

日本熱帯医学会雑誌

Japanese Journal of Tropical Medicine and Hygiene

第14巻 第3号

昭和61年9月15日

内 容

原 著

- 蛋白欠乏食飼養ラットにおけるニューモシスチス・カリニ肺炎の発症について
..... 山田 稔, 竹内 滋, 荻野 賢二,
猪飼 剛, 吉田 幸雄 155-162
- 第27回日本熱帯医学会総会講演抄録(2)
- 目 次..... 163-168
- 一般講演..... 169-205
- 英文抄録..... 207-254
- 編集者への手紙..... 255-259
- 投稿規定

蛋白欠乏食飼養ラットにおける ニューモシスチス・カリニ肺炎の発症について

山田 稔・竹内 滋*・萩野 賢二
猪飼 剛・吉田 幸雄

昭和61年3月31日 受付/昭和61年7月16日 受理

緒 言

Pneumocystis carinii 肺炎 (以下 Pc 肺炎と略) は種々の原因による免疫不全に乗じて発症するのであるが、その病理像、臨床像あるいは社会的要因などから著者の1人、吉田 (1981) は古典型 Pc 肺炎と近代型 Pc 肺炎とに分けることを提唱した。古典型 Pc 肺炎は、本肺炎がはじめて認識された今世紀の前半において、主としてヨーロッパで戦争や不況などのため栄養状態の低下した乳幼児や未熟児などの間に流行的に発症し、孤児院などで集団発生した。その後も韓国、イラン、ベトナム、南アフリカなどでやはり上述のような社会条件の下に発生がみられた (Lim and Moon, 1960; Post *et al.*, 1964; Eidelman *et al.*, 1974; Hughes *et al.*, 1974b)。このタイプは乳幼児を侵すこと、流行的に発症すること、間質性形質細胞性肺炎の像を呈すること、臨床経過がやや長いことなどを特徴としている。一方、近代型 Pc 肺炎と称するタイプは主として先進諸国にみられ、先天性免疫不全、抗癌化学療法の経過中、特に白血病などの寛解期、あるいは臓器移植後や自己免疫疾患に対する抗免疫療法の経過中、さらには後天性免疫不全症候群 (AIDS) などに併発する。患者は全年齢層にわたり、散発的ときに院内流行型をとり、炎症性反応の乏しいこと、経過の急速なこと、死亡率の極めて高いことなどを特徴としている。特に副腎皮質ステロイドなど免疫抑制剤の投与により誘発される例が大半を占めている。

Pc 肺炎の動物実験モデルとして、まず近代型 Pc 肺炎のうち薬剤原性のモデルとしてはラット (Frenkel *et al.*, 1966; Ogino, 1978)、モルモット、ウサギ (山田ら, 1984) などに免疫抑制剤を投与して発症させ、先天性免疫不全の際の発症モデルとしてはヌードマウスなどが用いられてきた。一方、古典型 Pc 肺炎のモデルとしては低栄養動物が考えられ、すでに Hughes *et al.* (1974b) が蛋白制限飼養による発症実験を発表したが、この種の実験はこの報告のみに止まっている。そこで著者らは再度、低蛋白栄養と、Pc 肺炎発症との因果関係についてさらに精細な検討を行った。

材料および方法

体重 350 g 前後の Wistar 系雄ラット30頭を用意し、表1に示す如く10頭ずつの3群 (Group A, B, C) に分けた。しかし後に Group C の1頭が共喰いされ、成績は9頭となった。Group A には無蛋白餌、Group B には低蛋白餌を与え飼育した。Group C には正常餌を与えると共に、cortisone acetate 125 mg/kg を週2回宛皮下注射した。Group A と B は cortisone 処理を行っていない。これらのラットはさらに細菌感染防止のため、塩酸テトラサイクリンを 75 mg ないし 100 mg/dl の割合に含む飲料水を与えた。また体重の測定は週1回行った。

cortisone 処理を続けた Group C のラットは実験開始後49日目までに全例死亡したが、実験はそ

京都府立医科大学医動物学教室 〒602 京都市上京区河原町広小路

* 現住所: 富田林病院 〒584 大阪府富田林市大字廿山

医動物学教室業績番号第538号。本研究は文部省科学研究、一般研究 (課題番号 58480170号) の補助を受けて行われた。記して謝意を表す。

のまま継続し、その後 Group A のラットが92日目までに全例死亡したので、その時点で Group B のラットをすべて屠殺し実験を終了した。

Pc の検索はすべてのラットについて以下の諸方法を併用し、厳密に実施した。すなわち剖検に際しては両肺の3カ所から数枚ずつの肺塗抹標本を作成し、Giemsa 染色および toluidine blue-O (TBO) 染色 (Chalvardjian and Grawe, 1963) を施して鏡検し、その際の Pc 感染濃度の評価は吉田ら (1977) の基準に従った。一方、同じく肺の3カ所を10%ホルマリン液に投入して固定し、7 μ m のパラフィン包埋切片を多数作成し、hematoxyline-eosin (HE) 染色、TBO 染色および Gomori's methenamine silver nitrate (GMS) 染色を行って検索した。この切片標本上における Pc の感染濃度の評価は Hughes *et al.* (1974a) の方法に従った。さらに残りの肺は猪飼ら (1977) の集シスト法を用いて肺 1g 中の Pc シスト数を算定し、感染濃度を定量的に示し、各実験群の成績を比較した。

各実験群に与えた餌 100g 当たりの栄養素の組成と含有量と熱量は表1に示す如く、まず Group A は無蛋白餌で粗蛋白 0g、熱量は 376.4 Kcal、Group B は低蛋白餌であり、それぞれ 8.2g と 358.3 Kcal、Group C は正常餌で 24.1g と 349.8 Kcal である。低蛋白餌で不足した熱量は主として炭水化物で補い総熱量は3餌共ほぼ同じくした。また餌の量は制限を加えず十分な量を補給した。

成 績

1. ラットの体重および外観の変化

実験の経過に伴うラットの体重の変化は図1に示す如く、無蛋白餌群 (Group A) で著しい減少がみられたが、低蛋白餌群 (Group B) では、その影響はなく順調に増加した。正常餌・cortisone 投与群 (Group C) では、cortisone の影響によるいそうが認められ、6週目までに全例が死亡した。

無蛋白餌群のラットの外観は、体重の減少と共に脱毛が顕著に認められ、皮下脂肪の極度の損失と削そうがみられた。一方、低蛋白餌群ではそのような変化は認められなかった。

2. Pc 肺炎の発生状況

A, B, C の3実験群における Pc 肺炎の発生状況ならびに Pc シストの検出状況は表2にまとめて示した如く、まず無蛋白餌群 (Group A) では実験開始後81日ないし92日の間にラットはすべて斃死した。その中で81日目に斃死した4頭中2頭、および92日目に斃死した2頭中1頭には Pc を見出さなかったが、他の7頭 (70%) に Pc の感染を認めた。塗抹 (図2, 3) および切片標本 (図4) 上の Pc の濃度をそれぞれ吉田ら (1977) および Hughes *et al.* (1974a) の評価法に従って判定したところ、共に Grade 1 ないし Grade 2 で、軽度ないし中等度の感染であった。次に猪飼ら (1977) の開発した集シスト法により肺 1g 中のシスト数を定量したところ、検出数はかなりばら

Table 1 Main components of protein free diet, low protein diet, and normal diet in 100 g and schedule of experiment

Rat*		Ingredients of diet per 100 g						Cortisone treatment**
Group	Number	Protein (g)	Carbohydrate (g)	Fat (g)	Ash (g)	Water (g)	Kcal	
A	10	0	80.6	6.0	6.0	7.4	376.4	—
B	10	8.2	72.6	3.9	9.3	6.0	358.3	—
C	10	24.1	57.2	4.6	7.1	7.0	349.8	+

* All rats were provided with drinking water containing tetracycline 75–100 mg/dl to prevent bacterial infection.

** Each rat in Group C received 125 mg/kg cortisone acetate twice a week.

A: Protein free diet, B: Low protein diet, C: Normal diet

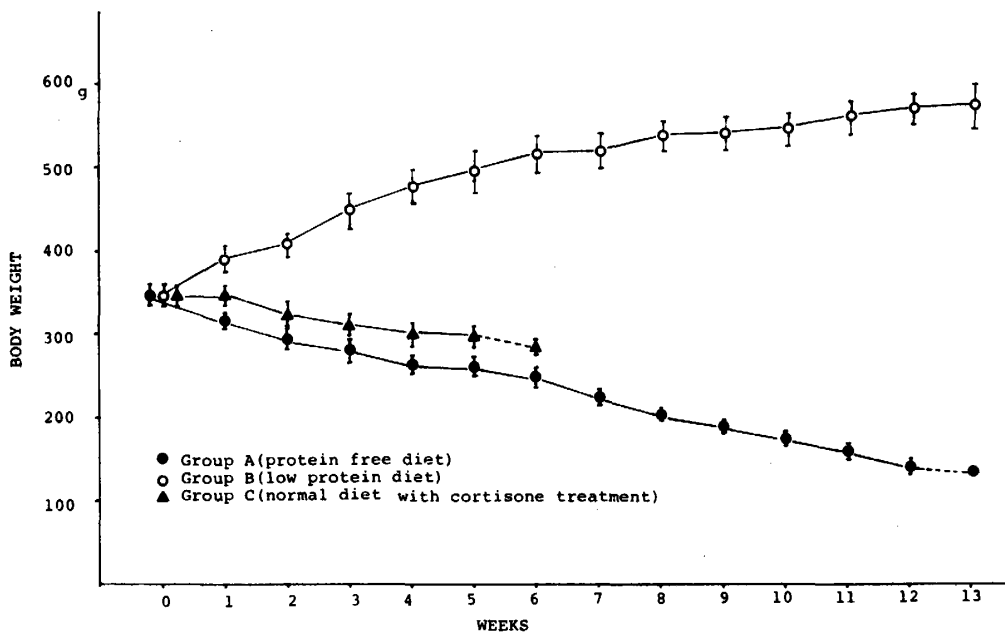


Figure 1 Sequential weight changes in rats fed with protein free, 8.2% protein, and 24.1% protein diet with cortisone treatment. Each point represents mean \pm standard deviation of the mean.

つき1万個ないし185万個で必ずしも日時の経過に伴って増加するとは限らなかった。一方、病理組織学的検索によると軽度感染ではごく少数のPcが肺胞壁に沿って検出され、肺胞ならびに間質に病的変化はほとんど認められなかった。しかし中等度感染ではPcの増加の他に間質における軽度の炎症反応と肺胞マクロファージの肺胞内遊出とが認められた(図4)。

低蛋白餌群(Group B)では、餌の蛋白質含量は8.2%で正常餌の1/3であるが、餌の摂取量の制限をしなかったため、ラットは全く正常であり、10頭中Pcはすべて陰性であった。

次に正常餌・cortisone処理群(Group C)は24.1%の粗蛋白を含む正常餌を与え、かつcortisone処理をした群であるが、実験開始後40日目から早くもラットは斃死しはじめ49日ですべてが死亡し、そのすべてからPcが検出された。感染濃度は塗抹標本、および切片標本で既述の評価法を用いたところ、46日目に死亡した1頭がGrade 1と軽度感染であった他はすべて切片標本でGrade 2~3を示し、中等度以上の感染であった。重症ラットの病理組織学的所見は肺胞上皮の破壊、蜂窩状泡沫物質の充満、間質における細胞浸潤、

マクロファージおよび好中球の肺胞内遊出、毛細血管の減少がみられた。集シスト法の結果は軽度感染の1例を除いては肺1g当たりほぼ200万個ないし、1,300万個と中等度ないし重度の感染量であった。

考 察

低蛋白栄養不良の場合に種々の感染に対して宿主の抵抗力が低下することは一般的に良く知られており、Pc感染に関しても同様のメカニズムによるものと考えられる(Gajdusek, 1957; Dutz, 1970)。Hughes *et al.* (1974b)は南アフリカでkwashiorkorで死亡した39例の子供の内3例にPcを見出したが同地方の21例の正常栄養状態の子供の剖検においてはPcは1例も見出しえなかった。このことから彼らはPc感染と低栄養との関係に注目し、ラットを用いて動物実験を行った。その結果、無蛋白餌群15頭中13頭(87%)にPcを認め、低蛋白餌群では15頭中1頭(7%)にPcを認め、さらに低蛋白餌・vitamines投与・cortisone処理群では11頭中すべて(100%)にPcを認めたと報告した。

Table 2 Provocation experiment of *P. carinii* pneumonia in rats breeding with protein deficient diet comparing with normal diet with cortisone treatment

Group	Rat No.	Days survived	Grade of infection in		Number of cysts [‡] per 1 g of lung ($\times 10^4$)
			smear*	section [†]	
A Protein free diet	1	81D	0	0	0
	2	81D	0	0	0
	3	81D	1	1	11
	4	81D	2	2	102
	5	82D	2	2	185
	6	91D	2	2	37
	7	91D	2	2	68
	8	91D	2	2	78
	9	92D	0	0	1
	10	92D	0	0	0
B Low protein diet	11	61D	0	0	0
	12	92S	0	0	0
	13	92S	0	0	0
	14	92S	0	0	0
	15	92S	0	0	0
	16	92S	0	0	0
	17	92S	0	0	0
	18	92S	0	0	0
	19	92S	0	0	0
	20	92S	0	0	0
C Normal diet with cortisone treatment	21	40D	2	2	186
	22	41D	2	2	396
	23	41D	2	2	690
	24	43D	2	2	407
	25	44D	3	3	1,327
	26	45D	2	2	532
	27	46D	1	1	8
	28	46D	1	2	258
	29	46D	1	2	629

* Standardization by Yoshida *et al.* (1977)† Standardization by Hughes *et al.* (1974a)‡ Cyst concentration method by Ikai *et al.* (1977)

D: Died, S: Sacrificed.

