\text{P}$ -labeled membrane proteins of malaria infected erythrocyte separated in polyacrylamide gels containing SDS. [ $^{32}\text{P}$ ]-labeled ghosts were prepared by incubation of intact erythrocytes with [ $^{32}\text{P}$ ]-orthophosphate. Thus freshly prepared erythrocytes were incubated at a hematocrit of 40 per cent in 90 mM KCl, 45 mM NaCl, 20 mM D-glucose, 10 mM Tris-HCl, pH 7.5, with 1.0 mM EDTA $\cdot$ 2Na and 20  $\mu\text{Ci}$  [ $^{32}\text{P}$ ]-orthophosphate (Amersham, specific activity 200 mCi/mmol) per milliliter for 60 min at 30°C, followed by washing three times with a 10-fold volume of the isotonic buffer in the cold. Electrophoretic condition in Figure 1. Coomassie blue-stained slab gel was dried on filter paper and autoradiography was carried out on Kodak X-Omat AR-5 film at  $-80^\circ\text{C}$  for 2-14 days.

めてわずか（非感染の10%）しか染色されなかった。また、バンド2と3の間に新しいバンド (iv) が出現した。この新しく出現したバンド (iv) の分子量は  $135 \times 10^3$  であった。

マラリア原虫感染赤血球へのリン酸 [ $^{32}\text{P}$ ] の取り込みをオートラジオグラフィーを用いて得た結果が図3である。非感染正常マウス赤血球の [ $^{32}\text{P}$ ] オルトリン酸でリン酸化を受ける膜タンパク質バンドは、スペクトリンのバンド2が全膜リン酸化量の80%近くを取り込む。他方、マラリア原虫感染赤血球では、バンド2は、わずかしかりん酸化を受けなかった。バンド3については同一傾向を示した。バンド3以下の領域で、マラリア原虫の感染により7種類 (A-G) までのバンドが出現した。

#### 考 察

マラリア原虫 (*P. berghei*) に感染した赤血球の外表面は平滑でなく、不規則な凹凸が存在している。これは、赤血球の形態を保持している赤血球膜裏打ちタンパク質のスペクトリンとアクチンを主要構造とする網目状の骨格構造が重要な役割を担っていると考えられている。特に膜タンパク質構成成分の30%近くを占めているスペクトリン分子は、網目構造を構成している機能を担っている重要な構造タンパク質である (Fairbanks *et al.*, 1971)。マラリア原虫に感染した時の CB 染色と銀染色より明らかなように、スペクトリンの特に、バンド2が顕著に減少している。スペクトリン分子は、生理的条件下では四量体を形成しており、このスペクトリン四量体とアクチン分子が結合して、スペクトリン-アクチン網目構造を形成していると考えられている (Goodman and Shiffer, 1983)。スペクトリン分子の減少は、網目構造形成の減少を誘引する。また、マラリア原虫の感染によりアクチン分子の減少も誘引している。これらの結果からみて、スペクトリンとアクチン分子の減少がマラリア原虫が寄生することにより生じたと考える。そして二次的結果として、赤血球外表面が凹凸の不規則に変形した形態を呈してくる

と考えられる。

一方、マラリア原虫の感染により出現するポリペプチドについて、Weidekamm ら (1973) は、 $112 \times 10^3$  の分子量をもつバンドが 1 本出現することを示した。そして、スペクトリンの加水分解産物であると述べている。

また、マラリア原虫に感染したマウス血液の血漿画分に存在するプロテインナーゼ、またはこの分子量と同じペプチドの存在が考えられるが、マラリア原虫感染マウスの血漿画分と、正常赤血球とを  $30^\circ\text{C}$  で 2 時間反応させても、その SDS-PAGE のパターンは正常マウス赤血球膜パターンと同じであった。また、血漿画分には特に、同一分子量の成分が多量に存在することは認められなかった。

一方、マラリア原虫の感染率が増すと、網状赤血球の占める割合も増してくる。Koch ら (1975) は、家兎に phenylhydrazin を投与して網状赤血球へ  $[^3\text{H}]$  Leucine の取り込み実験を行った。その結果、膜とヘモグロビンへの取り込みでは、 $90 \times 10^3$ ,  $60 \times 10^3$ , それと  $33 \times 10^3$  の分子量のところへラベルされることが報告されている。ここでは、CB 染色を行っており、この方法では、先の分子量のペプチドは染色されない。しかしながら、今回新たに出現した 3 種のバンドの由来については、原虫膜混入の影響も完全に否定し得ないため、今後の詳細な実験結果が待たれる。

赤血球膜タンパク質のリン酸化は、赤血球の biconcave disc という形態保持、及び機能を保持するのに必要であると考えられている (Sheetz and Sirger, 1977)。この機能保持等を用いて、球状赤血球症の病因解明に利用している報告もある。

マラリア原虫感染赤血球を  $[^{32}\text{P}]$  オルトリン酸でリン酸化した後、その赤血球膜を SDS-PAGE し、オートラジオグラフィを行った結果が図 3 に示してある。非感染マウス赤血球のリン酸化を受ける膜タンパク質は、スペクトリンである。特にスペクトリンのバンド 2 が全リン酸化の 80% 以上を占めている。このことが非常に重要なことであると考えられる。

一方、マラリア原虫の感染した赤血球の膜タン

パク質では、バンド 2 は極めてわずかしかりん酸化を受けなかった。これはマラリア原虫の感染した赤血球の膜タンパク質、CB 染色並びに銀染色に於いてバンド 2 が明らかに減少していることから、リン酸化の基質がマラリア原虫の寄生により減少することを示す。それによって膜の形態保持及び赤血球膜の機能保持が低下していることを示唆する。

一方、新しくリン酸化を受けたバンド A—G については、多くの問題を含んでいる様に考える。まず、Chaimanee and Yuthavong (1979) は、 $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]$  ATP と無機リン酸をドナーとして、*P. berghei* により感染した赤血球膜へのリン酸化を調べたところ、非感染赤血球膜には現われない分子量  $42 \times 10^3$  のペプチドがオートラジオグラフィで観察された。そのペプチドの膜からの抽出方法から、アクチンであることを示唆した。ここで彼らの云う成分が A—G までの領域に含まれるとすれば、分子量的には B のバンドと一致する。しかし、アクチンかどうかについては明確なことは云えないし、他の成分についても同様である。本研究より、赤血球膜構成成分のスペクトリンのバンド 2 及びバンド 5 がマラリア原虫感染赤血球では減少してくる。これは、感染赤血球の不規則な膜外表面の変形と関係づけられる。また、この形態保持について、膜リン酸化との関係は、本来の基質となるべきバンド 2 の減少が関与しており、そのために感染赤血球の形態保持及び機能低下が考えられる。

## 要 約

マラリア原虫 (*P. berghei* NK65) に感染したマウス赤血球の膜タンパク質成分を SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法で分析した結果、マラリア原虫が感染すると、赤血球膜の裏打ちタンパク質のスペクトリン分子が CB 染色と銀染色の結果から減少していることが認められた。

一方、スペクトリン分子のリン酸化は赤血球の形態機能保持と関連していることからオートラジオグラフィで調べたところ、非感染赤血球よりも明

確に減少していることが認められた。それ故に、 保持及び機能低下が誘引されることを示唆する。  
マラリア原虫が感染することにより赤血球の形態

## 文 献

- 1) Chaimanee, P. and Yuthavong, Y. (1979): Phosphorylation of membrane proteins from *P. berghei*-infected red cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 87 (3), 953-959
- 2) Cook, L., Grant, P. T. and Kermack, W. O. (1961): Proteolytic enzymes of the erythrocytic forms of rodent and simian species of malarial plasmodia, *Expl. Parasit.*, 11, 372-379
- 3) Fairbanks, G., Steck, T. L. and Wallach, D. F. H. (1971): Electrophoretic analysis of major polypeptides of the human erythrocyte membrane, *Biochemistry*, 10, 2606-2617
- 4) Goodman, S. R. and Shiffer, K. (1983): The spectrin membrane skeleton of normal and abnormal erythrocytes: a review, *Am. J. Physiol.*, 244, C121-C141
- 5) Kankura, T., Kurashina, S. and Nakao, M. (1974): A gel filtration technique for separation of erythrocytes from human blood, *J. Lab. Clin. Med.*, 83, 840-844
- 6) Koch, P. A., Gardner, F. H., Gartrell, J. E. and Carter, J. R. (1975): Biogenesis of erythrocyte membrane proteins in vitro studies with rabbit reticulocytes, *Biochim. Biophys. Acta*, 389, 177-187
- 7) Laemmli, U. K. (1970): Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, 227, 680-685
- 8) Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275
- 9) 前田信治 (1983): 赤血球—その骨格とレオロジー, *医学のあゆみ*, 127 (11), 1041-1051
- 10) Sheetz, M. P. and Singer, S. J. (1977): On the mechanisms of ATP-induced shape changes in human erythrocyte membranes I. The role of the spectrin complex, *J. Cell Biol.*, 73, 638-646
- 11) Steck, T. L. (1974): The organization of proteins in the human red cell membranes, *J. Cell Biol.*, 62, 1-19
- 12) Switzer, R. C., Merrill, C. R. and Shifrin, S. (1979): Highly sensitive silver stain in polyacrylamide gel, *Anal. Biochem.* 98, 231-237
- 13) 田辺和裕 (1983): マラリア感染赤血球の膜病理生物学, *蛋白質・核酸・酵素*, 28 (2), 103-117
- 14) Weidekamm, E., Wallach, D. F. H., Lin, P. S. and Hendrecks, J. (1973): Erythrocyte membrane alterations due to infection with *Plasmodium berghei*, *Biochim. Biophys. Acta*, 323, 539-546

MEMBRANE PROTEINS OF MOUSE ERYTHROCYTE  
INFECTED WITH *PLASMODIUM BERGHEI*  
I. ALTERATION OF PHOSPHORYLATION  
IN MEMBRANE PROTEINS

FUMIHIDE INOUE<sup>1</sup>, YOSHIYA SATO<sup>2</sup>, FUKUICHI NAKADA<sup>1</sup>  
AND MASAMITSU OTSURU<sup>2</sup>

Received October 3 1984/Accepted April 4 1985

The membrane polypeptide components of mice erythrocyte infected with *Plasmodium berghei* have been analyzed by sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. The results were as follows:

1. Of particular interest was the finding of a substantial reduction in the major membrane polypeptide called spectrin, supporting a critical role for this protein in the control of erythrocyte shape and membrane stability.
2. The extent of phosphorylation of the membrane protein substrated spectrin was markedly decreased ranging 10 to 20 per cent of control. This decreased phosphorylation was due to reduced or defective substrate spectrin.

---

Department of Biochemistry<sup>1</sup> and Department of Parasitology<sup>2</sup>, School of Medicine, University of the Ryukyus, Nishihara-cho, Okinawa, 903-01, Japan



## 第26回 日本熱帯医学会総会講演抄録 (2)

期 日： 昭和59年11月1日(木)-2日(金)  
 会 場： 鹿児島県看護研修会館  
 会 長： 鹿児島大学医学部教授 橋本修治

### 目 次

- |  |  |
|--|--|
| <p><b>特別講演</b> (前号掲載済)</p> <p>Certain Aspects of Tropical Diseases in the People's Republic of China<br/>             徐 秉棍 (中山医学院・寄生虫, 広州, 中華人民共和国)</p> <p><b>シンポジウム</b> (前号掲載済)</p> <p><b>I 熱帯環境における水の問題</b><br/>             司会 藤田紘一郎 (長崎大・医・医動物)</p> <p><b>II 住血吸虫症の疫学と対策</b><br/>             司会 田中 寛 (東大・医科研・寄生虫)</p> <p><b>III 消化管と熱帯病</b><br/>             司会 小張 一峰 (琉球大・医・一内科)</p> <p><b>一般講演</b></p> <p>1 ヒトスジシマカにおけるチクングニアウイルス感受性: オアフ系と兵庫系における増殖パターンの比較<br/>             小西 英二, 松村 武男 (神戸大・医・医動物)<br/>             山西 浩 (神戸学院女子短大)</p> <p>2 長崎産チカイエカの1系統における Wolbachiae の駆除と和合性の変化<br/>             末永 敏 (長崎大・熱帯医研・資料室)</p> <p>3 京都市洛北, 深泥池畔において採集したユスリカ類, 蚊類について</p> | <p>正垣 幸男 (京大・医・病理)<br/>             木野 稔也, 大島 駿作 (京大・医・胸部研)</p> <p>4 日本産恙虫の現況<br/>             鈴木 博 (長崎大・熱帯医研・ウイルス)</p> <p>5 南西諸島の母子相互作用<br/>             寺脇 保 (鹿児島大・医・小児科)<br/>             馬場 泰光 (鹿児島市医師会病院・小児科)<br/>             木場 道子 (鹿児島市中央保健所)</p> <p>6 暑熱環境への適応機構について<br/>             藤原真理子, 大渡 伸, 小坂 光男 (長崎大・熱帯医研・環境生理)</p> <p>7 インドネシア国北スマトラにおける G6PD 欠乏者について<br/>             松岡 裕之, 石井 明 (岡山大・医・寄生虫)<br/>             W. Panjaitan (北スマトラ州衛生局)</p> <p>8 ケニア西部における Kaposi's sarcoma の地理病理学<br/>             鳥山 寛, 宇津田 含, 板倉 英世 (長崎大・熱帯医研・病理)</p> <p>9 ケニア西部における Rhinoscleroma<br/>             宇津田 含, 鳥山 寛 (長崎大・熱帯医研・病理)</p> <p>10 フィジー国 Galoa における人類遺伝学的研究<br/>             吉澤 一樹, 末永 真次, 寺脇 保 (鹿児島大・医・小児科)<br/>             馬場 泰光 (鹿児島市医師会病院小児科)</p> <p>11 フィジーにおける健康成人の末梢血液学的検索</p> |
|--|--|

- 寺師 慎一 (鹿児島大・南海研)  
松元 正 (鹿児島大・医・腫瘍研)
- 12 フィジーにおける歯科疾患実態調査  
仙波伊知郎 (鹿児島大・歯・口腔病理)
- 13 フィジーにおける広東住血線虫について  
内川 隆一, 佐藤 淳夫  
(鹿児島大・医・医動物)
- 高木 正洋 (三重大・医・医動物)  
又吉 盛健 (鹿児島大・熱帯医研・疫学)
- 14 インド・カシミール州における寄生虫疾患の調査  
長瀬 啓三, 前野 芳正, 戸谷 徹造  
(藤田学園・医・寄生虫)  
野本信之助, 津田 豊彦  
(藤田学園・医・外科)  
Muzzafar Ahmad (スリナガル医大)
- 15 エクアドル国のリーシュマニア症  
橋口 義久 (高知医大・寄生虫)  
三森 龍之 (熊本大・医・寄生虫)  
川端 真人 (予研・寄生虫)  
ゴメス E. A., コロネル V. V.  
(エクアドル国・熱帯医研・寄生虫)
- 16 フィリピン・レイテ島における肺吸虫の調査  
川島健治郎 (九州大・医技短大・医動物)  
波部 重久, 木船 悌嗣  
(福岡大・医・寄生虫)  
Bayani L. Blas  
(フィリピン保健省・住血吸虫)
- 17 Ponape および Kosrae 島における広東住血線虫の調査  
内田 明彦 (麻布大・環境生物)  
石橋 正彦 (麻布大・育種)  
矢部 辰男 (神奈川県衛生研究所)  
宇田川竜男 (麻布大・環境生物)
- 18 ELISA による局所筋肉中のハブ毒の定量 1  
野崎 真敏, 富原 靖博, 山川 雅延  
(沖縄県公害衛研・ハブ支所)
- 19 ハブ毒 PLA<sub>2</sub> と CPK 活性との関係  
木原 大, 橋村 三郎  
(鹿児島大・医・二生理)
- 寺師 慎一 (鹿児島大・南海研)  
大野 素徳 (九州大・理・酵素化学)
- 20 1983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, 沢井 芳男  
(日本蛇族学術研)
- 21 抗ハブ毒血清の効果  
鎮西 弘 (東京医歯大・医・医動物)  
酒井 健夫, 西野 松之  
(日大・農獣医・獣医衛生)
- 22 狭いエリアにおけるハブの駆除  
外間 善次 (那覇市)
- 23 ビルマにおける毒蛇咬症  
沢井 芳男 (日本蛇族学術研)
- 24 アメリカマムシ毒より致死因子の精製  
二改 俊章, 岸田 充弘, 草野 律子,  
森 信博, 杉原 久義  
(名城大・薬・微生物)
- 25 虫刺創の病理組織学的研究 (第1報)  
E. ジャラル, 谷 荘吉  
(金沢医大・医動物)  
佐藤 喜一 (金沢医大・熱帯医研)
- 26 仏領ポリネシアにおけるシガテラ中毒  
井上 晃男 (鹿児島大・南海研)
- 27 胸腔内接種法による Dengue virus type 2 感染 *Toxorhynchites splendens* 体内におけるウイルスの増殖と分布について  
山本 典巳, 谷村 英紀, 伊藤 富由,  
大山 昭夫 (関西医大・微生物)
- 28 タイと日本のヒト血清中の日本脳炎ウイルスとデングウイルス1型に対する IgG-ELISA 抗体価の測定  
分藤 桂子, 五十嵐 章  
(長崎大・熱帯医研・ウイルス)
- 29 ビルマにおけるデング出血熱患者血清のデングと日本脳炎ウイルスに対する IgM-ELISA 抗体価  
メイ ラリン, 分藤 桂子, 五十嵐 章  
(長崎大・熱帯医研・ウイルス)
- 30 ケニアにおけるコレラの疫学的観察  
江原 雅彦, 渡邊 繁徳, 一瀬 休生,

- 内藤 達郎  
(長崎大・熱帯医研・病原細菌)
- 31 1983年ケニア国分離コレラ菌の性状  
一瀬 休生, 江原 雅彦, 渡邊 繁徳,  
内藤 達郎  
(長崎大・熱帯医研・病原細菌)
- 32 沖縄の河川で分離したコレラ菌に関する検討  
岩永 正明, 山本耕一郎, 仲宗根 昇,  
田辺 将夫 (琉球大・医・細菌)  
仲宗根民男 (沖縄公衛研)
- 33 輸入淡水魚におけるピブリオ属の汚染状況  
真子 俊博 (福岡市衛試)
- 34 フィリピンにおけるカンピロバクター腸炎  
柳ヶ瀬康夫 (兵庫医大・細菌)  
喜多 英二, 檜葉 周三  
(奈良医大・細菌)
- C. P. Franco, C. P. Ranoa  
(San Lazaro Hospital, Manila)
- 35 ケニアにおける小児の細菌性下痢症  
渡邊 繁徳, 江原 雅彦, 一瀬 休生,  
内藤 達郎  
(長崎大・熱帯医研・病原細菌)
- 36 ICDDR, B 病院における臨床分離株の薬剤感受性試験  
草野 展周, 松瀬真寿美, 賀来 満夫,  
餅田 親子, 山口 恵三  
(長崎大・医・検査部)  
斉藤 厚, 原 耕平  
(長崎大・医・二内科)  
R. Z. Zeaur, S. Q. Akhtar, I. Huq,  
K. M. Aziz (ICDDR, B)
- 37 淋菌の保菌者検索の為の血清診断法  
喜多 英二, 檜葉 周三  
(奈良医大・細菌)  
柳ヶ瀬康夫 (兵庫医大・細菌)
- 38 *Trypanosoma evansi* (台湾株) に於ける新  
知見, 特にその超微形態面について  
比留木武雄 (島根医大・微生物免疫)
- 39 Toxo-GIF 存在下における *Toxoplasma*  
感染腹腔マクロファージの電顕観察
- 長澤 秀行, 上平 英樹, 岡 三希生,  
伊藤 義博 (徳島大・医・寄生虫)
- 40 螢光色素 Hoechst 33258 を利用した *Trypanosoma gambiense* の K-DNA および  
N-DNA の *In situ* microfluorometry 一  
両核酸に及ぼす bleomycin の作用とその解  
析  
猪木 正三 (奈良医大・寄生虫)  
伊藤 義博, 岡 三希生  
(徳島大・医・寄生虫)
- 尾崎 文雄, 古谷 正人 (高知医大)
- 41 桃山病院におけるアメーバ赤痢症例につ  
いて  
赤尾 満, 阪上 賀洋, 足立 利幸,  
岸田 泰弘, 青木 隆一  
(大阪市立桃山病院)
- 42 実験的アメーバ性肝膿瘍の初期病変像の解  
析  
建野 正毅, 竹内 勤  
(慶大・医・寄生虫)
- 藤原 達司 (慶大電顕研)
- 小林 正規, 田辺 将信, 三浦左千夫,  
浅見 敬三 (慶大・医・寄生虫)
- 43 ハロゲン化ビスフェノール誘導体の抗赤痢  
アメーバ作用について  
小林 正規, 竹内 勤, 建野 正毅,  
浅見 敬三 (慶大・医・寄生虫)
- 44 フィリピンにおけるマラリアの現況, Wa-  
wa 地区における調査成績  
中林 敏夫, 西本 憲弘, 清谷 哲朗  
(阪大・微研・原虫)
- 45 バングラデシュのマラリアについて  
武衛 和雄 (大阪市大・医・医動物)
- 46 ナイジェリア, Epe におけるマラリアの調  
査  
堀 栄太郎 (埼玉医大・寄生虫)  
天野 皓昭 (横浜市大・医・寄生虫)  
高岡 正敏 (埼玉県衛研)  
E. O. Ogunba (イバダシ大)
- 47 戦後 (1946—1948), 沖縄本島北部の森林  
内で大流行したマラリアの主要伝播蚊と思

- われるオオハマハマダラカ  
宮城 一郎, 当間 孝子, 照屋 寛善  
(琉球大・医・保健)
- 48 救命しえた脳性マラリアの1例  
菊田 公一, 林 茂樹  
(水戸協同病院・内科)  
田辺 清勝 (東大・医科研・内科)
- 49 卵型マラリアを疑わしめた三日熱マラリア  
の輸入症例  
塚本 増久 (産業医大・医動物)  
藤吉 利信 (福岡市感染症センター)
- 50 輸血により感染したと思われる卵型マラリア  
の1例  
天野 皓昭, 大島 智夫  
(横浜市大・医・寄生虫)  
原野 浩, 蘇 鴻偉, 伊藤 章,  
大久保隆男 (横浜市大・医・一内科)  
渡辺真一郎, 毛利 博  
(横浜市大・中検)
- 51 卵型マラリア原虫感染赤血球の微細構造的  
変化  
松本 芳嗣, 松田 信治, 吉田 幸雄  
(京府医大・医動物)
- 52 三日熱マラリア原虫の経時的形態学的観察,  
特に Sulfamonomethoxine 投与との関係  
天野 博之 (天理病院・海外医療科)  
西山 利正, 猪木 正三, 荒木 恒治  
(奈良医大・寄生虫)
- 53 熱帯熱マラリアのキニーネ静脈内注射療法  
海老沢 功 (東邦大・医・公衆衛生)  
田辺 清勝 (東大・医科研・内科)
- 54 三日熱, 熱帯熱および卵型マラリアの ST  
合剤による治療  
吉田 幸雄, 松本 芳嗣, 山田 稔,  
塩田 恒三 (京府医大・医動物)  
小林 祥男, 金 竜起  
(京都市立病院・伝染)
- 55 中米型オンコセルカ症: 各種診断法の相互  
比較  
多田 功, 是永 正敬, 三森 龍之  
(熊本大・医・寄生虫病)
- 坂本 信 (長崎大・熱帯医研・寄生虫)  
吉村 健清 (産業医大・臨床疫学)  
J. C. カストロ, G. セア F.  
(グアテマラ・マラリア防圧部)
- 56 犬糸状虫成虫の *p*-nitrophenyl phosphate  
水解酵素活性の阻害剤  
牧 純, 中島美佐保, 柳沢十四男  
(北里大・医・寄生虫)
- 57 流血中のミクロフィラリアに対する細胞付  
着  
林 良博, 森田真奈美, 野上 貞雄,  
白坂 昭子, 田中 寛  
(東大・医科研・寄生虫)
- 58 甲府盆地の荒地における宮入員の調査  
中島 康雄, 莊 正國, 佐藤 孝彦  
(山梨医大・寄生虫)
- 59 ビルハルツ住血吸虫虫卵アレルギーの分画  
とその性状  
大橋 真 (宮崎医大・寄生虫)  
石井 明 (岡山大・医・寄生虫)  
H. Feldmeier  
(Bernhard-Nocht-Institut)
- 今井 淳一 (宮崎医大・寄生虫)  
堀井洋一郎 (長崎大・医・医動物)
- 60 マンソン住血吸虫感染マウスの虫卵抗原及  
び成虫抗原に対する ELISA 抗体の出現状  
況  
伊藤 洋一, 齊藤 七瀬  
(北里大・医・寄生虫)
- 61 住血吸虫: 肝の生化学的変化の検索モデル  
の開発  
田辺 将信, 竹内 勤, 浅見 敬三  
(慶大・医・寄生虫)
- 62 住血吸虫感染マウスにおける肝癌発生過程  
塘 普, 宮里 稔, 柿添 有二,  
飯田 広樹 (久留米大・医・寄生虫)
- 63 西アフリカ諸国在住邦人の眼疾患について  
鈴木隆次郎, 城山 力一  
(獨協医大・眼科)
- 64  $\gamma$  グロブリンによるA型肝炎の予防効果  
小原 博, 表 光代, 伊藤小夜子,

- 大利 昌久, 大谷 杉士  
(青年海外協力隊事務局)
- 海老沢 功 (東邦大・医・公衆衛生)
- 65 プラジカンテルによる各種吸虫症, 条虫症  
の駆虫成績  
井関 基弘, 木俣 勲, 加藤真由美,  
高田 季久 (大阪市大・医・医動物)
- 66 熱帯性寄生虫病治療薬について  
尾辻 義人, 原田 隆二, 中島 哲  
(鹿児島大・医・二内科)
- 67 1981年度西アフリカ沿岸諸国巡回診療をふ  
り返って  
関根 勇夫 (獨協医大・一小児科)  
大蔵 健義 (獨協医大・産婦人科)  
本島 新司 (獨協医大・アレルギー内科)
- 68 西アフリカ巡回診療でのポータブル超音波  
診断装置の使用経験  
高田 悦雄, 信田 重光  
(獨協医大・一外科)
- 69 南西アジア在留日本人の精神衛生について  
池森 亨介 (獨協医大・アレルギー内科)  
城山 力一 (獨協医大・眼科)  
新部 哲雄 (獨協医大・産婦人科)  
信田 重光 (獨協医大・一外科)
- 70 熱帯病・寄生虫症の診断上の問題点  
田辺 清勝 (東大・医科研・内科)  
田中 寛 (東大・医科研・寄生虫)  
荒木 国興 (国立公衆衛生院・寄生虫)
- 71 JICA 海外受託研修の人物交流に参画して  
松村 武男 (神戸大・医・医動物)

## 一般講演

## 1 ヒトスジシマカにおけるチクングニアウイルス感受性: オアフ系と兵庫系における増殖パターンの比較

小西 英二, 松村 武男

(神戸大・医・医動物)

山西 浩 (神戸学院女子短大)

媒介蚊におけるウイルス増殖の様式を探る目的で、ヒトスジシマカのチクングニアウイルスに対する感受性を調べた。オアフ系は今回供試した10系統の中で最も高いウイルス増殖を示し、経口感染後3日目ですでに摂取量の $10^5$  PFUを越えるウイルス力価を保有する個体が出現し、ほとんどの個体が $10^3 \sim 10^5$  PFUを示した。8日目には保有ウイルス量の分布は $10^1 \sim 10^6$  PFUに広がり、 $10^6$  PFUを示す蚊の割合は25%に上昇した。さらに14日目には蚊当たり $10^6 \sim 10^7$  PFUを保有する高感受性グループ、 $10^3 \sim 10^4$  PFUを示す低感受性グループ、ウイルスを検知できない非感受性グループに分かれた。この3峰性のパターンは21日目以後認められず、保有ウイルス量の最高値は低下する傾向にあった。一方、兵庫系では感染後3日目にすべての蚊が $10^2$  PFU以下を示し、14日目でも $10^3$  PFUを越える個体は殆ど認められなかった。

非感染蚊の割合は兵庫系では感染後2日目に約60%に達し、以後14日目まで同じ値を示したのに対し、オアフ系では少なくとも7日目まではすべての個体がウイルスを保持し、非感染蚊の出現は7-14日目であった。血液中のヘモグロビン量および免疫グロブリン量を指標として推定した吸血後の中腸内での消化または排泄(両系とも2日目まで殆ど消失)を考えると、兵庫系における非感染蚊の経日的変化はこの系の非感受性グループ蚊の中腸細胞がウイルスを増殖あるいは保持しなかったことを示すのに対し、オアフ系の非感受性グループの場合はいったん細胞内で増殖するか保持され

たものと思われる。従って前者に対して非好適、後者に対して好適かつ抵抗性の概念が導入できることが示唆された。

## 2 長崎産チカイエカの1系統におけるWolbachiaeの駆除と和合性の変化

末永 敏

(長崎大・熱帯医研・資料室)

フィラリア症の主要媒介者として知られているアカイエカ群の蚊は、その生殖細胞中にリケッチア様の微生物(Wolbachiae)を保有しており、この微生物がこの蚊群の細胞質不和合性の出現に関わっていることは既に明らかにされている。しかし、この微生物だけが不和合性発現の原因であるかどうかは明らかでない。そこで、このことを明らかにするために、互いに不和合性の2系統について孵化直後の蚊幼虫をテトラサイクリンで処理することによって微生物を駆除し、微生物がいなくなった両系統の蚊の和合性が変わるかどうかを交雑実験によって明らかにすることを計画した。

今回はまず、長崎産のチカイエカについて、孵化直後の幼虫を $25^\circ\text{C}$ の飼育室で、5%テトラサイクリン水溶液中で24時間処理することにより、微生物を駆除することに成功したので、その概要を報告したい。

実験に供した材料は1980年5月に長崎市内でオビトラップによって採集された1卵塊から累代飼育中のチカイエカの第76世代のものであった。蚊幼虫を処理したテトラサイクリンの濃度は20%、10%、2.5%と5%(重複)、及び5%の4段階で、合せて12回の実験を繰返したが、5%での唯1回の成功例を除いて、他はすべて、幼虫が全部死亡したり、幼虫は発育して蛹化、羽化しても全く産卵しなかったり、産卵してもその卵塊は全く孵化しなかったり、あるいは孵化率が悪くて次世代が得られなかったりして悉く失敗した。

微生物の駆除に成功した系統はその後も累代飼

育を続けており、現在第12世代に及んでいるが、戻し交雑の結果、この系統の雌が、元の微生物を保有している系統の雄との間に不和合性を保ち続けていることを確認した。

### 3 京都市洛北、深泥池畔において採集したユスリカ類、蚊類について

正垣 幸男 (京大・医・病理)

木野 稔也, 大島 駿作

(京大・医・胸部研)

ダニ類 (コナダニ, ヒョウヒダニなど), 昆虫類 (ハチ, カ, チョウ, ガ, トビケラ, ゴキブリなど) によるアレルギーについては、既に免疫学的に優れた報告がなされ、今回、京大・医・胸部研内IIにおいてユスリカ類と吸入性アレルギーとの関連の解明のために調査研究が進められ、京都市洛北、深泥池畔においてドライアイス・ライトトラップによる5日毎の夜間定期採集を昭和58年(1983)3月初～同年11月末の間実施したので、ユスリカ類 chironomid とカ類 mosquito の採集結果の概要を報告したい。

ユスリカ類の分類について、その生活史における幼虫、蛹、成虫の形態についての最新の分類を進められている静岡大学・橋本 碩教授の指導を賜った。

ユスリカ類は943個体、14種、即ち、*Chironomus yoshimatsui*, *C. kiiensis*, *C. nipponensis*, *Endochironomus impar*, *Pentapedilum sordens*, *Polypedilum cultellatum*, *Pentaneura octopunctata*, *P. monilis*, *P. maclipennis*, *Procladius sagittalis*, *Anatopynia geotghebueri*, *A. varia*, *Psectrotanypus orientalis*, *Cricotopus triannualatus* などを採集し、その内、セスジユスリカ *Chironomus yoshimatsui* が57.4%を占めた。カ類は25,505個体、13種、即ち、*Anopheles sinensis*, *Mansonia ochracea*, *M. uniformis*, *Uranotaenia bimaculata*, *Aedes japonica*, *A. albopictus*, *A. vexans nipponii*, *Armigeres subalbatus*, *Culex pseudorishnui*, *C. bitaeniorhynchus*, *C. tritaeniorhynchus summorosus*, *C. orientalis*, *C. pipiens pallens* などを採集し、その内、コガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus sum-*

*morosus* が97.1%を占め最優占種であった。

### 4 日本産恙虫の現況

鈴木 博

(長崎大・熱帯医研・ウイルス)

1980年頃より全国に亘って恙虫病患者が多発し、社会的な問題として注目されている。わが国の恙虫に関する研究史を見ると、1915年-20年と1950年-60年代に大きな進歩を遂げたと見られる。1970年以降、わが国の恙虫病患者の発生は減少の一途を辿り、それに伴って恙虫に関する研究も減少していった。当時の恙虫相を熊田 (1970) は24属30亜属79種と報告している。演者は、富士山麓 (1972) 及び南西諸島 (1975, 76) を中心に、長崎県 (1982) とその離島 (1978, 79) を調査し10属16種の新種と4属4種の新記録種を報告した。一方、高田 (1977, 78, 79) は東北地方を主に調査し3属6種を新種記載した。これらの種について Vercammen-Grandjean (1968) の提唱した新しい分類体系に従って既知種をも含めて整理する。Grandjean の新体系の分類の特徴は、これまで Trombiculidae 1科に包括されていたツツガムシ類を Leeuwenhoekiidae と Trombiculidae の2科に分け、それぞれ2亜科とし、前者を2族、後者を4族に分割している。この分類体系で重視されるのは、従来の背甲板の形態、計測値などのほかに、触肢先端の爪の分枝数、同末節の分枝毛及び感覚棘、単条毛の数、各脚の単条毛の数とその位置によって、属及び亜属と分類している。この方式に従うと、わが国の恙虫は29属38亜属109種となる。今回の報告では南西諸島から記録された本邦未記録属を中心に、既知種で明らかに synonym とされた種、近似種について述べる。本邦未記録属はトカラ列島中之島で記録した *Blankaartia*, 奄美大島から採集された *Walchiella* の3種、同じく奄美大島の離島からの *Schoengastia*, アマミノクロウサギに特異的に寄生する *Cordiseta* 属である。Miyazaki et al. (1959) によって記載され Kaneko et al. (1966) が再記載した *Whartonia iwasakii* は F. J. Santana (1976) の指摘によって *W. prima* (Scluger et al., 1959) の

synonym となる。

### 5 南西諸島の母子相互作用

寺脇 保 (鹿児島大・医・小児科)