今回、著者らは、無蛋白餌群10頭中7頭(70%)にPcを認め、Hughes *et al.* (1974b)の成績とほとんど一致したが、低蛋白餌を与えた群ではPcはすべて陰性であった。この理由は餌の量を制限しなかったため、多量を摂取し、結果とし

て蛋白欠乏に至らなかったものと判断された。

さて蛋白制限食を与えると動物は一般に免疫グロブリンの合成が阻害され、特異抗体産生が抑えられることが報告されている(Cannon, 1942, 1945)。Hughes *et al.* (1974b)は、protein-calorie

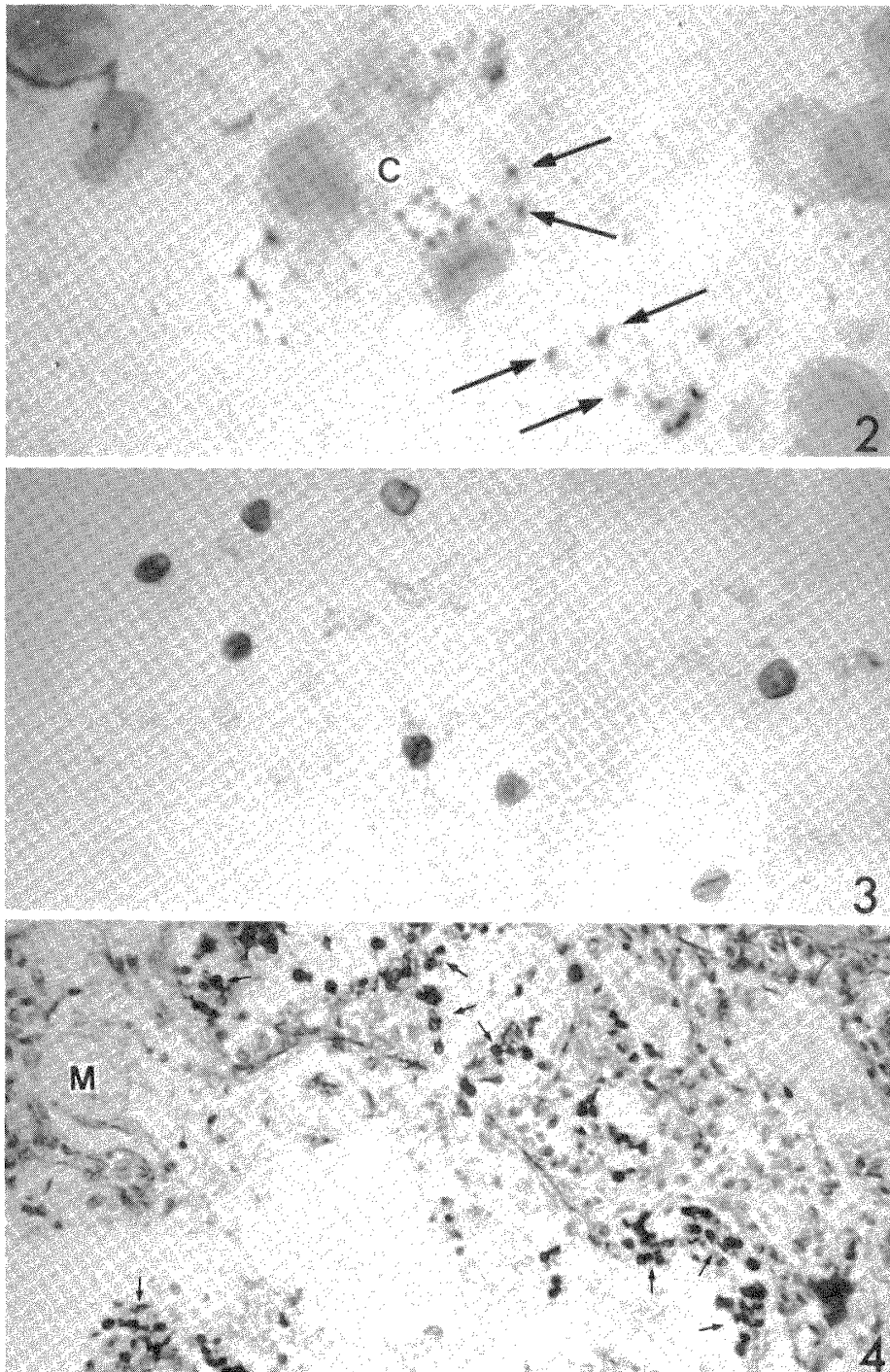


Figure 2 A cyst (C) containing 8 intracystic bodies and some trophozoites (arrow) of *P. carinii* in the lung of a rat bred with protein-free diet (lung smear with Giemsa stain, magnification: $\times 2,200$)

Figure 3 Some cysts of *P. carinii* found in the same material as mentioned in Figure 2 (lung smear with Chalvardjian's toluidine blue-O stain, magnification: $\times 960$)

Figure 4 Many cysts (arrow for some) and some macrophages (M) in the alveoli of the rat's lung bred with protein-free diet (lung section stained with hematoxyline-eosin and Gomori's methenamine silver nitrate, magnification: $\times 300$)

malnutrition の影響として、種々の抵抗力の低下、特に免疫グロブリン合成の低下による液性ならびに細胞性免疫の低下が要因となり、そのため易感染性になるのであろうと述べている。また Chandra (1980) は栄養不良が細胞性免疫の低下とりわけ末梢血 T-cell の減少と細胞性免疫の障害をきたすと述べ、Walzer *et al.* (1980) も低栄養が体重の減少、リンパ性臓器の重量の低下、低アルブミン血症、末梢リンパ球数の減少をきたし Pc 肺炎の誘発の1つの要因になるという意見を述べている。さらに最近ではラットに Pc 肺炎を高率に発症させるために cortisone 処理に加えて低蛋白餌を与える方法が行われている (Walzer *et al.*, 1984)。今回の無蛋白餌投与によって重度の体重減少、脱毛、削そうを示したことからラットの免疫力はかなり低下しているものと考えられた。しかし、無蛋白餌群のラットの Pc 感染濃度が正常餌・cortisone 処理ラットのそれより軽度であった理由は、肺胞腔内に相当数のマクロファージの遊出がみられたこと、および間質になお細胞反応のみられたことなどから免疫能の低下は cortisone 処理には及ばなかったものと考えられる。

今後、このラットモデルは、Pc 肺炎における栄養の役割を検討するのに有用であると考えられる。

要 約

kwashiorkor のような低蛋白栄養不良の際に Pc 肺炎の発症することが知られているのでラットモデルで実験を行った。Wistar 系雄ラットを A, B, C の3群に分け、A 群には無蛋白餌、B 群には低蛋白餌 (粗蛋白含量8.2%)、C 群には正常餌 (粗蛋白含量24.1%) と cortisone による免疫抑制を行い比較した。その結果、A 群10頭中7頭に軽度ないし中等度の Pc 肺炎が発症したが、B 群では10頭中 Pc 肺炎を発症するものはなかった。C 群においては強力な免疫抑制剤の作用により、従来得られた成績と同じく9頭中全例に中等度ないし高度の Pc 肺炎が発症した。以上の如くラット実験モデルにおいても高度の蛋白欠乏下においては、免疫抑制剤などを与えなくても免疫力低下により易感染性となり日和見感染症などの顕性化に寄与するものと思われる。

文 献

- 1) Cannon, P. R. (1942): Antibodies and the protein reserves, *J. Immunol.*, 44, 107-114
- 2) Cannon, P. R. (1945): The importance of proteins in resistance to infection, *JAMA*, 128 (5), 360-362
- 3) Chandra, R. K. (1980): Cell-mediated immunity in nutritional imbalance, *Fed. Proc.*, 39 (13), 3088-3092
- 4) Chalvardjian, A. W. and Grawe, L. A. (1963): A new procedure for the identification of *Pneumocystis carinii* cysts in tissue sections and smears, *J. Clin. Pathol.*, 16, 383-384
- 5) Dutz, W. (1970): *Pneumocystis carinii* pneumonia, *Pathol. Ann.*, 5, 309-341
- 6) Eidelman, A., Nkongo, A. and Morecki, R. (1974): *Pneumocystis carinii* pneumonitis in Vietnamese infant in U.S., *Pediatr. Res. (abstr.)*, 8, 424/150
- 7) Frenkel, J. K., Good, J. T. and Shultz, J. A. (1966): Latent pneumocystis infection of rats, relapse, and chemotherapy, *Lab. Invest.*, 15 (10), 1559-1577
- 8) Gajdusek, D. C. (1957): *Pneumocystis carinii* — etiologic agent of interstitial plasma cell pneumonia of young and premature infants, *Pediatrics*, 19 (4), 543-565
- 9) Hughes, W. T., McNabb, P. C., Makress, T. D. and Feldman, S. (1974a): Efficacy of trimethoprim and sulfamethoxazole in the prevention and treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonitis, *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 5 (3), 289-293

- 10) Hughes, W. T., Price, R. A., Sisko, F., Havron, W. S., Kafatos, A. G., Schonland, M. and Smythe, P. M. (1974b): Protein-calorie malnutrition. A host determinant for *Pneumocystis carinii* infection, *Am. J. Dis. Child.*, 128, 44-52
- 11) 猪飼 剛, 吉田幸雄, 荻野賢二, 竹内 滋, 山田 稔 (1977): *Pneumocystis carinii* および *Pneumocystis carinii* 肺炎の研究Ⅱ. 集シスト法, *寄生虫誌.*, 26 (5), 314-322
- 12) Lim, S. K. and Moon, C. S. (1960): On the *Pneumocystis carinii* pneumonia. (II) Epidemiological and clinical studies of 80 cases, *Jonghap. Med.*, 6, 77-86
- 13) Ogino, K. (1978): *Pneumocystis carinii*: Experimental pulmonary infection in rats, *Jpn. J. Parasitol.*, 27 (1), 77-89
- 14) Post, C., Dutz, W. and Nasarian, I. (1964): Endemic *Pneumocystis carinii* pneumonia in South Iran, *Arch. Dis. Childh.*, 39, 35-40
- 15) Walzer, P. D., Powell, R. D. Jr., Yoneda, K., Rutledge, M. E. and Milder, J. E. (1980): Growth characteristics and pathogenesis of experimental *Pneumocystis carinii* pneumonia, *Infect. Immun.*, 27 (3), 928-937
- 16) Walzer, P. D., Labine, M., Redington, T. J. and Cushion, M. T. (1984): Predisposing factors in *Pneumocystis carinii* pneumonia: Effects of tetracycline, protein malnutrition, and corticosteroids on hosts, *Infect. Immun.*, 46 (3), 747-753
- 17) 山田 稔, 猪飼 剛, 荻野賢二, 松本芳嗣, 塩田恒三, 吉田幸雄 (1984): *Pneumocystis carinii* および *Pneumocystis carinii* 肺炎の研究Ⅷ. ウサギおよびモルモットにおける誘発実験, *寄生虫誌.*, 33 (6), 535-544
- 18) 吉田幸雄 (1981): ニューモシスチス・カリニ肺炎, 初版, 南山堂, 東京
- 19) 吉田幸雄, 竹内 滋, 荻野賢二, 猪飼 剛, 山田 稔 (1977): *Pneumocystis carinii* および *Pneumocystis carinii* 肺炎に関する研究Ⅲ. Pyrimethamine + Sulfamonomethoxine および Trimethoprim + Sulfamethoxazole の治療効果に関する動物実験, *寄生虫誌.*, 26 (6), 367-375

MANIFESTATION OF *PNEUMOCYSTIS CARINII*
PNEUMONIA IN RATS WITH PROTEIN
DEFICIENT MALNUTRITION

MINORU YAMADA, SHIGERU TAKEUCHI*, KENJI OGINO,
TSUYOSHI IKAI AND YUKIO YOSHIDA

Received 31 March 1986/Accepted 16 July 1986

The role of protein deficient malnutrition in *Pneumocystis carinii* pneumonia was examined on rats. Twenty-nine Wistar male rats were divided into 3 groups. Of 10 rats fed with protein-free diet (Group A) 7 manifested light to moderate *P. carinii* pneumonia, whereas none of 10 rats fed with low (8.2%) protein diet (Group B) showed *P. carinii* infection probably due to the excess uptake of the diet. On the other hand, all of 9 rats fed with normal protein (24.1%) diet with cortisone acetate treatment, 125 mg/kg twice weekly, acquired moderate to severe infections with *P. carinii*. From the results mentioned above, it is apparent that *P. carinii* infection could be provoked by the lack of protein in the diet.

Department of Medical Zoology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto 602, Japan.

* Present Address: Tondabayashi Hospital, Osaka Prefecture.

Contribution No. 538 from the Department of Medical Zoology, Kyoto Prefectural University of Medicine. This study was supported by Grant-in-Aid for Scientific Research (58480170), the Ministry of Education, Science and Culture.

第27回 日本熱帯医学会総会講演抄録 (2)

期 日： 昭和 60 年 10 月 30 日 (水)—11 月 1 日 (金)
 会 場： 神戸国際会議場 (神戸国際交流会館内)
 会 長： 神戸大学医学部教授 松村武男

目 次

特 別 講 演 (前号掲載済)

- I Dengue hemorrhagic fever: a critical appraisal
 of current hypotheses
 Leon Rosen (ハワイ大)
- II 科学技術と国際交流
 岡本 道雄 (科学技術会議議員)

シンポジウム (前号掲載済)

- I 熱帯医学と分子疫学
 司会 石井 明 (岡山大学・医・寄生虫)
 三舟求真人 (大分大学・微生物)
- II 熱帯諸国と日本の医学
 司会 深井孝之助 (阪大・微生物病研究会)
 坪井 誠吉 (神戸大・医・
 医学研究国際交流センター)
- 司会 藤岡 晨宏 (県立尼崎病院)
 辻 守康 (広島大・医・寄生虫)
- III 熱帯地における旅行者感染症
 —その現状と対策を中心に—
 司会 中林 敏夫 (阪大・微研)
 青木 隆一 (大阪市立桃山病院)

一 般 講 演

- 1 蚊の系統間におけるウイルス感受性の違い
 の解明—ヒトスジシマカにおけるチクング
 ニアウイルス高感受性系統について—
 山西 浩 (神戸学院女子短大)
 小西 英二 (神戸大・医・医動物)

- 2 蚊におけるアルボウイルス感受性の電子顕
 微鏡的研究
 1. ヒトスジシマカ (*Aedes albopictus*) 唾
 液腺におけるチクングニアウイルスの
 増殖
 Soedarto Soekiman¹, 松村 武男²,
 山西 浩³, 小西 英二²
 (Airlangga 大・医・寄生虫¹, 神戸大・
 医・医動物², 神戸学院女子短大³)
- 3 *Toxorhynchites splendens* の Dengue virus
 type 2 に対する感受性
 山本 典巳, 大山 昭夫
 (関西医大・微生物)
- 4 カラチ地方における蚊と脳炎に関する疫学
 調査
 上村 清 (富山医薬大・医・寄生虫)
 高須 俊明 (日本大・医・神経内科)
- 5 1984年タイ国チェンマイ地区における日本
 脳炎の臨床的調査
 宍戸 春美 (長崎大・熱帯医研・内科)
 五十嵐 章, 分藤 桂子
 (長崎大・熱帯医研・ウイルス)
 Pien Chiowanich, Boonson Poneprasert,
 Pinit Limsukon, Jiraporn Supawadee, Supin
 Matheedol (Faculty of Medicine, Chiang Mai
 University)
- 6 タイ国北部の山地民族居住地およびチェン
 マイ市周辺における日本脳炎媒介蚊の調査
 とウイルス分離
 森 章夫 (長崎大・医・医動物)
 五十嵐 章
 (長崎大・熱帯医研・ウイルス)
- 7 免疫電子顕微鏡法による日本脳炎ウイルス

- の検出一蚊からのウイルス分離の迅速化について—
降井佐太郎, 若城 謙二, 田辺 巖
(京都府衛生公害研)
- 8 Dengue virus type 2 野性株の哺乳マウス継代による宿主感受性の推移
大山 昭夫, 大杉 幸男, 前田 耕平,
吉城 豊子 (関西医大・微生物)
- 9 Dengue virus 脳内接種マウスの聴覚障害に関する研究 (第1報)
佐藤 喜一, 堀田 進, 酒井 博美
(金沢医大・熱帯医研)
- 10 Snowshoe hare ウイルス (プニヤウイルス属) の mRNA のクローニング
江下 優樹 (帝京大・医・寄生虫)
D. H. L. Bishop (英国 NERC ウイルス研)
- 11 Snowshoe hare ウイルス (プニヤウイルス属) の mRNA の塩基配列
江下 優樹 (帝京大・医・寄生虫)
D. H. L. Bishop (英国 NERC ウイルス研)
- 12 ヌードマウスにおける *Pneumocystis carinii* および *Pneumocystis carinii* 肺炎に関する透視型電子顕微鏡的研究
山田 稔, 松本 芳嗣, 吉川 尚男,
吉田 幸雄 (京都府医大・医動物)
- 13 *Pneumocystis carinii* の freeze-fracture 法による微細構造 1. 栄養型の細胞内器官について
吉川 尚男, 吉田 幸雄
(京都府医大・医動物)
森岡 宏行 (京都府医大・中研・電顕室)
- 14 抗寄生原虫作用を有するヌクレオシド・アナログとその作用機構
平岡 修, 佐竹 弘靖, 綿矢 有佑
(岡山大・薬)
松田 彰, 上田 亨 (北大・薬)
- 15 *Trypanosoma brucei gambiense* の血流型培養: マウス各臓器線維芽細胞の影響
Peter J. Mhandó, 柳 哲雄,
中澤 秀介, 福岡 利英, 神原 廣二
(長崎大・熱帯医研・原虫)
- 16 トリパノソーマ・クルーギに対する Sprague Dawley ラットの感染抵抗性
三浦佐千夫, 竹内 勤, 浅見 敬三,
小林 正規, 奥沢 英一
(慶応大・医・寄生虫)
- 17 トキソプラズマ溶解抗原投与マウスのパベシア感染時に示した臓器中リンパ球の動態
宮上 禎肇, 関口 信一, 桜井 治久,
斉藤 篤志, 鈴木 直義
(帯広大・獣医・生理)
佐藤 基佳, 広瀬 恒夫
(帯広大・獣医・放射線)
- 18 ヒトにおけるトキソプラズマ抗体量の年次変動について
高橋 純子, 小西 英二, 松村 武男
(神戸大・医・医動物)
- 19 マンソン裂頭条虫の新しい実験的終宿主について
内田 明彦, 村田 義彦
(麻布大・環境保健・環境生物)
- 20 実験的マンソン孤虫症における虫体の体内移行経路と末梢血中好酸球の出現状況
内田 明彦, 堀川 真弓, 内田紀久枝
(麻布大・環境保健・環境生物)
- 21 各種寄生蠕虫の好酸球および好中球遊走活性の比較
堀井洋一郎, 中西 弘有, 藤田紘一郎
(長崎大・医・医動物)
大橋 真 (宮崎医大・寄生虫)
石井 明 (岡山大・医・寄生虫)
- 22 マンソン住血吸虫卵に対する肉芽腫の宿主尿素サイクル酵素活性への影響
田辺 将信, 金子 信明, 竹内 勤,
浅見 敬三 (慶応大・医・寄生虫)
- 23 日本住血吸虫の虫卵—並びに虫体—抽出液の変異原性について
石井 明, 松岡 裕之, 安治 敏樹
(岡山大・医・寄生虫)
早津 彦哉, 綿矢 有佑, 有元佐賀恵
(岡山大・薬・薬品化学)
- 24 各種住血吸虫抗原に対する住血吸虫抗血清の ELISA 反応
伊藤 洋一 (北里大・医・寄生虫)

- 25 Metrifonate のビルハルツ住血吸虫症に対する治療効果
佐藤 克之¹, 野田 伸一², 嶋田 雅暁¹, N. Muhoho³, 青木 克己¹, 佐藤 淳夫²
(長崎大・熱帯医研・寄生虫¹, 鹿児島大・医・医動物², KEMRI-Kenya³)
- 26 フィリピン・ボホール島の日本の住血吸虫症の疫学と対策
田中 寛, 松田 肇
(東大・医科研・寄生虫)
安羅岡一男, 入江 勇治
(筑波大・基礎医・医生物)
荒木 国興 (公衆衛生院・寄生虫)
神谷 晴夫 (秋田大・医・寄生虫)
下村 浩 (広島大・医・寄生虫)
中尾 稔 (旭川医大・寄生虫)
Alfredo T. Santos Jr., Julian S. Nosenas, Bayani L. Blas
(フィリピン国保健省・住血吸虫局)
- 27 ガーナ農村部居住乳幼児の感染症調査(1) 定期検診, 調査活動基地設立
磯村 思无 (名古屋大・医・小児科)
R. B. Biritwum, A. Asoku
(ガーナ大・医・野口研)
- 28 ガーナ農村部居住乳幼児の感染症調査(2) 生後3カ月-3歳児の血清疫学調査
磯村 思无, 山口 英明
(名古屋大・医・小児科)
R. B. Biritwum (ガーナ大・医・野口研)
鳥羽 和憲 (横浜市大・医・公衆衛生)
根路銘国昭, 佐藤 勇治 (予研)
伊藤 誠 (名古屋市大・医・医動物)
- 29 最近のマラウイ共和国における寄生虫症について
木村 智子 (元青年海外協力隊員)
赤尾 信吉 (防衛医大・寄生虫)
- 30 エチオピア飢餓被災民キャンプにおける主要疾病について
谷 荘吉 (金沢医大・医動物)
奥村 悦之 (高知学園短大・保健)
今川 八束 (都立墨東病院・感染症科)
- 31 海外発展途上国在留邦人の最近2カ年の腸管原虫・蠕虫感染状況
藤田 紘一郎, 月舘 説子, 黒川 憲次, 中西 弘有, 堀井洋一郎
(長崎大・医・医動物)
杉山 雅俊 (順天堂大・医・衛生)
奥脇 義行 (女子栄養大・微生物)
小笠原ヤス子, 朝倉 健夫
(日本熱帯医学協会)
- 32 アフリカ在留邦人の巡回検診にみる疾病
力富 直人, 永武 毅, 山本 真志, 土橋 賢治, 鈴木 寛, 松本 慶蔵
(長崎大・熱帯医研・内科)
- 33 開発途上国長期滞在者の精神健康管理
小原 博, 海老沢 功
(東邦大・医・公衆衛生)
表 光代, 大谷 杉士
(青年海外協力隊事務局)
菅又 淳 (初石病院・精神科)
- 34 奈良県下のベトナム難民の健康調査
西山 利正, 瀬川 武彦, 宇野 豊子, 森田 博, 古木 純子, 高橋 優三, 荒木 恒治 (奈良医大・寄生虫)
天野 博之 (天理病院・海外医療科)
赤沢 寛治 (関西医学検査センター)
- 35 発展途上国との医学学術交流の現況
内山 三郎, 古川 直子, 岩井 誠三
(神戸大・医・医学研究国際交流センター)
- 36 卵型マラリア赤内型原虫の微細構造
松本 芳嗣, 松田 信治, 吉田 幸雄
(京都府医大・医動物)
- 37 熱帯熱マラリア原虫における生殖母体形成の誘発と誘導物質の解析
小野 忠相, 中林 敏夫
(阪大・微研・原虫)
- 38 *Anopheles stephensi* 2系統のネズミマラリア原虫 *Plasmodium yoelii nigeriensis* に対する感受性の比較
藤田 和世, 栗原 毅, 海野登久子
(帝京大・医・医動物)
G. B. White, G. A. T. Targett
(ロンドン大学衛生熱帯医学校)
- 39 東南アジアにおける主要マラリア媒介種群

- の系統発生と生物学的諸性状
 神田 鍊蔵 (聖マリアンナ医大・病害動物)
- 40 サルファモノメトキシシキが無効で、クロロキシンが有効であった三日熱マラリアの1例
 山村 好弘, 上田英之助, 橋本 泰吉 (国療刀根山病院)
- 41 輸入マラリアの治療成績
 田辺 清勝 (東大・医科研・内科)
 大友 弘士 (岐阜大・医・寄生虫)
 尾辻 義人 (鹿児島大・医・二内科)
 中林 敏夫 (阪大・微研・原虫)
 田中 寛 (東大・医科研・寄生虫)
- 42 輸血マラリアを疑わしめた三日熱マラリアの1例
 矢野 健一, 中林 敏夫 (阪大・微研・原虫)
 渡辺 知明 (大阪府赤十字血液センター)
 藤本 輝夫, 阪本 俊一 (藤本病院・外科)
- 43 アフリカ旅行中に感染したと思われる卵形マラリアの1症例
 中林 敏夫, 小野 忠相, 矢野 健一 (阪大・微研・原虫)
 星加 泰宏, 片岡 由幸 (県立奈良病院・内科)
- 44 高マラリア抗体価を持続しつつ重症化を避け得た非定型的熱帯熱マラリアの1例
 天野 博之 (天理病院・海外医療科)
 西山 利正, 瀬川 武彦, 高橋 優三, 荒木 恒治 (奈良医大・寄生虫)
 田村 遵一, 鈴木 守 (群馬大・医・寄生虫)
- 45 西アフリカ・ガーナの一地方村におけるマラリア感染状況の調査
 伊藤 誠, 高柳 担, 佐藤 重房 (名古屋市大・医・医動物)
 R. K. Anteson, M. A. Appawu (ガーナ大・野口研)
- 46 ナイジェリア, Ijebu-Ode 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)
 前田龍一郎 (帝京大・医・寄生虫)
 稲岡 徹 (旭川医大・寄生虫)
 E. O. Ogunba (イバダン大)
- 47 インドネシア共和国北スマトラ州アサハン県におけるマラリアの疫学的調査
 糸川 英樹 (東京医歯大・医・医動物)
- 48 ナイジェリア国プラト州におけるブユ相角坂 照貴, 塩飽 邦憲, 金子 清俊 (愛知医大・寄生虫)
 D. M. Roberts, M. O. E. Iwuala (ジョス大)
- 高橋 弘 (国際協力事業団)
- 49 長崎県で発生した恙虫病患者2例の感染経路と媒介種について
 鈴木 博 (長崎大・熱帯医研・ウイルス)
 藤田 宣士, 福田 博英, 鳥山 史 (健康保健諫早総合病院)
 鈴木 寛 (長崎大・熱帯医研・内科)
- 50 長崎県におけるリケッチア・ツツガムシに関する血清疫学的研究
 福本 美枝, 鈴木 寛, 松本 慶蔵 (長崎大・熱帯医研・内科)
 麻生 卓郎 (有川医師会)
- 51 東アフリカ, モザンビークのフィラリア症について
 藤田絃一郎¹, 小田 力², 月館 説子¹, 森 章夫¹, 上田 正勝¹, 黒川 憲次¹ (長崎大・医・医動物¹, 長崎大・医技短大²)
- 52 バンコック産ネッタイエカの1系統におけるテトラサイクリンによる *Wolbachia pipientis* の駆除と和合性の変化
 末永 敏 (長崎大・熱帯医研・資料室)
- 53 京都市・洛北において採取したユスリカ類, カ類について
 正垣 幸男 (京大・医・病理)
- 54 暑熱順化に関する研究—温熱負荷による発汗反応の解析—
 范 育仁, 小坂 光男, 大渡 伸, 岩元 純, 菅原 正志, 藤原真理子,