馬場 泰光

(鹿児島市医師会病院・小児科)

木場 道子 (鹿児島市中央保健所)

子どもの健全な成長と発達に多大な影響を与えるのは、母親である。現在、子どもたちは物質的に恵まれ育てられているが、その反面、家庭内暴力、非行化、登校拒否などの問題がクローズアップされてきている。

私どもは、古い日本の母子相互関係の原型が残されているかもしれないとの考えから、昭和56年に離島においてアンケート調査を行ってみたが、不十分な面も出てきたので、さらに、南西諸島の古老の方々にそれぞれの育児法について、直接インタビューをしてみた。その結果を要約すれば次の通りであった。

約50年前の母子関係をみたのであるが、昔は想像以上に生活に追われていたために、育児という面では悲惨であり、現在の方がはるかに進んでいるということがいえると思う。しいて昔の方がよかったという面を言えば、子どもが親の生きざまをよく見て育ったということ、社会が複雑でなかったこと、また、自然に親しんで育てていたということなどがあげられる。一方、昔の庶民の生活では、とび抜けて社会的地位を得させたいという願望は少なかったようである。したがって、自分の力に応じた方向に進んだのではないか。このような生活の中であり、ひどい非行児や社会的悪事を働く子どもは少なかったというのが特徴のようである。しかし、これはもっと分析してみなければならない。

なお、以上の育児傾向は、薩摩半島、屋久島、奄美大島、沖縄本島、波照間島、与那国島という直線距離で約1,300kmもあり、しかも離島の島島でありながら、ほとんどかわりなかった。これは、一つには沖縄県、鹿児島県の離島は一つの文化圏と考えてもよいからであろう。

### 6 暑熱環境への適応機構について

藤原真理子, 大渡 伸, 小坂 光男

(長崎大・熱帯医研・環境生理)

外部環境の変化に対する生体の適応、特に暑熱順化時にみられる適応的生理機能の諸変化を知るために、家兎を用いて暑熱順化モデルを作り、種類のパラメータの関連性について検討を加えた。

環境温 30°C で1カ月以上飼育した暑熱順化ウサギは、1分間に200回から300回の浅速呼吸を行い、気道からさかんに熱放散を行っている。又、食欲が減退し、体重増加の速度が小さい。しかし核心温の指標としてとらえた直腸温は、30°C への暴露後数日間、一過性に高温側へシフトするが、以後 39°C 付近で安定し、25°C で飼育したコントロール群との間に有意の差はみられなかった。この両群の体温調節能を比較するために、これらの動物を無麻酔にて脳定位固定し、外気温を 10°C から 40°C まで連続的に変化させると、特に脳温及び脳血流量に変化が認められた。これらの変化の相関をみたところ、局所脳血流量は、直腸温とは相関がなく、視床下部温と有意の相関がある事が明らかになった。しかしながら視床下部温に対して局所脳血流量をプロットした時の回帰直線の勾配は、暑熱順化群における方が、コントロール群におけるより小さかった。

この事から、暑熱順化においては、温度受容能が、末梢のみならず中枢でも変化して、それが外気温変動に伴う局所脳血流量変化を減少させる原因となり、ひいては高温環境下での体温調節にも有利であると考えられる。

### 7 インドネシア国北スマトラにおける G6PD 欠乏者について

松岡 裕之, 石井 明

(岡山大・医・寄生虫)

W. Panjaitan (北スマトラ州衛生局)

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) 欠乏症は先天的酵素欠乏症であり、伴性遺伝する。通常は特に症状を呈しないが抗マラリア剤、サルファ剤などの投与時に溶血を起こすことがある。



欠乏者の割合は、日本では男子の0.1%以下といわれごく少ないが、東南アジアでは10%をこえる地方もみられる。欠乏者の分布はマラリアの流行地と密接な関連があるといわれ、G6PD欠損赤血球はマラリア感染を受けにくいからと考えられている。しかし欠損者の分布は未だ十分な調査が行われておらず、WHOの報告でも例えばインドネシアでは欠損者率は男子の1%以上というおおよっぱなものでしかない。今回演者らはインドネシア国北スマトラ州においてマラリア対策の協力にあたった際、8-aminoquinoline (Primaquine)の使用に先だって、G6PD欠乏者のスクリーニングを施行した。方法は藤井らの開発した、G6P, NADP, 発色剤を含む寒天上に、イオン交換濾紙に採血した検体を置き、黄→青への変色域の大きさを観察する定性法によった。

結果としてマラリアの流行地においては、293名の男子中17名(5.8%)に欠損者を認めた。非流行地では110名の男子中1名(0.9%)の欠損者であった。合計では4.5%の欠損者率を得た。またG6PD正常者群と欠損者群とをマラリア罹患率で比較してみると、前者で25/276(9.1%)、後者で3/14(17.6%)であった。両比率に統計的有意差はなかった。

## 8 ケニア西部における Kaposi's sarcoma の地理病理学

鳥山 寛, 宇津田 含, 板倉 英世  
(長崎大・熱帯医研・病理)

Kaposi's sarcoma は1872年ハンガリーの M. Kaposi によって特発性出血性色素沈着性肉腫 (Idiopathic hemorrhagic pigment sarcoma) として報告されて以来、東欧、地中海沿岸諸国の住民、及び北米のユダヤ系住民に多く見られる疾患とされて来た。近年アメリカ合衆国における男性同性愛者間での AIDS (後天的免疫不全症候群) の発生とともに Kaposi's sarcoma はその主な合併症の一つとして注目されており、中央アフリカを起源とするハイチ原住民にも多発する事から AIDS の病原体と考えられているレトロウイルスをアフリカ由来のものとする考えもあり地理病理

学的見地からも非常に興味ある疾患である。我々はこれとは別に東アフリカ・ケニア共和国において10年来 Kaposi's sarcoma の調査研究を行っており、1979-1983年の5年間においてはケニア西部 Rift Valley Province, Nyanza Province, Western Province の3州における Kaposi's sarcoma の地理病理学的調査を病理組織学的調査とともにに行い次の結果を得た。1) 全悪性腫瘍中2.80%が Kaposi's sarcoma であった。2) 50歳台に発生件数のピークがある。3) 男女比は7.5:1である。4) 原発部位は成人例では足、下肢、手、腕の順に多い。5) 小児例では大多数がリンパ節原発である。6) ウガンダに隣接する地域、すなわち Nyanza Province, Western Province 及び、そこに居住する Luo 族, Luhya 族に高頻度に見られた。

以上の結果より、ケニア西部における Kaposi's sarcoma は Victoria 湖畔及びウガンダ国境付近の高温で比較的、降水量に富む地域に高頻度に見られ北部、南東部の乾燥した地域には少ない事がわかった。

又、同地域は種々の熱帯寄生性疾患の蔓延地帯であり、それらの疾患と Kaposi's sarcoma との関連性を追求すると同時にアメリカ合衆国における AIDS に併発する Kaposi's sarcoma との異同を明らかにする必要があると思われる。

## 9 ケニア西部における Rhinoscleroma

宇津田 含, 鳥山 寛  
(長崎大・熱帯医研・病理)

Rhinoscleroma はグラム陰性桿菌 *Klebsiella rhinoscleromatis* によって引き起される上気道の感染性肉芽腫症である。鼻腔内に蠟様の光沢を持った隆起性病変として発症し、上気道に浸潤し徐々に増大して末期には鼻部を中心とする顔面の破壊、変形及び気道の閉塞をもたらし出血や呼吸困難、嚥下性肺炎等により患者を死に致らしめる。かつては欧米先進諸国にも存在したが、現在では熱帯、亜熱帯地方に局在しており特にエジプトを中心とする北アフリカ、エルサルバドルを中心とする中南米からの報告が多い。性、年齢を問わず

罹患し得るが、劣悪な衛生状態下に生活する若、中年の女性により高率に見られ、しばしば家族内発生を見る事もある。

我々は1979-1983年、5年間に亘ってケニア西部、Western州、Nyanza州、Rift Valley州の3州における外科的標本を病理組織学的に検索し2例のRhinoscleromaを得た。患者は2例とも中年あるいは高年の女性であり、比較的、降水量の多いWestern州のBusia及びRift Valley州のKerichoに居住していた。同地における多くの種類の感染性疾患の中では本疾患は稀な疾患だと思われる。

病理組織学的には、萎縮した粘膜上皮、及び粘膜下組織内への形質細胞の浸潤、形質細胞由来と考えられている正円形で直径20~40 $\mu$ 、均質で無構造の好酸小体(Russell body)と組織球由来で泡沫状の形態を示すFoamy cell (Mikulicz cell)の出現及びリンパ球の集簇、さらにそれを取り囲む線維性結合織の増殖が特徴的な所見であり、病変の進行に従って線維症の程度は強くなる。また通常Mikulicz cellの胞体内には多数の*Klebsiella rhinoscleromatis*が貪食されており、これはP. A. S., Giemsa, Methenamine silver等の染色法で証明されるが、スピロヘータ染色に用いられるWarthin Starry法が最も効果的に胞体内の桿菌を染色する。

#### 10 フィジー国 Galoa における人類遺伝学的研究

吉澤 一樹, 末永 真次, 寺脇 保  
(鹿児島大・医・小児科)

馬場 泰光

(鹿児島市医師会病院小児科)

我々はFiji, Viti Levu島のGaloaにおける人類遺伝学的研究を行ったのでその結果を述べると共に他部落および薩摩半島との比較についても報告する。

研究対象および項目: 対象はGoloaの学童63名(男30名, 女33名)と他にSandro 43名, Vunibau 65名, Mau 48名である。項目はABO, RhD, MN血液型, 耳垢型, 味盲, 二重眼瞼, 指

紋の7つの形質である。

成績および考按: ABO血液型はO型52.4%, A型30.2%, B型15.9%, AB型1.6%であった。A遺伝子頻度は0.179で4部落中Sandroに次いで低値で、薩摩半島よりかなり低値であった。B遺伝子頻度は0.096でSandroに次ぐ高値を示したが、薩摩半島よりかなり低値であった。O遺伝子頻度は0.724で他の部落も近似の値で薩摩半島より高値であった。RhD血液型は全例D(+)であり、FijiではRhD(-)はかなり稀であろうと思われる。MN血液型はM型9.5%, N型61.9%, MN型28.6%であった。M遺伝子頻度は0.238で日本人よりかなり低値を示した。逆にN遺伝子頻度は0.762で日本人よりかなり高値を示した。耳垢型はWetが49.2%で他の部落も近似の値で薩摩半島の約2倍の高値を示した。PTC味盲は20.6%, 遺伝子頻度0.454で、4部落中、中位で薩摩半島に近い値を示した。眼瞼は全例二重眼瞼で他部落も極めて高値を示した。指紋は渦状紋49.4%, 蹄状紋47.0%, 弓状紋3.7%でPattern Intensityは145.7で他の部落も近似の値で薩摩半島とも近い値を示した。

以上を総括すると、フィジー原住民は薩摩半島に対して、味盲, 指紋の二つの形質は近似するものの、O, N, 耳垢Wet遺伝子頻度と二重眼瞼頻度で高値, A, B, M遺伝子頻度で低値の傾向を認め、両者は遺伝形質的には関連がうすいようにみえる。又、フィジーの部落間では遺伝形質的に若干の相異点もみられ興味深いことと思われる。

#### 11 フィジーにおける健康成人の末梢血液学的検索

寺師 慎一 (鹿児島大・南海研)

松元 正 (鹿児島大・医・腫瘍研)

ビチレブ島(Fiji)の3小地区住民[Galoa, Mau, Raiwaqa (Navua)]の健康成人について末梢血液学的検索を行った。総計157例のうち、Fijianは男性63例, 女性56例, Indo-Fijianは男性21例, 女性17例であった。

全症例について末梢赤血球数(RBC), ヘモグロビン値(Hb), ヘマトクリット値(Ht), 末梢白血球

数(WBC)を、Galoa については末梢血白血球分類を行った。

赤血球系各検査で Fijian の RBC (男性  $4.73 \pm 0.96 \times 10^6/\text{mm}^3$ , 女性  $4.38 \pm 1.08 \times 10^6/\text{mm}^3$ ), Hb (男性  $14.2 \pm 2.8 \text{ g/dl}$ , 女性  $13.0 \pm 2.4 \text{ g/dl}$ ), Ht (男性  $43.9 \pm 7.6\%$ , 女性  $39.8 \pm 7.0\%$ ), および Indo-Fijian では検者数は少ないが RBC (男性  $4.74 \pm 0.99 \times 10^6/\text{mm}^3$ , 女性  $4.32 \pm 1.52 \times 10^6/\text{mm}^3$ ), Hb (男性  $14.0 \pm 2.9 \text{ g/dl}$ , 女性  $11.8 \pm 4.7 \text{ g/dl}$ ), Ht (男性  $43.8 \pm 6.9\%$ , 女性  $37.9 \pm 12.6\%$ ) と日本あるいは欧米の健康人のものとほぼ同様の値を示した。

しかしこれら健康成人と思われた中に11例の貧血症例がみられ、それは Fijian の6例(男性: 小球性低色素性, 正球性正色素性および大球性高色素性貧血の各1例, 女性: 小球性低色素性, 正球性高色素性および大球性高色素性貧血の各1例)と Indo-Fijian の5例(男性: 小球性低色素性および大球性高色素性貧血の各1例, 女性: 小球性低色素性貧血の3例)であった。

白血球数では Fijian (男性  $10.3 \pm 4.9 \times 10^3/\text{mm}^3$ , 女性  $11.3 \pm 6.1 \times 10^3/\text{mm}^3$ ), Indo-Fijian (男性  $9.8 \pm 4.7 \times 10^3/\text{mm}^3$ , 女性  $10.6 \pm 5.0 \times 10^3/\text{mm}^3$ ) とともに増多の傾向を示した。Fijian のみより成る Galoa 地区の白血球分類で好酸球の絶対数  $700/\text{mm}^3$  以上の増多例は男性22例中19例(平均  $2,045 \pm 1,147/\text{mm}^3$ ) 女性32例中28例(平均  $1,830 \pm 1,119/\text{mm}^3$ ) といずれも85%以上の例で増多症がみられた。

以上の結果より、貧血症の原因解明のためにも、これらの地区での寄生虫ならびに栄養学的検査も必要と思われた。

本研究は昭和57年度文部省特定研究経費(鹿児島大学南方海域研究センター「オセアニア海域における水陸総合学術調査」)によった。

## 12 フィジーにおける歯科疾患実態調査

仙波伊知郎

(鹿児島大・歯・口腔病理)

歯科保健の立場からは、まず地域住民の疾病罹患状態を明らかにし、地域特有の問題点を検討す

る事が重要である。さらに、自給自足的生活を営む集団に於ては、食生活を中心とする生活環境と疾病との関係について検討し、治療に際しても考慮されなければならない。今回の短期間の調査(鹿児島大学南方海域研究センター「オセアニア海域における水陸総合学術調査」昭和57年度文部省特定研究)では、歯科疾患と食物、習慣等との関係について、詳細な検討は出来なかったが、村落に定住し自給自足的生活を営む者の歯科疾患、歯科医療の実態について、その概要を報告する。調査には、WHO による複合的口腔診査法を準用し、一部の者の上下顎全顎印象を採得した。一般的に顎顔面、口腔の発育は良好で、多くの者に第3大臼歯の正常な萌出が見られた。歯牙の状態は、喪失歯が多く50歳代以降では現在歯数が15本以下の者が半数以上を占めた。齲蝕は各年代とも1人当たり3~4本で、充填処置歯は非常に少なく、アマルガム充填のみであった。歯垢・歯石の沈着は高度で、年齢とともに増加し、特に下顎前歯部舌側歯面に顕著な歯石沈着が見られた。歯周組織の状態は、高度の歯肉炎が10歳代から認められ、高度の歯周炎は30歳代以降年齢とともに増加して認められた。歯科治療の主体は抜歯であり、聞きとり調査に於ては、希望する治療内容は約半数の者が抜歯と答えた。砂糖消費量が少ないと思われる住民には齲蝕は顕著ではないが、口腔清掃習慣を持たない為、歯垢・歯石の沈着が著しく、高度の歯周疾患に罹患し、抜歯後の補綴処置がなされない事と相まって、病変の進行に拍車をかけているものと考えられる。学童のみならず、成人に対する実際的な口腔衛生指導が望まれ、安易な対症療法としての抜歯は、歯科的問題を一層複雑なものにすることと考えられる。

## 13 フィジーにおける広東住血線虫について

内川 隆一, 佐藤 淳夫

(鹿児島大・医・医動物)

高木 正洋 (三重大・医・医動物)

又吉 盛健

(鹿児島大・熱帯医研・疫学)

文部省 特定研究 により 1981-82年 に 互り フィ

ジー・ビチレブ島の4地区において広東住血線虫 (Ac) の調査を野鼠と陸産軟体動物について実施した。その結果、調査した4地区すべてのクマネズミおよびナンヨウネズミから高率 (20.0-56.8%) に Ac 成虫を見出した。またアシヒダナメクジ 4/4, 未同定マイマイ 10/20 から第3期仔虫を得、ラットに経口投与して Ac 成虫を回収した。これまで Ac の分布はフィジーにおいて知られておらず、したがって患者の報告もないが、周辺の島々における状況を考えると今後注意を要するものと思われる。そこで野鼠および住民血清を用いて Ac 粗抗原に対する抗体保有率を Ouchterlony 法により検査したところ、Ac 陽性野鼠 11/13, Ac 陰性野鼠 4/28 および住民 26/138 に沈降線の形成を見た。しかし糞便検査の結果、住民の回虫、鉤虫保有率が高く、糸状虫も分布していることからブタ回虫 (As), イヌ糸状虫 (Di) 粗抗原に対する検査を行い、それぞれ 22, 83 例について沈降線を得た。これらのうち 3 例は Ac に、45 例を Di にのみに反応した。さらに Ac 以外の抗原にも反応した血清 23 例について As または Di による吸収試験を実施し、Ac に対する検査をしたところ、Di で吸収した 21 例ではすべてにおいて沈降線は見られなかったが As で吸収した 10 例中 3 例に沈降線の形成が見られた。この中には Di とは反応しない 1 例が含まれていた。

#### 14 インド・カシミール州における寄生虫疾患の調査

長瀬 啓三, 前野 芳正, 戸谷 徹造  
(藤田学園・医・寄生虫)

野本信之助, 津田 豊彦  
(藤田学園・医・外科)

Muzzafar Ahmad (スリナガル医大)

インド・カシミール州スリナガルにてスリナガル医科大学の協力の下にチトランジャン移動病院にて寄生虫疾患について調査を行った。調査は現地住民 90 名 (男 53 名, 女 35 名) を対象に予め当方で用意した質問事項を記入した問診表により現地医師による診断と並行して行った。同時に採血と糞便を採取した。しかし今回実際に回収できた糞

便数はわずか 90 名中 28 名でこの糞便成績とその臨床検査成績及びトキソプラズマ抗体の検討を行ったので併せて報告する。

糞便検査成績では現地住民の 96% に寄生虫感染がみられ、その殆どが回虫であった。その他鞭虫が 52% 見られたが、感染者の多くは回虫、鞭虫両種の混合感染であった。その他無鉤条虫 4%, 赤痢アメーバ 4%, 大腸アメーバ 7%, ランブル鞭毛虫 7% の感染が見られた。感染者の性別では男子に多く、年齢別では男女とも 21-30 歳に多く見られた。次にラテックス凝集反応によるトキソプラズマ抗体について検討した。寄生虫感染者の 42% がトキソプラズマ抗体陽性を示したが、その殆どが男性であった。臨床化学検査では総蛋白、総コレステロール、GOT、GPT、LDH、アルカリホスファターゼ値はいずれもほぼ正常値範囲内で特に異常値は認められなかった。また血清学的には IgG、IgM、IgA はいずれも特に著変は見られなかったが IgE 値は全体的に高値を示した。その他好酸球の増加が著明であった。

#### 15 エクアドル国のリーシュマニア症

橋口 義久 (高知医大・寄生虫)

三森 龍之 (熊本大・医・寄生虫病)

川端 真人 (予研・寄生虫)

ゴメス, E. A., コロネル, V. V.

(エクアドル国・熱帯医研・寄生虫)

南米のエクアドル共和国では、皮膚型および皮膚粘膜型リーシュマニア症が広く流行している。しかし、同国における本症の疫学調査は、従来、殆ど実施されていない。またベクターであるサシチョウバエや、保虫宿主としての家畜ならびに野生動物についての調査も皆無である。今回、我々はエクアドル国のリーシュマニア症流行地において、ヒト、サシチョウバエおよび野生動物の本症による感染状況を調査する機会を得た。本症の流行地は、いわゆるアンデス山脈の高地を除く殆どの地域に及び、同国の公衆衛生学上、大きな問題であることを確認すると同時に、次の知見を得た。

1. 一新開拓村 (1977 年人植) 住民の調査では、被検者 95 名中 15 名 (15.8%) に潰瘍保有者を認め

た。また治癒病変保有者を含めると、この村でのリーシュマニア症経験者は57名(60.0%)にのぼり、高浸淫地であることが明らかとなった。2. 流行地におけるヒト吸血性サシチョウバエを調査したところ、*Lutzomyia trapidoi* と *Lu. hartmani* に *Leishmania braziliensis s. l.* の promastigotes が見出され、感染率はそれぞれ7.7%と3.9%であった。また同国太平洋岸の流行地(8地域)において、ヒト吸血性の6種を記録した。これらの種は、それぞれの流行地でベクターの役割を果たしている可能性がある。夕方から朝にかけてのヒトを囿とした継続採集では、上記2種のサシチョウバエは薄暮・夜間吸血性を示し、家屋内での吸血も認められた。3. 保虫動物としてはナマケモノ *Bradypus infuscatus ehippiger*, リス *Sciurus granatensis*, アライグマ *Potos flavus* がリーシュマニア原虫陽性であった。なお、エクアドル国リーシュマニア症のベクターおよび保虫動物の証明は、今回が最初のものである。

#### 16 フィリピン・レイテ島における肺吸虫の調査

川島健治郎

(九州大・医技短大・医動物)

波部 重久, 木船 悌嗣

(福岡大・医・寄生虫)

Bayani L. Blas

(フィリピン保健省・住血吸虫)

カニおよび野ネズミにおける肺吸虫の自然感染を調べた。カニの調査は1979年1月にハロー地区で行った。Malopago 村で採集したカニ *Sundathelphusa philippina* 11個体全てに肺吸虫幼虫の寄生を認めた。寄生個体数は多いもので4,044個、少ないもので12個であった。寄生部位については筋肉(70%), 心域(22%), 鰓(5%)の順に少なく、肝には殆ど寄生していなかった。ネズミにおける調査は1980年5月に同じ地区で行った。採集した *Rattus rattus* 11匹のうち4匹に肺吸虫の寄生を認めた。得られた成虫18個体のうち17個体は何れも肺の“虫のう腫”からのもので、残る1個体は胸腔遊離の未成熟なものであった。カニか

ら得られた幼虫は動物に感染させ成虫を得、形態的特徴によりフィリピン肺吸虫 *Paragonimus westermani filipinus* と同定された。野ネズミから得られた成虫も同じフィリピン肺吸虫と同定された。

#### 17 Ponape および Kosrae 島における広東住血線虫の調査

内田 明彦 (麻布大・環境生物)

石橋 正彦 (麻布大・育種)

矢部 辰男 (神奈川県衛生研究所)

宇田川竜男 (麻布大・環境生物)

Ponape 島における広東住血線虫症の疫学およびネズミ類の調査は Bailey (1948), Jackson (1962) らによって行われており、それによればクマネズミ *Rattus rattus*, ナンヨウネズミ *R. exulans* から広東住血線虫の成虫を見出している。しかしその後の調査はされていない。今回、我々は文部省特定研究により1984年4月および7月に Ponape および Kosrae 島とその周辺の島々に生息するクマネズミ, ナンヨウネズミ, ハツカネズミ *Mus musculus* を検査する機会を得た。

調査場所は Ponape 島 (Kolonias, Sokehs, Sapoutik, Nan, Madol, Ohwa, Kitti, Nah 島) および Kosrae 島 (Kosrae, Lelu Ruin 島) で、クマネズミ94頭, ナンヨウネズミ65頭, ハツカネズミ53頭の計212匹を調べた結果、クマネズミ19頭(20.2%) (Nah 島, Nan Madol, Ohwa で感染がみられた), ナンヨウネズミ27頭(41.5%) (Kolonias, Sapoutik, Ohwa, Kitti, Kosrae 島, Lelu Ruin 島で感染がみられた) の肺動脈内に広東住血線虫の成虫の感染がみられた。またハツカネズミはすべて陰性であった。

#### 18 ELISA による局所筋肉中のハブ毒の定量 1

野崎 真敏, 富原 靖博, 山川 雅延

(沖縄県公害衛研・ハブ支所)

ハブ咬症の主な特徴は激しい出血, 腫脹, 壊死などの局所病変である。これらの局所病変は咬症直後より始まり注入毒素の量にもよるが1~3日後にはほぼ極限に達するものと考えられている。

咬症患者の治療は、このような刻々と変化する局所病変を指標に抗毒素の投与量や外科的処置の適応を検討しているが、咬症時の局所での毒素の量や残留時間を明らかにすることができれば抗毒素の投与量や切開処置の適応の判断に大きく役立つであろう。

このようなことから我々は、ハブ咬症治療へのELISAの応用の手始めとしてウサギ大腿外側広筋内にハブ毒を注射し、当該筋肉及び周辺の筋肉中の毒素量を酵素免疫測定法により測定し、経過時間と残留毒素量について検討した。

その結果、ハブ粗毒 50 $\mu$ g 注射群の大腿外側広筋中の残留毒素量は、30分後：32 $\mu$ g、1時間後：9 $\mu$ g、3時間後：7 $\mu$ g、5時間後：4 $\mu$ g、24時間後：3 $\mu$ g と最初の1時間で急激に減少した。また隣接する筋肉では、広筋上部の大腿筋膜張筋に最も多く、3~5 $\mu$ g が検出された。

ハブ粗毒 200 $\mu$ g 注射群でも同様に外側広筋中の残留毒素量は、30分後：139 $\mu$ g、1時間後：66 $\mu$ g、3時間後：41 $\mu$ g、5時間後：33 $\mu$ g、24時間後：7 $\mu$ g、48時間後：6 $\mu$ g と最初の1時間で急激に減少した。隣接する筋肉でも50 $\mu$ gの時と同様に大腿筋膜張筋に最も多く検出された。

また、局所における抗毒素の中和作用を検討するために、1時間前にハブ抗毒素を静注したウサギの大腿外側広筋中に毒素 200 $\mu$ g を注射、1時間後に残留毒素量を測定したところ、6,000u (1バイアル相当分) と 600u では遊離の毒素が 2~4 $\mu$ g と大部分は中和されていたが、60u では対照群と殆ど差はなく、抗毒素の効果は認められなかった。

## 19 ハブ毒 PLA<sub>2</sub> と CPK 活性との関係

木原 大, 橋村 三郎

(鹿児島大・医・二生理)

寺師 慎一 (鹿児島大・南海研)

大野 素徳 (九州大・理・酵素化学)

動物にハブ粗毒と同毒より精製したホスホリパーゼ A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) を筋注射し、CPK 値の測定と筋肉の病理学的検査を行った。ハブ粗毒、精製 PLA<sub>2</sub> ともウサギの CPK 値は投与後 8 時間まで

ほぼ直線的に上昇し、24 時間後もなお高いレベルを維持していた。1 匹当たり 2.5 mg 投与例では PLA<sub>2</sub> の方が粗毒より高い CPK 値を得たが、5 mg 投与例では両者に差はなかった。5 日後組織検査を行ったところ、粗毒では出血を伴った筋変性・壊死が認められ、壊死は散在性であった。一方 PLA<sub>2</sub> では筋線維の顆粒状変化や中心核・核鎖等が観察され、強い壊死の形成が認められた。

次に精製 PLA<sub>2</sub> を p-BPB で分子中に 1 個含まれているヒスチジン残基を修飾した BPB-PLA<sub>2</sub> と、BrCN で化学的切断を加え、N 端部の 8 残基のペプチドを除去した L-フラグメントをラットに筋注射した。この時 BPB-PLA<sub>2</sub> は完全に失活し、L-フラグメントは元の PLA<sub>2</sub> の数%の酵素活性を保持している。その結果投与後 4 時間で CPK 値は PLA<sub>2</sub> で対照の 12.5 倍に上昇したが、BPB-PLA<sub>2</sub> と L-フラグメントでは上昇は認められなかった。PLA<sub>2</sub> による CPK 上昇には、PLA<sub>2</sub> の酵素活性が必須であると考えられた。

粗毒と PLA<sub>2</sub> にハブ抗毒素を当量あるいは 4 倍量 (重量比) 混合して少時放置後、ラットに筋注射し CPK 値を測定した。PLA<sub>2</sub> に 4 倍量の抗毒素を加えた場合のみ、CPK 値の上昇は若干抑制されたが、それ以外では CPK 値の上昇の抑制はみられなかった。しかし病理学的観察では筋線維の変性は殆ど無く、また有っても軽微にとどまった。すなわち現在の抗毒素は CPK の上昇を抑制するまでの効果はないが、筋の変性はかなりよく抑えている結果を得た。

## 20 1983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, 沢井 芳男

(日本蛇族学術研)

我々は1957年以来毎年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きたが、今回も昨年に引続いて1983年の調査について報告する。患者数は174 (死亡0) で前年より13名増加した。その内徳之島119 (14名増) で全咬症の68%を占め奄美大島が55 (1名減) で32%であった。月別発生数では10月が31 (18%)

で最も多く、5月が28 (16%)、7月が25 (14%)、6月が24 (14%)、4月が22 (13%)、9月が18 (10%) で4月から10月までの7カ月間に127 (73%) が受傷していた。年齢別・性別受傷数では最も多いのは50代の53 (30.5%)、次は40代の31 (17.8)、60代が26 (14.9%) の順であるが咬症は10代から70代にわたって広く分布しているのが特徴である。また男子の受傷は122 (70%) で女子の52 (30%) の2倍以上に達した。受傷場所では田畑で農作業中に受傷したものが88 (51%) で最も多く、屋敷内が35 (20%) でこれについていたが道路上の20 (11.5%) を合計すると143で全咬症の82%を占めていた。人とハブとが密着していることがわかる。また、田畑及び屋敷内での受傷率は徳之島の方が奄美本島より高い。受傷部位では上肢が82 (45.1%)、下肢が93 (51.1%) で受傷の大部分を占め最も多いのは手指の47 (26%) で手の22 (12%) を加えると全咬症の約40%を占めていた。下肢では下腿の受傷が53 (29%) で最も多い。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118 (68%)、午後6時から午前6時までの暗い時刻に56 (32%) が受傷していたが、田畑での受傷は昼間が76 (86%) で大半を占め、屋敷内及び道路上では逆に夜間が40 (73%) で多かった。

ハブ咬症の予後では患者数147名のうち、軽症・中等症で血清注射によって全治したものは135 (78%) であった。重症39名のうち全身症状のみを呈し治癒したものが8 (5%) で、全身症状がなく受傷局所のみが壊死を起こしたもの22 (13%) で、その内後遺症を残したもの5例、全身症状と局所壊死を合併したもの9 (5%)、その内後遺症が4例、従って両者の後遺症の合計は9 (5%) であった。後遺症の発生率は全身症状と合併したものが高く9例中5名 (56%) が手指の壊死を起こした患者である。血清病は24例 (13.8%) に認められ、即時性3、遅延性21であった。

症状は即時性が3例とも注射直後に発疹がみられたが、うち1例は血圧下降等のショック様症状と開口障害を伴った。遅延性では発疹10、かゆみ7、関節痛6、発熱4、発赤1であった。

## 21 抗ハブ毒血清の効果

鎮西 弘

(東京医歯大・医・医動物)

酒井 健夫, 西野 松之

(日大・農獣医・獣医衛生)

最近10年間の奄美・沖縄諸島におけるハブ咬傷患者数は徐々に減少し、死亡者ゼロの年もあるようになって来たが、一方咬傷部位の筋壊死に起因すると考えられる後遺症の発生は、依然として後を絶たない。この原因はいくつか考えられる——例えば、演者がハブ毒から分離したMNFは低濃度でも極めて短時間内に筋壊死を惹起する——が、治療用抗血清の筋壊死に対する不十分な効果もその1つとして挙げられるので検討した。

段階希釈したハブ毒に同量の抗血清を混合し、1時間放置後、その0.1 mlをマウス (DDY, ♂, 25±1g) に筋注 (1群3匹)、24時間後の注射局所を肉眼的およびH-E染色による病理組織学的検討を行った。被検抗血清は治療に過去に用いられたものA, B, C, 使用中のDと演者がヤギで試作したEの計5ロットである。

0.05 mlの抗血清AとBは、ハブ毒600 µgによる出血を中和し、CとDは500 µgの出血を中和できたが、E (未精製) は250 µgを中和できず、一方毒125 µgで惹起される筋壊死を全抗血清が中和できなかった。

以上の結果から、被検抗血清の抗出血に対する抗筋壊死の中和能は、AとBでは少なくとも1/5、CとDが1/4、Eは1/2であり、特に治療用抗血清における2種の中和能に大きな差のあることが見出された。即ち出血は中和されても筋壊死は防御されていないことになる。しかも、現行の生物製剤基準に一部準拠したこの実験系では、毒と抗血清との試験管内での中和反応後の生体への作用の有無をみているのであるから、ハブ毒を注入された患者の体内、特に受傷局所に対する抗血清の中和能とは大きな差異が存在し、単純計算以上の抗血清量が治療上必要とされるはずである。

今までの我々の実験から、筋壊死因子 (MNF) は抗原として中和抗体産出が低いことから、抗血

清による筋壊死軽減化には、1. 抗原として粗毒+MNFで免疫、2. 治療時現用抗血清+抗MNF血清（但し免疫動物はウマ以外）の投与等が考えられる。さらに、現行の抗血清力価検定項目に抗筋壊死力価が含まれていないのも問題であり、他方受傷で入る毒は分画された成分個々ではない故に、抗血清力価測定には粗毒を用いるべきであろう。理由は、治療上考慮すべき主要な症状が複数惹起されるような毒（例えばハブ毒）に対する望ましい抗血清とは、高力価でかつどの症状に対しても同じレベルでの中和能を有しているものと考えられるからである。