- Ye-Win* (長崎大・熱帯医研・
環境生理, JICA 研修生*) (慈恵医大・附属研)
- 55 長期暑熱暴露ウサギの温熱負荷に対する反
応
藤原真理子, 大渡 伸, 小坂 光男
(長崎大・熱帯医研・環境生理)
- 56 海外発展途上国における最近2カ年の飲料
水検査成績
月舘 説子, 藤田紘一郎, 中西 弘有
(長崎大・医・医動物)
- 奥脇 義行 (女子栄養大・微生物)
杉山 雅俊 (順天堂大・医・衛生)
小笠原ヤス子, 朝倉 健夫
(日本熱帯医学協会)
- 57 パプア・ニューギニア各地における飲料水
の細菌学的研究
奥脇 義行, 矢内 寿恵, 豊 経子
(女子栄養大・微生物)
- 藤田紘一郎, 月舘 説子
(長崎大・医・医動物)
- 杉山 雅俊 (順天堂大・医・衛生)
朝倉 健夫 (日本熱帯医学協会)
- 58 エチオピア, Makale 市周辺の飢餓被災民
テント村における飲料水の水質検査成績
奥村 悦之 (高知学園短大・保健)
谷 荘吉 (金沢医大・医動物)
- 59 腸アメーバ症の6例(特に内視鏡診断につ
いて)
山村 誠, 筋師 満, 堀 信治,
檜林 尚, 大野 忠嗣, 下山 孝
(兵庫医大・四内科)
- 西村 猛 (兵庫医大・医動物)
- 60 アメーバ性肝膿瘍の3治験例
千原 久幸, 安宅 啓二, 岡田 昌義,
中村 和夫 (神戸大・医・二外科)
本田 雅之 (高砂市民病院)
佐野 均 (住友病院)
- 61 日本国内で感染したと思われるメジナ虫症
の1例について
小林 昭夫, 片倉 賢, 浜田 篤郎
(慈恵医大・寄生虫)
- 鈴木 昭男, 幡場 良明
- 田代 直 (慈恵医大・二外科)
吉田 昭 (東芝沼津診療所)
- 62 リベリアからの農業研修員に認められたマ
ンソン住血吸虫症の1例
松村 武男, 宇賀 昭二, 小西 英二,
中尾 雅春 (神戸大・医・医動物)
佐伯 進, 馬場 茂明
(神戸大・医・二内科)
- 63 Praziquantel, Niclosamide および Mebenda-
zole の小形条虫に対する駆虫効果の実験的
研究
牧 純, 斉藤 七瀬, 柳沢十四男
(北里大・医・寄生虫)
- 64 兵庫県下における児童の寄生虫卵保有者の
疫学調査
中尾 雅春, 松村 武男
(神戸大・医・医動物)
- 角田 沖介 (神戸通信病院)
前島 健治 (兵庫県予防医学協会)
- 65 タイ国で分離された病原性大腸菌と赤痢菌
の薬剤感受性と β -ラクタマーゼ産生性
田中 光, 河野 茂, 重野 芳輝,
山口 恵三, 斉藤 厚, 原 耕平
(長崎大・医・二内科)
- S. Wongwanich, S. Ramsiri,
K. Vatcharasinghn, O. Rachtrachainchai
(タイ国医科学局・臨床病理学部)
- 66 最近のらいの新患について
熊野 公子, 村田 洋三
(神戸大・医・皮膚科)
- 原田 禹雄 (国立癩療養所邑久光明園)
- 67 膠原病患者における抗 ATLA 抗体
中山 志郎, 石川 隆之, 矢部 博樹,
永井 謙一
(神戸市立中央市民病院・免疫血液内科)
- 矢田 久美
(神戸市立中央市民病院・輸血部)
- 68 ELISA による局所筋肉中のハブ毒の定量
(2)一局所における抗毒素の中和効果につ
いて—
野崎 真敏, 山川 雅延, 富原 靖博

- (沖縄県公害衛研・ハブ支所)
- 69 ハブ毒とその筋壊死因子による血圧降下作用—低濃度の場合—
 鎮西 弘 (東京医歯大・医・医動物)
 峰下 哲, 山本 憲男
 (東京医歯大・難治疾患研・臨床薬理)
 中西 均 (帝京大・医・薬理)
- 70 ヤマカガシ抗毒素の試作およびその臨床効果について
 川村 善治, 沢井 芳男
 (日本蛇族学術研)
- 71 虫刺創の病理組織学的研究 (第2報)

- E. A. Jalal^{1,2}, 谷 莊吉^{1,2},
 佐藤 喜一¹, 堀田 進¹, 上村 清³
 (金沢医大・熱帯医研¹, 同医動物²,
 富山医薬大・病理³)
- 72 広東住血線虫卵の微細構造について
 宇賀 昭二, 荒木 万嘉, 松村 武男
 (神戸大・医・医動物)

学 生 講 演

懇 話 会
 (次号掲載予定)

一般講演

1 蚊の系統間におけるウイルス感受性の違いの解明—ヒトスジシマカにおけるチクングニアウイルス高感受性系統について—

山西 浩 (神戸学院女子短大)

小西 英二 (神戸大・医・医動物)

ヒトスジシマカ数系統でチクングニアウイルス感受性をブラック定量法で調べた。調べた系統のうちオアフ系は、特に感受性が高い系統であった。この系統で経口感染のウイルスの消長を平均感染価でみると、感染後1日目で $10^{3.9}$ PFU/mosq, 3日目 $10^{4.0}$ PFU, 5日目 $10^{5.4}$ PFU, 7日目 $10^{5.2}$ PFU, 14日目に $10^{6.3}$ PFUと変動した。このウイルス変動を唾液腺, 脳, 前腸, 中腸の器官別に観察した。感染後3日目に中腸で7個体中全個体にウイルスが検出された。感染価は $10^{2.0}$ PFUから $10^{4.4}$ PFUに分布していた。前腸では2個体から検出され, 唾液腺, 脳からはウイルスは検出されなかった。感染後7日目には中腸で6個体($10^{3.3}$ ~ $10^{3.8}$ PFU), 前腸で2個体($10^{2.7}$ ~ $10^{3.0}$ PFU), 唾液腺, 脳で7個体中1個体より検出され, 感染価は低かった。14日目には中腸では全個体にウイルスが検出されたが前腸で5個体, 唾液腺, 脳で4個体から検出された。いずれも感染価は高く, 唾液腺で $10^{3.7}$ ~ $10^{5.3}$ PFU, 脳で $10^{3.5}$ ~ $10^{5.1}$ PFUであった。ウイルス感受性の低い兵庫系では感染後14日目に中腸で7個体中5個体($10^{2.4}$ ~ $10^{3.9}$ PFU)で, 中腸で2個体, 唾液腺, 脳より1個体ウイルスが検出された。感受性の低い仙台系でも, 中腸と体液でウイルスの消長を比較した。オアフ系では中腸の感染とともに体液も感染するが, 仙台系では体液に感染する個体は少なかった。このようにウイルスの増殖において中腸の役割は重要であった。

2 蚊におけるアルボウイルス感受性の電子顕微鏡的研究

1. ヒトスジシマカ (*Aedes albopictus*) 唾液腺におけるチクングニアウイルスの増殖

Soedarto Soekiman

(Airlangga 大・医・寄生虫)

松村 武男 (神戸大・医・医動物)

山西 浩 (神戸学院女子短大)

小西 英二 (神戸大・医・医動物)

ネッタイシマカ (*Aedes aegypti*) と共に, ヒトスジシマカ (*Aedes albopictus*) は, デングおよびチクングニアウイルス (DEN および CHIK) の重要なベクターである。これらのベクターにおける DEN および CHIK の伝播機構については, 現在なお未解決の点が多い。今回, CHIK 感染ヒトスジシマカの唾液腺を, 電顕法と蛍光抗体法によって観察し, 従来の DEN 感染ネッタイシマカおよび哺乳類感染培養細胞における増殖像と比較検討した。ヒトスジシマカは, CHIK に最も高い感受性を示した実験室継代の OAHU 系 (L. Rosen 博士より分与), CHIK はアフリカ株 (マウス脳および BHK-21 細胞継代) を供試した。成蚊を CHIK を含むヒツジ脱線維血を用いて feeding 法によって感染させ, 26°C , 相対湿度70%, 長日条件下で飼育した。最も蚊体内で高い感染価を示す14日目に, 低温麻醉後, 実体顕微鏡下で, 唾液腺のみを採取した。そして1%オスミウム酸, および2%グルタルアルデヒドで二重固定後, アルコール脱水し, 型どおり Epon 包埋を行った。なお, DEN-2 型胸部接種によるネッタイシマカ唾液腺 (D. G. Gubler 博士による) も同様に試料を作成し, 前者と比較した。現在までの観察によれば, CHIK 感染ヒトスジシマカ唾液腺の腺房細胞細胞質 matrix, およびその周辺の vacuole に散在するウイルス粒子が観察されたが, Vero, KB, BHK-21, 感染培養細胞で観察された様な細胞表面膜からの出芽は全く観察されなかった。この所見は, DEN-2 感染ネッタイシマカ唾液腺の観察

所見と類似していた。

3 *Toxorhynchites splendens* の Dengue virus type 2 に対する感受性

山本 典巳, 大山 昭夫

(関西医大・微生物)

ウイルスの分離, 同定については感受性の高い宿主を用いる事は論をまたない。従来, 哺乳マウス, および培養細胞がこの目的に用いられてきたが, 1974年以降, 蚊を用いたウイルス分離, 同定も行われている。既に我々は Dengue virus type 2 (D-2) の *Toxorhynchites splendens* 体内での増殖に関する報告を行ったが, 今回は更に *Tx. splendens* 成虫を用いて本蚊の D-2 に対する感受性の強弱を哺乳マウス, 並びに培養細胞と比較した。なお, 実験には, $10^{7.5}$ PFU/ml の D-2 野生株 (BR 006, BR 116), 並びに固定株 (Tr 1751) が用いられた。

供試ウイルス株を *Tx. splendens*, 哺乳マウス, Vero 細胞を用いて assay した。その結果, BR 006 株では $10^{8.8}$ MID₅₀/ml (*Tx. splendens*), $10^{1.9}$ LD₅₀/ml (哺乳マウス), $10^{7.5}$ PFU/ml (Vero 細胞) であり, BR 116 株に於てもほぼ同様の結果を得た。一方, Tr 1751 株では, $10^{9.2}$ MID₅₀/ml, $10^{8.1}$ LD₅₀/ml, $10^{7.8}$ PFU/ml であった。

次に *Tx. splendens*, 哺乳マウス, Vero, 並びに C6/36 細胞での D-2 の yield を Vero 細胞にて求めた。その結果, 両野生株はほぼ同様の値を示し平均 $10^{8.3}$ PFU/g (*Tx. splendens*), $10^{6.5}$ PFU/g (哺乳マウス), $10^{7.2}$ PFU/ml (Vero, C6/36 細胞) であった。一方, Tr 1751 株では哺乳マウス脳内で $10^{8.2}$ PFU/g と高い yield を示したが *Tx. splendens*, 並びに培養細胞では野生株と大差がなかった。

更に *Tx. splendens* 頭, 胸, 腹部での D-2 の増殖を検討したところ, D-2 各株ともに胸腔内接種後15日目に $10^{8.0}$ ~ $10^{8.4}$ PFU/g に達する事が判明し, 頭部での D-2 の増殖が他の部位と比較して優れている事が判明した。

以上の結果より, *Tx. splendens* は従来 Dengue virus の分離, 同定に用いられてきた哺乳マウス, および培養細胞の中では最も感受性が高い宿主と

判明した。また, *Tx. splendens* を部位別に検討すると頭部の感受性が優れていると判明した。更に, *Tx. splendens* での D-2 の yield を検討したところ, *Aedes albopictus* (Gubler and Rosen, 1977), *Tx. anboinensis* (Rosen, 1981) の yield と比較して低い値であった。この理由として yield 測定の際の assay host の違いに起因する事と推察された。

4 カラチ地方における蚊と脳炎に関する疫学調査

上村 清 (富山医薬大・医・寄生虫)

高須 俊明 (日本大・医・神経内科)

1983年7月から, 科研海外学術調査のカラチ脳炎調査隊で, パキスタン国カラチ地方で蚊と脳炎に関する疫学調査を行った。カラチ市の民家寝室3定点で, 昼間 Spray sheet 法で蚊成虫を1年間採集したのに加え, 19地点で7-9月に随時蚊採集を行った。その結果, 雌蚊12,636匹, 雄蚊7,952匹が採集された。日脳媒介蚊コガタイエカは海岸寄りのアザム地区で最高1寝室に雌1,613匹, 雄571匹が採集された。7, 8月に多く, 河床の水溜りや湧き水の水溜りに発生しており, カラチ市内に数は少ないが広く分布していた。カラチ市郊外の湿地から, ハイデラバードにかけての水田地域には多発していた。