## 22 狭いエリアにおけるハブの駆除

外間 善次 (那覇市辻2-2-8)

ハブの駆除を1978年から1983年の6カ年に互り、発見による直接捕獲（1978年—1980年、1982年、1983年、捕獲用具で）とスネークトラップ（1981年、生捕り式）による捕獲の2方法で行い、次のような結果を得た。

初年の1978年は1匹のハブも発見できなかった。1979年は1匹発見したが捕りにがした。1980年は2匹のハブを捕獲した。1981年はスネークトラップ3個を用いて駆除実験を行いハブ5匹を捕獲した。1982年は例年に比べて余り差のない気象であったのに1匹のハブの捕獲もなかった。それは1981年駆除実験場（約1.1ha）の多くのハブが捕えられ、ハブの個体数が急激に減少したためであろう。1983年はハブ1匹を捕獲した。それは今迄捕り残されたハブか、あるいは実験場に生息している餌食（多数のネズミ等）を求めて侵入してきたものではないか等が推察される。1981年の5匹のハブの捕獲から実験場のハブの生息密度は少なくとも4.5匹/ha以上であろう。

## 23 ビルマにおける毒蛇咬症

沢井 芳男 (日本蛇族学術研)

ビルマは東南アジアの中では咬症率及び死亡率が最も高いとされている。1979年には8,243名が受傷し、410名の死亡が報告されたが、人口10万に対する受傷率は25.3、死亡率は1.3、患者の致

命率は5%であった。

咬症の89%はラングーン、サガイン、マンダレー、マグウエ、ペゲー、イラワジ県等イラワジ河流域の穀倉地帯で発生している。

毒蛇の種類ではラッセルクサリヘビによる咬症が全咬症数の90%以上を占めているのが特徴的で、隣接する国々でごくふつうに見られるコブラ咬症はわずか5%程度に過ぎない。月別の発生頻度は5-6月及び10-12月にピークがある。年齢別では15-45歳までに76%の咬症が集中し、男子は女子の3倍以上が受傷している。咬症の発生場所では農耕地が49.2%、道路上27.9%、部落内10.4%の順である。受傷時刻は午前6時から午後6時の明るい時刻に69.2%が受傷している。受傷部位は足が69.7%、手の16.1%、下腿の12.6%の順である。

治療血清は単価のクサリヘビ血清とコブラとの混合血清の2種が製造されており、患者には40mlの血清の静注が指示されているが、手遅れになったラッセルクサリヘビ咬症患者は血液の凝固異常に伴って全身性の出血が著明に起こり、受傷後24時間以内にショック様症状で死亡するか、数日後に急性腎不全を起こして死亡する例が多い。

## 24 アメリカマムシ毒より致死因子の精製

二改 俊章, 岸田 充弘, 草野 律子,  
森 信博, 杉原 久義

(名城大・薬・微生物)

アメリカマムシは北アメリカのバージニアからアラバマにかけて分布している毒蛇でその毒作用として致死、出血及び壊死等がみられる。これら生物活性の本態がいかなるものかを解明する目的で本毒の精製を行い2種の毒因子を単離した。凍結乾燥粗素をSephadex G-100, DEAE-Sephacel, CM-Sephadex, DEAE-Celluloseの精製操作によりディスク電気泳動, SDS電気泳動, 等電点電気泳動で単一の標品Toxin 1, 2を得た。

粗毒1,000mgからの収量はそれぞれ17.4mg, 25.5mgであった。両因子は致死、出血, Dimethyl casein 活性及びフィブリノーゲン水解活性を有し、又Toxin 2はカゼイン水解活性も示した。これら標品の生物活性はEDTA, o-phenanthro-



line で阻害された。この事よりこれらの Toxin は金属酵素であることが推定される。Toxin 1 の分子量はメルカプトエタノール非存在下では、114,000、存在下では20,000と16,000のポリペプチドに解離した。Toxin 2 はいずれの場合でも同じ分子量で27,800であった。等電点はそれぞれ5.85、5.10であった。アミノ酸分析の結果、総アミノ酸残基数はそれぞれ Toxin 1 が980、Toxin 2 が230であった。また、両因子には糖が含まれていた。これらの標品の病理組織像を観察したところ、局所病変のみならず胃あるいは肺に著しい出血が認められた。

従来より蛇毒由来の出血因子には、カゼイン水解活性のあるものと無いものが報告されているが、これは測定法に問題があり、測定法を検討することにより蛋白の水解活性が認められる事例を我々はいくつか経験している。この点は出血機構を考える上で重要であろうと考えている。

## 25 虫刺創の病理組織学的研究 (第1報)

E. ジャラル、谷 莊吉

(金沢医大・医動物)

佐藤 喜一 (金沢医大・熱帯医研)

蚊やブユに刺されると刺咬創が発赤腫脹し、掻痒感を感じ、時には膿瘍形成を起こしてくる。このように日常経験する現象を組織学的に観察した。また、ある種のハチやアリの毒腺にみられるという蟻酸を皮内に注射し、経日的に観察したので報告した。

実験動物としてハートレイ系白色モルモット13匹を使用した。背面を剃毛し、3匹を大学近郊のブッシュに一夜放置した。残る10匹の背面に0.1、0.2、0.3、0.4、0.5%の蟻酸液を0.05 ml ずつ皮内へ注射した。蚊の刺咬創を確認し、24時間後と3日後、7日後に皮膚片を切除した。蟻酸を皮内注射した動物でも、同じように4時間後、1日、3日、5日、7日後にそれぞれ皮膚片を切除した。切除した皮膚片を10%ホルマリン液で固定し、その後は通法によってパラフィン切片を作成し、H.E染色とPAS染色を行い、光学顕微鏡にて観察した。

肉眼所見：蚊の刺咬創は屋外曝露した日に灰白色にみられた。従って、印をつけ、その後の観察点とした。蟻酸注射した動物では0.5%液で壊死を起こした。その他の濃度に対する注射部位の反応は、24時間後まで続いた。

組織学的所見：蚊の刺咬創の反応は皮膚の乳頭下層にみられ、3日目には好中球、リンパ球の浸潤がみられた。7日目には好中球、リンパ球は減少したが、好酸球浸潤がみられた。0.4%蟻酸注射群では、主として網状層に好中球とリンパ球の細胞浸潤がみられ、経日的に、その程度が軽度となった。

これらの成績から、蚊による炎症像と蟻酸による変化は一致しなかった。今後、実験条件に改良を加えながら刺咬創のモデル動物を作成する予定である。

## 26 仏領ポリネシアにおけるシガテラ中毒

井上 晃男 (鹿児島大・南海研)

シガテラ (Ciguatera) は、熱帯および亜熱帯海域に生息する魚貝類によってひき起こされる死亡率の低い食中毒の総称である。フグやカニによる中毒などは含まれない。

シガテラという言葉は、カリブ海産の巻貝の一種に由来するといわれ、この中毒の発生が比較的少ないわが国ではあまり一般的ではない。しかしながら、主たるタンパク源を周辺の海に求める島島では、極めてよく知られており、食品衛生上あるいは食糧上の大きな問題である。吐気、下痢、関節痛、頭痛、冷温感覚の異常、めまいなどの症状が現われ、回復は非常に遅い。甚しい場合には1年以上の歳月を必要とし、また、今のところ効果的な治療方法はない。

中毒の原因となる魚種は多くの科に及んでおり、ある地域ではそこに生息するすべての魚種が有毒であったという。このシガテラの原因生物については、単細胞の渦鞭毛藻、*Gambierdiscus toxicus* が毒の第一次生産者であることが確認された。本種は南太平洋一帯に広く分布し、特に大型海藻上に好んで付着生育する。一方砂礫やサンゴ上あるいは海水中に浮遊して生育することは極めて稀で

ある。本種の分布とシガテラの発生とは密接な関係があり、高密度に棲息している海域の草食性魚類は特に強い毒力をもつ場合が多い。一般には水変りがよく、波が直接当たらないような、約5m以浅の海域に生育する。また、食物連鎖によって、遂には肉食性魚類も毒化するにいたる訳であるが、一度毒化すると毒力はかなり長期間保持されるようである。この単細胞藻類の分布を見ると、局地性が大きく、また比較的短い期間内にも密度は大きく変化する。その至適成育環境についてはまだ十分に解明されていない。また、いくつかの毒が複合的に作用していると考えられるシガテラ原因物質については、現在研究されている。

## 27 胸腔内接種法による Dengue virus type 2 感染 *Toxorhynchites splendens* 体内におけるウイルスの増殖と分布について

山本 典巳, 谷村 英紀, 伊藤 富由,  
大山 昭夫 (関西医大・微生物)

蚊の成虫を用いた Dengue virus (DV) の研究において、*Toxorhynchites* 属は *Aedes* 属の蚊と同様 DV に感受性があると Rosen (1981) によって報告された。一方、ウイルスの分離、同定の目的で用いる各種のウイルス感受性動物の評価に際し、ウイルスの検出のみならず増殖様式の解析も同様に重要であると考えられている。今回、我々は *T. splendens* を用い蚊体内の経時的なウイルス量並びに DV 抗原陽性細胞の分布、出現時期、およびその種類について検討した。

用いた DV は proto type (Tr 1751株) 並びに DHF 患者より *T. splendens* を用いビルマで分離、C6/36 細胞にて3~4代継代された wild type (BR 006 株, BR 116 株) を用いた。各ウイルスは microdispenser でそれぞれ胸腔内に 0.2 $\mu$ l 接種し、経時的に頭、胸、腹部を挿漬し plaque 法によりウイルス定量を行った。同時に各部位の押し潰し標本を作製、仔ウシ血清(微研)処理を行った後、抗 Tr 1751 マウス腹水 IgG (HI, 1:1,280) を用いた間接蛍光抗体法により型の如く観察した。

その結果、proto type と wild type 株間では

大差は認められなかった。即ち、頭、胸部において DV 量は経時的に増加し接種15日目にはいずれの株もほぼ  $10^5$  PFU/Region に達した。一方、腹部では接種6~9日目迄増加し大約  $10^4$  PFU/Region に達した後減少する傾向を示した。

蛍光抗体法による観察では、接種1~2日目の各部位に直径が 11.2~18.7 $\mu$ m の円型もしくはやや紡錘型の hemocytes に特異蛍光を認め、接種2~3日目には、hemocytes の他に Sudan III に染色される脂肪細胞にも特異蛍光を観察した。接種4日目以降、頭、胸部では DV 抗原陽性細胞は経時的に増加し、特に脳組織細胞、神経細胞で顕著な増加が認められた。また、接種9日目以降には、唾液腺組織に DV 抗原陽性細胞を認めた。

以上の所見から胸腔内に接種された DV は hemocytes に取り込まれ増殖し、全身に伝播され脂肪細胞、神経組織細胞、唾液腺細胞へと感染、増殖するものと推定した。

更に、頭部における FA 陽性率は Rosen (1981) 並びに Watts *et al.* (1982) の報告に比べて早く、いずれの株でも接種後3日迄には100%確認される様になった。この結果は、免疫マウス腹水 IgG を用いたためと考えられた。

## 28 タイと日本のヒト血清中の日本脳炎ウイルスとデングウイルス1型に対する IgG-ELISA 抗体価の測定

分藤 桂子, 五十嵐 章

(長崎大・熱帯医研・ウイルス)

タイの DHF 及び脳炎の患者血清、日本の日本脳炎 (JE) 患者血清、及び JE 流行地である熊本県とタイ国のチェンマイ地区の健康住民血清の JE 抗原及びデングウイルス1型 (D1) 抗原に対する IgG 抗体価の測定を微量間接 ELISA により行った。

IgG-ELISA 抗体価はタイの DHF と脳炎の患者血清とも、再感染例の場合は JE, D1 両抗原に対し高く反応していた。また DHF の初感染例でも両抗原に対し同程度に反応していた。しかし、タイの脳炎の初感染例及び日本の JE 患者血清は D1 抗原よりも JE 抗原に対し有意に高く反応し

ていた。

熊本の健康人血清の D1 に対する抗体価は JE に対する値に比べて有意に低く、わずかに50歳以上の人に多少高い値を示す場合がみられた。一方チェンマイの成人では JE と D1 両抗原に対しほぼ同程度の IgG-ELISA 抗体価を保有していた。

### 29 ビルマにおけるデング出血熱患者血清のデングと日本脳炎ウイルスに対する IgM-ELISA 抗体価

メイ ラリン, 分藤 桂子,  
五十嵐 章

(長崎大・熱帯医研・ウイルス)

ビルマのラングーンにおけるデング出血熱患者168例の対血清について、1-4型のデングウイルスと日本脳炎ウイルス (JE) に対する抗体価を IgM-capture ELISA により測定し、血球凝集抑制反応 (HI) の結果と比較した。HI で初感染と判定された18例中15例、確実な再感染24例および多分再感染と思われる60例の全例、および HI でデングと診断されなかった66例中39例が IgM-ELISA でデング感染と診断する事が出来た。これらの検体中 JE に対し陽性と判定されたものは1例もなかった。

単一抗原による陽性率は4型デング抗原を用いた時最も高く4つの型のデング抗原すべてを用いた時の陽性例中82~93%を陽性と判定する事ができた。急性期血清のみによる陽性率は対血清を用いた際の73%であった。

IgM-ELISA は診断効率、迅速性、簡便性、単一血清のみでの診断が可能であり、JE その他関連する点において、従来用いられて来た HI に優ると云える。

### 30 ケニアにおけるコレラの疫学的観察

江原 雅彦, 渡邊 繁徳, 一瀬 休生,  
内藤 達郎

(長崎大・熱帯医研・病原細菌)

Kipindupindu はスワヒリ語でコレラを意味し、1971年以後にできた新造語で、それ以前にはなかった。第7回 cholera pandemy がケニアに波及

したのがこの年で、それ以来、何故かビクトリア湖周辺にコレラは定着している。日本-ケニア間の伝染病研究対策プロジェクトの一部として、1983年に経験したコレラの流行像を解析した。Homa Bay 地区病院の検査室であつかった約17,000検体のうち、重複検体を除き1,301人がコレラ菌陽性で、788人はコレラ患者、513人は健康保菌者であった。年齢層別コレラ菌陽性者数をみると13-19歳の男性が最低で、15-39歳の女性が最高であった。月別の陽性者数をみると3月と7月にピークがあり、季節的変動は明らかで、乾期に多く、雨期に減少した。年齢層別・月別をあわせた陽性者数でも3月と7月にピークがあり、前者は20-39歳、後者は13-19歳であった。Karachuonyo と Kanyada で大きな流行、Gembe Kasipul, Kabuoch, Kamagambo でも小流行があった。入院患者の死亡率は9%と高く、種々の問題を含んでいる。161症例が family contacts と考えられ、初発は成人女性に多く、二次感染は子供に多くみられた。一方分離株の殆どがテトラサイクリン耐性のエルトール小川型菌であった。

### 31 1983年ケニア国分離コレラ菌の性状

一瀬 休生, 江原 雅彦, 渡邊 繁徳,  
内藤 達郎

(長崎大・熱帯医研・病原細菌)

タンザニアにおいて1979年テトラサイクリン耐性コレラ菌の出現が Mhalu らによって報告されて以来、隣国のケニアにおいても薬剤耐性コレラ菌の出現に関心が払われてきた。演者らは日本-ケニア間の伝染病研究対策プロジェクトの一部として、1983年ビクトリア湖周辺地域の基幹病院、診療所の入院患者を中心に分離されたコレラ菌245株を対象にその性状検査を行った。血清型では245株のうち236株が小川型で、残る9株が稲葉型であった。生物型は untypable の1株を除けばすべてエルトール型で、プロフェージ型は上記とは異なる1株の cured 型を除きすべてセレバス原型であった。薬剤感受性試験では245株のうち、184株がテトラサイクリン、ストレプトマイシン、アンピシリンの3剤に対し耐性を示す多剤

耐性菌であることが判明した。しかしクロラムフェニコール、ナリディキシン酸には全株が高い感受性を示した。コレラ流行がおさまった後に行った環境調査では、ビクトリア湖周辺のニアンザ地方の河川、井戸水等からのコレラ菌分離を試みたが、コレラ菌は分離されなかった。しかし、43検体中46.5%からNAGビブリオが検出された。また、従来よりビブリオ属鑑別に用いられていたO/129 (Vibriostatic agent) に対する感受性テストでは試験した *V. cholerae* 196株中164株(83.7%)が耐性を示した。

### 32 沖縄の河川で分離したコレラ菌に関する検討

岩永 正明, 山本耕一郎, 仲宗根 昇,  
田辺 将夫 (琉球大・医・細菌)  
仲宗根民男 (沖縄公衛研)

昭和55年, 那覇市と浦添市の境を流れる安謝川からコレラ菌が検出された。このコレラ菌は現在世界で流行しているセレベス型菌とは異なる古典ウーボン型のものであり, TCBS培地上で白糖非分解(24時間)という特徴を有していた。フェージ型でみると, 近隣諸国で分離した古典ウーボン型菌は全てが4型または型別不能であったのに対し安謝川の株は1型および6型であった。この川でコレラ菌が検出されて以来, 川に流入する下水, し尿浄化槽, 海外旅行者の便などが精力的に検査されたが全て陰性であり汚染源は不明であった。以上のような結果から, この菌は長期間その場所に生息していたものと考えられるが, 河川水を原因としたコレラ患者の発生はみられていない。

この菌の病原性については, コレラ毒素を産生せず, 腸上皮への結合もみられなかった。更にコロニーハイブリダイゼーションテストによって, この菌はコレラ毒素遺伝子そのものを有していないことが判明した。従って, 環境衛生上特に問題とするべきものではなく血清型O1を示す水ビブリオとしてもよいと考えられる。しかしウサギ腸管ループテストで疑陽性を示すことが多く, コレラ毒素以外のエンテロトキシンを産生している可能性は否定出来ない。

### 33 輸入淡水魚におけるビブリオ属の汚染状況

真子 俊博 (福岡市衛試)

輸入淡水魚腸管内のビブリオ属の保菌状況を知る目的で, 1983年7月より1984年3月にかけて, 福岡市内で観賞用としてタイ, シンガポール, 台湾などより輸入されている熱帯魚を購入し調査した。その結果, 天然産熱帯魚(タイ産)では13種64件中12種35件(54.6%), 養殖熱帯魚では7種31件中4種7件(22.6%)からnon-O1 *V. cholerae* は35.8%, *V. mimicus* は18.9%, *V. fluvialis* は6.7%, *V. vulnificus* は20.0%, *V. arahaemolyticus* は8.9%, *V. metschnikovii* は2.2%が腸管内より検出された。また腸管内より *Aeromonas* が100%, *Plesiomonas* が28.6%, *Salmonella* が2.2%分離された。さらに, 熱帯魚腸管内細菌による飼育水の汚染状態をみるために, 天然産熱帯魚の飼育水40件, 養殖熱帯魚の飼育水13件についてnon-O1 *V. cholerae*, *V. mimicus* を調査したところ, 前者では47.5%, 後者では36.4%に両菌汚染がみられた。次に輸入熱帯魚における腸管内のnon-O1 *V. cholerae* の菌数測定を試みたところ, カイヤン *Pangasius polyranodon* では $10^6$ /g, ゴールドホイルパーブ *Putius schwannfeld* では $10^2$ /g, グラスキャット *Palailia longifils* では $10^2$ /g, アルチータ *Gyrinocheilus aymonieri* では $10^1$ /gのオーダーを示した。

また, non-O1 *V. cholerae* と *V. mimicus* について毒素産生性を調べたところ(RPLA法), 前者では47.3%, 後者では52.0%に毒素産生がみられた。以上, 輸入熱帯魚腸管内のビブリオ属の保菌状況を調査したが, ビブリオ属の汚染がかなりみられ, 輸入熱帯魚を介しての環境汚染ならびに感染症の可能性が示唆された。

## 34 フィリピンにおけるカンピロバクター腸炎

柳ヶ瀬康夫 (兵庫医大・細菌)

喜多 英二, 檜葉 周三

(奈良医大・細菌)

C. P. Franco, C. P. Ranoa

(San Lazaro Hospital, Manila)

近年 *Campylobacter* の培養条件, 優秀な分離培地の考案により, *Campylobacter* による腸炎は細菌性下痢症の10%以上といわれる。

我々は, 1980年以来フィリピン, サンラザロ国立伝染病院において, 小児下痢患者を対象に本菌による腸炎を調査し, 細菌学的検索を行い以下の成績を得た。

下痢便および血液を検索材料とし, Columbia broth, Skirrow 培地を用いて *Campylobacter* の分離検出を試みた。併せて一般下痢原性細菌の検索も行った。

*Campylobacter jejuni* の検出頻度は, 1982年においては患者39例中4例 (10.2%), 1984年では48例中7例 (14.6%) とやや上昇した。

本菌による下痢患者の臨床症状は, 水様性下痢便4~10回/日, 37°C~39°C の発熱を伴い, 患者の半数に嘔吐があり, 腹痛, 脱水症状も見られ, 典型的な *Campylobacter enteritis* の症状を示した。

また, Serotype の異なる菌株による混合感染があった。さらに本菌と *Shigella flexneri* との混合感染例もみられた。

分離株の薬剤感受性試験では, ABPC, TC 共に耐性株がおのおの14株中1株見られた。また SM に対する耐性株が14株中6株に見られた。

我々がマウス腸管定着因子の一つと報告している鞭毛 (+) 株と鞭毛 (-) 株が同一患者から分離され, 我々が日本国内で観察し報告した結果と同一の結果を得た。

## 35 ケニアにおける小児の細菌性下痢症

渡邊 繁徳, 江原 雅彦, 一瀬 休生,

内藤 達郎

(長崎大・熱帯医研・病原細菌)

ケニア国モンバサ市において市内2カ所の医療施設に下痢を主訴として来院した0歳から14歳までの小児を対象に, カンピロバクター・ジェジュニ (CJ) と毒素原性大腸菌 (ETEC) の感染状況を調査した。下痢患者782名の検便の結果, 277例 (35.0%) より病原菌を分離し, 最も検出頻度の高かったものは病原性大腸菌 (EPEC) で重複感染例を含めて127例 (17.3%) であり, 以下 CJ 98例 (12.5%), ETEC 47例 (6.0%), その他42例 (5.4%) の順であった。また277名の検出例のうち種類の病原菌による単独感染例は244名, 二重感染例29名, 三重感染例4名であった。CJ 感染98例のうち77例が単独感染例で, 残り21例は EPEC, ETEC や赤痢菌等との混合感染例であった。感染率の年齢別分布では生後半歳より2歳半までの間に分離頻度が高く, 従来より言われている低年齢層の小児に高い感受性のあることが証明された。男女差は明らかでなかった。一方, ETEC 感染47例のうち37例は単独感染例であったが, 残り10例は CJ, EPEC やその他の病原菌との混合感染例であった。毒素型では耐熱性毒素産生型が最も多く24例, 次いで易熱性毒素産生型21例であり, 残る2例は両毒素産生型によるものであった。年齢別あるいは男女別による感染率に差は見られなかった。

## 36 ICDDR, B病院における臨床分離株の薬剤

## 感受性試験

草野 展周, 松瀬真寿美, 賀来 満夫,

餅田 親子, 山口 恵三

(長崎大・医・検査部)

斉藤 厚, 原 耕平

(長崎大・医・二内科)

R. Z. Zeaur, S. Q. Akhtar, I. Huq,

K. M. Aziz

(ICDDR, B)

目的及び方法: 1984年2月, 大山健康財団基金

の援助のもとに、バングラデシュの国際下痢疾患センター (ICDDR, B) に行く機会を得たが、その際分与された株のうち赤痢菌の薬剤感受性試験の成績について、長崎で分離された株と比較して報告する。バングラデシュで分離された *Shigella* sp. (*S. dysenteriae* 19, *S. flexneri* 21, *S. boydii* 14, *S. sonnei* 29) の83株と長崎で過去5年間に分離された28株の111株について、ABPC, PIPC, MPC, CEX, CCL, CEZ, CTM, CZX, GM, KM, TOB, TC, MINO, CP, ST, NFLX の16薬剤に対する薬剤感受性試験をマイクロブイオン希釈法 (12濃度法) で実施した。また、それと併行して、 $\beta$ -lactamase の定性試験を paper 法 (Oxoid) と ニトロセフィン法で行った。

成績: 薬剤別にみた耐性頻度では TC (32.5%) と ST (20.5%) に対するものが多く、次いで ABPC (10.8%), KM (4.8%), CP (3.8%) の順で、他の薬剤については全株感性であった。一方、長崎株では CP (35.7%) と MINO (17.9%) に対する耐性株がかなり高い頻度でみられた。

菌種別にみると、*S. sonnei* 以外の3菌種は TC と ST の単独及び2剤耐性株が耐性菌の90%以上を占めていたのに対し、*S. sonnei* では ST 耐性株は認められなかったが、ABPC 耐性株が全株の1/3を占め、全株 TC, KM, CP との2剤以上の多剤耐性株であった。

$\beta$ -lactamase 産生株は全株中9株 (10.8%) に認められ (*S. sonnei* 8, *S. flexneri* 1), ABPC を中心とした2剤以上の多剤耐性を示し、R-plasmid に由来しているものと思われた。

### 37 淋菌の保菌者検索の為の血清診断法

喜多 英二, 櫻葉 周三

(奈良医大・細菌)

柳ヶ瀬康夫

(兵庫医大・細菌)

淋菌の慢性保菌者検索に種々の血清学的診断法が報告されているが、淋菌の表在抗原の多様性により、特異性及び感度の高い診断法は現在迄実用化に至っていない。我々は、抗原性が比較的均一であり、菌種間の共通性の高い菌体内抗原であるリボゾーム分画を抽出し、抗外膜-LPS 複合抗原

抗体を Sepharose 4B に結合せしめた、solid-immunosorbent により混入する外膜成分を除去した精製リボゾーム抗原を用いた間接赤血球凝集反応 (PHA) により、保菌者の血清中の淋菌抗体の検索を行った。対象は、フィリピン・マニラ市の VD control センター受診者で、正常人血清は日本の学生から採取した。急性尿道炎等では、感染後2週目から、リボゾーム抗原に対する抗体価の上昇を認め、2カ月目に抗体価はピークに達する。発病と同時に治療した例では、リボゾーム抗原に対する抗体価の上昇は認められなかった。一方、慢性保菌者においては、血清抗体価を 1:4 ( $\log_2$ ) 以上を陽性にとれば特異性・感度ともに95%以上であり、ELISA 法により求めた IgG リボゾーム抗体価も PHA $\geq$ 1:4 群では、正常人血清抗体価に比して優位の上昇を示していた。しかも、PHA $\geq$ 1:4 群では、ほぼ100%に淋菌を保有していた事が、培養成績から確認できた。現在、PHA 法に影響を与える因子について検討中であり、日本国内における成績も集積し、さらに本法に改良を加えたいと考えている。

### 38 *Trypanosoma evansi* (台湾株) に於ける新発見、特にその超微形態面について

比留木武雄 (島根医大・微生物免疫)

*Trypanosoma evansi* の細胞分裂の様式は、一般には縦二分法と考えられているが充分には解明されていない。細胞口 (Cytostome) は、これまで *T. mega*, *T. conorrhini*, *T. rajae* 及び *T. cruzi* の培養型或いは epimastigote 型の虫体で報告されているが *Trypanosoma* の trypomastigote 型の虫体からは報告されていない。Paraxial rod を伴った細胞内 axoneme の存在は、まだ亜属 *Trypanozoon* に於いて報告されていない。

感染動物の血液から原虫を分離する為に、Lanham 法を用い、超薄切片作成の為に Sorval MT5,000 ultramicrotome を用いて、当該原虫の分裂の様式、Cytostome 様構造、及び鞭毛膜を伴わない axoneme の存在が JEOL, 200CX (100 k. v. in a. v.) 電子顕微鏡の下で観察された。得られた知見は次の如くであった。1) 鞭毛の形成

は娘細胞の形成と同時に進行していた。娘細胞は母細胞の膜下微小管と立体交差する新しい微小管に囲まれていた。初めの間は娘細胞と母細胞は同一の膜に包まれていたが、やがて、“くびれ”が生じ、その部での“ねじきれ”が認められた。この分裂様式は二分裂というよりも、むしろ、不等分裂の様式と考えられた。2) Cytostome 様の構造は鞭毛の虫体への接着部位近傍で認められた。細胞質内への細胞膜の陥入は細胞核近傍に至るものから浅いものまで種々であり、膜下微小管は或る場合には陥入部の周りを囲んで“輪”を形成していたが、或る場合には陥入部の細胞膜と平行に走っていた。これらの陥入が真の cytostome である事を解明するためには細胞化学的解析が必要である。3) 当該原虫虫体内には、稀に paraxial rod を伴った鞭毛膜 free の axoneme が存在した。裸の鞭毛が何故、この株の細胞内に存在するのか？、その理由は分らない。

### 39 Toxo-GIF 存在下における *Toxoplasma* 感染腹腔マクロファージの電顕観察

長澤 秀行, 上平 英樹, 岡 三希生,  
伊藤 義博 (徳島大・医・寄生虫)

細胞内増殖性原虫 *Toxoplasma gondii* (Tp) は, *in vitro* で培養したマウス腹腔マクロファージ (Mφ) 内で増殖し, 細胞崩壊を招く。しかし, Tp 免疫マウス脾細胞に Tp 特異抗原を添加した培養上清 (リンホカイン) は, Mφ に作用し, 細胞内 Tp 原虫の増殖を抑制し, 死滅させる効果を持つ。このリンホカイン中の因子は, *Toxoplasma* growth inhibitory factor (Toxo-GIF) と呼ばれている。今回, 我々は, グリコーゲン誘出マウス腹腔 Mφ monolayer に Tp tachyzoite を感染させ, 1時間後に Mφ 外原虫を取り除いた後, 高い Toxo-GIF 活性を有するリンホカインを添加したものについて, 形態的变化を観察した。光顕観察で24または36時間後の Mφ-Toxo-GIF 添加群は, 非添加群と比較して, Mφ の pseudopod は短い, spreading 面積は広がり, 細胞質内に空胞形成を多数認め, その空胞内には顆粒状物を観察した。走査型電顕観察で, Mφ の表層構

造に大きな変化は認めなかったが, MIF/MAF の精製品を加えた時に生じると報告されている (Homma *et al.*, 1982) ruffle 構造を観察した。透過型電顕では, Mφ の活性化に伴う phagocytosis あるいは pinocytosis の亢進によると思われる食胞形成を認めた。また, Tp 原虫を含む食胞内に多くの stereocilium を認めたが, これが原虫由来のものか宿主由来のものかは不明であった。以上, 光顕像における Toxo-GIF により特異的に表現された変化ではないと考えられ, Mφ の抗 Tp 作用としての直接関連もまた考え難い。

### 40 螢光色素 Hoechst 33258 を利用した *Trypanosoma gambiense* の K-DNA および N-DNA の *In situ* microfluorometry — 両核酸に及ぼす bleomycin の作用とその解析

猪木 正三 (奈良医大・寄生虫)  
伊藤 義博, 岡 三希生  
(徳島大・医・寄生虫)  
尾崎 文雄, 古谷 正人 (高知医大)

感染マウスの末梢血から Lanham 法をもって純粋に採取した *T. gambiense* (Wellcome 株) の血流型 (trypomastigote) を, 山田・庄野のいわゆる half-dry 法で無螢光のガラススライド上に塗抹固定後, DNA の A-T (アデニン—チミン) base pair と特異的に結合する螢光色素 Hoechst 33258 で染色し, *In situ* microfluorometry 法 (原生動物誌, 15巻, 1号, 17頁, 1982; 原生動物誌, 16巻, 1号, 31頁, 1983) に従って, 各原虫細胞内 (3種の発育型, すなわち 1K1N, 2K1N, 2K2N 細胞を使用する) の K-DNA および N-DNA 量を顕微螢光測光した。本色素は ethidium bromide と違って RNA に結合しないため, RNase による前処理は不要である。

実験は, まず, DNA に strand-break を起こさせる抗腫瘍性物質, bleomycin (1 mg/kg) を感染マウスの腹腔内に注射し, 各原虫細胞内の K-DNA および N-DNA 量の変化を経時的に測定した。その結果, bleomycin 投与30分後特に N-DNA に著明な螢光強度 (fluorescence intensity

=FI)の上昇がみられ、投与60分後に一旦下降を示し、その後再び上昇に向うことが明らかになった。この第2番目のFIの上昇は時間的にみて、bleomycinによって起きたDNA障害の修復に帰因するものと推定し、これを実証する目的で修復酵素の阻害剤3ABA(3aminobenzamide)の400mg/kgをbleomycin投与90分前に注射したところ、第2番目のFIの上昇は殆どみられなくなった。この結果から、bleomycin投与によってN-DNAに起こる第2番目のFIの上昇は、DNA障害の修復によるものと結論された。更に、本実験において、修復は原虫の発育増殖と密接な関係にあることが明らかになった。なお、K-DNAにおいてもN-DNA同様、障害と修復が認められたが、後者におけるほど顕著には現われなかった。

#### 41 桃山病院におけるアメーバ赤痢症例について

赤尾 満, 阪上 賀洋, 足立 利幸,  
岸田 泰弘, 青木 隆一

(大阪市立桃山病院)

アメーバ赤痢は1983年には13例、本年は10月末までに18例も入院した。今回は今年入院した肺・肝膿瘍例と大腸アメーバ症の死亡した症例を報告した。

1) 患者は48歳男性で昭和59年1月頃より微熱を訴え始め、5月末某病院にて胸部X線の結果、胸水を認め結核性胸膜炎として治療するも効果なく、6月28日当院入院。CTにて肺肝膿瘍を認め、血清反応も陽性のためアメーバ赤痢と診断治療、現在外来通院中である。

2) 患者は78歳男性で昭和59年3月16日より腹部膨満と嘔気を訴え始め、3月23日某病院にて緊急手術。回盲部から上行結腸を30cm切除(切除部はすべて壊死)するも状態悪く、4月2日大腸全摘。全域に壊死性潰瘍が島状、面状に認められた。4月5日病変組織より赤痢アメーバの栄養型を検出、当院に送院。全身状態悪く、エメチン等使用するも効果なく4月9日死亡、剖検にて肝に多数の小膿瘍を認めた。

#### 42 実験的アメーバ性肝膿瘍の初期病変像の解析

建野 正毅, 竹内 勤

(慶大・医・寄生虫)

藤原 達司

(慶大電顕研)

小林 正規, 田辺 将信, 三浦左千夫,

浅見 敬三 (慶大・医・寄生虫)