マラリア媒介蚊 *Anopheles stephensi* は屋内には非常に少なかった。*An. subpictus* は屋内に多く, 河床水溜, 地表汚水溜などに多発していた。ネッタイシマカはカラチ市都心部に分布し, 用水槽, 壺などの小容器に発生していた。ネッタイエカは年間を通じて市街部に多く, 地表汚水溜, どぶに多発していた。

カラチ市民病院神経科の年間脳炎症例55例のうち, 急性脳炎30例, SSPE 8例, 他の亜急性脳炎6例, その他11例で, 血清学的に原因を推定できたのは14例で, そのうち日脳は3例であった。

健常者などの血清抗体価の測定から, 日脳その他のアルボウイルス陽性率と抗体価は7月から3月に向けて著しく上昇し, その後4月から6月に向けて減少した。

以上のことから, カラチ地方にはブタが宗教的

理由から飼育されていないが、コガタイエカが少数分布している、日脳の小流行を水牛などで維持できていると考えられた。

5 1984年タイ国チェンマイ地区における日本脳炎の臨床的調査

宍戸 春美 (長崎大・熱帯医研・内科)

五十嵐 章, 分藤 桂子

(長崎大・熱帯医研・ウイルス)

Pien Chiowanich, Boonson Poneprasert, Pinit Limsukon, Jiraporn Supawadee, Supin Matheedol (Faculty of Medicine, Chiang Mai University)

日本脳炎 (JE) は、他の感染症に比較して死亡率が高く、かつ救命しえたとしても重篤な神経学的後遺症を残すことが少なくない。日本における JE は、1966年の大流行以来激減しているが、日本を除くアジア各地では、JE と思われる脳炎の流行が多発している。今回、私共は、Chiang Mai Province (CMP) と Chang Mai University Hospital (CMUH) における脳炎の統計を調査し、ウイルス学的に JE と診断しえた患者の臨床像を、デングウイルス感染症と対比して報告した。

日本脳炎およびデングウイルス感染症の診断は、患者の血清および髄液の抗体価測定、およびウイルス分離により行った。

CMUH における脳炎 (1982年) の統計では、月別患者数で5月-9月にピークがあり、男性が女性の約1.8倍で、11-15歳が最も多かった。死亡率は16.2% (12/74) であった。CMP 内の District 別の統計では、Mae Ai, Fang, Chiang Dow の脳炎罹患率が特に高率であった。CMUH における日本脳炎では、デングウイルス感染症と比較すると、神経症状が主体で、白血球増多および SIADH によると考えられる Na^+ , Cl^- の低下が特徴的であった。発熱は、両疾患ともに全患者で認められたが、日本脳炎の方が高熱を呈する傾向を示した。日本脳炎患者の初診時髄液所見では、単核球を主体 ($75.2 \pm 24.1\%$) とする細胞数の中等度増加 ($249.5 \pm 163.6/\text{mm}^3$)、および蛋白量の軽度増加 ($67.1 \pm 31.3 \text{ mg/dl}$) が認められ、糖量は正常範囲 ($60.0 \pm 12.0 \text{ mg/dl}$; 同時血糖値は

$102.4 \pm 34.4 \text{ mg/dl}$) であった。急性期の脳液は基礎波が高振幅徐波が主体で、経過中、高振幅鋭波が一過性に認められる症例もあった。頭部 CT scan 所見 (急性期) では、generalized brain edema のための脳室内腔の狭小化が認められた。日本脳炎患者の血清、髄液における血清学的検査では、IgM-ELISA の特異性が高く、また、血清よりも髄液の方が早期に本症と確定診断可能であった。

タイ国チェンマイ地区における日本脳炎の臨床像は、本邦でのそれと一致する。髄液の IgM-ELISA により、第4-5病日という発病初期に本症と確定可能であることが初めて明らかにされた。現在、日本脳炎の本邦での発生は少ないが、今後は、交通網の発達によって輸入感染症として発生する可能性も考えられる (本研究は、昭和59年度文部省科学研究費海外学術調査補助金の援助を受けた)。

6 タイ国北部の山地民族居住地およびチェンマイ市周辺における日本脳炎媒介蚊の調査とウイルス分離

森 章夫 (長崎大・医・医動物)

五十嵐 章

(長崎大・熱帯医研・ウイルス)

先にタイ国北チェンマイ地区で行った脳炎の調査で、平地民のみならず山地民族にも、しばしば脳炎患者が発生していることがわかった。一般に山地民族は高地に住み、平地民とは異なった農耕文化を持っている。この山地民族における日本脳炎ウイルスの伝播様式を調べるため、1984年6月から7月にチェンマイ県チョムトムのカレン族の村パーモン、チェンダオのモン族の村サンバキア、およびメアイのラフ族の村ローパクライにライトトラップを設置して、飛来する蚊を採集した。採集された蚊は種類を同定した後、日本脳炎媒介蚊からはウイルス分離を試みた。また山地との比較のため、チェンマイ市周辺のメリムとハンドンの2カ所の豚舎で採集した蚊についても、同様の処理を行ってウイルス分離を試みた。パーモンは海拔1,200mの山腹にあり、住民は水田耕作を行っている。ここではコガタイエカ、*Culex*

gelidus が採集されたがウイルスは分離されなかった。サンパキアは海拔 1,300m で山の尾根にあり、焼畑に依存している。最も近い水田からは 35km 隔たっている。日本脳炎媒介蚊は、極くわずかしが採集されなかった。ローパクライは海拔 500m にあり、住民は水田を耕作している。ここではコガタアカイエカをはじめ媒介蚊が採集されたが、ウイルスは分離されなかった。これに対し、チェンマイ市周辺で採集された蚊のうち *Cx. fuscocephala* 1,641匹, 20プール, コガタアカイエカ 5,899匹, 64プール, *Cx. gelidus* 8,964匹, 82プールをウイルス分離に供し, コガタアカイエカ 7プール, *Cx. fuscocephala*, *Cx. gelidus* それぞれ 1プールから, 日本脳炎ウイルスを分離した。以上の結果から 1,200m 以上の山地民族の居住地域では媒介蚊が少ないことから日本脳炎に感染する可能性は低いものと思われる。また平地では広大な水田耕作と大規模なブタの飼育が, 日本脳炎の流行をもたらしているが, 蚊のウイルス保有状況からみて感染の機会が多いのは, 雨季の初めではないかと思われる。

7 免疫電子顕微鏡法による日本脳炎ウイルスの検出—蚊からのウイルス分離の迅速化について—

降井佐太郎, 若城 謙二, 田辺 巖
(京都府衛生公害研)

近年, コガタアカイエカからの日本脳炎ウイルス (JEV) の分離には, 乳のみマウスに代って, C6/36 細胞が用いられている。この方法で JEV を確認するには, 血球凝集反応 (HA), 血球凝集抑制反応 (HI), および補体結合反応 (CF) 試験を実施し, 更にこれらの試験で陽性となった材料を乳のみマウスの脳内に接種して発症を確認している。今回, 我々は, これらの JEV 確認試験の代りに免疫電顕法を採用し, 検査の迅速化を試みたが, 良好な成績を得た。

その方法は, ブドウ球菌プロテイン A を用いて Anderson ら (1973) の serum-in-agar 法を改良したもので, 抗 JEV 血清を 1% に含有した寒天をマイクロトレイ中で固化させたものを用意しておき, 検査に際して試料をこの寒天上に重層した。

次いでプロテイン A で処理したメッシュを試料上に浮かべ, トレイごと 37°C に 60 分間放置した。その後メッシュを寒天上から取り出し, ネガティブ染色して鏡検した。試料としては, 本年 6 月上旬から 9 月下旬にかけて採取したコガタアカイエカの乳剤を C6/36 細胞に接種し, 培養後 CPE の認められた培養液を濃縮・精製することなく, そのまま用いた。

以上の方法で検査した結果, CPE 陽性検体 14 のうち 13 検体に JEV とみられる粒子が観察され, 1 検体は, JEV 様粒子を認めなかった。これらの結果は, HA および CF 試験の成績と一致した。また, 観察された粒子は, 5 分以内 (多くは 1 分以内) の鏡検で認められ, 対照として検査した CPE 陰性検体では, そのような粒子は全く認められなかった。これらの粒子は, そのほとんどが単在であったが周囲に抗体の付着が認められ, 一部に凝集しているものがあり, JEV 粒子と判定された。

以上の結果, 本法で JEV の確認が約 1.5 時間で実施できることが判明し, 検査の簡易化および迅速化に有効であると考えられた。

8 Dengue virus type 2 野性株の哺乳マウス継代による宿主感受性の推移

大山 昭夫, 大杉 幸男, 前田 耕平,
吉城 豊子 (関西医大・微生物)

ICR 系 1-2 日齢の哺乳マウスの脳内, あるいは腹腔内に継代を繰り返す, 死亡率, ウイルス量, 感受性の差異, plaque 性状の変化, 温度感受性, 脳組織の病理的变化等を検討し, 株間の virulence, 病原性の指標, 評価に有効な marker を得ることを目的とした。その結果,

1. 両野性株何れも初代の脳内接種では死亡率は 0~10% であったが, 5 代目には両野性株共に 60~70% となり, 10 代以降には 100% に達し, 脳内ウイルス量は継代 1-5 代目までは $10^{5.0} \sim 10^{7.0}$ PFU/g (Vero 細胞) を示し, BR 006 の方が virus titer は高く, 10 代以降では何れの株も $10^{8.0} \sim 10^{9.0}$ PFU/g を示した。

2. 腹腔内接種による継代では 9 代目までは発症はみられなかったが, BR 006 では 11 代目から,

BR 116 では15代目から脳内ウイルス量は何れの株も $10^{6.0-7.0}$ PFU/g であった。

3. BR 006-S clone の脳内継代では親株とほぼ同種の死亡率のパターンがみられ、L-clone では親株よりやや死亡率の高い傾向がみられた。

4. 初代での plaque size を比較すると、BR 006 株では small size (平均値 0.25 mm) と intermediate size (0.93 mm) が多く、5代目になると intermediate size は激減し、圧倒的に small size (0.30 mm) が優位となり、いわゆる pinhole 様の plaque を呈した。10代以降も同様の分布を示した。一方 BR 116 株の場合、初代では intermediate size (0.78 mm) が多数を占めた。10代目以降では small size (0.66 mm) が顕著であるが、BR 006 株にみられた pinhole 様の plaque ではなく、15代目でも 0.4~0.6 mm (0.53 mm) の size が優位であった。

5. BR 006-S clone の脳内継代では L-clone に比べ2代目で既に直径 0.3 mm の pinhole size が90%以上みられ、腹腔内接種の継代の場合、脳内にみられる plaque は何れの株でも殆どすべて pinhole size であった。

6. BR 006 株脳内10代継代株において 38.5°C の培養にてウイルスの増殖抑制がみられた。

7. BR 006 株の初期の継代において pia mater, cortex に軽度の円形細胞浸潤があり、継代が増すにつれ perivascular cuffs, edema, necrosis が認められた。BR 116 株においても中等度の炎症性変化が観察された。

9 Dengue virus 脳内接種マウスの聴覚障害に関する研究 (第1報)

佐藤 喜一, 堀田 進, 酒井 博美
(金沢医大・熱帯医研)

第2次大戦中にデング熱に感染した既往を持つ人の中には、難聴、耳鳴、視力障害などの後遺症が認められた (操, 1944) という報告がある。一方、流行性耳下腺炎に罹患した小児に、いわゆる「おたふくつんぼ」とよぶ感音難聴の発症が臨床的にみられることは既知の事である。そこでデングウイルスによる難聴発症機構を明らかにする目的で以下の実験を行った。

材料および方法: 実験動物として、3週齢の DDY マウス11匹 (雄) を用いた。6匹はデングウイルス (以下 DV と略記) 接種群とし、5匹は対照群として生食水の注射をうけた。実験処置を施す前、いずれのマウスも Preyer 耳介反射が正常であることを確認し、両群から1匹ずつ、ABR (Auditory Brainstem Response 聴性脳幹反応) を測定し、刺激音 10,000 Hz に対する最小域値と波形を求めた。DV (mouse-adapted. 1型, 望月株, 10%感染脳乳剤, $LD_{50}=10^7/ml$) をマウス1匹当たり 0.02 ml あて、頭皮経由で脳内に接種した。対照群のマウスには1匹当たり生食水 0.02 ml を、DV 接種群と同じく頭皮経由で脳内に注射した。

両群とも実験室内で飼育し、経日的に1日最小2回、肉眼的に全身状態を観察し、また Preyer 耳介反射を観察した。DV 接種マウスは全例、接種後5日目から6日目にかけて下肢の麻痺、不規則な全身痙攣、不規則な呼吸並びに眼脂貯留による開眼不能状態等、定型的なデング感染徴候を示した。この時期に、ネブタール麻酔後 ABR を測定し、続いて2.5%グルタルアルデヒド液で生体還流固定を行った。その後断頭し、頭部を同じ固定液で1週間固定し、脱灰後、定法に準じてセロイジン標本を作成し、聴器と大脳を検索した。

成績: ABR の変動; DV 接種マウスでは対照群に比較して約 10 dB 域値上昇した。この事は DV 感染により難聴が惹起されたことを示唆している。聴器の組織像; 中耳腔粘膜の著明な浮腫が DV 感染動物全例にみられた。

10 Snowshoe hare ウイルス (ブニヤウイルス属) の mRNA のクローニング

江下 優樹 (帝京大・医・寄生虫)
D. H. L. Bishop
(英国 NERC ウイルス研究所)