無菌株アメーバを用いた感染実験は最近ハムスター等において成功しているが、アメーバを直接肝に接種する方法をとるため、アメーバ感染の初期病変像を知ることは困難であった。我々はこの問題を解決するために、アメーバを直接門脈に接種し、感染させる方法を開発した。この方法は病態生理学的にアメーバ性肝膿瘍形成の実験により近いものと思われるので病理組織学的検討を加え報告する。

感受性の高いスナネズミ(Mongolian gerbil)の門脈に無菌株アメーバ(HM-1)  $3 \times 10^5$  個をone shotにて注入し、病巣の経時的变化を観察した。対照としてはglutar aldehydeにて固定後洗浄したアメーバを用いた。3時間後では肝細胞の巣状の変性が広くみられ、グリソン鞘内にアメーバが存在した。6時間後では巣状壊死が肝全体に分布し、周囲に好中球の浸潤がみられた。12時間後では巣状壊死は進行し、壊死巣に隣接して血栓、フィブリン、アメーバ等が確認された。24時間後には多数の細胞浸潤を伴った壊死巣の中心部にアメーバが存在し、電顕的観察でsinusoid内に生きたアメーバを認めている。2日後にはアメーバ虫体を内在するmicroabscessがより鮮明となり、3日後には壊死細胞が消失し、abscessの周囲に類上皮細胞や線維芽細胞がみられるようになった。4日後には多数のアメーバ及び浸潤細胞を内在する病巣は強く類上皮細胞で被覆されるに至った。対照では6時間までは肝細胞の巣状変性、壊死は同様に出現したが、それ以上の変化はみられなかった。肝機能の変化をGOT, GPTにてみると、HM-1注入群の方がコントロールに較べより肝細胞障害が強い傾向がみられた。

以上より、アメーバ性肝膿瘍はアメーバによる



門脈枝の栓塞，肝細胞の巣状壊死，壊死巣内でのアメーバの増殖，宿主の肉芽腫反応等の段階を経て形成されると推測されたが，不明な点も多いため，今後より詳細な検討を加える予定である。

#### 43 ハロゲン化ビスフェノール誘導体の抗赤痢アメーバ作用について

小林 正規，竹内 勤，建野 正毅，  
浅見 敬三 (慶大・医・寄生虫)

ハロゲン化ビスフェノール誘導体であるビチオノール，ジクロロフェン，ヘキサクロロフェンが赤痢アメーバ栄養型に対して *in vitro* の系で強い殺虫効果をもつことは既に報告した。今回はハムスター，及びスナネズミに実験的に形成させたアメーバ性肝膿瘍に対する，これら薬剤の治療効果を観察したので報告する。

材料：アメーバ：培養3日目の無菌株 HM-1: IMSS。

動物：シリアンゴールデンハムスター (30-40g, 3-4週齢) とスナネズミ (50-70g, 6-7カ月齢)。

薬剤：ビチオノール，ジクロロフェン，ヘキサクロロフェン (東京化成)。

方法：1) 開腹手術を行い 27G 注射針で肝右葉に直接アメーバを注入して膿瘍を形成させた。接種アメーバ数は  $3 \times 10^6$  (ハムスター)，及び  $5 \times 10^5$  (スナネズミ)。2) 感染3-4日後より，或いは膿瘍の形成を確認後 (5-11日後) 経口的薬剤投与を開始した。効果判定は Mattern & Keister (1977) の方法によった。

結果：薬剤 0.1N NaOH-HEPES 水溶液 (50-75mg/kg/日 $\times$ 10日) をハムスターに投与した場合，ビチオノール，ヘキサクロロフェンでは肝膿瘍に対する治療効果は認められなかったが，ジクロロフェンでは5匹/9匹において肝膿瘍の明瞭な縮小がみられ治療効果を認めた。ジクロロフェンの 0.1N NaOH-HEPES 水溶液 (100-200mg/kg/日 $\times$ 10日) をスナネズミに投与した群では効果がなかったが，ジクロロフェンの水懸濁液を投与した場合に 100mg/kg/日 $\times$ 10日の治療群で1匹/3匹に，300mg/kg/日 $\times$ 10日の治療群で3匹/4匹に治療効果を認めた。

#### 44 フィリピンにおけるマラリアの現況， Wawa 地区における調査成績

中林 敏夫，西本 憲弘，清谷 哲朗  
(阪大・微研・原虫)

近年，マラリア対策計画は大きな変遷を来し，いわゆるプライマリーヘルスケアに統合されたためにその実施上にさまざまな困難が生じている。加えて各国の社会経済的事情の悪化から専門家や資材，薬剤の不足，組織の不備等の結果，マラリア対策の停滞がみられる。

保健省資料を元にフィリピンの現状を考察した。1960年代後半より罹患率，死亡率ともに横這いを示している。Case detection における SPR は漸増傾向にあり，1983年は陽性標本数約8万5千，SPR 12.2% である。虫種別では熱帯熱が60%以上あり発生の深刻さがうかがわれる。ルソン北部，ミンダナオ，スル列島，パラワンなどが浸淫地で，クロロキン耐性の発生も各地にみられる。

マニラ北方約 60km，マリキナ川に沿うワワ地区のダム上流で house-to-house visit による case detection を行った。1982年は採血数109，陽性数27 (SPR 27.2%) で熱帯熱14，三日熱13であった。翌，1983年は連日の雨で，調査行動は著しく制限されたため，採血は有症者 (発熱等) からのみにした。採血数46，陽性数12 (SPR 26.1%) で虫種別には熱帯熱10，三日熱1，熱帯熱三日熱混合1であった。限られた有症者のみからの採血であったことが熱帯熱検出率を高めたと思われる。ワワはマニラ近郊に在り，急峻な山間を縫うマリキナ川の両岸に民家が散在している。マラリア対策上，比較的監視態勢もとり易い地域である。フィリピンで初めてクロロキン耐性原虫が検出された所でもある。この地の調査は同国のマラリアの現状を理解するうえに，ある程度の示唆を与えるものと考えられる。

#### 45 バングラデシュのマラリアについて

武衛 和雄 (大阪市大・医・医動物)

バングラデシュでは，マラリアは主要疾病中の第7位を占め，患者数は人口10万対440 (1981)

と推定されている。

流行地は全国的であるが、インドおよびビルマ国境に接する東部と東北部では流行が激しく、特に Chittagong Hill Tracts における API は他地域に比べて桁はずれに大きい。

三日熱、熱帯熱原虫が存在するが、後者は41% (1982) を示し、これは年々増加の傾向にある。主要媒介蚊は *Anopheles balabacensis*, *minimus*, *philippinensis*, *sundaicus* で、特に *balabacensis* は森林マラリアの主要なベクターとして知られる。流行はモンスーンの季節に集中するが、これらの蚊の発生時期ともよく一致する。

マラリア防疫は、政府/WHO の協定に基づく計画のもとに実施され、検血活動によるクロロキンの投与、および媒介蚊の駆除が主なものである。

現場における検血活動は Thana Health Complex が主役になり、Health and Family Planning Worker が活動する。1982年における住民の検血率 (ABER) は2.5%、年間の陽性者の全住民比 (API) は1,000人当たり0.42である。

クロロキン耐性マラリアが1970年にはじめて発見されて以来、現在では各地に広がっている。耐性レベルも RIII の強いレベルのものが増加している。

DDT の残留噴霧は、モンスーン期の前後に2回実施されるが、1981年には計画戸数の87%が実施された。媒介蚊の DDT 抵抗性に関しては現在問題はないという。

教育訓練に関しては国家予算はなく、十分な教育も行われていないのが実情のようで、マラリア対策に重大な支障となっている。

1981-1982年会計年度で支出された DDT および器材費は490万ドル (約12億円) にのぼり、さらに1984-1987年の4カ年計画を達成させるために100億円の予算が要求されている。

#### 46 ナイジェリア, Epe におけるマラリアの調査

堀 栄太郎 (埼玉医大・寄生虫)  
天野 皓昭 (横浜市大・医・寄生虫)  
高岡 正敏 (埼玉県衛研)  
E. O. Ogunba (イバダン大)

1982年10月、11月の2カ月間、ナイジェリア西南部でロア糸状虫症の調査を行った際に、住民のマラリア原虫の調査を行った。調査を行った地区は首都 Lagos より東へ約 100km のラゴス州、Epe の周辺で、環境は熱帯雨林帯で、南の市街地は海の入江に面し、北は河畔林の多い所であった。被検者は3つの中学・高校の学童・職員と給水施設住民を対象とし、被検者の母指頭より採血、血液薄層塗抹標本を作り、ギムザ染色して検出した。マラリア原虫保有状況は地区別では学童 (11-23歳) 475名で陽性率平均 18.3% (15.9-21.9%)、職員 (20-48歳) 109名で陽性率平均 7.3% (3.4-13.9%) であった。給水施設住民 (20-70歳) 38名では陽性率は5.3%と低く、総計 622名中陽性者は97名 (15.6%) であった。年齢別では陽性率は10歳台で18.7%と多く、20歳台 6.8%、30歳台11.1%、40歳台3.7%、50歳台以上で9.1%であった。性別では男子で16.1%、女子で14.7%であった。マラリア原虫種は熱帯マラリア原虫が殆どで、四日熱マラリア原虫は3名 (0.5%) に検出された。

#### 47 戦後 (1946-1948年)、沖縄本島北部の森林内で大流行したマラリアの主要伝搬蚊と思われるオオハマハマダラカ

宮城 一郎, 当間 孝子, 照屋 寛善  
(琉球大・医・保健)

終戦直後 (1946-1948年)、沖縄本島北部森林内に長期間避難した住民の間に三日熱マラリアが大流行した (福地, 1973)。これらを含む沖縄本島内で流行したマラリアの主要伝搬蚊はすべてシナハマダラカ *Anopheles sinensis* と記録されている (Hunter, 1951; Farid *et al.*, 1965; 福地, 1973)。

演者らは1973年以来、本島の蚊を調査した。

結果1. 森林内には年中 *Anopheles sapperi* (*An. ohamai*) が多発している。2. 本種は人血嗜好性が極めて強い。3. 北部のマラリア (殆どが三日熱) は森林内に避難した住民の間に流行した (福地, 1973)。4. 本種は三日熱マラリア原虫に感受性がある (大浜, 1947)。

以上の理由から沖縄本島北部森林内で大流行したマラリアには *An. sapperi* が重要な伝搬蚊であったと推測した。

#### 48 救命しえた脳性マラリアの1例

菊田 公一, 林 茂樹

(水戸協同病院内科)

田辺 清勝 (東大・医科研・内科)

キニーネ点滴, 人工透析により救命出来た脳性マラリアの1例を報告する。27歳の男性, 昭和58年9月12日に出張先のインドネシアより帰国した。1年2カ月の滞在中に発熱はなかった。帰国後, 食欲不振, 1日2~3回の下痢が見られた。9月29日朝, 突然, 悪寒, 戦慄, 頭痛, 高熱があった。近医受診し投薬を受けたが症状の改善が見られず, 翌日同医を再受診し, 入院した。輸血, 抗生剤投与を受けたが病状は悪化し, 10月1日には血圧下降 (80~40mmHg), 意識障害が現われた。10月3日当院に転医した。入院時検査でマラリア原虫 (卍), Hb 5.5g/dl, BUN 87, Creat 5.3mg/dl, GOT 1,481, GPT 399 u, T. Bil 2.38mg/dl, と肝腎障害の合併を認めた。直ちにキニーネ点滴を開始した。出血傾向 (DIC), 無尿, 高窒素血症に対しては FOY 投与, 人工透析施行, 経過良好に3カ月後完治退院した。

#### 49 卵型マラリアを疑わしめた三日熱マラリアの輸入症例

塚本 増久 (産業医大・医動物)

藤吉 利信 (福岡市感染症センター)

患者は1984年4月下旬に来日した28歳のインド人男性で, 5月上旬に熱発作を繰り返して感染症センターに入院, 熱形および Schüffner の斑点を伴う血液像から三日熱と診断され, 直ちに MP 錠による治療が開始された。4日後から末梢血中

の原虫も陰性となり病状も著しく軽快したので8日目に再発防止のためのプリマキンを持参の上退院帰国させた。後日血液標本を精査したところ, 被感染赤血球は殆ど膨大しておらず周縁が変形して卵型マラリア様であった。しかし卵型マラリアと断定するに足る正確なメロゾイト数を確認することができず, アジア地域での卵型マラリア報告例は極めて疑わしいことなどを考慮すると, 一応三日熱マラリアの異常型とみなすのが妥当であろうと思われる。

#### 50 輸血により感染したと思われる卵形マラリアの1例

天野 皓昭, 大島 智夫

(横浜市大・医・寄生虫)

原野 浩, 蘇 鴻偉, 伊藤 章,

大久保隆男 (横浜市大・医・一内科)

渡辺真一郎, 毛利 博

(横浜市大・中検)

近年, 熱帯・亜熱帯諸国への海外渡航者の激増に伴い, わが国でも輸入マラリアが増加している。しかし, 卵形マラリアの症例は比較的稀であり, アフリカの流行地で感染して帰国した者に限られていた。今回, 海外に出たことのない急性骨髄性白血病の患者で, 濃厚赤血球, 濃縮血小板輸血により国内で感染したと考えられる卵形マラリアの症例を経験したので報告する。

症例は45歳主婦で, 昭和58年9月20日急性白血病の治療を目的に横浜市大・第一内科に入院。抗白血病剤の化学療法と濃厚赤血球, 濃縮血小板輸血とを受けたところ, 12月8日突然悪感を伴う39°Cの発熱を来した。12月12日, 血液標本中に感染赤血球辺縁が鋸歯状になった trophozoite や, 感染赤血球が卵形の形をした schizont が見られ, 卵形マラリアと診断した。早速ホスホマイシンによる治療を開始したが, 血液中の原虫数減少が顕著でなく, 再び熱発作を生じたので, クロロキンに切り換え治療した。その後は, 熱発作もなく, 血液中の原虫数も急速に減少し, 3日目には消失した。その後, プリマキンによる根治療法を行わずとも再発は見なかった。

本例は熱発作発症前70日間に、濃厚赤血球22単位、濃縮血小板335単位を輸血されており、これによる感染が最も強く疑われた。供血者357名中、158名について調査出来たうち、海外渡航歴を有する者は30名あり、疑わしい14名について採血検査したが該当者は見当たらなかった。

近年、卵形マラリア流行地は予想外に拡大していると言われており、アジア・南米にも症例が報告されている。

今日のように、海外渡航者が増加したり、多人数からの成分輸血例が増加すると、供血者本人がマラリアの不顕性感染者であり、受血者が感染発症する輸血マラリア例が増加する可能性もある。したがって、今後は献血に際して、このような輸血マラリアの危険性を除外するための方策を確立する必要がある。

#### 51 卵形マラリア原虫感染赤血球の微細構造的変化

松本 芳嗣, 松田 信治, 吉田 幸雄  
(京府医大・医動物)

*Plasmodium* 属原虫およびその感染赤血球の微細構造に関しては非常に多くの研究があり、各種マラリア原虫の相違点と類似点が次第に明らかとなってきた。しかし *P. ovale* については殆ど研究が行われていない。演者らは、ケニアにて感染したと考えられる卵形マラリア患者の血液を材料として、特に感染赤血球の形態的变化について透過型電子顕微鏡による観察を行った。尚、光学顕微鏡的にはほとんどの感染赤血球に Schüffner の斑点が見られ、また卵型をして fimbriation のある感染赤血球も約18%あった。感染赤血球に見られた微細構造的変化を要約すると：1) 赤血球膜の小さな陥入 (caveolae) とそれを取り囲む直径約 50~70 nm の vesicle とからなる caveola-vesicle complex が観察された。本構造は *P. vivax* 感染赤血球においても観察され Schüffner の斑点に一致する構造と考えられている (Aikawa *et al.*, 1975)。2) asexual form 感染赤血球表面に excrescence が観察された。本構造は *P. falciparum* (Miller, 1972), および *P. malariae* (Smith

and Theakston, 1970) 感染赤血球においては観察されているが *P. vivax* 感染赤血球には存在しないとされている (Aikawa *et al.*, 1975)。3) parasitophorous vacuole を形成する膜由来と考えられる cytoplasmic cleft が観察された。本構造は全てのマラリア原虫の感染赤血球に認められる構造とされている。4) 感染赤血球は正常赤血球に比べ一般に大きくまた細胞質の電子密度が低かった。特に gametocyte 感染赤血球においてこの傾向が著しかった。5) asexual form 感染赤血球は多くの projection を有し不規則な形をしていた。

#### 52 三日熱マラリア原虫の経時的形態学的観察、特に Sulfamonomethoxine 投与との関係

天野 博之 (天理病院・海外医療科)  
西山 利正, 猪木 正三, 荒木 恒治  
(奈良医大・寄生虫)

症例は28歳男性、インド旅行中に感染し帰国後微熱、その後連日の高熱発作を来す。高熱発症後3日目に三日熱マラリアと診断された。この時点より30時間にわたり無治療にて、さらに Sulfamonomethoxine (M錠) を単独投与し、血液標本上マラリア原虫の形態学的変化を経時的に観察した。M錠投与後も連日発熱発作を繰り返したが、SP錠投与により解熱し完治せしめた。寄生赤血球数は 2,592/mm<sup>3</sup> から入院当日の発熱発作後 12,595/mm<sup>3</sup> に増加し、次回発熱時まで波状の増減を繰り返すも、ほぼ一定値を維持した。治療前で無性原虫は、まず環状体が増加し、その減少と共に栄養体が发育し、次回発熱発作前に分裂体が出現するという成書通りの変化を確認した。M錠投与後の寄生赤血球数は連続的な減少傾向を認め、特に無性原虫の減少が著明であった。生殖母体は、治療前後とも、無性原虫の減少時に増加、増加時に減少するという興味ある像を示し、M錠投与後では、258/mm<sup>3</sup> から 5,256/mm<sup>3</sup> と著増し、その形態学上、未熟なものも観察され薬剤の影響が示唆された。

そこで DAPI (4',6-diamidino 2-phenylindole) 染色によりマラリア DNA を観察し、DNA の変

化から、特に生殖母体の發育変化の検索を試みた。無性原虫では、環状体で濃縮していた核 DNA が栄養体で種々の程度に拡散してゆく過程が観察され、分裂期で娘核に再び DNA は濃縮されていた。生殖母体の観察では、核の偏在傾向と DNA の拡散傾向を見るものの、治療前後の態度に関して、明らかな差を認め得なかった。但し、今回の観察は 1 例のみの予備実験的なものであり、マラリア DNA の態度の詳細は、螢光観察のみならず螢光測光を加え、さらに分析を続ける必要がある。

### 53 熱帯熱マラリアのキニーネ静脈内注射療法

海老沢 功 (東邦大・医・公衆衛生)

田辺 清勝 (東大・医科研・内科)

熱帯熱マラリアは発病後 5 日以内に適切な抗マラリア剤を用いて治療すれば、一般に順調な経過をとって治る。6 病日以後に治療を開始すると原虫数が減少していても悪化したり、治療開始前にすでに腎不全、意識障害、出血傾向などを示していることがある。

意識障害、嘔吐、吐血などのある例ではキニーネの点滴静注法 (1 日 500 mg × 2 回、おのおの 4 ~ 5 時間かけて行う) が唯一の治療法である。今日まで経験した重症例でキニーネの点滴静注療法の適応と考えられる条件は、i) 意識障害、嘔吐、吐血のある者。ii) 高原虫血症 1  $\mu$ l 当たり 20 万以上の無性原虫があり、BUN やクレアチニンの高値、尿量減少を示すもの。iii) 発病 5 日以内でも原虫数が 40 万/ $\mu$ l 以上のものでは経口的にクロロキンやキニーネ療法を開始してもよいが、病状の変化に応じ常時キニーネ静注療法開始の準備をしておく。

副作用については、i) 腎不全を伴っていることがあるので 1 日量 1,000 mg (塩酸キニーネとして) をこえないようにする。意識回復、吐血と嘔吐がとまったら経口内服に切りかえる。通常静注療法は 2 日で原虫数が急減するからそれ以上続ける必要はない。ii) 一過性に聴力低下をきたした例があるが本例は 1 日 1,350 mg 注射した例である。その後回復した。iii) 偶然の一致か、原虫数が多かったためか血色素尿を合併した例が 2 例あった。

原虫数は  $\mu$ l 当たり最高 104 万と 96 万であった。キニーネ療法と関係あるか否か検討を要する。iv) マラリアの治療中に GPT や GOT が上昇することはあるが多くの場合 100  $\mu$ /ml 以下である。

熱帯熱マラリア死亡例では 8 人中 7 人に認められた。キニーネ点滴静注例でも原虫消失後次第に GPT が上昇 129  $\mu$ /ml に達した例がある。GPT, GOT の上昇とキニーネ静注法との関係も検討を要する問題である。

### 54 三日熱、熱帯熱および卵型マラリアの ST 合剤による治療

吉田 幸雄, 松本 芳嗣, 山田 稔,

塩田 恒三 (京府医大・医動物)

小林 祥男, 金 竜起

(京都市立病院・伝染)

最近、輸入マラリア症例が増加しているが、わが国では抗マラリア剤は市販されておらず、研究者が外国から個別に入手するか、厚生省輸入熱帯病薬物治療研究班から分与してもらうか、どちらかによっている。一方、トリメトプリム・サルファメトキサゾール (ST 合剤) は抗生剤としてわが国で市販されており、ニューモシスチス・カリニ肺炎の特効薬としても知られている。本剤は *in vitro* および *in vivo* の研究でマラリア原虫に有効なことが知られ、わが国でも吉岡ら (1978)、吉田ら (1982)、山口ら (1983) によって治験例が報告された。今回、既報の 1 例を含め三日熱マラリア 2 例、熱帯熱マラリア 1 例、卵型マラリア 1 例の治験成績を報告した。投与量は卵型マラリアにはトリメトプリムとして 10 mg/kg/日 4 日間、他の 3 例は 16 mg/kg/日 3 日間で、熱帯熱マラリア以外は引き続いてプリマキン 15 mg/日を 14 日間投与した。発熱など急性臨床症状は投薬期間中に消失した。検血特に parasite count と stage 分類を厳密に実施した結果、三日熱では無性生殖型は投薬開始後 24 ~ 48 時間、有性生殖型は 48 ~ 72 時間までは認められたが以後消失した。卵型では無性ならびに有性生殖型とも 72 時間後までは認められ、以後消失した。しかし熱帯熱においては無性生殖型は 48 時間後に陰性となったが、有性生殖

型は18日間続いて検出され以後陰性となった。全例とも副作用は認められず、かつ治療後長い例で4年、最近の例で3カ月観察した限り再発をみていない。ST合剤は従来、三日熱および熱帯熱マラリアに用いられたが今回1例ながら卵型マラリアにも有効なことが示された。国内で入手の困難な殺赤内型薬剤に代り、今後わが国におけるマラリア治療剤として有用であると考えられる。

### 55 中米型オンコセルカ症：各種診断法の相互比較

多田 功, 是永 正敬, 三森 龍之  
(熊本大・医・寄生虫病)

坂本 信  
(長崎大・熱帯医研・寄生虫)

吉村 健清 (産業医大・臨床疫学)

J. C. カストロ, G. セア F.

(グアテマラ・マラリア防圧部)

1976年以来、グアテマラ国のオンコセルカ症流行地での伝播ブ防圧研究プロジェクトの実施のプロセスで開発・実施されて来た診断法の相互比較を試みた。第3流行地帯に属する2農園(仔虫率40.0%及び16.0%)の被検者(合計375名)についての検皮法・間接赤血球凝集反応(IHA)・皮内反応(ST)・酵素抗体法(ELISA)の成績をカテゴリカルに相互比較した。検皮法による仔虫率・仔虫密度を基準に考えると、STは感染を検出するには鋭敏すぎて実際のでない。STは仔虫陰性者においても82%に陽性反応を呈した。更に年齢別陽性率を見ると仔虫率の異なる両部落の間で殆ど同一のパターンを呈し、児童においてもすでに非常に高い陽性率を示す。これに対しIHAとELISAでは仔虫0のグループの陽性率はそれぞれ19.8%および18.2%であり、仔虫陽性者における81.3%および74.1%との間に著明な差が認められる。なおIHA値とELISA値の間には $r=0.741$ の相関がある。ELISA値に対しIHA陽性率( $\geq 60$ )をプロットするとシグモイド曲線により相関しつつ上昇した。従ってこれらの方法はオンコセルカ浸淫における年齢・性などのファクターを忠実に反映している点ですぐれた方法と考

えられる。特に、コストの点を除けばフィールドワークの観点からはELISAを導入するのがよいと考えられる。

### 56 犬糸状虫成虫の *p*-nitrophenyl phosphate 水解酵素活性の阻害剤

牧 純, 中島美佐保, 柳沢十四男

(北里大・医・寄生虫)

犬糸状虫成虫の *p*-nitrophenyl phosphate (*p*-NPP) 水解酵素活性を確認し、抗フィラリア剤等種々の添加物質の活性に対する影響を以下の如く検討した。雌又は雄の本虫のホモジネートを、*p*-NPPを含む緩衝液とインキュベートし10% TCAで反応を停止し、冷却・遠心後上清に遊離した *p*-NPPを定量して活性を求めた。酵素濃度と活性、酵素反応時間と反応量それぞれに於いて比例関係が認められた。活性のpH依存性では酸性側に高い活性がみられ(至適pH5位)、アルカリ側での活性は低度であった。本虫の寄生部位の生理的pH(約7.3)に於いて、種々の物質(10mM)の活性に対する影響を *in vitro* で調べた。NaF,  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4$ ,  $\text{ZnCl}_2$ , トリメラルサン(5mg/ml)及びスラミン(1mM)は活性を阻害したが、 $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{NaAsO}_2$ 並びにフルベンダゾール、ジエチルカルバマジン、レバミゾールの影響は認め難かった。

### 57 流血中のマイクロフィラリアに対する細胞附着

林 良博, 森田真奈実, 野上 貞雄,

白坂 昭子, 田中 寛

(東大・医科研・寄生虫)

*Brugia malayi* 感染1年を経過して無マイクロフィラリア(Mf)血症となったスナネズミの腹腔に成虫移植を行い、1カ月後に腹腔からMfを回収した。この $\text{Mf } 2 \times 10^5$ を生後6週齢のスナネズミとBALB/cマウスに頸静脈から移入し、尾静脈から20 $\mu\text{l}$ の血液を経時的に採取してMfの動態を観察した。その結果、腹腔内感染スナネズミから得たMfを移入したマウスでは比較的安定したMf血症が10週間以上持続するのに対し、本実験で得られたMfを移入したマウスでは、移入

1日後 136.3 Mf/20 $\mu$ l, 3日後 20.6 Mf/20 $\mu$ l, 1週後 0.4 Mf/20 $\mu$ l と急激に減少し, 3週後では10匹のマウスすべてにおいて Mf が観察されなかった。またスナネズミにおいても同様に, 急激な Mf 密度の低下が認められ, 特に移入後2日および3日目には5~30%の Mf に細胞の付着が観察された。以上 Mf に対する細胞付着と流血中の Mf 消失機構について報告した。

#### 58 甲府盆地の荒地における宮入貝の調査

中島 康雄, 莊 正國, 佐藤 孝彦  
(山梨医大・寄生虫)

山梨県では宮入貝の対策として火力殺貝と B-2 (=phebrol) の散布が, 1975年より年2回行われているが, 今なお多数の貝が見出される。我々は宮入貝の越冬と駆除対策を免れる機序を明らかにする目的で, 本年2月より6月まで宮入貝の生息調査を, 甲府盆地の水田に隣接した荒地で行った。

互に 2.5~3.0m 離れた地点数カ所を選び, 1辺 30cm の正方形の地表, 深さ 0~10cm, 10~20cm, 20~30cm の土中にある生貝と死貝の数を毎月記録した。土は深さ別に採集し, 研究室で土の重量を測り, 水で洗浄, 篩に掛けて貝を回収して, その生死を確かめた。土は乾燥の上, 加熱滅菌し, 穴を埋めるのに用いた。4月26日に火力殺貝と B-2 散布が行われた。

生貝は地表では6月に, 6匹/5カ所見出したのみであるが, 地中よりは2月に6匹/1カ所, 3月に16匹/3カ所, 4月12日に31匹/5カ所, 5月12日に30匹/5カ所, 6月10日に2匹/5カ所を回収した。6月を除き, 生貝の50~67%は, 0~10cm の浅部より回収されたが, 一方 10~20cm より17匹, 20~30cm より13匹を回収した。6月は0~10cm の浅部の土中に2匹を見出しただけであった。地中の生貝の多くは6月になる前に地表に出るものと思われる。

2月から4月中旬まで, 地表には1カ所平均 0.2~3.0匹の死貝があったが, 殺貝処理後は平均 7.8~8.8匹と増加した。地表に出現した貝が4月末の処理により殺されて, この増加をもたらしたものと思われる。

生貝を実験室内で飼育して, 産卵と稚貝の発生を認めた。地下に潜む貝には, 対策の効果が及び離いと思われる。

#### 59 ビルハルツ住血吸虫虫卵アレルゲンの分画とその性状

大橋 真 (宮崎医大・寄生虫)

石井 明 (岡山大・医・寄生虫)

H. Feldmeier

(Bernhard-Nocht-Institut)

今井 淳一 (宮崎医大・寄生虫)

堀井洋一郎 (長崎大・医・医動物)

ビルハルツ住血吸虫虫卵抗原よりアレルゲン成分を分画し, その性状を調べた。ビルハルツ住血吸虫症患者の尿中より虫卵をホモジナイズし, 上清を虫卵粗抗原とした。アレルゲン活性の測定は, 患者血清及び $\beta$ ガラクトシダーゼ標識抗ヒト IgE を用いた IgE-ELISA で行った。粗抗原を用いて各患者の IgG 抗体価と IgE 抗体価を測定すると, 両者の間に有意な相関は見られなかった。粗抗原を DE 52 陰イオン交換カラムを用いて分画し, 各分画のアレルゲン活性を調べると, 0.05~0.1M の NaCl で溶出される分画に高いアレルゲン活性が見られた。このアレルゲン活性分画を TSK SW 3000 カラムを用いた高速液体クロマトグラフィを用いてさらに分画した。アレルゲン活性はほぼ単一なピークとして検出され, アレルゲンの分子量は約23万と推定された。このアレルゲン成分を結合させたペーパーディスクを用いて, 各患者血清と反応させると, 日本住血吸虫及びマンスン住血吸虫症患者の IgE とも強く反応し, 交差反応性が示された。また 100°C の熱処理によって活性は約 1/4 に減少し, 0.1M の過ヨウ素酸処理によって大部分の活性は消失した。

#### 60 マンソン住血吸虫感染マウスの虫卵抗原及び成虫抗原に対する ELISA 抗体の出現状況

伊藤 洋一, 斉藤 七瀬

(北里大・医・寄生虫)

住血吸虫症の免疫診断法として最近 ELISA 反

応がよく用いられているが、その使用抗原については見解が統一されていない。演者らは至適抗原の検討を意図してマンソン住血吸虫感染マウスを用い若干の実験を行った。

方法と材料：抗原として用いた成虫は感染マウスの門脈より、虫卵は肝及び小腸を消化して得た。いずれもエーテル脱脂後 PBS (pH 7.2) で抽出した蛋白分画を用いた。被検血清はセルカリア30隻又は50隻感染後5週～17週の間に2週間隔で採血したマウス血清、虫卵又は成虫抗原免疫マウス血清、感染マウスの脾細胞とミエローマ細胞を融合させて得た細胞の培養上清（単クローン抗体）を用いた。ELISA はマイクロ法、標識抗体としてペルオキシダーゼ標識プロテインA、基質には *o*-phenylenediamine を用いた。

結果：(1)虫卵免疫血清—虫卵抗原、成虫免疫血清—成虫抗原の組合せで行った ELISA 反応は非常に強い陽性反応が出現した。しかし異なった組合せ（虫卵免疫血清—成虫抗原、成虫免疫血清—虫卵抗原）では弱い反応しか現われなかった。(2)虫卵抗原に対する抗体は感染7～9週以後に出現したが、成虫抗原に対する抗体は実験期間中は殆ど出現しなかった。(3)両性寄生のみでなく単性寄生（雌雄いずれかの虫体は回収されたが、肝に虫卵の認められない）のマウスでも虫卵抗原に対する抗体が認められた。(4)384穴の融合細胞の内、虫卵抗原と反応する抗体産生細胞18穴、成虫抗原と反応する抗体産生細胞2穴を得た。両種抗原に反応する単クローン抗体は得られなかった。

結論：(1)虫卵抗原と成虫抗原は異なった免疫性を有すること、(2)感染マウス血清中には虫卵抗原と反応する抗体が感染7～9週以後出現すること、(3)この抗体の出現には虫卵の存在は必ずしも必要でなく、虫体のみが存在する単性寄生の場合にも出現すること、が示唆された。

#### 61 住血吸虫：肝の生化学的変化の検索モデルの開発

田辺 将信, 竹内 勤, 浅見 敬三  
(慶大・医・寄生虫)

住血吸虫症における肝線維化機構を解析するた

め、マウスの実験的マンソン住血吸虫感染モデルを使って種々の検討を加えて来た。今回は、虫卵を腹腔内に注入したモデルについて、生化学的検討を加えて病態機構の解析を試みたので報告する。

ICR マウス（♀：8～9週齢）にマンソン住血吸虫を感染させた場合、肝臓には著明な DNA、蛋白及び遊離プロリン含量増加、尿素サイクル関連酵素 (carbamoyl phosphate synthetase I (CPS-I), ornithine transcarbamylase (OTC), arginase) 活性低下、プロリン合成系酵素の1つである ornithine transaminase (OTA) 活性増加、プロリン分野の初段酵素である proline oxidase (PO) 活性の低下等の成績が得られた。感染マウスに表現されたこれらの生化学的変動を解析するために、純粋分離した虫卵を正常マウスの腹腔に注入した実験モデルについて、生化学的検索を実施した。虫卵注入マウスの腹腔滲出物中には、DNA、蛋白及び遊離プロリン含量増加、OTA 活性増加が観察されたが、PO 活性は検出できなかった。また、同マウスの肝臓内 CPS-I 活性が有意に低下することが観察された。

以上の成績から、感染マウスの肝臓に観察された DNA、蛋白、遊離プロリン量増加及び OTA 活性増加は、宿主の虫卵に対する炎症性反応に伴った変化であり、同様に、同マウスの肝臓内 CPS-I 活性低下も炎症性反応に随伴したものと考えられた。さらに、今回の成績で見ると、虫卵を腹腔に注入したマウスの腹腔滲出物中の変化は、感染マウスの肝臓内変化に十分に対応したものであることが推測された。

#### 62 住血吸虫感染マウスにおける肝癌発生過程 塘 普, 宮里 稔, 柿添 有二, 飯田 広樹 (久留米大・医・寄生虫)

住血吸虫症の肝癌発生に及ぼす影響を検索する目的で、正常および日本住血吸虫・マンソン住血吸虫感染マウスに発癌剤を投与し、病理形態学的に肝癌の発生過程を観察した。

住血吸虫感染+発癌剤投与群では、肉眼的肝腫瘍は16週～21週に発生し始め、対照の発癌剤投与だけの群より18週～20週早期に発生し、しかも発



生率も高かった。腫瘍発生過程を組織学的に見ると、経過8週～10週頃、虫卵結節形成をした小葉間静脈に囲まれた肝小葉に肝細胞壊死が起こって来る。15週～20週頃、生き残った肝実質内に再生肝細胞群か腫瘍細胞か判定不明な細胞集団が出現する。やがてこのような細胞集団よりなる結節腫瘍が形成される。津田はこれを hyperplastic nodule Type I としている。これが被膜直下であれば、肉眼で灰白色小腫瘍として観察される。次いで、このような腫瘍内に Type I と隣接して、またはその中に細胞の大小不同性、多少多層性を示す細胞集団が出て来る。津田はこれらを hyperplastic nodule Type II としている。次いで早いのは28週頃から hyperplastic nodule の中に多層性、多染性、細胞異型性の強い hepatocellular carcinoma が見られるようになる。

以上の経過を観察した上で、住血吸虫感染+発癌剤投与群における腫瘍の組織像分布を経過週を追って見ると、Type I は20週～22週で最も多くなり、Type I が少なくなるにつれて Type II が増え、hepatocellular carcinoma は Type II が少なくなる時期に多くなった。したがって、津田が提唱するように hyperplastic nodule Type I から Type II へ、そして Type II から hepatocellular carcinoma へと進行するものと考えられる。

### 63 西アフリカ諸国在住邦人の眼疾患について

鈴木隆次郎, 城山 力一

(獨協医大・眼科)

西アフリカ諸国, リビア, モロッコ, セネガル, リベリア, ナイジェリア, ガボン, ザイールを巡回し、現地在住の邦人の眼科疾患の問題について検討を加えてみた。さらに西アフリカ諸国の眼科の診療レベル, 眼科の現状についても合わせて報告する。一方、本年インド, ネパール, パキスタン, トルコを同様に巡回したので、これらの諸国の眼科診療の現状についても検討した。

これらの諸国在住邦人の眼科疾患は、日本で日常遭遇するものと同じであった。

西アフリカ諸国, アジア諸国の眼科医は極めて少なく、眼科疾患に関しては全く管理されていない

と思われた。これらの諸国の失明原因の主流は感染症であり、その原因は淋疾, 梅毒, トラホーム, オンコセルカ症が多かった。これら諸国の失明の原因には飢餓, 不衛生に基づいていると推察された。

### 64 $\gamma$ グロブリンによるA型肝炎の予防効果

小原 博, 表 光代, 伊藤小夜子,  
大利 昌久, 大谷 杉士

(青年海外協力隊事務局)

海老沢 功 (東邦大・医・公衆衛生)

A型肝炎の予防に  $\gamma$ グロブリンが有効とされているが、その効果に関する報告は少ない。技術協力のため開発途上国に2年間滞在する青年海外協力隊では、以来よりA型肝炎に罹患する者が多く、その対策は重要な課題であった。57年度より任国赴任直後から、任期中に予防のため  $\gamma$ グロブリンの定期接種を開始したので、その効果について報告する。

54-58年度における急性肝炎罹患率は、それぞれ4.9, 4.9, 3.3, 1.9, 0.8%であり、 $\gamma$ グロブリン接種開始後罹患率の低下が認められた ( $P < 0.01$ )。これらのうち大部分はA型肝炎であり、血清学的に著しい罹患率の低下が認められた。

57, 58年度における  $\gamma$ グロブリン接種率は80.0%であった。57年度における急性肝炎罹患者をみると、A型12例, B型4例, 型不明のもの3例であった。A型肝炎罹患者は、すべて  $\gamma$ グロブリン接種を受けていない者であった。58年度における急性肝炎罹患患者8例中6例はA型肝炎であった。このうち4例は、発症6カ月以内に  $\gamma$ グロブリン接種を受けていなかった。しかし、発症1カ月前および4.5カ月前に  $\gamma$ グロブリン接種を受けていた者もそれぞれ1例ずつ認められた。

$\gamma$ グロブリンを年に2回以上接種した者と1回以下の接種の者とに分け、A型肝炎の発症率を比較したところ、57年度 ( $P < 0.02$ ), 58年度 ( $P < 0.05$ ) とともに発症率に関し有意差が認められた。A型肝炎の予防に  $\gamma$ グロブリンの接種が有効であることが確認されたが、接種後1カ月および4.5カ月に発症した例もみられ、有効期間等につ

き検討を要すると思われる。

#### 65 プラジカンテルによる各種吸虫症、条虫症の駆虫成績

井関 基弘, 木俣 勲, 加藤真由美,  
高田 季久 (大阪市大・医・医動物)

プラジカンテル (praziquantel, Biltricide®) は住血吸虫症をはじめ吸虫症、条虫症に広く有効であることが注目され、諸外国では1970年代の終り頃から治験例が数多く報告されるようになった。住血吸虫症のみならず肝吸虫症、肺吸虫症、有鉤囊虫症、包虫症、孤虫症など、いままで駆虫が困難であった各種吸虫症、条虫症にも極めて有効であり、副作用は殆ど認められないと報告されている。しかし国内での一般使用認可はまだおいていない。

今回、厚生省の「輸入熱帯病の薬物治療法に関する研究班」から同薬剤の分与を受け、各種吸虫症、条虫症の治療を試みた。肝吸虫症4例、横川吸虫症5例、肺吸虫症1例、広節裂頭条虫症4例および無鉤条虫症1例の合計15例についての駆虫成績を報告する。

肝吸虫症4例の治療前の EPG は 20,000~1,000 で濃厚感染から軽度の感染のものまで含まれた。25 mg/kg 1日3回経口投与の3例は完全駆虫されたが、20 mg/kg 1日3回投与の1例は検出される虫卵数は減少したが陰転せず、後日30 mg/kg 1日3回投与で陰転した。

横川吸虫症5例の EPG は4,700~1,700であった。1例は25 mg/kg 1日3回投与で、2例は20 mg/kg 1日3回投与で、1例は25 mg/kg 1日2回投与で、そして他の1例は25 mg/kg 1回投与で全例虫卵は陰転した。

肺吸虫症1例の EPG は200であり、25 mg/kg 1日3回2日間投与で虫卵は陰転した。

広節裂頭条虫症4例のうち3例は20 mg/kg 1回投与で、他の1例は10 mg/kg 1回投与でそれぞれ完全駆虫ができた。

無鉤条虫症の1例は20 mg/kg 1回投与で駆虫できた。

症状として認められた副作用は30 mg/kg を投

与した1例において軽度の腹痛と、肺吸虫患者への投与例で軽度の吐き気があったのみで他には何ら異常はなかった。血液、尿の一般臨床検査においても全例異常は認められなかった。

#### 66 熱帯性寄生虫病治療薬について

尾辻 義人, 原田 隆二, 中島 哲  
(鹿児島大・医・二内科)

東南アジア、アフリカなど熱帯圏との交流が、ますます盛んになってきている。一方各種の輸入寄生虫病が注目され、特にマラリアについては治療薬の入手困難という問題もあって死亡例が報告される現状である。

昭和56年度になり、輸入熱帯病薬物治療法に関する研究班(班長、田中 寛教授)が結成され、熱帯性寄生虫病薬の確保、配布、治療効果、副作用などについて検討するとともにこれらの薬剤の国内での入手を緩和する努力を続けている。

私どもは主として九州地区を担当しているが、1981年より1984年10月までの薬剤の使用状況ならびにどのような寄生虫病が対象になっているかについて報告する。

先ず疾患別、年度別薬剤配布状況であるが、糞線虫症56件、マラリア24件と多く、ほかにアメーバ性肝膿瘍、カリニ肺炎、鞭虫症、犬鉤虫症、肝吸虫症、人イソスポーラ、包虫症、顎口虫症、ランブル鞭毛虫症、日本住血吸虫症、横川吸虫症、マンソン孤虫症などが対象となった。1981年末より1984年10月までの薬剤配布件数は140件で、年間おおむね50件程度の薬剤の配布状況である。次いで県別・疾患別では鹿児島53件、福岡45件と多く、その他九州各県及び中国・関西地方よりの申込みもあった。医療機関別では、大学病院40件、国公立病院38件、私立病院29件、その他2件であった。

年度別・薬剤別配布状況では、サイアベンダゾールが最も多く、殆どが糞線虫症に使用されている。次いでメベンダゾール、クロロキン、プリマキン、ファンシダールなどの順で、マラリア治療薬の使用がめだつた。

### 67 1981年度西アフリカ沿岸諸国巡回診療をふり返って

関根 勇夫 (獨協医大・一小児科)  
大蔵 健義 (獨協医大・産婦人科)  
本島 新司  
(獨協医大・アレルギー内科)

昭和56年度日本国際医療団派遣西アフリカ沿岸諸国在留邦人巡回医師団として7月28日より同年8月28日迄の31日間で、6カ国7都市において在留邦人の巡回診療を行い、延べ364名を診察し、140名に投薬を行い、46名に子宮癌検診を行った。心電図、子宮癌検診は特に喜ばれたが、更に現地在留邦人側から肝機能検査等の臨床検査をも行ってほしいとの要望がなされた。この要望を実現するため次の2種類の方策が考えられた。第1の方式は巡回医師団が検体を採取し、それを日本に輸送し、日本の検査センターにて測定する方法、第2の方式は受診者が巡回診療の前に現地医療機関にて検査を行い、その測定値の説明を巡回医師団が行う方式で、今回の私達の巡回診療においてはカサブランカがこの方式を採用しており、現地に信頼のおける検査機関のある地域では実行可能と思われた。第1の方式は採取された検体の保存安定性が問題となるため、そのための若干の基礎的検討を行った。分離した血清を25°C、4°C、-60°Cに保存し、0、2、4、6、8、14、16日に血清化学検査 (Na, K, Cl, P, Ca, BUN, Creatinine, T・P, Sugar, GOT, GPT, Al'Pase, LAP,  $\gamma$ -GTP, TTT, ZTT,  $\alpha$ -HBD, T・Cholesterol, T・G,  $\beta$ -LP, T. bili, D. bili, NEFA, CPK) を施行し0日の値との変動を検討した。測定は日立736 multianalyser を使用した。結果は保存期間が8日迄であれば、-60°Cの保存にてCPK以外は全ての上記項目に於いて安定した値が得られ、4°Cの保存に於いても、CPK, bilirubin, NEFA 以外は全て安定した値(0日の値との差が±10%以内の値)が得られ、第1の方式も4°C以下の保存と日本への8日以内の輸送方法が確立されれば、充分実行可能な方式と思われた。

### 68 西アフリカ巡回診療でのポータブル超音波診断装置の使用経験

高田 悦雄, 信田 重光  
(獨協医大・一外科)

例年外務省が派遣している巡回医師団の一員として西アフリカ5カ国を訪問し、ポータブル超音波診断装置を使用する機会を得たので報告する。

使用装置はAloka社製Echo camera 210F型である。210F型は国内向けで電圧100V仕様であり現地で使用するためトランスを用意した。

対象は今回訪問した西アフリカ5カ国(ザイール, ガボン, リベリア, セネガル, モロッコ)の在留邦人である。各都市における超音波検査数はキンシャサ18, リーブルビル13, モンロビア17, ダカール39, カサブランカ42, ラバト22で合計151名であった。このうち超音波検査により診断された疾患は、胆石(無症状)1, 胆嚢腫大2, 屈曲胆嚢1, 胆嚢像陰性1, 脂肪肝5, 肝嚢腫1, 肝腫大1, 腎嚢腫1, 乳腺線維腺腫1の合計14例であった。

受診者の訴えを聞いても検査の手段が殆ど無い発展途上国での巡回診療において、診断能力の高いポータブル超音波診断装置は極めて有力である。

### 69 南西アジア在留日本人の精神衛生について

池森 亨介  
(獨協医大・アレルギー内科)  
城山 力一 (獨協医大・眼科)  
新部 哲雄 (獨協医大・産婦人科)  
信田 重光 (獨協医大・一外科)

南西アジア在留日本人の健康相談の他に、阿部等の自律神経失調に関するCMI調査表を用いて精神衛生状態を調査した。これは身体的項目Vと精神的項目M~Rの得点によって本態性、神経症型、心身症型の自律神経失調と判定するものである。この他に精神的多愁訴群を新たに設けた。この調査表は簡便であるので相談の際の資料とした。

各都市の精神的非健康者はカトマンズ, 男5.9% (0%), 女28.6% (19%) (カッコ内は精神的多愁訴群を除く自律神経失調者群, 以下同

じ), ボンベイ, 男13.5 (2.7), 女23.3 (13.3), カラチ, 男8 (8), 女12.5 (12.5), イスラマバード, 男15.8 (5.3), 女42 (26.3), イスタンブール, 男0 (0), 女20 (6.7), アンカラ, 男8.3 (0), 女39.2 (7.7), 総計で男9.5 (3.2), 女26.2 (14.7)であった。

非健康者群で“はい”の答が多かったのは身体的には下痢をする, 肩, 頸が凝る, 足がだるい, 疲れる等7項目に, 精神的には不適応, 神経質, 神経過敏, 怒り易いなどの13項目がみられた。精神的質問をMからRまで分けて分析すると不適応, 怒りの群に“はい”と答える率が多く, 抑うつ, 緊張の群にその率が少なかった。

この調査表を参考にして軽症うつ病, 抑うつ状態の心身症を各1例ずつ発見した。

#### 70 熱帯病・寄生虫症の診療上の問題点

田辺 清勝 (東大・医科研・内科)

田中 寛 (東大・医科研・寄生虫)

荒木 国興

(国立公衆衛生院・寄生虫)

過去2年間に当病院を受診した症例のうち, 熱帯病に関連があると思われるものは257例があり, これらを疾患別にまとめてみた。

自覚症状では, 帰国後の発熱が最も多く, 受診者の半数近くを占めていた。次いで下痢症状が多く, 受診者の5~6人に1人の割合で下痢症状がみられた。

帰国後の有熱者で, マラリア原虫が確認された者は50名おり, その内訳は, 三日熱マラリア35名, 熱帯熱マラリア15名であった。マラリア以外の有熱者には, ウイルス抗体価の上昇より Dengue 熱 (1人), また骨髓標本の原虫からカラ・アザール (1人) と診断された者がいた。腸管感染症が発熱の原因とされた例では, 腸チフス (2名), 細菌性赤痢 (2名) などがある。A型肝炎ウイルスの IgM 抗体上昇から, 不明熱の原因がA型肝炎であったケースも2例みられた。

寄生虫疾患では, 条虫症16名, 回虫症4名, 横川吸虫2名, 東洋毛様線虫症2名, 肝吸虫症2名, 糞線虫症1名などがある。最近ではこれらの虫体

や虫卵を同定できる専門家が少ないため, 寄生虫疾患は見過され易いように思われる。

好酸球増多を呈した例で, 中程度以上 (10%以上) の増加は10例にみられたが, 全て確定診断までには至っていない。熱帯性肺好酸球増多症の疑い (2名), ディペタロネマ・ペルスタンスの疑い (2名), 顎口虫症の疑い (1名) で検索を行った。

熱帯・寄生虫疾患はわが国の臨床家にはなじみが少なく, 敬遠されがちである。臨床寄生虫学の確立が望まれており, 寄生虫検査の簡便化や, 血清免疫診断法の開発が不可欠と思われる。

#### 71 JICA 海外受託研修の人物交流に参画して

松村 武男 (神戸大・医・医動物)

神戸大学医学部では, 1973年から1983年にわたって JICA, 及び兵庫インターナショナルセンターの支援のもとに, 10回の「医科学技術」研修コースが設置された。そして学内教官及び兵庫県内外関連機関の研究者・職員の協力を得て, 17カ国の発展途上国を対象に46名の海外研修員の研修を行った。このコースの目的は, 発展途上国の医学研究者・医療従事者・保健行政担当者に対して, 主として熱帯医学や公衆衛生に関する理論と実際についての研修を行うことであった。第10回コースの1983年2月に, インドネシア・バングラデシュの帰国研修員16名を対象に, 巡回指導班3名 (松村武男, 伊藤芳久, 北島隆雄) が派遣されたが, その時の視察・討論・アンケート調査を含めて, 今後の問題点として以下の5点をあげることが出来る。①“Certificate”にかわる“Diploma”の認定への要望: Certificate は発展途上国では資格認定にならない。②巡回指導班の派遣や再研修コースによる研修員の follow-up の必要性: 特に後者は効率的な国際交流の有り方である。③施設や器材の不足: 研修員の業績やプロジェクトに応じて最大限の援助と努力をすべきである。④臨床研修の制限: 外国人医師研修に対する何らかの措置が必要である。⑤受け入れ側と研修員の相互の国際交流に対する認識を深める必要性がある。

以上の諸点を含めて, 今後の本コースの展望として, 再研修コースの設置が強く要望される。

## PROCEEDINGS OF XXVI ANNUAL MEETING OF JAPANESE SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE (2)

1-2 November 1984 Kagoshima

### CONTENTS

**Special lecture Certain aspects of tropical diseases in the People's Republic of China**

Professor Xu Bing-kun

**Symposium Problems on drinking water in tropical countries**

Chaired by K. Fujita

**Symposium Epidemiology and control of schistosomiasis**

Chaired by H. Tanaka

**Symposium Digestive tract and tropical disease**

Chaired by K. Kobari

(Appeared in the last issue)

**General presentation**

- 1 Susceptibility of *Aedes albopictus* to chikungunya virus: comparison of virus multiplication patterns in Oahu and Hyogo strains E. Konishi *et al.*
- 2 Treatment of *Wolbachia* infections with tetracycline hydrochloride and the change of compatibility in a Nagasaki strain of *Culex pipiens molestus* O. Suenaga
- 3 On the chironomids and mosquitoes as the allergen of bronchial asthma collected in Midoroga-ike pond area, Kyoto Y. Shogaki *et al.*
- 4 Trombiculid mites in Japan H. Suzuki
- 5 Mother and child relationship in South West Islands T. Terawaki *et al.*
- 6 Studies on acclimation to heat M. Fujiwara *et al.*
- 7 G6PD deficiency in North Sumatora, Indonesia H. Matsuoka *et al.*
- 8 Geographical pathology of Koposi's sarcoma in Western Kenya K. Toriyama *et al.*
- 9 Rhinoscleroma in Western Kenya F. Uzuta and K. Toriyama
- 10 Human genetic studies in Galoa, Fiji K. Yoshizawa *et al.*
- 11 Some hematological findings on healthy adults in Fiji S. Terashi and T. Matsumoto
- 12 Report on the survey of dental diseases in Fiji (1982) I. Semba
- 13 A study on *Angiostrongylus cantonensis* in Fiji R. Uchikawa *et al.*
- 14 Survey on intestinal helminths infection in Kashmir, India K. Nagase *et al.*
- 15 Leishmaniasis in Ecuador Y. Hashiguchi *et al.*
- 16 Investigations on the lung flukes in Leyte, Philippines K. Kawashima *et al.*
- 17 A survey of rat lung worm, *Angiostrongylus cantonensis*, in the Ponape and Kosrae Islands A. Uchida *et al.*

- 18 Determination of habu venom remained in local muscular tissue by ELISA  
M. Nozaki *et al.*
- 19 Effects of phospholipase A<sub>2</sub> on CPK-level  
H. Kihara *et al.*
- 20 Snakebites on the Amami Islands in 1983  
Y. Kawamura and Y. Sawai
- 21 The effect of anti-habu venins  
H. Chinzei *et al.*
- 22 Control of the habu in a narrow area  
Z. Hokama
- 23 Snakebites in Burma  
Y. Sawai
- 24 Isolation of two toxins from *Agkistrodon p. piscivorus* venom  
T. Nikai *et al.*
- 25 Histopathological study on bitten wound by insects (preliminary report)  
E. A. Jalal *et al.*
- 26 Ciguatera in the French Polynesia  
A. Inoue
- 27 The multiplication and distribution of dengue virus type 2 in *Toxophynchites splendens* by intrathoracic infection  
N. Yamamoto *et al.*
- 28 IgG-ELISA antibody titers against Japanese encephalitis and dengue virus type 1 in human sera  
K. Bundo and A. Igarashi
- 29 Dengue and Japanese encephalitis IgM-ELISA antibody levels in sera from dengue hemorrhagic fever patients in Burma  
M. La Linn *et al.*
- 30 Epidemiological observation of cholera infection in Kenya  
M. Ehara *et al.*
- 31 The characterization of *V. cholerae* isolated in Kenya in 1983  
Y. Ichinose *et al.*
- 32 *Vibrio cholerae* O1 isolated in the Aja River, Okinawa  
M. Iwanaga *et al.*
- 33 Infection patterns of vibrio species in fresh water fish imported from the tropics  
T. Mako
- 34 *Campylobacter enteritis* in the Philippines  
Y. Yanagase *et al.*
- 35 Bacterial diarrhea in children in Mombasa  
S. Watanabe *et al.*
- 36 Drug susceptibility of clinical isolates in ICDDR, B hospital  
N. Kusano *et al.*
- 37 Serological study for asymptomatic gonorrhoea  
E. Kita *et al.*
- 38 Some new findings on *Trypanosoma evansi* (Taiwan strain), with special reference of the ultrastructural aspect  
T. Hiruki
- 39 Electron microscopic study on macrophages infected with *Toxoplasma gondii* in the presence of Toxo-GIF  
H. Nagasawa *et al.*
- 40 *In situ* microfluorometry of K-DNA and N-DNA in *Trypanosoma gambiense* using a fluorescence dye, Hoechst 33258 — Effects of bleomycin on both DNAs and their analyses  
S. Inoki *et al.*
- 41 Two cases of amoebic dysentery at Osaka Infectious Disease Center  
M. Akao *et al.*
- 42 Histopathological observation of the early lesion in experimental amoebic liver abscess  
S. Tateno *et al.*
- 43 Experimental chemotherapy of hepatic amoebiasis with halogenated bisphenol derivatives  
S. Kobayashi *et al.*
- 44 Current status of malaria in the Philippines, result of active case detection in Wawa area  
T. Nakabayashi *et al.*
- 45 Malaria in Bangladesh  
K. Buei
- 46 Surveys of *Plasmodium* in Epe, Nigeria  
E. Hori *et al.*
- 47 Notes on *Anopheles soperi* appeared main vector of malaria outbreak at Northern forest areas, Okinawajima, from 1946 to 1948  
I. Miyagi *et al.*
- 48 One case of cerebral malaria saved of life  
K. Kikuya *et al.*
- 49 An imported case of *ovale*-like malaria in Japan  
M. Tsukamoto and T. Fujiyoshi
- 50 One case of *ovale* malaria is suspected to be infected by blood transfusion  
T. Amano *et al.*

- 51 Ultrastructural changes of the erythrocyte infected with *Plasmodium ovale*  
Y. Matsumoto *et al.*
- 52 Morphological changes of *Plasmodium vivax* in the periodically sampled blood smears, before and after the treatment using sulfamonomethoxine  
H. Amano *et al.*
- 53 Intravenous quinine therapy in falciparum malaria  
I. Ebisawa and K. Tanabe
- 54 Treatment of vivax, falciparum and ovale malaria with trimethoprim-sulfamethoxazole  
Y. Yoshida *et al.*
- 55 A comparative study on several diagnostic measures applied in Guatemalan onchocerciasis  
I. Tada *et al.*
- 56 Studies on inhibitors against *p*-nitrophenyl phosphate hydrolysis by adult *Dirofilaria immitis* homogenates  
J. Maki *et al.*
- 57 Cell adherence to *Brugia malayi* microfilariae in the jird  
Y. Hayashi *et al.*
- 58 Collection of *Oncomelania nosophora* at a waste field in Kofu basin  
Y. Nakajima *et al.*
- 59 Fractionation and characterization of an allergenic component from *Schistosoma haematobium* eggs  
M. Owhashi *et al.*
- 60 The occurrence of specific antibodies detected by ELISA against egg and adult worm antigens in mice infected with *Schistosoma mansoni*  
Y. Ito and N. Saito
- 61 Development of an animal model for analyzing the hepatic biochemical changes in schistosomiasis  
M. Tanabe *et al.*
- 62 Histological process of carcinogenesis in schistosomal mice liver  
H. Tsutsumi *et al.*
- 63 Ophthalmic condition of Japanese people in Western African countries  
R. Suzuki and R. Shiroyama
- 64 Preventive effect of human gamma-globulin against hepatitis A  
H. Ohara *et al.*
- 65 Successful treatment with praziquantel of 15 patients infected with *Clonorchis*, *Metagonimus*, *Paragonimus*, *Diphyllobothrium* or *Taenia*  
M. Iseki *et al.*
- 66 Therapeutic drugs for parasitic diseases in the tropical region  
Y. Otsuji *et al.*
- 67 Experiences at traveling health care clinic for Japanese residents in West Coast African countries and some proposal for the future traveling clinic  
I. Sekine *et al.*
- 68 Portable ultrasonic diagnostic equipment used for Japanese mass screening in West Africa  
E. Takada and S. Shida
- 69 Research of CMI on Japanese people in the South West Asia  
R. Ikemori *et al.*
- 70 Recent tropical diseases in this hospital  
K. Tanabe *et al.*
- 71 Problems of the JICA Medical Science and Technology Course held in Kobe University School of Medicine  
T. Matsumura

## General presentation

**1 SUSCEPTIBILITY OF *Aedes albopictus* TO CHIKUNGUNYA VIRUS: COMPARISON OF VIRUS MULTIPLICATION PATTERNS IN OAHU AND HYOGO STRAINS**EIJU KONISHI<sup>1</sup>, TAKEO MATSUMURA<sup>1</sup> AND HIROSHI YAMANISHI<sup>2</sup>Department of Medical Zoology, Kobe University School of Medicine<sup>1</sup> and  
Kobe Gakuin Women's Junior College<sup>2</sup>

Susceptibility of the Oahu and Hyogo strains of *Aedes albopictus* to infection with Chikungunya virus was compared to study the mode of virus growth in vectors. Female mosquitoes were infected orally by feeding on a blood-virus mixture and were titrated individually for the amount of virus after an appropriate period of incubation. In the Oahu strain which was the highest in susceptibility among 10 geographic strains, virus titers in most of the mosquitoes at day 3 varied from  $10^3$  to  $10^5$  PFU and there was a small population showing titers of greater than  $10^5$  PFU (the amount of virus ingested by a mosquito). The amount of virus present in mosquitoes at day 8 ranged from  $10^1$  to  $10^6$  PFU and the population size revealing  $10^6$  PFU increased to 25 per cent. Mosquitoes were then fallen into three groups at day 14, one of which did not show any detectable infectivity ( $<10^1$  PFU), another of which showed low virus titers ( $10^3$ – $10^4$  PFU) and the other of which showed high virus titers ( $10^6$ – $10^7$  PFU). In the Hyogo strain, virus titers of all mosquitoes at day 3 were less than  $10^3$  PFU, and even at day 14 few mosquitoes had high titers over  $10^3$  PFU.

Infection rate was about 40 per cent at day 2 in the Hyogo strain that did not change during additional 13 days, in contrast to the Oahu strain in which all mosquitoes retained the virus at least up to day 7 and about 30 per cent of the population became uninfected between days 7 and 14. Because most of hemoglobin and immunoglobulin in quantity was digested in the midgut and excreted 2 days after feeding on the blood in both strains, it is likely that midgut cells once infected with the virus permitted the multiplication or retention of virus during 7 days in the unsusceptible group of the Oahu mosquitoes, but midgut cells in that group of Hyogo failed to do so. Thus, it is suggested that conception of parasitism can be introduced into this phenomenon: suitability and resistancy for Oahu and unsuitability for Hyogo.



## 2 TREATMENT OF *WOLBACHIA* INFECTIONS WITH TETRACYCLINE HYDROCHLORIDE AND THE CHANGE OF COMPATIBILITY IN A NAGASAKI STRAIN OF *CULEX PIPIENS MOLESTUS*

OSAMU SUENAGA

Reference Center, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

There is evidence that one of the cytoplasmic factor responsible for incompatibility in *Culex pipiens* complex is a rickettsia-like microorganism, wolbachiae, in the cytoplasm of the mosquitoes. It is not clear, however, whether the microorganism is only one factor or not. Then, several strains of different crossing types of *Cx. pipiens* complex were tried to cure the microorganism by using antibiotic, to find the other factors, if they present. A strain of *Cx. pipiens molestus*, which started from one egg raft collected by an ovi-trap in Nagasaki in May, 1980, and is maintained at the Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University, was treated by exposing first-instar larvae to 20 per cent, 10 per cent, 2.5 and 5 per cent (double treatment), and 5 per cent solution of tetracycline hydrochloride for 20 or 24 hours at 25° or 37°C room air conditions. Thereafter, fresh water and food (mouse pellets) was added to the pans containing mosquito larvae. Only one line of the strain have cured the *Wolbachia* infection when it was treated by 5 per cent concentration for 24 hours. Although treated and aposymbiotic females produced viable progeny when mated with treated or aposymbiotic males, the females produced no progeny when back crossed with the males of the original strain with microorganisms. This aposymbiotic strain is maintained for 12 generations already in the laboratory.

## 3 ON THE CHIRONOMIDS AND MOSQUITOES AS THE ALLERGEN OF BRONCHIAL ASTHMA COLLECTED IN MIDOROGA-IKE POND AREA, KYOTO

YUKIO SHOGAKI<sup>1</sup>, TOSHIYA KINO AND SHUNSAKU OSHIMA<sup>2</sup>

Department of Pathology, School of Medicine, Kyoto University<sup>1</sup> and  
Chest Disease Research Institute, School of Medicine Kyoto University<sup>2</sup>

The collections of adult chironomids and mosquitoes were carried out in Midoroga-ike pond area, Kyoto, for the study of the reaginic sensitivity to chironomid and mosquito in patients with bronchial asthma. These adults were collected by dry-ice baited light trap every five nights from the beginning of March to the end of November, 1983.

Chironomid midges collected were 943, consisting of 14 species as follows; *Chironomus yoshimatsui*, *C. kiiensis*, *C. nipponensis*, *Endochironomus impar*, *Pentapedilum*

*sordens*, *Polypedilum cultellatum* in Chironominae, *Pentaneura octopunctata*, *P. monilis*, *P. maclipennis*, *Procladius sagittalis*, *Anatopynia geotghebuerei*, *A. varia*, *Psectrotanytus orientalis* in Tanipodinae and *Cricotopus triannulatus* in Orthocladiinae. Among these species, *Chironomus yoshimatsui* was dominant comprising 57.4 per cent with its' peak seasonal population density at the end of July. Mosquito flies collected were 25,505, consisting of 13 species as follows; *Anopheles sinensis* in Anophelinae, *Mansonia ochracea*, *M. uniformis*, *Uranotaenia bimaculata*, *Aedes japonicus*, *A. albopictus*, *A. vexans nipponii*, *Armigeres subalbatus*, *Culex bitaeniorhynchus*, *C. pseudovishnui*, *C. tritaeniorhynchus summosus*, *C. orientalis* and *C. pipiens pallens* in Culicinae. Among these species, *Culex tritaeniorhynchus summosus* was dominant comprising 97.1 per cent with its' peak seasonal population density at the beginning of July.

#### 4 TROMBICULID MITES IN JAPAN

HIROSHI SUZUKI

Department of Virology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

Recently, there were found many cases of tsutsugamushi-disease in Japan. Kumada (1970) reported 79 species of 30 subgenus and 24 genera before 1970. After that, the author conducted collections of trombiculid mites in Mt. Fuji areas, Nansei Islands (1975, 76), and Nagasaki prefecture (1978, 79, 82) and reported 16 species of 10 genera as new species and 4 species of 4 genera as newly recorded. On the other hand, Takada (1977, 78, 79) surveyed in Tohoku districts of the north-east Japan, and reported 3 species of 6 genera as new species. According to new systematic identification by Vercammen-Grandjean (1968), Japanese trombiculid mites are now identified as 109 species of 38 subgenus and 29 genera. Newly recorded genus in Japan is as follows, *Blankaartia* from Tokara Archipelago, Nakanoshima, *Walchiella* from Amami-Isl., *Schoengastia* from Amami-Isl. and specific species to the Amami-rabbit (*Pentalagus furnessi* as *Cordiseta*). *Whartonia iwasakii* (Miyazaki *et al.*, 1959) synonymized under *Whartonia prima* (Schluger *et al.*, 1959).

#### 5 MOTHER INFANT INTERACTION IN THE SOUTHWEST ISLANDS IN JAPAN

TAMOTSU TERAWAKI<sup>1</sup>, YASUMITSU BABA<sup>2</sup> AND MICHIKO KOBAYASHI<sup>3</sup>

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Kagoshima University<sup>1</sup>,

Hospital of Doctors Association<sup>2</sup> and

Central Health Center of Kagoshima City<sup>3</sup>

The mother has an important effect upon the healthy growth and development of the child. Nowadays children grow up in a materially well environment. On

the other hand, there are many problems of family violence, delinquency, schoolphobia and so forth.

We supposed that a model of an old Japanese mother infant interaction remained in the islands and we sent out a questionnaire about it in 1981. But we didn't get satisfactory results. So we interviewed the old about their child care in several southwest islands. The results were as follows.

About fifty years ago, they were kept busy with their daily lives, beyond our imagination, and so we think that in those days there was little time for childcare. In contrast, today it has advanced very well. Some reasons why the old days were better are that the child grew up seeing the life style of his parents and being in close contact with nature, and that the society was not complex.

On the other hand, we infer that they didn't care if their children rose in the world or not, and for that reason they got a job corresponding to their ability. It seems characteristic that there were not many juvenile delinquents. But this fact must be analyzed more fully.

The tendency of the child care as stated above was almost the same in the Satsuma Peninsula, Yakushima Island, Amamiooshima Island, Okinawa Island, Hateruma Island and Yonaguni Island, although they are scattered over an area of 1,300 km. We guess that it is possible that the islands of Okinawa and Kagoshima are part of the same cultural zone.

## 6 STUDIES ON ACCLIMATION TO HEAT

MARIKO FUJIWARA, NOBU OHWATARI AND MITSUO KOSAKA

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

Effects of heat acclimation on temperature regulation have been studied.