蚊媒介性の snowshoe hare (SSH) ウイルスは、カナダなどの北米に分布しており、小児の間で脳炎を起こす病原体として知られている。そのゲノムは、3本のマイナス鎖 RNA で構成されていて、分子量の違いによって、S (small), M (medium), および L (large) セグメントに分けられる。S RNA には、ヌクレオカプシッド蛋白質 (N:

26.8×10³ ダルトン) と非構造蛋白質 (NS_S: 10.8×10³ ダルトン) の2つの蛋白質が viral-complementary sequence に overlapping reading frames として、コードされている。また、その mRNA (メッセージ・センスの RNA) のクローニングによって得られたクローンの塩基配列から、その5'末端には、宿主細胞由来の RNA と思われる、塩基数約14の非ウイルス性の配列がある事がわかった (Bishop ら, 1982)。M RNA では、ウイルスを感染させた宿主細胞内に産生される蛋白質の解析から、2つのウイルス性糖蛋白質 (G1: 115×10³ ダルトン, G2: 38×10³ ダルトン) と2番目の非構造蛋白質 (NS_M: 15×10³ ダルトン) をコードしている事がわかった。しかし、M RNA の cDNA クローンはまだ得られていなかった。L RNA には、ウイルスを感染させた細胞内に特異的に認められる large protein (L: 200×10³ ダルトン) がコードされていると考えられている。著者らは、M RNA のクローニングを行い、その塩基数と配列を決定した。クローニングまでの手順は、次の通りである。1. BHK-21 細胞へのウイルス感染, 2. フェノール抽出法によるウイルス RNA の調製, 3. 合成したプライマーと各種酵素を用いた2本鎖の相補的 DNA (cDNA) の合成, 4. cDNA を組み込んだプラスミド (pBR 322) を大腸菌 (MC-1061) に挿入, 5. 得られたコロニーのスクリーニング, 6. マキサム・ギルバード法 (1980) による塩基配列の構築。その結果、M RNA は4,527個の塩基 (1.5×10⁶ ダルトン) を持つことがわかった (本研究は、アラバマ州立大学微生物学部門において行われた)。

11 Snowshoe hare ウイルス (ブニヤウイルス属) の M RNA の塩基配列

江下 優樹 (帝京大・医・寄生虫)

D. H. L. Bishop

(英国 NERC ウイルス研究所)

snowshoe hare (SSH) ウイルスの M RNA (塩基数: 4,527) に相補的な DNA (cDNA) の塩基配列を解析して、次のことが明らかとなった。SSH の viral M RNA に相補的な塩基配列 (メッセージ・センスの RNA) の中に、唯一のコード配列

が見い出された。この gene product は、1,441個のアミノ酸からなり、+27の電荷を持ち、分子量は162,391ダルトンであった。これは、M RNA にコードされている2つの糖蛋白質 (G1, G2) と2番目の非構造蛋白質 (NS_M) を合計した値にはほぼ一致した。この蛋白質を構成する全アミノ酸の5%はシステインであったが、分子内のS-S結合が何処で起こっているかは現在のところ明らかでない。また、アスパラギンと連鎖した glycosylation の個所が5つ推定され、その内の4つはアミノ末端側にあった。この蛋白質のアミノ末端側には疎水性のシグナル配列があり、またカルボキシ末端側には長い疎水性のトランスメンブレン配列があった。さらに、3ないし4つの疎水性の長いアミノ酸配列がその内部にもあった。これらの事から、ウイルスの成熟場所としてのゴルジ体にウイルスの糖蛋白質を留めておく機能を持つことが推定された。M viral-complementary RNA (メッセージ・センスの RNA) の5'末端の非コード領域の塩基数 (61) は、3'末端のそれ (142) より短かく、S RNA のそれらと同様であった (本研究は、アラバマ州立大学微生物学部門において行われた)。

12 ヌードマウスにおける *Pneumocystis carinii* および *Pneumocystis carinii* 肺炎に関する透過型電子顕微鏡的研究

山田 稔, 松本 芳嗣, 吉川 尚男,

吉田 幸雄 (京都府医大・医動物)

ステロイドなど免疫抑制剤の投与により発症するヒトの *Pneumocystis carinii* (以下 Pc と略) 肺炎の研究には、ラットが実験モデルとしてよく用いられる。一方、ステロイド非投与 Pc 肺炎の研究には、先天的胸腺欠損動物であるヌードマウスが好適な実験モデルになる。正常なヌードマウス (BALB/c nu/nu) をビニールアイソレーター内で Pc 感染ヌードマウスと同居させておくと感染が移行し、ステロイドなどを投与しなくても15週目位を過ぎると重篤な Pc 肺炎を呈し死亡する。そこで今回、我々は同居10週以上経過したヌードマウスの肺を、グルタルアルデヒドとオスミウム酸により二重固定し、その後常法通り包埋、薄切

し、JEM-100S 透過型電子顕微鏡を用いて Pc の寄生態度および Pc と宿主細胞との関係、Pc の微細構造などについて観察した。①Pc の寄生態度および Pc と宿主細胞との関係：軽度感染肺胞では Pc は I 型肺包上皮に密接に付着し単層をなし、次第に虫体数が増加して中等度感染になると二重、三重に重なって I 型肺胞上皮を覆うようになり、重度感染肺胞になると、Pc は石垣状に肺胞内に充満する。Pc は II 型肺胞上皮内に付着することはなかった。また、まれに Pc が I 型および II 型肺胞上皮内に観察されることもあった。Pc は一般に肺胞上皮を覆う肺胞被覆層中に存在した。また肺胞腔内に遊走したマクロファージや好中球が、Pc を貪食している像が観察された。②微細構造と生活史：虫体の殆どが栄養型で前嚢子や嚢子が少ないのがヌードマウスにおける Pc 肺炎の 1 つの特徴であった。虫体は微細形態上、ラットの Pc と殆ど異なる所がなかった。栄養型においてしばしば核分裂像が観察されたり、2 個の核の断面を認めた。以上の所見より、ラットでは栄養型から嚢子への発育が顕著に認められるのに比べ、ヌードマウスでは栄養型による分裂増殖、特に従来より想定されている 2 分裂による増殖が、頻回に起こっているものと推察された。

13 *Pneumocystis carinii* の freeze-fracture 法による微細構造 1. 栄養型の細胞内器官について

吉川 尚男, 吉田 幸雄

(京都府医大・医動物)

森岡 宏行

(京都府医大・中研・電顕室)

Pneumocystis carinii のフリーズフラクチャー法による微細構造の研究は、Yoneda *et al.* (1982, 1983) の報告しかなく、我々は *P. carinii* の生理、生態などを知る目的で詳細に観察を行っている。今回は、主に栄養型の細胞内器官について報告する。

栄養型の細胞質内で切断された場合、種々の細胞内器官の膜面、または割断面が観察できた。核はその特徴的な核膜孔の存在により容易に他のものと区別できた。核膜孔は直径約 95 nm と一定

で、ほとんどの虫体において核全体に均一に分布していたが、時に核の一部に集まっている虫体も認められた。50 虫体の核膜孔の平均値は、 $1\mu\text{m}^2$ 当たり 8 個と今までに報告されたヒト病原性原虫の中で、もっとも少ない部類に属した。

核膜孔数と核の代謝との関係については多数の報告があり、一般的に核膜孔の多いことは機能的に活発な核を意味していると言われている。*P. carinii* は、その核膜孔数が他の原虫と比較して少ない事から、核の代謝が低い生物であると思われる。

一方、核膜の膜内粒子の分布は、P 面では凝集像を示し、それに対し E 面ではほぼ均一に分布していた。このような膜内粒子の分布は小胞体にも見られ、核膜と小胞体とがつながっている場合には、両者に差違は見出せなかった。この結果は、一般に述べられている粗面小胞体が核膜由来である事と一致している。

その他、細胞質内には、ミトコンドリア、vacuole、一定の大きさの round body が認められた。ミトコンドリアは分岐像を示し、その外膜の膜内粒子の分布は、P 面・E 面ともにやや不均一に分布していた。vacuole は、膜内粒子を有するものと、欠除しているものとに大別され、粒子を有する vacuole は、他の細胞内器官よりもはるかに少ない粒子数を示した。

14 抗寄生原虫作用を有するヌクレオシド・アナログとその作用機構

平岡 修, 佐竹 弘靖, 綿矢 有祐

(岡山大・薬)

松田 彰, 上田 亨 (北大・薬)

寄生原虫感染症に対する治療薬は、現在 Pentostam や Amphotericin B が使用されている。しかしいずれも強い副作用を有するために、より有効で副作用の少ない、簡便に使用できる抗原虫剤の開発が望まれている。我々は、寄生原虫の核酸代謝系が宿主とは異なりプリンヌクレオチドの新生 (*de novo*) 合成系が完全に欠損し、かつ寄生原虫特有の宿主と異なる salvage 系路を有することに着目しプリンヌクレオシド・アナログの抗原虫作用の検索を行った。

これまでに130種のヌクレオシド・アナログの抗寄生原虫作用を *Leishmania tropica* および *Leishmania donovani* を用いて増殖阻害を指標としてスクリーニングしたところ 3'-deoxyinosine (3'-dI) に高い選択毒性があることがわかった。3'-dI の *L. tropica* に対する EC₅₀ 値は、 4.43×10^{-7} (M) で、宿主のモデルとして用いたマウス乳癌由来 FM3A 細胞に対する EC₅₀ 値は、 1.25×10^{-4} (M) で原虫に対して約300倍の選択毒性があった。3'-dI の *L. tropica* 内でのヌクレオチドへの代謝を高速液体クロマトグラフィーを用いて調べたところ、毒性の弱い 3'-dI が原虫内で毒性の強い 3'-dATP (cordycepin-5'-triphosphate) に代謝されていることが解った。このように毒性の弱いイノシン型のヌクレオシド・アナログが、原虫内で代謝されて毒性の強いアデノシン型のヌクレオチドに変換されるために、高い選択毒性が得られることが解った。さらに今回スクリーニングした結果から次のようなことも解った。1) ヌクレオジドの糖部が ribose, 3-deoxyribose および carbocyclic ribose が有効であり、2-deoxyribose は有効ではなかった。2) ピリミジンヌクレオシド・アナログは、有効ではなかった。

15 *Trypanosoma brucei gambiense* の血流型培養：マウス各臓器線維芽細胞の影響

Peter J. Mhando, 柳 哲雄,

中澤 秀介, 福岡 利英, 神原 廣二

(長崎大・熱帯医研・原虫)

Trypanosoma brucei species の血流型原虫の長期連続培養は蛭海ら (1977) の bovine fibroblast-like cells を feeder layer に用いて成功して以来他のところでも、一般の研究室には入手困難な哺乳類の細胞や血流を用いて成功しているが、今般私達は ICR マウスから分離後極めて新しい (3 カ月以内) 脳由来と、筋肉由来の線維芽細胞を feeder layer に用いて、*T. b. gambiense* (Wellcome strain) を 2 カ月間にわたり 2×10^7 parasites/ml/day の収量を得ながら簡便に培養できることを見出した。さらに次の諸点も判明した。すでに Tanner (1980) が指摘するように、原虫は feeder layer の細胞間と細胞層下に侵入して増殖し cluster を

形成するのを本実験でも同様に見た。マウスの他の臓器の心臓、腎臓、皮膚由来の線維芽細胞、樹立化した筋肉由来の線維芽細胞、ならびに L-cell を feeder layer に用いると、いずれの場合も原虫は増殖しなかった。培養液に 5% fetal serum と 5% calf serum 加 MEM を用いたとき原虫の増殖が可能であったのに対して、10% calf serum 加 MEM では 2 週を超えて培養し得なかった。光顕レベルでは培養原虫は感染マウスの血流型原虫と形態学的に差異がなかった。培養60日後の原虫をマウスに接種したとき、マウスで継代している原虫を接種した場合と等しい日数でマウスを死亡せしめたので、感染力に関して明らかな差異は認められなかった、などである。

脳由来、ならびに筋肉由来の線維芽細胞が、*T. b. g.* の長期培養の feeder layer として適する要因の解明は今後の課題である。

16 トリパノソーマ・クルージに対する Sprague-Dawley ラットの感染抵抗性

三浦左千夫, 竹内 勤, 浅見 敬三,

小林 正規, 奥沢 英一

(慶応大・医・寄生虫)

演者らは従来の研究より、Sprague-Dawley Rat (SD-rnu/+) が *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) 感染に対して自然抵抗性を示す事を報告した。そのメカニズムの一部として、非免疫マクロファージが強く関与している事を超微形態学的に示唆した。今回は更に SD-rnu/+ ラットのマクロファージの貪食能について、ルミノール依存性科学発光 luminol dependent chemiluminescence, (CL) を利用し、貪食の際に産生される活性酸素について、*T. cruzi* に高い感受性を示す同系の athymic nude rat (rnu/rnu) を対照に検討を行った。マクロファージの培養は、Hank's medium/37°C/CO₂ 孵卵器にて行った。*T. cruzi* 虫体は Tulahuen 株でマウス、およびヌードラットを用いて継代維持している虫体を、DE52 カラムを通して Trypomastigote を分離して用いた。また同虫体をグルタルアルデヒドにて固定後、死虫体として調製した。一方、LIT medium にて培養を行った Epi-mastigote, および FMLP を用いおのおののマク