To define the physiological mechanisms of acclimation to a hot environment, experiments were performed with albino rabbits thermally acclimated at 30°C, 60 per cent for more than 4 weeks. Panting and decrease of food intake were observed during heat exposure for acclimation. But, the rectal temperature was around 39°C both in the acclimated (30°C) and non-acclimated (25°C) group. To compare the thermoregulatory activities of these two groups, environmental air temperature was changed continuously from 10°C to 40°C and *vice versa* at conscious condition and animals were fixed on the stereotaxic instrument. Changes of hypothalamic temperature, and of local blood flow of hypothalamus were observed. When changes of local hypothalamic blood flow were plotted against the hypothalamic temperature, slope of regression line was steeper in the heat-acclimated rabbits than those of control ones.

From these results, it is suggested that during heat acclimation thermosensitivities were changed not only in peripheral sites but in central areas, and that these changes might have an important role for thermoregulation in a hot environment.

## 7 G6PD DEFICIENCY IN NORTH SUMATRA, INDONESIA

HIROYUKI MATSUOKA<sup>1</sup>, AKIRA ISHII<sup>1</sup> AND WILLEM PANJAITAN<sup>2</sup>

Department of Parasitology, Okayama University Medical School<sup>1</sup> and  
North Sumatra Provincial Health Service<sup>2</sup>

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency is an inherited disorder of red blood cell metabolism. Affected individuals may suffer hemolytic crisis when treated with primaquine, an anti malarial drug. A screening of 403 males was carried out in malaria endemic area (293 males) and in non-endemic area (110 males) in North Sumatra, Indonesia, by using an agar plate method reported by Fujii *et al.* (1984).

In malaria endemic area 17 (5.8%) males were G6PD deficient and in non-endemic area 1 (0.9%) male was deficient. Totally 4.5 per cent were deficient. Parasite rates in normal and G6PD deficient groups were 9.1 and 17.6 per cent respectively. There was no statistical significance between them.

## 8 GEOGRAPHICAL PATHOLOGY OF KAPOSI'S SARCOMA IN WESTERN KENYA

KAN TORIYAMA, FUKUMU UZUTA AND HIDEYO ITAKURA

Department of Pathology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

We are studying Kaposi's sarcoma in Kenya, East Africa for these ten years. Within a five-year period from 1979 to 1983, we have analyzed Kaposi's sarcoma histopathologically and geopathologically in western Kenya, including Western, Nyanza and Rift Valley Provinces.

The results of our study are as follows: 1) Kaposi's sarcoma accounts for 2.80 per cent with 73 cases within the total of 2,607 malignant tumors. 2) The high incidence of Kaposi's sarcoma is found between the age of 50 to 59. 3) Male to female ratio is 7.5:1. 4) In adults the most common site of primary lesion is the foot, followed by the leg, the hand and the forearm. 5) In children Kaposi's sarcoma is predominantly primarily of lymphatic origin. 6) The high tribal incidence is found among the Luhya and the Luo who are living in Western and Nyanza Provinces.

## 9 RHINOSCLEROMA IN WESTERN KENYA

FUKUMU UZUTA AND KAN TORIYAMA

Department of Pathology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

Rhinoscleroma is a chronic inflammatory disease which is caused by *Klebsiella rhinoscleromatis* and leads to granulomatous growth in the respiratory tract. Finally this disease causes deformity of the nose and the face and obstruction of the air passage. The tropical and subtropical zones, mainly North Africa and Central America, are the most infected areas. Young and middle-aged females living insanitarially are mostly affected by this disease.

We had two cases of rhinoscleroma during a 5-year research, from 1979 to 1983, in western Kenya. These cases were from middle-aged and old women living in the tropical zone with relatively plentiful rainfalls. Characteristic histological findings were moderate infiltration of plasma cells with Russell bodies, lymphocytes and foamy-shaped histiocytes (Mikulicz cells) beneath the atrophic mucosa and gradually the lesion was being replaced by fibrosis. Mikulicz cell phagocitized *Klebsiella rhinoscleromatis* which were demonstrated by P. A. S., Giemsa, silver methenamine and specially by Warthin-Starry stains.

## 10 HUMAN GENETIC STUDIES IN GALOA, FIJI

KAZUKI YOSHIKAWA<sup>1</sup>, SHINJI SUENAGA<sup>1</sup>, YASUMITSU BABA<sup>2</sup>  
AND TAMOTSU TERAWAKI<sup>1</sup>

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Kagoshima University<sup>1</sup> and  
Department of Pediatrics, Medical Association Hospital of Kagoshima City<sup>2</sup>

The human genetic studies on native Fijian children in Galoa and other three villeges were performed. Subjects were 216 native Fijian children in Galoa (30 males and 33 females) and other three villeges (Sandro 43, Vunibau 65 and Mau 48). They were studied on ABO, RhD and MN blood groups, cerumen types, PTC taste blindness, double eyelids and finger print patterns.

Results and Discussion were as follows;

1) ABO blood groups: In Galoa, frequencies of each type were O=52.4, A=30.2, B=15.9 and AB=1.6 per cent. Gene frequency of A was 0.179, the third among four villeges and lower than that in Satsuma Peninsula. Gene frequency of B was 0.096, the second among four villeges, but fairly lower than in Satsuma Peninsula. Gene frequency of O was 0.724, similar to that in other villeges and higher than in Satsuma Peninsula.

2) RhD blood groups: In Fijian four villeges, all subjects were RhD positive.

It seems that Fijians of RhD negative were rare.

3) MN blood groups: In Galoa, frequencies of each type were M=9.5, N=61.9 and MN=28.6 per cent. Gene frequency of M was 0.238, the lowest among four villeges and higher than in Satsuma Peninsula.

4) Cerumen types: In Galoa, frequency of wet type cerumen was 49.2 per cent. Gene frequency of wet type cerumen was 0.147, it was similar to those in other villeges and twice as large as in Satsuma Peninsula.

5) Taste blindness: In Galoa, frequency of taste blindness was 20.6 per cent. Gene frequency of taste blindness was 0.454, it was almost the middle among four villeges and similar to in that Satsuma Peninsula.

6) Double eyelids: In Galoa, all subjects had double eyelids, and in other villeges, frequencies of double eyelids were very high.

7) Finger print patterns: In Galoa, frequency of each type were whorl=49.4, loop=47.0 and arch=3.7 per cent. Pattern intensity ( $\times 100$ ) was 145.7, similar to those in other villeges and Satsuma Peninsula.

Summarizing above, the genetic characters, taste blindness and finger print patterns, was similar to those in Satsuma Peninsula. However, gene frequencies of O, N, wet cerumen types and frequency of double eyelids were higher than in Satsuma Peninsula, and gene frequencies of A, B and M were lower than those in Satsuma Peninsula. It seems that Fijians have some differences from Japanese (in Satsuma Peninsula) in genetic characters. And among the Fijian villeges, there are some differences about genetic characters.

## 11 SOME HEMATOLOGICAL FINDINGS ON HEALTHY ADULTS IN FIJI

SHIN-ICHI TERASHI<sup>1</sup> AND TADASHI MATSUMOTO<sup>2</sup>

Research Center for the South Pacific, Kagoshima University<sup>1</sup> and Institute of Cancer Research, Faculty of Medicine, Kagoshima University<sup>2</sup>

Some hematological tests were performed on 157 cases of healthy adults (Fijian: 63 males and 56 females, and Indo-Fijian: 21 males and 17 females) living in three locations (Galoa, Mau and Raiwaqa, Navua) in Viti Levu, Fiji.

Mean values of red blood cell count (Fijian: male  $4.73 \pm 0.96 \times 10^6/\text{mm}^3$  and female  $4.38 \pm 1.08 \times 10^6/\text{mm}^3$ , and Indo-Fijian: male  $4.74 \pm 0.99 \times 10^6/\text{mm}^3$  and female  $4.32 \pm 1.52 \times 10^6/\text{mm}^3$ ), of hemoglobin level (Fijian: male  $14.2 \pm 2.8 \text{ g/dl}$  and female  $13.0 \pm 2.4 \text{ g/dl}$ , and Indo-Fijian: male  $14.0 \pm 2.9 \text{ g/dl}$  and female  $11.8 \pm 4.7 \text{ g/dl}$ ) and of hematocrit (Fijian: male  $43.9 \pm 7.6\%$  and female  $39.8 \pm 7.0\%$ , and Indo-Fijian: male  $43.8 \pm 6.9\%$  and female  $37.9 \pm 12.6\%$ ) in blood were almost similar to those of Japanese and Western countries' people.

Eleven cases of anemia were found among the tested inhabitants. Anemia as divided into four subtypes; three (Fijian: 1 male and 1 female, and 1 Indo-Fijian male) hyperchromic-macrocytic, six (Fijian: 1 male and 1 female, and Indo-Fijian:

1 male and 3 females) hypochromic-microcytic, one (Fijian male) normochromic-normocytic and one (Fijian female) hyperchromic-normocytic anemia.

About 50 per cent of the people (Fijian: male  $10.3 \pm 4.9 \times 10^3/\text{mm}^3$  and female  $11.3 \pm 6.1 \times 10^3/\text{mm}^3$ , and Indo-Fijian: male  $9.8 \pm 4.7 \times 10^3/\text{mm}^3$  and female  $10.6 \pm 5.0 \times 10^3/\text{mm}^3$ ) have anemia which seemed to be mainly caused by remarkable eosinophilia. A study was made in one of Fijian villages (Galoa) where the percentages and absolute numbers of eosinophils in blood smear were  $17.9 \pm 8.1$  per cent and  $2,045 \pm 1,147/\text{mm}^3$  respectively in male and  $15.4 \pm 6.6$  per cent and  $1,830 \pm 1,119/\text{mm}^3$  respectively in female. The inhabitants of Galoa having eosinophilia in blood smear test were over 85 per cent in both sexes.

As results of those hematological findings, it seems necessary to do parasitic and nutritional analyses on anemic patients and all of the healthy-looking inhabitants three locations of Viti Levu, Fiji.

This work was supported by Special Research Grant of the Ministry of Education, Science and Culture, Japan (the Second Scientific Survey of South Pacific, organized by the Kagoshima University Research Center for the South Pacific 1982).

## **12 REPORT ON THE SURVEY OF DENTAL DISEASES IN FIJI (1982)**

ICHIRO SEMBA

Department of Oral Pathology, Dental School, Kagoshima University

In a self-contained subsistence community, the diseases, which are chiefly due to nutritional disorders and infectious diseases, are closely related to foods and have influence on community activities. Oral condition reflects systemic condition and is more directly related with these basic factors. We applied the method corresponding to 'Combined oral health and treatment assessment' (WHO, 1977). We examined the subjects on Nov. 26, 29, and 30, 1982 at Galoa Village, Vunibau Village and Raiwaqa (Navua) Village in Viti Levu Island. All subjects are native Fijians and live the self-contained subsistence community life in these villages. The number of examined subjects are fifty (15 males and 35 females) and distribution is 15 to 77 years of age. These subjects showed good growth of maxillofacial and oral structures. The majority of the subjects had third molars with normal exposure. The mean number of existing permanent teeth steeply decreases with subjects' age. After the fifties, more than half of them have permanent-teeth fewer than fifteen. The mean number of filling teeth is very few. The mean number of decayed teeth indicates mostly three to four in any age. The mean number of missing teeth increases straightly with subjects' age. The relative frequency of soft deposits precedes that of calculus. The gum segments involved by intensive gingivitis were found even among the teen-agers. Advanced stages of periodontal involvement segments are found increasingly with subjects' age after the thirties. The most of dental treatments for native Fijians are tooth extractions. Easygoing tooth extraction results in destruction

of occlusion and advanced periodontal diseases. In Fiji, substantial education of oral health and hygiene for adult villagers as well as school children is needed, although we cannot help pointing out the insufficiency of the number of capable persons and of the sources of revenue for dental cares.

This work was supported by the Special Research Grant of the Ministry of Education, Science and Culture, Japan (The Second Scientific Survey of the South Pacific, organized by the Kagoshima University Research Center for the South Pacific in 1982).

### 13 A STUDY ON *ANGIOSTRONGYLUS CANTONENSIS* IN FIJI

RYUICHI UCHIKAWA<sup>1</sup>, ATSUO SATO<sup>1</sup>, MASAHIRO TAKAGI<sup>2</sup>  
AND SEIKEN MATAYOSHI<sup>3</sup>

Department of Medical Zoology, Faculty of Medicine, Kagoshima University<sup>1</sup>,  
Department of Medical Zoology, School of Medicine, Mie University<sup>2</sup> and  
Department of Epidemiology, Research Institute of Tropical Medicine,  
Faculty of Medicine, Kagoshima University<sup>3</sup>

Wild rats and molluscs were examined for *Angiostrongylus cantonensis* on Viti Levu, Fiji in 1981–82. The adult worms were detected from *Rattus rattus* and *R. exulans* at all four surveyed areas (20.0–56.8%). All of four *Laevicaulis alte* and ten out of 20 unidentified land snail harbored third-stage larvae which developed to adult *A. cantonensis* in the laboratory rats.

The sera of wild rats were checked for antibody against *A. cantonensis* crude antigen with Ouchterlony's double diffusion test, and 84.6 per cent (11/13) of *A. cantonensis* infected rat and 14.3 per cent (4/28) of *A. cantonensis* uninfected rat sera were positive.

The human sera were examined against *A. cantonensis*, *Ascaris suum* and *Dirofilaria immitis* crude antigen with the same method, because the inhabitants highly harbored round worms and hook worms, and filariasis is found in Fiji. Twenty-six, 22 and 86 out of 138 cases were positive against *A. cantonensis*, *A. suum* and *D. immitis* respectively, and three cases of *A. cantonensis* positive and 45 cases of *D. immitis* positive were negative against other two species. Then 23 *A. cantonensis* positive sera which seemed also positive against *A. suum* and/or *D. immitis* were absorbed by each antigens other than *A. cantonensis*. All sera absorbed by *D. immitis* became negative against *A. cantonensis*, and three cases, including one *D. immitis* negative serum, absorbed by *A. suum* were still positive.



## 14 SURVEY ON INTESTINAL HELMINTHS INFECTION IN KASHMIR, INDIA

KEIZO NAGASE, YOSHIMASA MAENO, TETSUZO TOTANI<sup>1</sup>,  
SHINNOSUKE NOMOTO, TOYOHICO TSUDA<sup>2</sup> AND  
MUZZAFAR AHMAD<sup>3</sup>

Department of Parasitology<sup>1</sup> and Department of Surgery<sup>2</sup>, Fujitagakuen University School of  
Medicine and J & K Medical Education Services, Srinager Medical University<sup>3</sup>

The sera and stool examination for parasites was carried out in Srinagar of Kashmir, India, for 18 days from July 25th to August 11th 1984.

The stool examination on 28 fecal (only recovery stool) specimens collected from the inhabitant of Kokarnath gathered by Chitranjan Citranjan Mobile Hospital revealed that 96 per cent were positive for parasites. The majority of them was *Ascaris lumbricoides* and those showed combined infection of two kinds of *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichura*. The positive rates in age groups were highest in the 21–30 year age group in both male and female, and prevalence rates of each parasites were as following *Ascaris lumbricoides* 93 per cent, *Trichura trichuris* 52 per cent, *Taenia saginata* 4 per cent, *Entamoeba histolytica* 4 per cent, *Entamoeba coli* 7 per cent, *Giardia lamblia* 7 per cent. Toxoplasma antibody measured by latex agglutination test was positive in 42 per cent of patients with parasitic infection. On the other hand, the biochemical and serological test were not remarkable, within normal, but IgE and eosinophil was found to be significantly higher than that in normal.

## 15 LEISHMANIASIS IN ECUADOR

YOSHIHISA HASHIGUCHI<sup>1</sup>, TATSUYUKI MIMORI<sup>2</sup>, MASATO KAWABATA<sup>3</sup>,  
GOMEZ, E. A.<sup>4</sup> AND CORONEL, V. V.<sup>4</sup>

Department of Parasitology, Kochi Medical School<sup>1</sup>, Department of Parasitic Diseases,  
Kumamoto University School of Medicine<sup>2</sup>, Department of Parasitology,  
National Institute of Health, Tokyo<sup>3</sup> and Department de Parasitologia,  
Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical, Ecuador<sup>4</sup>

American cutaneous or muco-cutaneous leishmaniasis, caused by *Leishmania braziliensis sensu lato*, is endemic in most provinces of Ecuador, where it is a considerable problem of public health. Little information, however, has been available on epidemiological features of the disease, such as morbidity of inhabitants, vectors and reservoirs in each endemic area. For a better understanding of the epidemiology of leishmaniasis in the country, we performed investigations on the mode of trans-

mission in several endemic areas. The results obtained are as follows. 1. In a newly established plantation, 15 (15.8%) of the 95 inhabitants examined were diagnosed as positive for leishmaniasis with ulcers on the skin. During the period between 1977 and 1982, a total of 57 (60.0%) of these examinees have suffered from the disease. 2. *Lutzomyia trapidoi* and *Lu. hartmani*, man-biting sandflies, were first reported as vectors of leishmaniasis in Ecuador; the infection rates were 7.7 per cent in the former and 3.9 per cent in the latter. In the Pacific coastal region of the country, six man-biting species of the genus, *Lutzomyia*, were recorded. By performing biting collection through dusk to dawn, *Lu. trapidoi* and *Lu. hartmani* were found to be mainly crepuscular and nocturnal blood feeders in Ecuador. 3. *L. braziliensis* s. l. was isolated from three wild mammals, viz., three-toed sloth, *Bradypus infuscatus ephippiger*, tropical red squirrel, *Sciurus granatensis* and kinkajou, *Potos flavus*. These animals were, for the first time, incriminated as reservoir hosts of leishmaniasis in Ecuador.

## 16 INVESTIGATIONS ON THE LUNG FLUKES IN LEYTE, PHILIPPINES

KENJIRO KAWASHIMA<sup>1</sup>, SHIGEHISA HABE<sup>2</sup>, TEIJI KIFUNE<sup>2</sup>  
AND BAYANI L. BLAS<sup>3</sup>

Laboratory of Medical Zoology, School of Health Sciences, Kyushu University<sup>1</sup>,  
Department of Parasitology, School of Medicine Fukuoka University<sup>2</sup>, and  
Schistosomiasis Control and Research Project, the Philippines<sup>3</sup>

The fresh water crabs *Sundathelphusa philippina* were collected from Jaro, Leyte and examined for *Paragonimus* infection. All of 11 crabs examined were proved to be naturally infected with the metacercariae which were parasitic in the muscle (70%), heart (22%), gills (5%) and other portions of the crab host (3%). They were orally fed into the experimental animals such as dogs, cats and albino rats, in which adults of *Paragonimus* were obtained.

In the same area, the wild rodents *Rattus rattus* were collected and examined for *Paragonimus* infection. Four of 11 rodents examined were proved to be naturally infected with *Paragonimus*. The number of the flukes per host was 10, 5, 2 and 1, totaling 18.

The adult flukes from both experimental and natural mammalian hosts were identified as *Paragonimus westermani filipinus* Miyazaki 1978 based on their morphological features.

## 17 A SURVEY OF RAT LUNG WORM, *ANGIOSTRONGYLUS CANTONENSIS*, IN THE PONAPE AND KOSRAE ISLANDS

AKIHIKO UCHIDA<sup>1</sup>, MASAHIKO ISHIBASHI<sup>2</sup>, TATSUO YABE<sup>3</sup>  
AND TATSUO UDAGAWA<sup>1</sup>

Department of Environmental Biology<sup>1</sup>, Department of Animal Breeding<sup>2</sup>  
Azabu University and Institute of Public Health, Kanagawa Prefecture<sup>3</sup>

A survey of rat lung worm, *Angiostrongylus cantonensis*, on rodents was made in the endemic area of Ponape Islands (Kolonia, Sokehs, Sapoutik, Nan Madol, Ohwa, Kitti, Nauru Island and Nah Island) and Kosrae Islands (Kosrae and Lelu Ruin) during the period from April to July 1984 and obtained the following results:

Ninety-four roof rats, *Rattus rattus*, sixty-five polynesian rat, *Rattus exulans* and fifty-three field mice, *Mus musculus* in the endemic area were examined. Nineteen of 94 roof rats (20.2%) and twenty-seven of 65 polynesian rats (41.5%) were parasitized with *Angiostrongylus cantonensis* in the endemic area.

## 18 DETERMINATION OF HABU VENOM REMAINED IN LOCAL MUSCULAR TISSUE BY ELISA

MASATOSHI NOZAKI, MASANOBU YAMAKAWA AND  
YASUHIRO TOMIHARA

Division of Venomous Snakes, Okinawa Prefectural Institute of Public Health

Experiments were performed for the study of length and amount of venom remaining in the local muscular tissue on experimental Habu (*T. flavoviridis*) envenomations. Rabbits were injected in *M. vastus lateralis* with 50  $\mu\text{g}/0.1\text{ ml}$  and 200  $\mu\text{g}/0.1\text{ ml}$  of Habu venom. After venom injection, they were killed at intervals of 1/2, 1, 3, 5, 24 and 48 hours, and determined the amount of venom remained in the muscular tissues by ELISA.

Another experiment was also performed for the study of anti-local effects of antivenom against Habu venom. Dilution of Habu antivenom containing 6,000 u, 600 u and 60 u were injected to the rabbits intravenously. One hour after injection, rabbits were challenged to *M. vastus lateralis* with 200  $\mu\text{g}$  of Habu venom. One hour after venom challenge, they were killed and the residue of venom in the muscular tissues were determined by ELISA.

The results obtained are as follows.

1. The amount of venom in *M. vastus lateralis* of the group injected with 50  $\mu\text{g}$  were decreased 32  $\mu\text{g}$ , 9  $\mu\text{g}$ , 7  $\mu\text{g}$ , 4  $\mu\text{g}$  and 3  $\mu\text{g}$  after 1/2, 1, 3, 5 and 24 hours respectively. The venom in the tissue were considerably decreased within one

hour after injection.

2. The amount of venom of the group injected with 200  $\mu\text{g}$  were also decreased 139  $\mu\text{g}$ , 66  $\mu\text{g}$ , 41  $\mu\text{g}$ , 33  $\mu\text{g}$ , 7  $\mu\text{g}$  and 6  $\mu\text{g}$  after 1/2, 1, 3, 5, 24 and 48 hours respectively.
3. Rabbits which were given 6,000 u and 600 u of Habu antivenom protected themselves perfectly against 200  $\mu\text{g}$  of crude Habu venom, although 60 u of antivenom neutralized unsatisfactorily.

## 19 EFFECTS OF PHOSPHOLIPASE A<sub>2</sub> ON CPK-LEVEL

HIROSHI KIHARA<sup>1</sup>, SHIN-ICHI TERASHI<sup>2</sup>, MOTONORI OHNO<sup>3</sup>  
AND SABURO HASHIMURA<sup>1</sup>

Department of Physiology, Faculty of Medicine<sup>1</sup> and Research Center for the South Pacific<sup>2</sup>, Kagoshima University and Laboratory of Enzyme Chemistry, Faculty of Science, Kyushu University<sup>3</sup>

The measurements of creatine phosphokinase (CPK) level in serum and the histological observations were made in rabbits and rats injected with Habu crude venom or purified phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>). CPK activity increased five -fifteen-fold within 8 hrs of the injection and maintained the high-level for 24 hrs. The histological features at the site of injection showed degeneration and muscle necrosis. BPB-PLA<sub>2</sub>, one histidine residue was modified by p-BPB, and L-fragment from PLA<sub>2</sub>, N-terminal octa-peptide was removed by BrCN cleavage, were tested. However, they had no effect on CPK-level. The enzyme activity of PLA<sub>2</sub> is necessary to increase the CPK activity. The effect of Habu-antivenin on CPK-level and myonecrosis was assayed. The mixture of crude venom or PLA<sub>2</sub> and antivenin were injected into rats. The antivenin could not inhibit the increase of CPK-level, but kept muscle fibers well.

## 20 SNAKEBITES ON THE AMAMI ISLANDS IN 1983

YOSHIHARU KAWAMURA AND YOSHIO SAWAI  
The Japan Snake Institute

In 1983, 174 bites by Habu (*Trimeresurus flavoviridis*) were reported in the Amami Islands, of which 55 (32%) bites were reported from the Amami Main Islands and 119 (68%) were from the Tokunoshima Islands. The average morbidity rate per 1,000 population was 1.46 in which the highest was 4.79 in Isen and the lowest was in Naze. During warmer months from April to October, 127 or 73 per cent of the total bites occurred. Age of the patients fell most frequently in fifties and forties represented by 30.5 per cent and 17.8 per cent respectively. Bites in males were two

times as frequent as those in females. Eighty-eight or 51 per cent of the total bites occurred in agricultural field and 35 or 20 per cent were in residences and 20 or 11.5 per cent were on roads. During daylight hours from 6 a.m. to 6 p.m., 118 or 68 per cent of the total bites occurred, whereas 56 or 32 per cent of bites were during dark hours from 6 p.m. to 6 a.m. . Most bites occurred on extremities, 82 (45.1%) and 93 (51.1%) occurred in the upper and lower extremities, respectively; of which 47 (26%) of bites were in fingers, 29 per cent were in lower legs, 13 per cent were in feet and 12 per cent were in hands.

In 174 bites, no death was reported and necrosis of tissues at the locus of bite occurred in 31 in which 9 (5.0%) led to motor disturbances after the wound had healed.

## 21 THE EFFECT OF ANTI-HABU VENINS

HIROSHI CHINZEI<sup>1</sup>, TAKEO SAKAI<sup>2</sup> AND MATSUYUKI NISHINO<sup>2</sup>

Department of Medical Zoology, Faculty of Medicine, Tokyo Medical and Dental University<sup>1</sup> and Department of Veterinary Hygiene, Faculty of Agriculture and Veterinary, Nihon University<sup>2</sup>

There are still some severe sequelae resulting from myonecrosis in the patients bitten by Habu (*Trimeresurus flavoviridis*) in the Ryukyu Islands every year. We thought that one of the reasons might be the low level of the neutralization to myonecrosis in anti-Habu venins (AHV), that is to say, AHV as treatment might protect incomplete myonecrosis caused by Habu venom (HV), and carried out the following experiments.

AHV were mixed with HV and 0.1 ml of them was injected intramuscularly into each mouse (DDY, male,  $25 \pm 1$  g) and all mice used were killed under anesthesia with chloroform 24 hours after injection, and these injection sites were stained with hematoxylin-eosin and examined histopathologically. Four AHV were tested in these experiments. Two of them neutralized the hemorrhage produced by 600  $\mu$ g of HV and others did the one done by 500  $\mu$ g of it. However, all AHV tested could not protect the myonecrosis caused by 125  $\mu$ g of HV.

The results demonstrated that there was a significant difference between the anti-hemorrhagic titre and the antimyonecrotic one of AHV, and the latter was only one-fourth to one-fifth of the former. We consider that, it is desirable that the antivenin has the same therapeutic effects on main several symptoms caused by snake-bite, especially, in the treatment of Habu-bite.

## 22 CONTROL OF THE HABU IN A NARROW AREA

ZENJI HOKAMA

2-2-8 Tsuji, Naha City, 900

During six years from 1978 to 1983, we had studied on the control of the Habu by two method — the method was the capture-tool (1978–1980, 1982–1983) and the snaketrap (1981). The results are as follows. In 1978, we could not discovered the Habu. We were failed in the Habu caught in 1979. Two habus were captured by the capture-tool in 1980. Five habus were captured by the three snaketrap in 1981. In 1982, we don't captured a Habu in spite of the normal meteorology. It may be suddenly decreased in the number because the Habu were captured many in an experiment station (1.1 ha) in 1981. A habu were captured in 1983. It may be the Habu that have kept after the Habu-caught or invaded in an experiment station look for the bait. According to the result of five habus, the population density must be habitated more than 4.5/ha at least.

## 23 SNAKEBITES IN BURMA

YOSHIO SAWAI

The Japan Snake Institute

In 1979, 410 deaths due to snakebites were reported in Burma. Morbidity and mortality per 100,000 population were 25.3 and 1.3, respectively. Ninety-one per cent of the total bites occurred in plane areas along Irrawaddy River; Sagaing, Mandaley, Magwe, Pegu, Irrawaddy and Rangoon covering 69 per cent of the total population. *Vipera russelli siamensis* is responsible for 91 per cent of the total bites, whereas rate of bites by *Naja naja kouthia* is 5 per cent. Although antivenoms against Russell's viper and cobra are manufactured in Burma, the high fatality rate was resulted from delayed arrival of patients at hospital due to poor facility of communication and transportation. Pathogenesis of Russell's viper bite is systemic hemorrhage accompanied by prolonged coagulation of blood and acute renal failure.

## 24 ISOLATION OF TWO TOXINS FROM *AGKISTRODON P. PISCIVORUS* VENOM

TOSHIAKI NIKAI, MITSUHIRO KISHIDA, RITSUKO KUSANO,  
NOBUHIRO MORI AND HISAYOSHI SUGIHARA

Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Meijo University

Piscivorus Toxin 1 and 2 were isolated from *Agkistrodon piscivorus piscivorus* venom by Sephadex G-100, DEAE-Sephacel, CM-Sephadex and DEAE-cellulose column chromatographies. These toxins were homogeneous as established by a single band on acrylamide gel electrophoresis, SDS-polyacrylamide gel electrophoresis and isoelectric focusing. These preparations possessed proteolytic activity hydrolyzing the dimethylcasein or fibrinogen. Toxin 2 had caseinolytic activity, too. Lethal, hemorrhagic and proteolytic activities were inhibited by EDTA or o-phenanthroline. The molecular weights of Toxin 1 and Toxin 2 were approximately 114,000 and 27,800, respectively. By the addition of mercaptoethanol, Toxin 1 was dissociated into two polypeptide chains (MW 20,000 and 16,000). The isoelectric points were found to be pH 5.85 and pH 5.10. The amino acid compositions of reduced and methanesulfonated Toxin 1 and Toxin 2 are composed of 900 and 230 amino acid residues based on the molecular weight of 114,000 and 27,800, respectively. Toxin 1 and Toxin 2 produced not only local hemorrhage in the skin and muscle, but also produced systemic hemorrhage in internal organs such as the stomach and lung.

## 25 HISTOPATHOLOGICAL STUDY ON BITTEN WOUND BY INSECTS (PRELIMINARY REPORT)

ELYUSRAR ALYASAR JALAL<sup>1</sup>, SHOKICHI TANI<sup>1</sup> AND KIICHI SATO<sup>2</sup>

Department of Medical Zoology<sup>1</sup> and Institute for Tropical Medicine<sup>2</sup>,  
Kanazawa Medical University

Thirteen Hartley strain guinea pigs were used. Three guinea pigs received mosquito bites and the others received injection of 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 per cent formic acid solution intracutaneously. Inflammatory reaction of the mosquito-bitten wound was examined and compared with inflammatory reaction caused by injection of formic acid solution according to the histopathological method. One day after mosquito bite, slight infiltration of neutrophils and lymphocytes was seen at the sub papilar layer of the corium, and at 7th day eosinophilic cells appeared at the same layer. 0.4 per cent formic acid solution showed significant cells infiltration at the reticular layer of the corium four hours after injection. After seven days the inflammatory reaction was severe.

## 26 CIGUATERA IN THE FRENCH POLYNESIA

AKIO INOUE

Research Center for the South Pacific, Kagoshima University

Among a variety of seafood poisonings ciguatera is the commonest occurrence in the tropical and subtropical seas. Ciguatera is a comprehensive term given to a low mortality intoxication by the ingestion of marine foods, especially of coral reef fish. The artificial disturbances of shallow water ecosystems through such as the construction of harbour and the dredging of bottom sand usually lead to induction and enhancement of ciguatera incidences. Without any peculiar destruction of marine environments this poisoning is often observed in and around the coral reefs.

The causative organism, the first producer of the toxin, was found to be a dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. This epibenthic unicellular alga usually inhabit the surface of macro algae showing the preferency for some limited algal species as *Turbinaria ornata*, a brown alga, and *Jania* sp., a red calcareous alga. The toxin elaborated by this dinoflagellate is transferred first to the herbivores and the detritus feeders which is further translocated to carnivores inhabited in coral reefs or moving around off-shore waters. Thus most fishes in an area where dense population of the dinoflagellate is recognized can become toxic in due course of time.

Gastrointestinal symptoms such as vomiting, diarrhea and nausea are conspicuous in parallel with neurological ones as paresthesia of the extremities. No specific remedies are yet found. Several toxins are elucidated which are involved in ciguatera. Those are ciguatoxin, scaritoxin, maito toxin, ciguaterin and other minor components. The chemical nature and structure of individual toxin are now being investigated.

## 27 THE MULTIPLICATION AND DISTRIBUTION OF DENGUE VIRUS TYPE 2 IN *TOXORHYNCHITES* *SPLENDENS* BY INTRATHORACIC INFECTION

NORIMI YAMAMOTO, EIKI TANIMURA, TOMIYOSHI ITO AND AKIO OHYAMA

Department of Microbiology, Kansai Medical University

On the studies of dengue virus (DV) isolation and replication in adult mosquitoes, Rosen (1981) and Watts *et al.* (1982) reported that the *Toxorhynchites* mosquitoes were susceptible to DV and useful for these studies.

When we choose some animals as the host for isolation and detection of viruses, not only viral recovery from infected hosts but also analysis of the infections mode



are important.

We have studied the multiplication of DV in *T. splendens* by intrathoracic inoculation and the distribution of DV antigen positive cells in the mosquito during the DV multiplication.

As a proto type virus, Tr 1751, which was highly passaged in suckling mouse brain, was used and as wild type viruses, BR 006 and BR 116 were used. The latter two strains were isolated from the DHF patients with *T. splendens* then passaged in C6/36 cells 3 to 4 times. Each viral suspension was inoculated intrathoracically in dose of 0.2  $\mu$ l with a microdispenser (Ohyama *et al.* 1984). DV titers in the head, thorax and abdomen were assayed every 3 days by the plaque assay method with Vero cells. After removal of wings and legs, mosquitoes were severed into three parts, head, thorax and abdomen. Ten mosquitoes were pooled and emulsified. The supernatant of the emulsions were used for the titration. The distribution of DV antigen positive cells in each part was detected by the indirect FA method every day until 6th day and 9, 12 and 15 days after the inoculation. Every parts of mosquitoes was squashed on slide glasses, fixed and treated with calf serum (Biken). IgG of anti Tr 1751 mouse ascitic fluid (HI; 1: 1,280) and FITC labeled anti mouse IgG goat serum (Meloy) were used.