ロファージの CL 量の変化と、その最大値を示す迄の時間等を検討した。その結果、SD-rnu/+ ラットマクロファージに比べ、ヌードラットマクロファージ内に多数虫体が存在する事は明らかとなり、CL 量の変化も rnu/rnu ラットマクロファージに対して、SD-rnu/+ ラットマクロファージのそれは明らかに高い値を示し、活性酸素量が多い事を示唆した。また *T. cruzi* Epimastigote 虫体を作用させた時の CL 値は SD-rnu/+ ラットマクロファージにおいて、Trypomastigote 虫体を作用させた時の 1/25 以下を示し、最大値を示すまでの時間の延長が見られた。

以上の今回得られたデータは、SD-rnu/+ ラットと rnu/rnu ラットの *T. cruzi* 感染に対する感受性の差異の点で、感染初期の食食殺虫機能が大きく関与している事を、強く示唆するものであった。

17 トキソプラズマ溶解抗原投与マウスのバベシア感染時に示した臓器中リンパ球の動態

宮上 禎肇, 関口 信一, 桜井 治久,
齊藤 篤志, 鈴木 直義

(帯広大・獣医・生理)

佐藤 基佳, 広瀬 恒夫

(帯広大・獣医・放射線)

Toxoplasma 溶解抗原 (TLA) と FIA の乳剤投与により、*Babesia rodhaini* (致死性) に対する抵抗性が ICR/JCL マウスで成立することを、第25回本大会で報告した。引き続き、TLA と軽質鉱物油 (LMO) 乳剤投与による、バベシア感染に対する宿主の応答を検討した。

TLA (100 μ g)-LMO 乳剤を14日おきに2回マウス腹腔内に投与し、初回投与より28日目に *B. rodhaini* 感染赤血球 10² 個を、腹腔内に接種した。接種前1日目と接種後10日目に TLA 投与群と非投与の対照群の胸腺、脾臓、肝臓の病理組織学的検討を行った。さらに蛍光抗体法により、血液、および各臓器中のリンパ球 (Thy-1 陽性細胞・Ig⁺ 細胞) の動態を検索した。

血液: 両群とも感染まえに比べ、感染後のリンパ球の増数がみられた。胸腺: TLA 投与群では感染前に胸腺の腫大がみられ、胸腺細胞の増数が

みられた。感染後10日目では両群ともに胸腺の萎縮がみられた。TLA 投与群では、胸腺皮質において細網細胞の増殖がみられた。対照群では、結合織と細網細胞が大部分を占め、さらにリンパ球の崩壊像がみられた。肝臓: 感染前1日目の TLA 投与群では、一部に肝細胞の溜濁腫張、囲管性リンパ球集簇 RES 系の活性化が認められた。感染前、および感染後の肝臓切片を、蛍光抗体法を用いて検討したところ、囲管性に集簇していた細胞は、主に Thy-1 (+) 細胞であった。対照群では感染10日目に同様の細胞集簇がみられたが、これらは主に Thy-1 (-) 細胞であった。脾臓: TLA 投与群では感染前1日目において軽度の腫大がみられ、リンパ濾胞の活性化が認められた。感染10日目では腫大はさらに増して、T・B 細胞以外の増数が認められた。対照群においても感染後の腫大は著しく、一部にはリンパ濾胞の疎髪化とリンパ球の変性がみられた。また細胞細胞の増殖もみられた。

以上の所見より、TLA は免疫担当細胞の生体内での動きに大きな影響を与えている事が推測され、原虫感染によって引き起こされる宿主の免疫応答に、変化を与えうる物質ではないかと推察された。

18 ヒトにおけるトキソプラズマ抗体量の年次変動について

高橋 純子, 小西 英二, 松村 武男
(神戸大・医・医動物)

三木市住民の健康診断で集められた血清を対象とした、トキソプラズマ (Tp) 抗体保有調査の結果、ELISA 抗体値の頻度分布は陽性集団と陰性集団から成る2峰性を呈し、男女間、年齢間で陽性率は異なっている、陽性集団の平均抗体値には差が認められなかった (第25回本総会, 1983年)。このことは、集団として捉えたとき、一度感染を受ければ排除することができない宿主と、本虫の片利共生関係に液性免疫上、一種の平衡状態が存在することを示す。今回、1982年から1984年にかけて三木市の健診で20歳から83歳の男女636人から採取したペア血清を対象として、Tp に対する ELISA 抗体値の1年間の変動を数量化し、

2 峰性分布がどのように維持されているかを解析した。

1 年間の ELISA 値変動が 0.1 以上を有意変動とすると、全体で増加は 13 検体 (2.0%)、減少は 27 検体 (4.3%) であり、陽性者の中でも 66.4% は変動がなかった。この変動は抗体値の低いものに増加、高いものに減少の傾向があり、増加した検体の平均 ELISA 値 (0.496) は減少したもの (0.920) と有意差が認められた。抗体の平均変動量は、0.273 (増加)、0.204 (減少) であった。増加した検体の抗体値は 0.2~0.8 の範囲であり、減少は 0.3 以上の検体に認められた。減少したものの割合は抗体値の上昇とともに増加したが、増加したものは 20% を越えなかった。

以上の結果、2 峰性分布が維持されたのは、全体の 93.7% が無変動であったことと、増加群と減少群が見合っていたことによる。特に抗体値の低い血清で増加、高い血清で減少する結果、これらの抗体値は陽性集団のピークである 0.5~0.6 に集中する傾向があり、逆に 0.5~0.6 の集団は大きな変動をとり分布の分散に寄与することが示された。

19 マンソン裂頭条虫の新しい実験的終宿主について

内田 明彦, 村田 義彦
(麻布大・環境保健・環境生物)

マンソン裂頭条虫 *Spirometra erinacei* の終宿主は現在までに犬科 (犬, 狼, 狸, 狐), 猫科 (猫, 虎, ライオン) の動物が知られており, それ以外の哺乳動物は中間宿主, あるいは待機宿主のあつかいを受けている。本条虫の生態を研究する上で上記の動物よりさらに小型の実験動物モデルの探索は, 今後免疫学, 生化学的研究の上からも, 絶対的に必要と考えられている。我々は数年来, 本条虫の小型実験動物化に向けて研究を進めているが, 今回, ハムスターで成虫となることが明らかになったので報告する。

材料および方法はシマヘビの皮下より採集した *Plerocercoid* を, ゴールデンハムスター (体重 120~180 g, 8 週齢) にそれぞれ 50 匹ずつ経口感染し, 後日剖検により虫体を回収した。その結果感染 9~11 日目より糞便内に虫卵を排出し, 感染

15 日目の剖検により 1~2 匹の成虫を回収した。虫体は体長 25~65 cm, 成熟片節での体幅 10~14 mm を測定した。内部形態は犬, 猫から得られた成虫と形態学的に一致しマンソン裂頭条虫 *Spirometra erinacei* と同定された。また成虫になれなかった *Plerocercoid* は, その大部分が皮下組織内に移行し, マンソン裂頭条虫症となっていた。

従来ハムスターは, 非固有宿主といわれてきたが今回の結果より固有宿主にもなりうる事が明らかとなったと同時に, 成虫にならなかった虫体は裂頭条虫となったことから, ハムスターは固有宿主であると同時に非固有宿主と言う非常に特異な動物である。マンソン裂頭条虫は人では, その報告例の大部分がマンソン裂頭条虫症で幼虫寄生であるが, 少数例ながら成虫寄生例があり, 今回のハムスターの結果とよく似ている。この人に於ける成虫になるメカニズムについてはまだ不明であり, 今後ハムスターを使用して解析できることを期待する。

20 実験的マンソン孤虫症における虫体の体内移行経路と末梢血中好酸球の出現状況

内田 昭彦, 堀川 真弓, 内田紀久枝
(麻布大・環境保健・環境生物)

マンソン裂頭条虫プレロセルコイド (PI) の第 2 中間宿主体内, あるいは paratenec host 内における体内移行経路に関しては, 安藤・伊藤 (1920, 1921), 江口 (1924), 名越 (1928), 岩田 (1932) が報告しているが, いずれも PI がいかにして消化管を穿通して皮下組織内に移行してゆくかを究明したもので, 近年に入り Kim ら (1984) はマウスを用いて体内移行を調べているが, やはり前記の報告と同様である。そこで, 我々はマウス腹腔内に PI を移植し, ここを PI の出発点として, 体内移行経路を調べた。また鳥類における体内移行に関しては全く不明であることから, マウス同様の実施を行った。一方, 人におけるマンソン孤虫症で, 末梢血中の好酸球は一般に殆ど増加はみられないと言われているが, 今回実験的にラットにマンソン孤虫症を作り, 末梢血中の好酸球も調べた。その結果, マウスでは移植後 6 時間までは移行は認められず腹腔内に留まっていたが, ニワト

リでは移植2時間後より移行が認められた。マウス体内での移行経路は、腹腔→皮下→筋肉内と移行し、最終移行部位は背部および頸部の脂肪塊付近、前肢腋下および大腿部内側で、Kimら(1984)の結果と一致した。ニワトリでの体内移行経路は、腹腔→皮下と腹腔→胸腔→皮下と2つの経路があると考えられる。これらのことからマウス、ニワトリを比較すると、ニワトリはマウスよりPIの移行開始は早いものの、最終移行部位までの到達時間は遅いことが明らかとなった。一方、ラットにおける実験的 Manson 孤虫症での末梢血液中の好酸球の出現状況は、移植後2週目において最大に増加し、その後緩やかに減少し11週で正常に戻った。

21 各種寄生蠕虫の好酸球および好中球遊走活性の比較

堀井洋一郎, 中西 弘有, 藤田紘一郎
(長崎大・医・医動物)
大橋 真 (宮崎医大・寄生虫)
石井 明 (岡山大・医・医動物)

多くの寄生蠕虫症、ことに組織内寄生虫症においては、炎症細胞の浸潤が著明である。最近これらの炎症細胞の集積に関与する物質 (ECF, NCF) が寄生虫それ自身から証明された。これらの物質の各寄生虫種間の分布を知ることは、多くの異なった病理像を呈する様々の寄生虫性炎症像を整理するうえで、有効な方法の一つであると考えられる。そこで今回 *Dirofilaria immitis* 成虫, *Ancylostoma caninum* 成虫, *Ascaris suum* 成虫, *Trichinella spiralis* 3期幼虫, *Gnathostoma dororesi* 成虫の5種線虫, *Spirometra erinacei* プレロセルコイド, *Dipiridium caninum* 成虫の2種条虫, 日本産 *Fasciola* sp. 成虫, *Paragonimus westermani* 成虫と幼若虫, *P. miyazakii* 成虫, *Schistosoma mansoni* 成虫, *S. japonicum* 虫卵の5種吸虫の計12種について ECF, NCF の活性を比較検討した。ホモジナイズした材料は PBS に抽出し, 10万g で遠心後の上清を, Lowry 法にて蛋白量を調整した。ブラインドウェルチャンバーと, ミリポアフィルター (径 3 μ m) を用い, モルモット腹腔細胞を用いて従来の方法通りケモタキシスを行っ

た。コントロールとして馬血清, ovalbumin を用いた。G. d., S. e., F. sp., P. w., P. m. および S. j. 虫卵は非常に強い好酸球遊走活性を示した。これらの寄生虫はいずれも組織侵入性の寄生虫であり, 局所に著明な好酸球浸潤をひき起こすことが知られていることから, これら寄生虫の持つ好酸球遊走活性の関与が強く示唆される。一方, 好酸球遊走活性はすべての寄生虫にみられた。実際の寄生虫性病変でも多くの好酸球浸潤がみられ, また宿主の免疫応答 (抗体産生等) の発現しない極く初期の感染においても, 好酸球浸潤のみがみられる現象はこれらの物質で良く説明できることがわかった。

22 Manson 住血吸虫卵に対する肉芽腫の宿主尿素サイクル酵素活性への影響

田辺 将信, 金子 信明, 竹内 勤,
浅見 敬三 (慶応大・医・寄生虫)

Manson 住血吸虫感染 ICR マウスにおいて, 肝内尿素サイクル酵素, carbamoyl phosphate synthetase I (CPS-I), ornithine transcarbamylase (OTC) および arginase 活性が著明に低下する。この機構を生化学的に解析した結果について報告する。実験には ICR ♀マウス (7-8 週齢) を使った。プエルトリコ産 Manson 住血吸虫セルカリアを100隻/マウス感染させ, 実験に供した。結果: 1) 正常マウスの腹腔への肉芽腫の移植により, 肝内 CPS-I, OTC 活性が有意に低下した。2) 正常マウスの腹腔への虫卵の注入により, 肝内 CPS-I 活性が有意に低下した。3) 正常マウスの腹腔への肉芽腫の粗抽出液, あるいは培養上清の注入により, 肝内 CPS-I 活性が有意に低下した。4) 初代培養マウス肝細胞培養液への肉芽腫粗抽出液の添加により, 培養細胞の CPS-I 活性が有意に低下した。5) 正常マウスの腹腔への感染マウス脾細胞, あるいは脾臓粗抽出液の注入により, 肝内 CPS-I 活性が有意に低下した。6) 以上の結果に対し, 正常マウス肝臓粗抽出液, 非感染マウスの脾細胞, および脾臓抽出液, 虫卵の粗抽出液, 感染, 非感染マウスの血漿の投与は, いずれも効果を示さなかった。7) 肉芽腫粗抽出液から活性物質の精製を行い, 硫酸塩析 (33-

65%), イオン交換クロマト法, ゲル濾過法により部分精製が可能となった。

以上の成績から, マンソン住血吸虫感染で形成された虫卵生肉芽腫あるいは脾細胞中に, 宿主肝細胞に作用し, その尿素サイクル酵素, 特に CPS-I 活性を低下させる作用を持つ物質が含まれていることが推測された。本物質の物理化学的性質, 肝細胞への作用機序, 本症における肝線維化への関わりあい等についてはなお不明である。現在, 本物質をより高度に精製しており, 高純度の活性物質を用いて, 以上の問題点を解析してゆく予定である。