The results were as follows:

There were not so much differences on the multiplication of DV and the distribution of FA positive cells among three virus strains. Viral titers in the head and thorax increased gradually by day and the maximum titer were  $10^5$  PFU/region after 15 days of inoculation. While the maximum titer of abdomen was approximately  $10^4$  PFU/region after 6 to 9 days of inoculation, then decreased.

In the specimen of 1 to 2 days, only hemocytes were observed as the FA positive cells in all parts. Hemocytes, fat bodies which were certified by the Sudan III staining were observed as the FA positive cells in the specimen of 2 to 3 days. Brain cells became positive after 4 days of inoculation. The numbers of positive cells were increased for a period of 4 to 15 days. During this period, the numbers of the positive fat body cells have not increased so much. Cells of the salivary glands became positive after 9 days of inoculation and kept positive in the subsequent period.

From these findings, we concluded that intrathoracically inoculated DV were phagocyted by hemocytes then multiplied in their cytoplasm. The infected hemocytes migrated into the body and spread DV to the other susceptible organs, such as fat bodies, ganglions, salivary glands and others.

Furthermore, we could detect FA positive cells in all inoculated mosquitoes with IgG of hyper immune mouse ascitic fluid until 3 days after DV inoculation. The data were earlier than those of Rosen (1981) and Watts *et al.* (1982) who used patients' sera.

## **28 IGG-ELISA ANTIBODY TITERS AGAINST JAPANESE ENCEPHALITIS AND DENGUE VIRUS TYPE 1 IN HUMAN SERA**

KEIKO BUNDO AND AKIRA IGARASHI

Department of Virology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

Immunoglobulin G (IgG) antibody titers against Japanese encephalitis (JE) and dengue virus type 1 (D1) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) among encephalitis and dengue hemorrhagic fever (DHF) patients in Thailand, JE patients in Japan, healthy people in JE endemic area in Japan (Kumamoto Prefecture) and Thailand (Chiang Mai Province).

DHF patients and encephalitis patients with secondary type of HI response in Thailand showed high levels of IgG-ELISA titers both by D1 and JE antigens. DHF patients with primary type of HI antibody response showed similar levels of IgG-ELISA titers against both antigens. In the case of JE patients in Japan and encephalitis patients in Chiang Mai with primary response of the HI showed IgG-ELISA titer against JE antigen higher than their titers against D1. The IgG-ELISA titers against D1 in Kumamoto distributed in lower range as compared with those against JE, although some people over 50 years of age possessed relatively high IgG-ELISA titers against D1 antigen. On the other hand, adult people in Chiang Mai possessed similar titers against these two antigens as measured by IgG-ELISA.

## **29 DENGUE AND JAPANESE ENCEPHALITIS IgM-ELISA ANTIBODY LEVELS IN SERA FROM DENGUE HEMORRHAGIC FEVER PATIENTS IN BURMA**

MAY LA LINN, KEIKO BUNDO AND AKIRA IGARASHI

Department of Virology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

Paired sera from 168 patients clinically diagnosed as dengue hemorrhagic fever (DHF) were examined for the antibodies against four serotypes of dengue (D1, D2, D3, D4) and Japanese encephalitis (JE) virus antigens by the IgM-capture-ELISA. Comparisons were made between the serodiagnosis by the hemagglutination-inhibition (HI) and anti-dengue or anti-JE IgM-ELISA titers. Among 18 cases with primary dengue infections as shown by the HI, 15 had diagnostic levels of anti-dengue IgM antibodies. All the 24 cases of definite secondary dengue infections and 60 cases of presumptive secondary dengue infections as revealed by the HI were also diagnosed as dengue by IgM-ELISA. Of 66 cases which were not diagnosed as dengue by the HI, 39 pairs could be diagnosed as dengue by their IgM-ELISA antibody levels.

Using single type of dengue antigen, the highest positive rate was obtained by the D4 antigen between 82 to 93 per cent of the efficiency using all the four types of dengue antigens. Positive cases using only acute sera were 73 per cent of those diagnosed as dengue by the paired sera. None of the 168 cases possessed diagnostic levels of anti-JE IgM antibodies.

The results show that IgM-ELISA has advantages over the HI test in terms of its diagnostic efficiency, rapidity, simplicity, capacity of getting results by single serum specimen, and differential diagnosis with other related flaviviruses like JE.

### **30 EPIDEMIOLOGICAL OBSERVATION OF CHOLERA INFECTION IN KENYA**

MASAHIKO EHARA, SHIGENORI WATANABE, YOSHIO ICHINOSE  
AND TATSURO NAITO

Department of Bacteriology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

More than 17,000 rectal swab specimens were examined for *Vibrio cholerae* O1 at Cholera Laboratory in Homa Bay District Hospital in 1983. Out of these specimens, 1,301 cases were positive for *V. cholerae* excluding repeated specimens. Seven hundred eighty-eight cases were cholera patients admitted and 513 cases were healthy carriers of *V. cholerae*. Number of positive cases for *V. cholerae* was lowest in the age-group of 13-19 years of males. Females of child-bearing age-group showed the highest. Monthly variation of cholera-positive cases showed two peaks (March and July), having close co-relation with the dry season. Monthly variation of cholera by age-group also showed two peaks in March and July. The former was formed by age-group of 20-39 years and the latter was by 13-19 years. Outbreaks of cholera were found in Kanyada Locations. Small outbreaks were also observed in Gembe, Kasipul, Kabuoch and Kamagambo Locations. The mortality rate of the admitted cases due to cholera was 9 per cent. Adult female seemed to affect the family contacts. A small number of tetracycline resistant strains were already isolated in 1982, whereas most of the strains isolated in 1983 were resistant and *eltor* ogawa type.

### **31 THE CHARACTERIZATION OF *V. CHOLERAE* ISOLATED IN KENYA IN 1983**

YOSHIO ICHINOSE, MASAHIKO EHARA, SHIGENORI WATANABE  
AND TATSURO NAITO

Department of Bacteriology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

Since the emergence of resistant strains of *Vibrio cholerae* to tetracycline in Tanzania was reported by Mhalu *et al.*, the concerns on the emergence of resistant

cholera strains have been paid even in Kenya. Actually, since 1982, some resistant strains of *V. cholerae* to tetracycline have been isolated in Kenya. Therefore, we tried to collect as many specimens as possible to characterize biochemically and bacteriologically.

A total of 245 strains of *V. cholerae* were collected from the cholera patients in Homa Bay District Hospital, Migori Health Center, Omba Hospital and other medical facilities in Nyanza Province. Most of the strains tested are *eltor* type except one untypable strain and are Celebes original type except one cured strain. Environmental cholera survey was done after cholera outbreak was subsided. Twenty strains of NAG vibrio were isolated from water samples in Nyanza Province. No *V. cholerae* O1 was isolated.

Out of 245 strains of *V. cholerae*, 184 are resistant to tetracycline, streptomycin and ampicillin. All the strains of *V. cholerae* are sensitive to chloramphenicol and nalidixic acid. Only one strain of *V. cholerae* is sensitive to all five antibiotics. One hundred and sixty four strains out of 196 strains of *V. cholerae* showed resistance to O/129 (vibriostatic agent) which has been used to differentiate vibrio group from other organisms.

### 32 *VIBRIO CHOLERAE* O1 ISOLATED IN THE AJA RIVER, OKINAWA

MASAAKI IWANAGA<sup>1</sup>, KOICHIRO YAMAMOTO<sup>1</sup>, NOBORU NAKASONE<sup>1</sup>,  
MASAO TANABE<sup>1</sup> AND TAMIO NAKASONE<sup>2</sup>

Department of Bacteriology, University of the Ryukyus School of Medicine<sup>1</sup> and  
Okinawa Prefectural Institute of Public Health<sup>2</sup>

*Vibrio cholerae* O1 El Tor was isolated from the Aja River, Okinawa in 1980. Prophage type of these vibrios belonged to Ubol type which is different from Celebes type, the present pandemic El Tor Vibrios. The colonies of these El Tor vibrios on TCBS agar looked sucrose negative, but sucrose positive in Barsiekow medium. In Barsiekow medium with 1% agar, the medium about 1 cm from the surface increased pH indicated with blue color, but the sucrose was fermented in the deeper area than 1 cm from the surface. Phage type revealed type 1 and type 6, while Ubol type El Tor vibrios isolated in Taiwan, the Philippines, and Kenya belonged to type 4 or untypable group.

After isolation of *Vibrio cholerae* O1 in the Aja River, environmental survey was intensively carried out but *Vibrio cholerae* O1 was never detected other than in Aja River. The above facts suggested that the El Tor vibrios in the Aja River have been inhabitant of the river for a long time.

These vibrios were non toxigenic and non adhesive to the intestinal epithelium. Colony hybridization test revealed the lack of tox-gene.

### 33 INFECTION PATTERNS OF VIBRIO SPECIES IN FRESH WATER FISH IMPORTED FROM THE TROPICS

TOSHIHIRO MAKO

Fukuoka City Institute of Public Health

In tropical fishes the infection with vibrios, non-O1 *V. cholerae*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. metschnikovii* were 35.8, 18.9, 6.7, 20.0, 8.9 and 2.2 per cent respectively. Enterotoxin was produced by 47.3 per cent of non-O1 *V. cholerae* and 52.0 per cent of *V. mimicus*.

### 34 CAMPYLOBACTER ENTERITIS IN THE PHILIPPINES

YASUO YANAGASE<sup>1</sup>, EIJI KITA<sup>2</sup>, SHUZO KASHIBA<sup>2</sup>, CHITO P. FRANCO<sup>3</sup>  
AND CATHERINE P. RANOA<sup>3</sup>

Department of Bacteriology, Hyogo College of Medicine<sup>1</sup>, Department of Bacteriology,  
Nara Medical College<sup>2</sup> and San Lazaro Hospital, Manila, the Philippines<sup>3</sup>

From 1980, we have studied cases of children with diarrhea at the San Lazaro Hospital for Campylobacter enteritis. Blood specimens were collected and added to Columbia broth, and stool specimen were also taken and cultured on Skirrow's medium as well as in other media used for diarrheal samples.

A 10.2 per cent positive for *Campylobacter jejuni* was obtained (four out of thirty-nine) in 1982 compared with a slight increase in 1984 with seven positives out of forty-eight (14.6%). Clinical symptoms were typical of Campylobacter enteritis like: passing out of stool at a rate of 4 to 10 times a day; fever (37°C–39°C); vomiting was observed from 50 per cent of the patients; abdominal pain and dehydration.

Two different serotype strains of Campylobacter were isolated from one patient; another patient passed out *Shigella flexneri* and still another patient was positive for a flagellated and a non-flagellated strain of Campylobacter.

Isolated strains were then tested for sensitivity to antibiotics. One out of the fourteen isolates showed resistance to ABPC and TC, and six out of the fourteen were resistant to SM.

### 35 BACTERIAL DIARRHEA IN CHILDREN IN MOMBASA

SHIGENORI WATANABE, MASAHIKO EHARA, YOSHIO ICHINOSE  
AND TATSURO NAITO

Department of Bacteriology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

The existence of *Campylobacter jejuni* and enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) were studied on children with diarrhea in Mombasa, Kenya, in 1983. *C. jejuni* which was isolated from 12.5 per cent of rectal swabs among diarrheal children (98/782), was secondly noted enteropathogen following enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC). Out of 98 positive cases, 21 of mixed infection with EPEC, ETEC, *Shigella* species or other pathogens were observed. The age distribution of up to two years of age were more frequently infected than older ones and that the peak incidence was in the 19–24 month age group. On the other hand, ETEC was the thirdly predominant pathogen following EPEC and *C. jejuni*, giving an infection rate of 6.0 per cent (47/782). Out of 47 cases, heat stable or heat labile enterotoxin were detected in 24 and 21 cases respectively, and producers of both toxins were proved in two cases. Ten out of 47 cases were also infected with other enteropathogens. There were no significant differences between rates of ETEC and age or sex.

### 36 DRUG SUSCEPTIBILITY OF CLINICAL ISOLATES IN ICDDR, B HOSPITAL

NOBUCHIKA KUSANO<sup>1</sup>, MASUMI MATSUSE<sup>1</sup>, MITSUO KAKU<sup>1</sup>, CHIKAKO  
MOCHIDA<sup>1</sup>, KEIZO YAMAGUCHI<sup>1</sup>, ATSUSHI SAITO<sup>2</sup>, KOHEI HARA<sup>2</sup>,  
R. Z. ZEAUR<sup>3</sup>, S. Q. AHKTAR<sup>3</sup>, I. HUQ<sup>3</sup> AND K. M. AZIZ<sup>3</sup>

Department of Laboratory Medicine, Nagasaki University Hospital<sup>1</sup>, The Second  
Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine<sup>2</sup>  
and International Centre for Diarrhoeal Disease Reseach, Bangladesh<sup>3</sup>

The drug susceptibility of *Shigella* sp. isolated in Bangladesh was investigated by micro-broth dilution method and compared with that of Japan. Sixteen kinds of antibiotics and 111 strains of *Shigella* sp. were used for this study, and producibility of beta-lactamase among these strains was examined by means of nitrocefin and acidometric technique.

As the result, resistant strains were observed in 32.5 per cent tetracycline, 20.5 per cent to sulfamethoxazole/trimethoprim, 10.8 per cent to ampicillin (ABPC), 4.8 per cent to kanamycin and 3.8 per cent to chloramphenicol among the clinical isolates in Bangladesh and more than 90 per cent of these strains showed resistance to more than two antibiotics. Beta-lactamase was detectable from nine strains with

the frequency of 10.8 per cent including eight of *S. sonnei* and one of *S. flexneri* isolated in ICDDR, B hospital and these strains proved highly resistant to ABPC with the MICs value of more than 50  $\mu\text{g/ml}$ .

### 37 SEROLOGICAL STUDY FOR ASYMPTOMATIC GONORRHEA

EIJI KITA<sup>1</sup>, SHUZO KASHIBA<sup>1</sup> AND YASUO YANAGASE<sup>2</sup>

Department of Bacteriology, Nara Medical College<sup>1</sup> and Department of Microbiology, Hyogo College of Medicine<sup>2</sup>

Ribosomal fractions were obtained from a culture of type 2 *Neisseria gonorrhoeae* strain P-17 which was isolated from a patient with an acute gonococcal infection; these fractions were purified to eliminate the components of the outer membrane complex by affinity chromatography (Sepharose-anti-outer membrane complex antibody conjugates were used as the solid immunosorbent), and the resulting preparation was designated the purified ribosomal fraction. The purified ribosomal fraction was used to detect antibody activity in sera obtained from culture-positive asymptomatic carriers and healthy controls by a passive hemagglutination test. This passive hemagglutination test has a specificity of 100 per cent for both sexes and sensitivities of 99.4 and 88.2 per cent for female and male carriers, respectively, when an antibody titer of more than 1:3 was defined as abnormal. An enzyme-linked immunosorbent assay was also used to measure the relative amounts of specific antibodies to the purified ribosomal fraction, and this assay revealed that the anti-purified ribosomal fraction antibodies were immunoglobulin G.

### 38 SOME NEW FINDINGS ON *TRYPANOSOMA EVANSI* (TAIWAN STRAIN), WITH SPECIAL REFERENCE OF THE ULTRASTRUCTURAL ASPECT

TAKEO HIRUKI

Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University

The pattern of cell division of *Trypanosoma evansi* has not been amply clarified, although the longitudinal binary fission is known commonly. The cytostome has so far been reported in the epimastigote form or culture form in *T. mega*, *T. conorrhini*, *T. rajae* and *T. cruzi*. However, no existence of cytostome has been reported in the trypomastigote form of *Trypanosoma*. Also, the intracellular axoneme with a paraxial rod has not been reported in any species of Trypanozoon.

Both of the merits of Lanham's method for isolation of the parasites from the blood of infected animal and of a Sorval MT5,000 ultramicrotome equipped with the apparatus of the referent light for preparation of the ultra-thin sections were applied

to this study, and the pattern of cell division, the cytostome-like structures and the flagellar membrane-free axoneme in the parasite body were observed with a JEOL 200 CX electron microscope. The findings were as follows:

- 1) The flagellar division of this strain proceeded simultaneously with the formation of a daughter cell, in which the newly-formed subpellicular microtubules occurred at the position of two-level crossing against those of the maternal cell. Then, the constriction between the maternal cell and the daughter cell, which were enclosed by the same membrane, occurred and "twisting-off" resulted. This pattern of cell division was thought to be rather "unequal segregation" than the longitudinal binary fission.
- 2) Cytostome-like structures existed at the juxtaposition of the adhesive site of the flagellum to the parasite body. In this site, the cell membrane, associated with the surface coat, invaginated into the cytoplasmic matrix; the grade of invagination varied from the depth of the juxtannucleus position to the shallow depression. The subpellicular microtubules, in some cases, ran parallel to the surface coat of the invaginated part; in other cases, ran around the invagination and formed several "rings". To elucidate whether these invaginations may be the cytostome, cytochemical analysis is needed.
- 3) A flagellar membrane-free axoneme existed with a paraxial rod within the parasite body. The reason why the bare-flagellum might occur within the cytoplasm of this strain is unknown.

### **39 ELECTRON MICROSCOPIC STUDY ON MACROPHAGES INFECTED WITH *TOXOPLASMA GONDII* IN THE PRESENCE OF TOXO-GIF**

HIDEYUKI NAGASAWA, HIDEKI KAMIDAIRA, MIKIO OKA  
AND YOSHIHIRO ITO

Department of Parasitology, School of Medicine, The University of Tokushima

The growth inhibitory factor of *Toxoplasma* (Toxo-GIF), an immune mediator, is released from sensitized T cells with other similar substances collectively known as lymphokines (Shirahata *et al.*, 1977), and inhibits the multiplication of this parasite in mouse macrophages, kidney cells and embryonic fibroblasts (Chinchilla and Frenkel, 1978; Matsumoto *et al.*, 1981). In the present study, we have examined the events from the interaction between *Toxoplasma gondii* and murine peritoneal macrophage in the presence of Toxo-GIF under light and electron microscopes.



**40 IN SITU MICROFLUOROMETRY OF K-DNA AND  
N-DNA IN *TRYPANOSOMA GAMBIENSE* USING A  
FLUORESCENCE DYE, HOECHST 33258 — EFFECTS OF  
BLEOMYCIN ON BOTH DNAs AND THEIR ANALYSES**

SHOZO INOKI<sup>1</sup>, YOSHIHIRO ITO<sup>2</sup>, MIKIO OKA<sup>2</sup>, HUMIO OSAKI<sup>3</sup>  
AND MASATO FURUYA<sup>3</sup>

Department of Parasitology, Nara Medical University<sup>1</sup>, Department of  
Parasitology, School of Medicine, The University of Tokushima<sup>2</sup>  
and Kochi Medical School<sup>3</sup>

Hoechst 33258, one of the benzimidazole derivatives, has been employed for the fluorescent staining of DNA in cells (Hilwig and Gropp, *Exp. Cell Res.* 75: 122–126, 1972). This fluorescent dye binds specifically with A–T base pair of DNA. The present study was attempted to utilize this dye for the *in situ* microfluorometry of kinetoplast DNA (K-DNA) and nuclear DNA (N-DNA) in each cell of *Trypanosoma gambiense* (Wellcome strain) as previously reported by Inoki *et al.* (*Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A* 250: 182–190, 1981). Several improvements were made to obtain the stable results, and subsequently the concentration quenching was completely removed. The trypomastigote cells (blood stream forms), isolated by Lanham's method from the infected mouse blood, were smeared on the agar film, spread thinly over the glass slide, and fixed by so-called 'half-dry method' (Yamada and Shono). They were stained with the freshly prepared solution of 1  $\mu\text{g/ml}$  Hoechst 33258 in 1 mM Tris-buffer (pH 7.2) without containing Na-ion, which precipitates this dye, and subjected to the *in situ* microfluorometry. Using this new method, the effects of bleomycin on K-DNA and N-DNA in *Trypanosoma gambiense* were observed. Consequently, it was learned that the fluorescent intensity shows two peak values in the course of observations for 380 minutes. One appeared 30 minutes after the bleomycin treatment and the other 360 minutes after. From the time of the occurrence, the second peak value was suspected to come from the repair of the bleomycin-damaged DNA. To get further confirmation of this repair phenomenon, 3 ABA (3 amino-benzamide) as an inhibitor against the repair enzyme was used successfully.

**41 TWO CASES OF AMOEBIC DYSENTERY AT OSAKA  
INFECTIOUS DISEASE CENTER**

MITSURU AKAO, YOSHIHIRO SAKAUE, YASUHIRO KISHIDA  
AND TAKAKAZU AOKI

Osaka Infectious Disease Center

Number of amoebic dysentery cases are definitely increasing yearly. We had

13 cases in 1983, and already 18 cases by the end of October, this year. Out of these, we are reporting on two rather unusual cases of the amoebic dysentery. One case was with liver and lung abscesses but had been treated as tuberculous pleurisy because of prominent pulmonary shadows, but symptoms of liver abscess was rather masked. The other was with widely disseminated ulcers and necroses in the colon, and died in spite of total resection of the colon.

## 42 HISTOPATHOLOGICAL OBSERVATION OF THE EARLY LESION IN EXPERIMENTAL AMOEBIC LIVER ABSCESS

SEIKI TATENO<sup>1</sup>, TSUTOMU TAKEUCHI<sup>1</sup>, TATSUSHI FUJIWARA<sup>2</sup>,  
SEIKI KOBAYASHI<sup>1</sup>, MASANOBU TANABE<sup>1</sup>, SACHIO MIURA<sup>1</sup>  
AND KEIZO ASAMI<sup>1</sup>

Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University<sup>1</sup> and  
Electron Microscope Laboratory, Keio University<sup>2</sup>

Although some investigators previously succeeded in producing experimental amoebic liver abscess in the laboratory animals by direct inoculation of axenically cultured amoebae into the liver, it has been impossible to elucidate the mechanism responsible for formation of amoebic liver abscess. We, therefore, developed an improved method for inoculation of axenic amoebae into experimental animals without injury to the liver. By our new method, we were able to demonstrate the early lesions of amoebic liver abscess in the experimental animals. This communication deals with light- and electron-microscopic observation on the early lesion of amoebic liver abscess of Mongolian gerbil during consecutive 7 days after intraportal injection with axenically cultured amoebae (strain HM-1: IMSS; 300,000 per head).

Three hours after intraportal inoculation, amoebae were detected in the vasculature of Glisson's capsule, and focal degeneration of hepatocytes was also demonstrable. In six hours, focal necrosis surrounded with neutrophilic infiltration was observed. In twelve hours, the boundary between normal and necrotic tissues became more distinct. Presence of thrombi and fibrin as well as amoebae were frequently in the periphery of necrotic tissues. In twenty-four hours, many amoebae were detected inside the necrotic tissues containing numerous cells. Electron-microscopically, viable amoebae were frequently found in the hepatic sinusoid. By the 2nd or 3rd day, microabscess, which included amoebae and many infiltrated cells and was surrounded by the thin layer of epithelioid cells and fibroblast, appeared. On the 4th to 7th day, number of amoebae per each abscess significantly increased, and microabscess grew up quickly and consequently became surrounded by the thick layer of epithelioid cells.

In comparison with these observations, control animals, which received glutaraldehyde-fixed amoebae (strain HM-1: IMSS; 300,000 per head) also showed focal necrosis containing neutrophilic infiltration in the liver after 6 hours post-inoculation. In 12 hours, however, control animals showed no more advance of

hepatic lesions in its size and histological features, and showed reduction in necrotic lesions thereafter. The difference in host response between control and experimental animals was confirmed by different elevation of serum transaminase activities between two groups of animals.

According to these histopathological observation, we suggest that amoebic liver abscess develops as follows; (1) amoebic embolism into liver microvasculature (2) hepatic focal necrosis (3) amoebic multiplication in the necrotic lesions (4) host granulomatous reaction to amoeba.

### **43 EXPERIMENTAL CHEMOTHERAPY OF HEPATIC AMOEBIASIS WITH HALOGENATED BISPHENOL DERIVATIVES**

SEIKI KOBAYASHI, TSUTOMU TAKEUCHI, SEIKI TATENO  
AND KEIZO ASAMI

Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University

Our previous study demonstrated that halogenated bisphenolic derivatives inhibited *in vitro* growth of axenic (HM-1: IMSS strain) amoebae. Accordingly, we examined therapeutic effects of bithionol, dichlorophene and hexachlorophene on the experimental amoebic liver abscess in hamster and jird in the present investigation. Among these three compounds, only dichlorophene showed significant reduction in the size of experimental amoebic abscess. Concentrations needed for inhibiting formation of amoebic abscess in hamster were 50–75 mg/kg/day  $\times$  10 days by oral administration, while those in jird were 100–300 mg/kg/day  $\times$  10 days. These observations suggest that dichlorophene may be an effective therapeutic agent against human hepatic amoebiasis.

### **44 CURRENT STATUS OF MALARIA IN THE PHILIPPINES, RESULT OF ACTIVE CASE DETECTION IN WAWA AREA**

TOSHIO NAKABAYASHI, NORIHIRO NISHIMOTO AND TETSUO KIYOTANI

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

Increased difficulties and troubles are anticipated in efficient implementation of malaria control project which has been integrated into PHC system in respective countries. These difficulties are partly caused by worsened socioeconomic condition. For better understanding of the recent status of malaria incidence in the Philippines, we introduce some of data published from Ministry of Health. Since the latter half of 1960's, malaria morbidity and mortality rates have been almost in the same level, respectively. In 1983, the number of blood specimens collected in case detection by

MES members were nearly 700,000, positive cases approximately 85,000 (*P. f.* cases occupied more than 60%), and SPR 12.2 per cent. Chloroquine resistant *P. f.* was reported from various places of the country.

Wawa area located along Marikina River about 60 km north of Manila is known as malarious area. We conducted "active case detection" by house-to-house visit in August of 1982 and 1983. In 1982, the number of blood slides collected were 109, positive cases 27 (*P. f.* 14 and *P. v.* 13), and SPR 27.2 per cent. In 1983, our field survey was seriously restricted by heavy rain. Blood specimens were collected only from patients with symptoms (fever and others). The number of blood specimens were 46, positive ones 12 (*P. f.* 10, *P. v.* 1, and *P. f.* and *P. v.* mixed 1), and SPR 26.1 per cent. In view of the fact that Wawa area is located near the capital city and under direct surveillance by malaria experts in malaria control project, the results obtained in this survey will indicate partially the current status of malaria incidence in the Philippines.

## 45 MALARIA IN BANGLADESH

KAZUO BUEI

Department of Medical Zoology, Osaka City University Medical School

Malaria has been a major public health problem in Bangladesh. Malaria was hyperendemic in the eastern border district of Chittagong Hill Tracts. The recorded ABER for the whole country was 2.46 and API 0.42 per thousand in 1982. The higher incidence occurred in the Chittagong Hill Tracts and Chittagong districts. In 1982, 41 per cent of the total positives were recorded as *P. falciparum*. There are four confirmed malaria vectors in Bangladesh — *Anopheles balabacensis*, *A. minimus*, *A. philippinensis*, *A. sundaicus*. *A. balabacensis* is known as an important vector of the forest malaria. The seasonal peak transmission occurred during the pre-monsoon (April–May) and the post-monsoon (Sept.–Oct.) periods.

Malaria control program is under Directorate General of Health Services. At the field level, Health and Family Planning Worker is responsible for the implementation of the program. Specialists for malaria control are assigned at the high risk area. Malaria worker for DDT spraying are attached to 623 subsectors of the designated zones. The current malaria control activities were based upon a stratification of the country into low and high risk areas according to the situation prevailing in 1976. The activities were carried out through the Thana Health Complex in both high and low risk areas. The main activities employed were passive and active case detection. In high risk areas the strategy is to spray DDT 1 g/m<sup>2</sup> in two rounds, one pre and one post-monsoon, and to conduct case detection and treatment by multipurpose and unipurpose health workers.

There is no specific national budgetary allocation for training. As a result there is no organized training course for the new recruits who receive training merely through attachment to existing field staff. There is no provision for refresher training of existing personnel.

#### 46 SURVEYS OF *PLASMODIUM* IN EPE, NIGERIA

EITARO HORI<sup>1</sup>, TERUAKI AMANO<sup>2</sup>, MASATOSHI TAKAOKA<sup>3</sup>  
AND EUGENE O. OGUNBA<sup>4</sup>

Department of Parasitology, Saitama Medical School<sup>1</sup>, Department of Parasitology,  
School of Medicine, Yokohama City University<sup>2</sup>, Saitama Institute of Health<sup>3</sup> and  
College of Medicine, University of Ibadan<sup>4</sup>

The surveys of *Plasmodium* were undertaken in Epe, southwest Nigeria, from October to November, 1982. The town is located in the rainforest zone and neighbors on the lagoon in the south. The blood samples were taken, from the fingertip, in three secondary and high schools and a water works. This blood films were made and examined after stained by Giemsa's solution. A total of 622 were examined and 97 (15.6%) were positive for *Plasmodium*. In the schools, 475 students (aged 11–23) were examined and 18.3 per cent (15.9–21.9%) were positive on the average. Among the staffs (aged 20–48) of these schools, 109 were examined and 7.3 per cent (3.4–13.9%) were positive on the average. The positive rate among 38 workers (aged 20–70) in the water works was 5.3 per cent and it was lower than those in above. The positive rates among teenes, twenties, thirties, fouties and fifties-and-above were 18.7, 6.8, 11.1, 3.7 and 9.1 per cent respectively. Most of them were infected with *Plasmodium falciparum*, while only 3 (0.5%) were infected with *Plasmodium malariae*.

#### 47 NOTES ON *ANOPHELES SAPEROI* APPEARED MAIN VECTOR OF MALARIA OUTBROKEN AT NORTHERN FOREST AREAS, OKINAWAJIMA, FROM 1946 TO 1948

ICHIRO MIYAGI, TAKAKO TOMA AND KANZEN TERUYA  
School of Health Science, University of the Ryukyus

During a period from 1946 to 1948, just after World War II, the outbreak of vivax malaria was found among the evacuees in the northern forest areas of Okinawajima (Fukuchi, 1973). *Anopheles sinensis* Wied. has been recognized as the only main vector of the malaria in the Okinawajima (Hunter, 1951, Farid *et al.*, 1965, Fukuchi, 1973).

Since 1973, the authors have studied on the biologies of mosquitoes in the Ryukyu Islands and found the following interesting things: *Anopheles saperoi* was found commonly in the forest of the northern part of Okinawajima throughout a year. 2. The female of the species has a special preference for human and feed easily human

during day-time in forests. 3. Epidemic of vivax malaria were found especially among the evacuees in the mountain. 4. *An. saperoi* can act as vector of vivax malaria experimentally (Ohama, 1947).

As mentioned above, *An. saperoi* seems to be an important vector of malaria in the forest areas of the northern part of Okinawajima after World War II (1946–1948).

#### 48 ONE CASE OF CEREBRAL MALARIA SAVED OF LIFE

KOICHI KIKUTA<sup>1</sup>, SHIGEKI HAYASHI<sup>1</sup> AND KIYOMASA TANABE<sup>2</sup>

Department of Internal Medicine, Mito Kyodo Hospital<sup>1</sup> and Department of Internal Medicine, Institute of Medical Science, The University of Tokyo<sup>2</sup>

One case of cerebral malaria, which was saved of life by drip infusion of kinine and dialysis, is presented. On September 1983, a 27-year-old man came back from Indonesia where he had been on business. He had no fever during one year and two months of his stay in that country. After he returned, he developed anorexia and passed diarrheal stool twice or thrice per day. In the morning of September 29, shivering and headache associated with high fever developed. He consulted a physician in this neighborhood and was prescribed drugs. As no improvement was seen in his symptoms, he visited the same physician again on the following day and was admitted. He received blood transfusion and administration of drugs with aggravation in symptoms. On December 1, his blood pressure fell (80 to 40 mmHg) and confusion appeared. He was referred to us on December 3. Laboratory findings on admission revealed the presence of malarial parasite (++) , Hb 5.5 g/dl, BUN 87, Creat 5.3 mg/dl, GOT 1,481, GTP 399 w and T. Bil 2.38 mg/dl, showing complication of liver and renal dysfunctions. Immediately, drip infusion of kinine was started. For bleeding tendency (DIC), anuria and hyperazotemia, FOY was administered and dialysis was performed. His clinical course was favorable and he was discharged after three months with complete cure.

#### 49 AN IMPORTED CASE OF *OVALE*-LIKE MALARIA IN JAPAN

MASUHISA TSUKAMOTO<sup>1</sup> AND TOSHINOBU FUJIYOSHI<sup>2</sup>

Department of Medical Zoology, University of Occupational and Environmental Health<sup>1</sup> and Fukuoka City Infectious Disease Center<sup>2</sup>

An Indian tourist, 28-year-old male, was suffered from tertian malaria in May 1984, 10 days after arriving Japan directly from India. Morphology of malaria parasites detected in blood smears resembles that of *Plasmodium ovale*: namely, infected erythrocytes with fimbriation and Schüffner's dots but without enlargement of RBC.

Most of the parasites detected were developing trophozoites and immature schizonts. No mature schizont was found to count enough number of merozoites. The patient was successfully treated with MP tablets and brought back primaquine tablets to India. The infection seems to be occurred in India just before visiting Japan. Although more than 30 cases of *ovale* malaria were previously reported from outside of Africa, only few cases were considered to be true *ovale* malaria. The present case is, therefore, tentatively assorted as one of aberrant forms of *vivax* malaria.

### 50 ONE CASE OF *OVALE* MALARIA IS SUSPECTED TO BE INFECTED BY BLOOD TRANSFUSION

TERUAKI AMANO<sup>1</sup>, TOMOO OSHIMA<sup>1</sup>, HIROSHI HARANO<sup>2</sup>, KOUJI SO<sup>2</sup>,  
AKIRA ITO<sup>2</sup>, TAKAO OOKUBO<sup>2</sup>, SHIN-ICHIRO WATANABE<sup>3</sup>  
AND HIROSHI MOURI<sup>3</sup>

Department of Parasitology<sup>1</sup>, The First Department of Internal Medicine<sup>2</sup>,  
School of Medicine, Yokohama City University and Central Clinical  
Laboratory, Yokohama City University Hospital<sup>3</sup>

In Japan, imported malaria is relatively rare and all of the 14 *ovale* malaria cases are imported from Africa. Recently we have experienced a 45-year-old female patient infected with *Plasmodium ovale*, who was suspected to be induced by blood transfusion.

She was admitted to Yokohama City University Hospital, for the treatment of acute myelocytic leukemia on the 20th of September 1983. She had received anti-leukemic therapy and transfusion of concentrated erythrocytes and platelets. She had a sudden attack of fever with chillness on the 8th of December. On the 12th, her blood smear showed trophozoites and schizontes of *P. ovale*. She had never travelled abroad. Among the donors of 22 units of erythrocytes transfusion and 335 units of platelets transfusion some must had been infected with *P. ovale*. However, we could not identified the suspected donor among 357 donors.

Recently quite a few Japanese have their chance to travel abroad. Thousands of people migrate in malarious countries and return home every year. If they have chance to be donors of blood transfusion, there should be great danger inducing malaria to recipients. Preventative measures must be taken to exclude potential donors of malaria by blood bank.

## 51 ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF THE ERYTHROCYTE INFECTED WITH *PLASMODIUM OVALE*

YOSHITSUGU MATSUMOTO, SHINJI MATSUDA, AND YUKIO YOSHIDA  
Department of Medical Zoology, Kyoto Prefectural University of Medicine

Erythrocytes infected with *Plasmodium ovale*, characterized by Schüffner's dots and fimbriation on Giemsa-stained thin films, were studied by electron microscopy. The infected human erythrocytes increased in size and had three types of structures which were not found in uninfected erythrocytes: caveola-vesicle complexes, cytoplasmic clefts, and excrescences. The plasmalemma of the infected erythrocyte exhibited small caveolae which were delineated by a unit membrane and many small vesicles of 50–70 nm size surrounded the caveola in alveolar fashion. Caveola-vesicle complexes have been considered as schüffner's dots in *P. vivax*-infected erythrocytes (Aikawa *et al.*, 1975). Cytoplasmic clefts were originated from the parasitophorous vacuole. This structure has been demonstrated in cytoplasm of erythrocytes infected by all species of malarial parasites. In *P. ovale*, excrescences in plasmalemma were limited to erythrocytes infected by asexual parasites. Similar excrescences have been observed in *P. falciparum* (Miller, 1972) but not in *P. vivax*.

## 52 MORPHOLOGICAL CHANGES OF *PLASMODIUM VIVAX* IN THE PERIODICALLY SAMPLED BLOOD SMEARS, BEFORE AND AFTER THE TREATMENT USING SULFAMONOMETHOXINE

HIROYUKI AMANO<sup>1</sup>, TOSHIMASA NISHIYAMA<sup>2</sup>, SHOZO INOKI<sup>2</sup>  
AND TSUNEJI ARAKI<sup>2</sup>

Department of Overseas Medical Services, Tenri Hospital<sup>1</sup> and  
Department of Parasitology, Nara Medical University<sup>2</sup>

A 28 year-old Japanese male with imported *P. vivax* malaria from India was studied for 30 hours before and after administration of sulfamonomethoxine alone. The periodically sampled blood smears were used for the morphological changes of *P. vivax* before and after the treatment.

The results are briefly as follows; Parasitemia showed from 2,592/mm<sup>3</sup> to 12,595/mm<sup>3</sup> after febrile attack and revealed small waves of increase and decrease until the next attack. In asexual parasites before treatment, ring forms increased at first and decreased along with the development of trophozoites, and then schizonts appeared just before the next febrile attack. Parasitemia, especially of asexual forms, was remarkably decreased after the treatment. Before and after the treatment, the



number of gametocytes increased in the peripheral blood when asexual parasites were decreased, and decreased while asexual forms increased. The number was significantly increased from 288/mm<sup>3</sup> to 5,256/mm<sup>3</sup> after the treatment, and showed some morphological changes likely due to the drug.

The DAPI (4' 6-diamidino 2-phenylindole) stain was performed for the detection of these protozoal DNA changes. The changes of nuclear DNA of asexual parasite seemed to coincide with the development of parasites, while the difference of those of gametocytes between pre and post treatment was not yet distinctly identified. Further detailed studies on these malarial DNA will be needed, following this preliminary report.

### 53 INTRAVENOUS QUININE THERAPY IN FALCIPARUM MALARIA

ISAO EBISAWA<sup>1</sup> AND KIYOKATSU TANABE<sup>2</sup>

Department of Public Health, Toho University School of Medicine<sup>1</sup> and  
Department of Medicine, Institute of Medical Science, The University of Tokyo<sup>2</sup>

The clinical course of falciparum malaria is usually benign when the treatment with appropriate antimalarial drug(s) is started within the 5th day of illness. However, when the treatment is delayed beyond the 6th day of illness, the patients may develop loss of consciousness, hematemesis, renal failure etc. Intravenous quinine therapy is indispensable in these patients. Furthermore, when the parasite count rises over  $2 \times 10^5$  per  $\mu l$  within 5 days after the onset of illness, intravenous quinine therapy should be considered seriously in the event the clinical situation becomes worse.

The major complication associated with i.v. quinine therapy was tinnitus when the daily dose exceeded 1,000 mg in a patient with renal failure. Two patients were associated with macroscopic hemoglobinuria. Elevated serum transaminases GPT and GOT were frequently seen in the patients given quinine intravenously. It is unknown whether quinine given i.v. was responsible for hemoglobinuria and elevated serum transaminases. The association should be investigated further.

## 54 TREATMENT OF VIVAX, FALCIPARUM AND OVALE MALARIA WITH TRIMETHOPRIM-SULFAMETHOXAZOLE

YUKIO YOSHIDA<sup>1</sup>, YOSHITSUGU MATSUMOTO<sup>1</sup>, MINORU  
YAMADA<sup>1</sup>, TSUNEO SHIOTA<sup>1</sup>, AKIO KOBAYASHI<sup>2</sup>,  
AND RYUKI KIN<sup>2</sup>

Department of Medical Zoology, Kyoto Prefectural University of Medicine<sup>1</sup> and  
Department of Communicable Diseases, Kyoto City Hospital<sup>2</sup>

Two cases of vivax malaria and one each of ovale and falciparum malaria were treated with trimethoprim plus sulfamethoxazole (ST). The dosages of the drug used are 16 mg/kg/day as trimethoprim for 3 days for vivax and falciparum malaria, and 10 mg/kg/day for 4 days for ovale malaria. In cases of vivax and ovale malaria, the primaquine 15 mg/day was given for 14 days after completion of ST. The asexual form of parasite disappeared by the end of ST treatment in all cases, and the sexual form also disappeared by the end of it except falciparum malaria which was continuously found for two weeks after ST treatment, then disappeared. Clinical symptom also disappeared within two to three days of ST treatment, and no relapse or no recrudescence was found as far as investigated for four years in the longest case and for three months in the shortest case. This is the first report to mention that the ST is effective for ovale malaria. Also the notice is that the ST is the only drug commercially available for malaria in Japan as well as the useful one for drug-resistant falciparum malaria.

## 55 A COMPARATIVE STUDY ON SEVERAL DIAGNOSTIC MEASURES APPLIED IN GUATEMALAN ONCHOCERCIASIS

ISAO TADA<sup>1</sup>, MASATAKA KORENAGA<sup>1</sup>, TATSUYUKI MIMORI<sup>1</sup>, MAKOTO  
SAKAMOTO<sup>2</sup>, TAKESUMI YOSHIMURA<sup>3</sup>, J. C. CASTRO<sup>4</sup> AND G. ZEA F.<sup>4</sup>

Department of Parasitic Diseases, Kumamoto University Medical School<sup>1</sup>, Department of  
Parasitology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University<sup>2</sup>, Department of  
Clinical Epidemiology, University of Occupational and Environmental Health<sup>3</sup>  
and Department de Enfermedad de Robles, Servicio Nacional  
de Erradicacion de Malaria, Guatemala<sup>4</sup>

A comparative study was carried out among various diagnostic measures ever developed during the course of a vector control study against onchocerciasis in Guatemala since 1976. A total of 375 examinees from two plantations (microfilarial rate of each plantation was 40.0 and 16.0 per cent, respectively) were examined by double-snip skin biopsy, nodule palpation, indirect hemagglutination test (IHA), skin test (ST) and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The results were

categorically compared with each other. In comparison with the basic informations on onchocercal infections obtained by skin snipping, ST was considered too sensitive for diagnosis. Because, even 82 per cent of microfilarial negatives revealed positive reactions in ST. Further, ST revealed very similar age-prevalence patterns in two endemic plantations with markedly different positive rates in microfilarodermia. The positivity in ST among children was much higher than expected from microfilarial rate. On the other hand, the positive rates of IHA and ELISA were remarkably low, 19.8 and 18.2 per cent respectively, among microfilarial negatives. Thus marked differences were seen between these figures and those among microfilarial positives, 81.3 and 74.1 per cent, respectively. The correlation coefficient was,  $r=0.741$  between IHA titers and ELISA values of 375 examinees. A clear sigmoid relationship was seen between positive rate in IHA ( $60 \times \leq$ ) and classified ELISA value. These findings suggest favorable character of these two immunological measures adopted for diagnosis and as epidemiological indices. We recommend to apply ELISA in field surveys judging from its specificity and convenience.

#### **56 STUDIES ON INHIBITORS AGAINST *P*-NITROPHENYL PHOSPHATE HYDROLYSIS BY ADULT *DIROFILARIA* *IMMITIS* HOMOGENATES**

JUN MAKI, MISAHO NAKAJIMA AND TOSHIO YANAGISAWA

Department of Parasitology, Kitasato University School of Medicine

Hydrolytic activity on *p*-nitrophenyl phosphate (*p*-NPP) was observed in homogenates of male and female adult *Dirofilaria immitis*. A number of substances including antifilarial drugs were examined for their inhibitory effect on *p*-NPP hydrolysis. The homogenate and 1 mM *p*-NPP were incubated with or without substances examined for 30 min at 37°C. The reaction was stopped by adding 8 per cent (final concentration) TCA. The tubes were put into iced water and centrifuged. Liberated *p*-nitrophenol in the supernatant was measured at  $A_{405}$ . And the following results were obtained both in male and female adults. The hydrolysis was directly proportional to enzyme concentration and incubation period. The highest activity was observed at pH 5 and no or low activity was observed at alkaline side. NaF (1 mM),  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4$  (1 mM), Trimelarsan (5 mg/ml), suramin (1 mM) and  $\text{ZnCl}_2$  (10 mM) inhibited the activity at the physiological pH (pH 7.3). On the other hand,  $\text{MgCl}_2$  (10 mM),  $\text{NaAsO}_2$  (10 mM), flubendazole (1 mM), diethylcarbamazine (10 mM) and levamisole (10 mM) showed no or very low, if any, effect. The present data suggest the possibility that the inhibitory effect of Trimelarsan and surfamin on phosphatase activity is important as one of modes of anti-helminthic action of these drugs against filarial worms.

### 57 CELL ADHERENCE TO *BRUGIA MALAYI* MICROFILARIAE IN THE JIRD

YOSHIHIRO HAYASHI, MANAMI MORITA, SADA0 NOGAMI  
AKIKO SHIRASAKA AND HIROSHI TANAKA

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

(Abstract not received in time)

### 58 COLLECTION OF *ONCOMELANIA NOSOPHORA* AT A WASTE FIELD IN KOFU BASIN

YASUO NAKAJIMA, CHENG-KUO CHUANG AND TAKAHIKO SATO

Department of Parasitology, Yamanashi Medical College

In Yamanashi Prefecture, the infested lands of *Oncomelania nosophora* have been treated with flame projection and spray of B-2 (=phebrol) twice a year since 1975. However, a number of snails are often found in Kofu Basin in spite of extensive treatment. The present study was undertaken to know how the snails pass the winter and resist the molluscicidal treatment.

Several spots, each of which were 2.5–3.0 m apart from others, were chosen in a waste field adjacent to a rice paddy in Kofu Basin. The numbers of alive and dead snails were counted on the surface of ground and in the earth of 30 × 30 cm squares once a month from February to June this year. The soils 0–10 cm deep, 10–20 cm deep and 20–30 cm deep were separately collected and brought to the laboratory to be weighed, washed with water and passed through a sieve to recover the snails. Sieved soil was dried, sterilized in an autoclave and used to fill the holes in the field. On April 26, the flame projection and B-2 spray were given to the field.

On the surface of ground, 6 alive snails/5 spots were found only in June. From the soil, alive snails were recovered as follows: 6/1 spot in Feb., 16/3 spots in March, 31/5 spots on April 12, 30/5 spots on May 12 and 2/5 spots on June 10. Except in June, 50–67 per cent of alive snails were recovered from 0–10 cm deep soils: 17 snails from 10–20 cm deep soils and 13 from 20–30 deep soils. In June only two snails were found in 0–10 cm deep soils. Most of alive snails seem to have emerged to the surface of ground before June.

An average of 0.2 to 3.0 dead snails were found on the surface of ground from February to the middle of April, while 7.8 to 8.8 were detected after the molluscicidal treatment. The increase of dead snails on the surface in May and June might reflect the possible killing of the ones which had emerged from the under ground by the treatment on April 26.

The alive snails kept in the laboratory laid eggs which had the ability to hatch

and develop subsequently. It seems likely that the underground snails evade the treatment with flame projection and B-2 spray.

### 59 FRACTIONATION AND CHARACTERIZATION OF A ALLERGENIC COMPONENT FROM *SCHISTOSOMA HAEMATOBIIUM* EGGS

MAKOTO OWHASHI<sup>1</sup>, AKIRA ISHII<sup>2</sup>, H. FELDMEIER<sup>3</sup>, JUN-ICHI IMAI<sup>1</sup>  
AND YOICHIRO HORII<sup>4</sup>

Department of Parasitology, Miyazaki Medical College<sup>1</sup>, Department of Parasitology,  
Medical School, Okayama University<sup>2</sup>, Bernhard-Nocht-Institut<sup>3</sup> and Department of  
Medical Zoology, Nagasaki University School of Medicine<sup>4</sup>

Specific IgE antibody to *S. haematobium* egg antigen was identified in the serum of schistosomiasis haematobia. The titers of IgE was not correlated with that of IgG. Allergenic component was partially purified from crude egg antigen by DE52 anion-exchange chromatography or high-pressure liquid chromatography on TSK SW3000. The molecular weight of the allergen was estimated of 230,000. It had cross-reactivity to patient sera of schistosomiasis japonica and schistosomiasis mansoni. The allergenic component was rather sensitive to heat. It was completely sensitive to periodate oxidation.

### 60 THE OCCURRENCE OF SPECIFIC ANTIBODIES DETECTED BY ELISA AGAINST EGG AND ADULT WORM ANTIGENS IN MICE INFECTED WITH *SCHISTOSOMA MANSONI*

YOICHI ITO AND NANASE SAITO

Department of Parasitology, School of Medicine, Kitasato University

In recent years the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) has been without doubt the technique which has received most attention as the new immunodiagnostic method for schistosomiasis. In this presentation ELISA done with soluble egg antigen (SEA) and adult worm antigen (AWA) of *Schistosoma mansoni* was studied in the course of *S. mansoni* infection in the mice. Adult worms and eggs were collected from mice 70-80 days after infection with 250 cercariae. Both antigens were prepared by homogenization of worms or eggs with PBS (pH 7.2) in a tissue homogenizer. The homogenates were stirred overnight with magnetic stirrer, centrifuged for one hour at 10,000 rpm and then dialyzed against PBS. The protein content was determined by the Lowry method. Infected mice sera were obtained every two weeks after infection from DDY mice which had been exposed to 30 or 50 *S. mansoni* cercariae.

SEA and AWA immune sera were obtained by pooling sera from hyperimmunized mice with SEA or AWA emulsified by Freund's complete adjuvant. Anti-SEA and anti-AWA monoclonal antibodies were obtained from culture media of hybridoma from the fusion of *S. mansoni* infected mouse spleen cells with myeloma cells. ELISA was performed in microtiter plates, using horseradish peroxidase-conjugated protein A. The substrate was *o*-phenylenediamine. Optical density was read at 490 nm on an ELISA reader. Results were as follows; (1) Homologous combination of SEA immune sera-SEA and AWA immune sera-AWA gave the strong positive reaction by ELISA, although heterologous combination of SEA immune sera-AWA and AWA immune sera-SEA showed negative. (2) Anti-SEA antibody could be detected in sera from seven weeks after infection and increased rapidly. With the AWA, results were obviously poor. (3) Anti-SEA antibody could be detected in the sera from monosexual infected mouse as same as bisexual infected one. (4) Eighteen of 384 culture media from hybridoma gave positive reaction by ELISA with SEA. With the AWA, only two of them gave positive reaction. There was no hybridoma antibody which reacted to both antigens.

## 61 DEVELOPMENT OF AN ANIMAL MODEL FOR ANALYZING THE HEPATIC BIOCHEMICAL CHANGES IN SCHISTOSOMIASIS

MASANOBU TANABE, TSUTOMU TAKEUCHI AND KEIZO ASAMI  
Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University

Although we have characterized biochemical changes in the liver of mice infected with *Schistosoma mansoni* (Puerto Rican strain) as a model of human schistosomal fibrosis in the liver, it was difficult to establish the biochemical mechanism responsible for liver fibrosis on the basis of the observation on infected animals. We, therefore, need an experimental model which is easy to handle and reflect biochemical alterations in the liver. This communication deals with a comparison of biochemical changes in the liver of infected mice with those in peritoneal exudates of mice intraperitoneally injected with *S. mansoni* eggs, and also deals with a consequent evaluation of these mice as the experimental model.

We have already observed a significant increase in DNA and protein contents, in free L-proline level, and in the activity of ornithine transaminase (OTA), an enzyme of the proline-synthetizing pathway, of the liver of ICR female mice infected with *S. mansoni* (100 cercariae per mouse). We have also demonstrated a significant decrease in the activities of urea cycle-related enzymes (carbamoyl phosphate synthetase I (CPS-I), ornithine transcarbamylase (OTC) and arginase), and of proline oxidase (PO), the first enzyme of proline-splitting pathway. In our present investigation, significant increment in DNA and protein contents, in free L-proline level, and in OTA activity were demonstrated in the peritoneal exudates of mice which received intraperitoneal injection with *S. mansoni* eggs (10,000 eggs per mouse).

Moreover, we could find out decrease in the activity of CPS-I in the liver of these mice.

These evidences suggest that most of our biochemical findings in the liver of mice infected with *S. mansoni* may be associated with the host inflammatory reactions against schistosome eggs, and also demonstrate that the biochemical changes observed in the peritoneal exudates of egg-injected mice appears to correspond to those in the liver of mice infected with *S. mansoni*.

## **62 HISTOLOGICAL PROCESS OF CARCINOGENESIS IN SCHISTOSOMAL MICE LIVER**

HIROSHI TSUTSUMI, MINORU MIYASATO, YUHZI KAKIZOE  
AND HIROKI IIDA

Department of Parasitology, Kurume University School of Medicine

The influence of schistosome infection on the developmental process of the liver tumor in mice initiated by 2-FAA was investigated. Microscopic examination of the liver tumors disclosed two types of hyperplastic nodules, Type 1 and Type 2, and hepatocellular carcinoma. The infected animals had a much higher incidence and earlier development of these three types tumors compared with non-infected animals. The appearance of the liver tumors followed the regeneration process of the schistosomal liver. Initially Type 1 nodules occurred, followed by Type 2 and then hepatocellular carcinoma. The schistosomes infection might be brought about an early onset of Type 1 nodule and further more promoted to arise the Type 2 nodule from the Type 1 nodule, hepatocellular carcinoma from the Type 2 nodule.

## **63 OPHTHALMIC CONDITION OF JAPANESE PEOPLE IN WESTERN AFRICAN COUNTRIES**

RYUJIRO SUZUKI AND RIKIKAZU SHIROYAMA

Department of Ophthalmology, Dokkyo University School of Medicine

We had a chance to examine eye condition of Japanese people living in Western African countries, Libya, Morocco, Senegal, Liberia, Nigeria, Gabon, Zaire. Distribution of their eye diseases was the same to those living in Japan.

And we studied the ophthalmological condition in these countries. They have serious shortage of ophthalmologist, who can control eye diseases. Infectious diseases were the main causes of blindness. These causes were due to starvation and poor sanitary condition.

#### 64 PREVENTIVE EFFECT OF HUMAN GAMMA-GLOBULIN AGAINST HEPATITIS A

HIROSHI OHARA<sup>1</sup>, ISAO EBISAWA<sup>2</sup>, MITSUYO OMOTE<sup>1</sup>, SAYOKO ITO<sup>1</sup>,  
MASAHISA OWRI<sup>1</sup> AND SUGISHI OHTANI<sup>1</sup>

Headquarters of the Japan Overseas Cooperation Volunteers<sup>1</sup> and  
Department of Public Health, Toho University School of Medicine<sup>2</sup>

It had been noted that there were many cases of hepatitis A among the Japan Overseas Cooperation Volunteers who stay in the developing countries for two years. In order to reduce the incidence of hepatitis A, prophylactic injection of human gamma-globulin has been given periodically since 1981, starting immediately after their assignment. In the present survey, the effect of gamma-globulin was studied.

The incidence of acute hepatitis in 1979, 1980, 1981, 1982 and 1983 was 4.9, 4.9, 3.3, 1.9 and 0.8 for each (per 100). It has been confirmed that most of these cases are hepatitis A, and significant reduction of the incidence of hepatitis A was recognized after starting the injection of human gamma-globulin ( $P < 0.01$ ).

In 1982, 19 cases of acute hepatitis were recognized. Twelve out of them were hepatitis A and all of them had not taken injection of gamma-globulin. In 1983, 8 cases of acute hepatitis was recognized, and six out of them were hepatitis A. And four out of them had not been given injection of gamma-globulin within six months before the onset.

Prophylactic effect of human gamma-globulin against hepatitis A was recognized. However, there were a few cases of hepatitis A that had been contracted in spite of injection of gamma-globulin.

#### 65 SUCCESSFUL TREATMENT WITH PRAZIQUANTEL OF 15 PATIENTS INFECTED WITH *CLONORCHIS*, *METAGONIMUS*, *PARAGONIMUS*, *DIPHYLLOBOTHRIUM* OR *TAENIA*

MOTOHIRO ISEKI, ISAO KIMATA, MAYUMI KATO AND SUEHISA TAKADA

Department of Medical Zoology, Osaka City University Medical School

A total of 15 patients; four cases of clonorchiasis sinensis, five cases of metagonimiasis yokogawai, a case of paragonimiasis westermani, four cases of diphyllbothriasis latum and a case of taeniasis saginata; were treated with praziquantel (Biltricide®).

In the case of clonorchiasis (EPG: 20,000–1,000), three patients received 75 mg/kg body weight praziquantel in three divided doses orally every four hours with food, and another patient was treated with the drug  $3 \times 20$  mg/kg a day. The former cases were checked for eggs in the feces after the treatment and no eggs could be detected



at seven days and one month later. In the latter case, eggs in the feces decreased but did not become negative. After the second treatment with the drug  $3 \times 30$  mg/kg a day eggs disappeared completely.

In the case of metagonimiasis (EPG: 4,700–1,700), five patients were treated with three different dosages;  $3 \times 25$  mg/kg a day,  $3 \times 20$  mg/kg a day (2 cases),  $2 \times 25$  mg/kg a day or  $1 \times 25$  mg/kg, respectively. In all cases eggs in the feces became negative after the treatment.

The patient of paragonimiasis (EPG: 200) was treated with the drug  $3 \times 25$  mg/kg a day for two days, and no eggs could be detected in the feces at seven days and one month after the treatment.

In the case of diphylobothriasis, four patients were treated with the drug  $1 \times 20$  mg/kg (3 cases) or  $1 \times 10$  mg/kg. All patients discharged the worm several hours after the treatment.

The patient of taeniasis received the drug 20 mg/kg one dose and cured.

Side effects were observed in two cases; one was mild abdominal pain in the case of patient treated with  $3 \times 30$  mg/kg, and another was mild nausea in the case of paragonimiasis.

## **66 THERAPEUTIC DRUGS FOR PARASITIC DISEASES IN THE TROPICAL REGION**

YOSHIHITO OTSUJI, RYUJI HARADA AND AKIRA NAKASHIMA

The Second Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kagoshima University

The exchange in many fields between Japan and the tropical region has thrived lately and, as a result, 'imported' tropical parasitic diseases have some to be watched with keen interest by the public. However, it has been very difficult to obtain therapeutic drugs for the diseases in Japan nowadays. To solve the inconvenient situation a therapeutic research unit for the imported tropical parasitic diseases was organized in 1981 and means of acquisition, preservation, allotment, effectiveness and side effects of the drugs have been investigated thereafter. The author has been in charge mainly of Kyushu area in this connection and the circumstances from 1981 through October, 1984 are presented as follows.

Diseases: There have been as many as 56 intestinal strongyloidiasis and 24 malaria cases. Other diseases that have been found and objects of control by us are amebic liver abscess, pneumocystis pneumonia, trichuriasis, toxocariasis, clonorchiasis, human isosporiasis, echinococcosis, gnathostomiasis, giardiasis, schistosomiasis japonica, metagonimiasis and Manson's sparganosis, etc.. From 1981 through October 1984 there have been requests for the drugs on 140 occasions which indicates about 50 yearly drug sending-outs to medical institutions where patients have been given treatments. Disease distribution on prefecture by prefecture basis shows 53 cases have been found in Kagoshima and 45 in Fukuoka, suggesting predominance in these prefectures. There have been requests for the drugs from other prefectures in

Kyushu as well as from Chugoku and Kansai areas. Requests for the drug allotment from medical institutions have been: on 40 occasions from university hospitals, 38 from national or public (prefectural, municipal, etc.) hospitals, 29 from private hospitals and 2 from others.

Yearly requirements for the drugs: Thiabendazol has been predominantly used, mostly for intestinal strongyloidiasis. Such malariacidal agents as mebendazol, chloroquine, primaquine and fucidal, in that frequency order, have been often used.

### **67 EXPERIENCES AT TRAVELLING HEALTH CARE CLINIC FOR JAPANESE RESIDENTS IN WEST COAST AFRICAN COUNTRIES AND SOME PROPOSAL FOR THE FUTURE TRAVELLING CLINIC**

ISAO SEKINE<sup>1</sup>, TAKEYOSHI OHKURA<sup>2</sup> AND SHINJI MOTOJIMA<sup>3</sup>

Department of Pediatrics<sup>1</sup>, Department of Obstetrics and Gynecology<sup>2</sup> and  
Department of Internal Medicine (Allergology)<sup>3</sup>, Dokkyo University School of Medicine

As a travelling health care clinic corps, the authors made medical check up for Japanese residents in West Coast African countries from 7/28/81 to 8/28/81 including 46 Papanicolaou smear tests for uterine cancer.

During the travelling, ardent requests were made to us from Japanese communities in the West Coast Africa to include blood chemistry studies besides physical examination, EKG and urinalysis, since many residents expressed their fears of side effects of antimalarial medicine. To actualize the above mentioned requests, following basic studies were conducted, that is, the effects of blood preservation on blood chemistries and enzyme levels.

Serum was kept at three different temperature i.e. 25°C, 4°C and -60°C for eight to 16 days. Blood levels of following blood chemistry items in parenthesis (Na, K, Cl, P, Ca, BUN, Creatinine, Total Protein, Sugar, GOT, GPT, Al'Pase, LAP,  $\gamma$ -GTP, TTT, ZTT,  $\alpha$ -HBD, T. Cholesterol T. G.,  $\beta$ -LP, T. Bili, D. Bili, NEFA, CPK) were examined at day 0, 2, 4, 6, 8, 14 and 16.

The criteria of stability of blood levels were set as follows; a blood level is stable if the blood level is within the 10 per cent range of initial (day 0) blood level.

Using above criteria, following results were obtained; 1) with -60°C preservation method, all blood levels were stable except for CPK up to eight to 16 days, 2) with 4°C preservation method, all blood levels were stable except for CPK, bilirubin and NEFA up to eight to 16 days, 3) even with 25°C preservation method, most electrolytes, sugar, liver function tests, kidney function tests were stable up to eight days.

With our Papanicolaou smear experiences and the above mentioned serum preservation study, we concluded that blood specimen can be sent safely from West Coast Africa to Japan and blood chemistry result measured at a laboratory in Japan is stable and reliable under the condition that the specimen are kept at below 4°C

and reached to a laboratory in Japan within 8 days and that liver function tests and kidney function tests should be included in the future travelling clinic for the Japanese residents in developing countries, such as West Coast African countries.

## **68 PORTABLE ULTRASONIC DIAGNOSTIC EQUIPMENT USED FOR JAPANESE MASS SCREENING IN WEST AFRICA**

ETSUO TAKADA AND SHIGEMITSU SHIDA

Department of Surgery, Dokkyo University School of Medicine

In West Africa 151 persons were examined by portable electronic linear scanner. The equipment used was Aloka-Echo Camera 210F, weighed 7.5 kg and for 100 Volts. So transformer was carried together.

Abdominal organs such as the liver, gall bladder, pancreas, spleen and kidney were scanned. The most of examinee were Japanese living in West Africa, 18 in Zaire, 13 in Gabon, 17 in Liberia, 39 in Senegal and 22 in Morocco.

Diseases diagnosed by ultrasound were as follows; gall stone 1, enlargement of gall bladder 2, bent gall bladder 1, negative cholecystogram 1, fatty liver 5, liver cyst 1, liver enlargement 1, renal cyst 1 and fibro-adenoma of the breast 1 (Total 14/151).

To improve the equipment, weight should be less than 5 kg and carrying bag were needed for portable use.

There were not enough diagnostic equipment in developing countries, and this portable ultrasonic equipment was very useful for the examination or mass screening in such countries. The results of the examination and the points which improve the equipment were discussed.

## **69 RESEARCH OF CMI ON JAPANESE PEOPLE IN THE SOUTH WEST ASIA**

RYOSUKE IKEMORI<sup>1</sup>, RIKIICHI SHIROYAMA<sup>2</sup> TETSUO NIIBE<sup>3</sup>  
AND SHIGEMITSU SHIDA<sup>4</sup>

Departments of Allergy and Internal Medicine<sup>1</sup>, Ophthalmology<sup>2</sup>,  
Gynechology<sup>3</sup> and The First Surgery<sup>4</sup>, Dokkyo University School of Medicine

In order to investigate the psychological condition of Japanese people in the South West Asia, we used CMI-Abe questionnaire (Cornell Medical Index for vegetative dystonia investigation by Abe *et al.*). This questionnaire is designed for 43 somatic (V) and 51 psychological (M~R) items. Idiopathic vegetative dystonia (I) is defined on  $V \geq 15$   $M \sim R \leq 10$ , neurotic one (N) on  $V \geq 11$   $M \sim R \geq 11$ , psychosomatic one (Ps) on  $V \geq 15$   $M \sim R \geq 11$  and another group with many psychotic

complaints ( $P'$ ) is newly defined by us on  $V \leq 10$   $M \sim R \geq 11$ . Healthy group (H) is all adults ( $I+N+Ps+P'$ ). Incidence of psychologically non-healthy people was 9.5 per cent in male, 26.2 in female (in case of  $I+N+Ps+P'$ ) and 3.2 in male, 14.7 in female (in case of  $I+N+Ps$ ) respectively. "Yes" answer for maladjustment and anger was large both in healthy and non-healthy group. On the other hand, incidence of "Yes" for depression and tension was small. One female case of mild depression was found in Bombay and one female case of psychosomatic disease with depressive state in Islamabad by using this questionnaire.

## 70 RECENT TROPICAL DISEASES IN THIS HOSPITAL

KIYOTAKE TANABE<sup>1</sup>, HIROSHI TANAKA<sup>2</sup> AND KUNIO ARAKI<sup>3</sup>

Departments of Internal Medicine<sup>1</sup> and Parasitology<sup>2</sup>, Institute of Medical Science,  
The University of Tokyo, and Department of Parasitology,  
The Institute of Public Health<sup>3</sup>

Over 200 patients have visited this hospital in these two years, complaining of tropical or parasitic diseases. Malaria protozoas were found in blood smears of 50 patients; 35 patients were diagnosed as vivax malaria and the others were falciparum one. Kala-Azar (one case) and Dengue fever (one case) were found. All these disease were imported cases.

Various kinds of Metazoal infection were found; Cestodiasis (16 cases), Ascariasis (2), paragonimiasis (2), trichiniasis (1), clonorchiasis (1), strongyloidiasis (1). Eosinophilia (more than 10%) were seen in 10 patients. Pulmonary tropical eosinophilaia (2), gnathostomiasis (1) and cutaneous larva migrans were suspected.

## 71 PROBLEMS OF THE JICA MEDICAL SCIENCE AND TECHNOLOGY COURSE HELD IN KOBE UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE

TAKEO MATSUMURA

Department of Medical Zoology, Kobe University School of Medicine

From 1973 to 1983, Kobe University School of Medicine had performed the Training Course of Medical Science and Technology in collaboration with Hyogo International Center, commissioned by Japan International Cooperation Agency every year. Until the 10th course (1983), 46 participants from 17 countries in Asia, Africa and in Middle and South America had completed the course.

The purpose of the course is to provide doctors and researchers who are presently engaged in the prevention and control of diseases in developing countries with theoretical and practical knowledge of tropical medicine and public health, and to

enhance their knowledge and techniques. During the 10th course, as the round guidance for the 16 ex-participants, JICA kindly delegated three members related to the course (Dr. T. Matsumura, Dr. Y. Itoh, Mr. T. Kitajima), to Bangladesh, Thailand and Indonesia.

Through the discussions, observations and questionnaires for the 12 ex-participants out of the 17 ex-participants, the problems to be resolved were pointed out as follows: 1) The authorized diploma instead of the certificate after the completion of the course should be arranged (Usually certificate is not adequately qualified in the developing countries). 2) The system of follow-up for the ex-participants should be realized such as a refresher's course and/or itinerant guidance routinely. 3) The minimum equipments and facilities for the ex-participants to apply their newly-learned knowledges and techniques should be donated to them depending upon their achievement and project through the policies of aiding medical facilities by JICA. 4) Medical and clinical practices by the M. D. participants should be possible under a protection and supervision, by permitting specially medical license for the foreign medical doctor. 5) Deeper understanding between the acceptants and participants on the idea of international cooperation will be necessary for the further improvement of the course.

On the basis of the above-mentioned, the refresher's course of medical science and technology is especially recommended.

# JAPANESE JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE

---

Vol. 13 No. 2

June, 1985

---

## CONTENTS

### Original article

Inoue, F., Sato, Y., Nakada, H. and Otsuru, M.

Membrane Proteins of Mouse Erythrocyte Infected with *Plasmodium berghei*

I. Alteration of phosphorylation in membrane proteins (in Japanese) .....111-117

### Proceedings of XXVI Annual Meetings of Japanese Society of Tropical Medicine (2)

Contents .....155-157

General presentation .....158-203

Published by

JAPANESE SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE

c/o Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

12-4 Sakamoto-machi, Nagasaki, 852, Japan