23 日本住血吸虫の虫卵—並びに虫体—抽出液の変異原性について

石井 明, 松岡 裕之, 安治 敏樹
(岡山大・医・寄生虫)
早津 彦哉, 綿矢 有佑, 有元佐賀恵
(岡山大・薬・薬品化学)

住血吸虫と癌との関連については, 従来疫学的にまたは実験動物において, 論ぜられてきている。我々は日本住血吸虫の変異原性について, *in vitro* で観察を行った。方法は Ames らの報告によった。*Salmonella typhimurium* のうちヒスチジン要求性である TA 98 株, または TA 100 株に日本住血吸虫の虫卵抗原 (SEA), または成虫抗原 (SAWA) を加え, 菌がヒスチジン非要求性に突然変異する数をみた。SEA では 1~400 $\mu\text{g}/\text{plate}$ で, SAWA では 4.4~1,100 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の蛋白量において変異原性は認められなかった。試料虫にある種の不飽和脂肪酸が含まれると, 仮に変異原性が存在してもその発現が妨げられるという議論があるので, 変異原物質を能率よく吸着する blue-cotton (フナコシ薬品) を用いて SEA, SAWA より変異原物質の吸着を試みた。この方法でも, 変異原物質は検出されなかった。*S. t.* の別株である TA 97, TA 102, *Escherichia coli* の WP 2 株, および WP 2 *uvrA*⁻ KM 101 株も用いて検討したが同様であった。すなわち Ames test で調べた限りにおいて SEA, SAWA 中に変異原物質は存在しなかった。

また日本住血吸虫感染マウスの肝よりミクロ

ソーム分画 (S-9) をとり出し, これによって変異原性を発揮するようになるといわれている 2-acetylaminofluorene (2AAF) や aflatoxin B₁ (AFB₁) を用いて, その変異原性への役割を Ames test で観察した。感染後15週のマウス (C3H) の肝 S-9+2AAF の系は, 正常マウスの肝 S-9+2AAF の系に比べて, 突然変異菌数が明らかに少なかった。時間的経過で見るとその差は感染後7, 9 週後のマウス肝ではみられず, 13, 15週と進むにしたがって広がる傾向を示した。AFB₁ を用いた実験でも, 同様であった。正常マウスでは代謝による変異原物質の産生は多いものの, さらに早く別の代謝がすすめられて, これら変異原物質は代謝され排泄されてしまうのではないか。一方感染マウスは変異原物質の産生は多くないが, 代謝・排泄系が鈍く, 変異原物質が長時間肝内にとどまり, そのために肝細胞の DNA の変異をきたし易くするのかも知れない。

24 各種住血吸虫抗原に対する住血吸虫抗血清の ELISA 反応

伊藤 洋一 (北里大・医・寄生虫)

住血吸虫症の免疫診断法の1つとして, ELISA 反応が最近よく用いられ, その感度と信頼性について高い評価を受けている。しかし, 各種の住血吸虫および各発育段階の虫体を抗原として用い, その交差反応や, 特異性について調べた報告はあまりない。演者は各種住血吸虫より得た抗原と抗体を用い, その特異性につき解析を試みたので報告する。使用抗原: マンソン住血吸虫成虫抗原 (Sm-AWA), 同虫卵抗原 (Sm-SEA), 日本住血吸虫成虫抗原 (Sj-AWA), 同虫卵抗原 (Sj-SEA) の4種類であった。いずれも感染マウスより採取後, エーテル脱脂, PBS (pH7.2) 抽出の可溶性蛋白を用いた。抗血清: Sm-AWA または Sm-SEA 免疫マウス血清, および Sm, Sj および Sh 感染マウス血清を用いた。また, Sm 感染マウスの脾細胞とミエローマ細胞から作成した融合細胞の分泌抗体も用いた。標識抗体: ペルオキシダーゼ標識プロテイン A, ペルオキシダーゼ標識抗マウス IgG, IgM, IgG₁, IgG_{2a}, IgG_{2b} を用いた。ELISA 反応: 抗原濃度 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 血清希釈は20倍

より2倍希釈系別, microplate 法で行った。基質には o-phenylenediamine を用いた。結果: 1) プロテイン A を用いた場合, Sm-SEA ではいずれの感染血清とも, 高い抗体価が示された。また, Sm-SEA 免疫血清でも抗体価が高かった。2) Sm-AWA では Sm-AWA 免疫血清と強く反応したが, 感染血清とは弱い反応しか認められなかった。3) Sj-SEA は Sj 感染血清で強い反応がみられたが, Sm, Sh 感染血清ではその反応が弱かった。4) 以上の結果はプロテイン A を標識抗体として用いた場合であり, 抗マウス IgG₁ を用いた場合には結果がかなり異なり, いずれの抗原および抗血清を用いた組み合わせでも非常に強い ELISA 反応が認められた。

25 Metrifonate のビルハルツ住血吸虫症に対する治療効果

佐藤 克之¹, 野田 伸一²,
嶋田 雅暁¹, N. Muhoho³,
青木 克己¹, 佐藤 淳夫²
(長崎大・熱帯医研・寄生虫¹,
鹿児島大・医・医動物²,
KEMRI-Kenya³)

ケニア国クワレの人口約1,200名の村で, 1984年2月 Metrifonate による治療を行い, 4カ月後にその効果を判定した。投薬対象者は住民のうち過去4回の検査で一度でも虫卵陽性になった者と, 5-15歳の者全員(陰性者も含む)との合計813名とし, 投薬は1回当たり7.5mg/kgで2週置きに3回投与した。対象者の内完全に3回の投薬を受けたものは50.8%, 2回のみ者19.6%, 1回だけの者14.5%で, 全く治療を受けなかった者15.1%であった。

治療後, 村全体の陽性率は69%から53%に, 10-14歳の者でも94%から80%と軽度の低下を示した。しかし虫卵の排泄数で見ると, 全体では53/時間が9/時間, 10-14歳の集団でも936/時間が61/時間へと著明に減少していた。

治療前後の検査を両方とも受けた者330名について, 治療率と(虫卵陰転率)排泄虫卵数の減少の2つの観点から更に検討した結果, 患者の性による治療効果の差は見られなかったが, 年齢, 治

療前の虫卵排泄数の違いで治療の効果に差がみられた。治療率は14歳以下が18.7%に対し15歳以上では54.1%, また治療前の排泄虫卵数が9/時間以下の者の治療率は70%だが, 10-999/時間の者では46.9%, 1,000以上の者では15.1%であった。そこで排泄虫卵数を一致させた上で年齢別に検討したが, それでも, 大人に比べて子供(14歳以下)では治療率も低く, 排泄虫卵数の減少も少なかった。

以上, Metrifonate による治療は大人に比し, 子供でその成績が悪かったが, その理由については現在検討中である。

26 フィリピン・ボホール島の日本住血吸虫症の疫学と対策

田中 寛, 松田 肇
(東大・医科研・寄生虫)
安羅岡一男, 入江 勇治
(筑波大・基礎医・医生物)
荒木 国興 (公衆衛生院・寄生虫)
神谷 晴夫 (秋田大・医・寄生虫)
下村 浩 (広島大・医・寄生虫)
中尾 稔 (旭川医大・寄生虫)
Alfredo T. Santos, Jr., Julian S. Noseñas,
Bayani L. Blas
(フィリピン国保健省・住血吸虫局)

ボホール島の日本住血吸虫症流行地は, 島の北東部の Trinidad と Talibon の2つの町にまたがる6村落に限られ, 流行地人口は約6,000に過ぎない。また媒介貝が棲息する水系はいずれも小さく, しかも数カ所に限られている。そこで, 症例の検出と Praziquantel による集団治療と殺貝作業によって, この島から本症を駆逐することを目標とする計画が, 1981年度に開始された。

1984年度までに流行地6村落(San Roque, Sto. Tomas, M. Cabigohan, San Agustin, San Vicente, Kinan-oan)の住民の家族構成の調査が終了し, 家屋数1,109, 人口5,735名の登録が行われ, 各人にIDナンバーがつけられた。住民4,117名の検便を行い, 210名(5.1%)の虫卵陽性者を検出した。セロファン厚層塗沫法(Kato-Katz法)による検便は, これを繰り返す行くと虫卵陽性率が大幅に

上昇するのを認めた。野外で集団を対象してた感染者検出法としては、先ず COP 反応によるスクリーニングを行い、反応陽性者を繰り返し検便する方法が最も有効な方法と考えられた。

Praziquantel による治療は Rural Health Office によって行われており、1984年度までに虫卵陽性者をも含む475名が投薬を受けている。

貝学的調査は Omaguin, Kinan-oan, Kasilion および Caombokan の 4 水系で実施され、除草と殺貝剤散布による媒介貝コントロールの可能性が確認された。1983-1984年度以降、除草と合成殺貝剤 (niclosamide および phebrol) および植物殺貝剤 (*Jatropha curcas*) による殺貝作業が実施されているが、少なくとも年 2, 3 回の散布が必要と思われる。

特筆したいのは、得られた疫学的データから新しい媒介貝のコロニーが発見されたことである。1984年の San Vicente 村落の調査で、COP 反応陽性者の家屋の分布状況から、未知の媒介貝コロニーの存在が推定された。調査の結果、本村落内の Apao のパラワン湿地帯とその周辺に多数の媒介貝の棲息が確認され、感染率も 8.8% と高率を示し、これが本村落住民に対する重要な感染源となっていることが明らかにされた。

27 ガーナ農村部居住乳幼児の感染症調査 (1) 定期検診, 調査活動基地設立

磯村 思无 (名古屋大・医・小児科)
R. B. Biritwum, A. Asoku
(ガーナ大・医・野口研)

西アフリカ・ガーナ農村部定着集落居住小児の感染症、低栄養と下痢、小児期の発育発達の実態調査を継続的に実施するための、モデル地区設定と調査基地を設立し、乳幼児検診と予防接種の定着化を試みた。

対象地区は、ガーナ中央州、ゴモアフェテ地区、人口約 1,750 名の半農半漁の自給可能な人口動態の安定した集落であり、1982年 5 月から 7 月の予備調査の結果から、母系集団を基本とした大家族制をとっていて、乳幼児の保育は主として祖母と年長の兄や姉ないし伯母叔母があたっていること、両親特に母親の就業率 (農業, 商業) の高さがそ

の傾向を強くしていること、早婚の傾向はみられないのでその面での悪影響はないこと、青年層の就学率は良好であるが主たる保育者である祖母達の学歴が低いこと、ほぼ全員が母乳栄養であり、離乳期の食品と離乳時期に問題があることなどがわかって来た。疾病概念調査から、下痢の定義、下痢の原因についての概念などは我々のものとはほぼ一致し、いわゆる衛生概念についてはほぼ良好といえるが、麻疹などについての疾病単位概念はかなりずれがあり聞きこみ調査上、言葉の問題が大きい。

1 年間を通じて (1982年 8 月-1983年 8 月) の週 1 回の検診、月 1 回の体重身長計測の参加率は 5 歳以下の登録小児の 95% について継続調査可能であり、予防接種率も 90% 以上を確保出来た。現在もなお調査継続中であるが最初の 1 年間についての問題点を検討した。

28 ガーナ農村部居住乳幼児の感染症調査 (2) 生後 3 カ月-3 歳児の血清疫学調査

磯村 思无, 山口 英明
(名古屋大・医・小児科)
R. B. Biritwum
(ガーナ大・医・野口研)
鳥羽 和憲 (横浜市大・医・公衆衛生)
根路銘国昭, 佐藤 勇治 (予研)
伊藤 誠 (名古屋市大・医・医動物)

ガーナ農村部集落居住生後 3 カ月-3 歳児約 150 名を対象として、各種感染症の血清疫学調査を行った。ロタウイルス (抗原は Wa 株, IAHA 法) は 3 歳までにほぼ全員が感染していた。ワクチン未実施地区であるがポリオウイルス 1, 2, 3 型、麻疹は乳児期後半から自然感染によると思われる抗体上昇を示すものがかなりみられ、麻疹については臨床的にもそれをうらづける発生がみられた。ただ年齢的にみると 3 歳児でも抗体陰性、未感染のものがかなりみられ、集落全域に伝播しない傾向があり、ポリオの抗体分布などからこれらのは家族集積性がつよいことが示唆された。パラインフルエンザウイルス 1, 3 型も同様であった。百日咳とパラインフルエンザ 2 型については、3 歳以下では抗体陰性者がほとんどで、最

近数年間この集落に流行はなかったものと考えられる。

個々の小児発育状況、栄養状態と、抗体価の間に相関はみられなかった。

単純な聞きこみ調査の段階、乳幼児検診の段階ではともすると均一な小児集団と思いやすいこのような小集落の乳幼児群においても、生活様式の差ないし保育環境の違いに由来すると思われる伝播様式の差が各疾患の間にみられること、本邦における乳幼児群における伝播状況とも異なった結果が得られたことなど、興味ある知見である。

29 最近のマラウイ共和国における寄生虫症について

木村 智子 (元青年海外協力隊員)
赤尾 信吉 (防衛医大・寄生虫)

マラウイ(東アフリカ)における寄生虫感染症の中で、ビルハルツ住血吸虫、およびマンソン住血吸虫に感染している患者数は、かなりの数にのぼっている。これはアフリカ諸国ほとんどの国に広く分布している風土病の1つでもある。中間宿主の棲息している川や泥、湖が、住民の日常生活の場(洗たく、水くみ、水浴等)であったり、または漁業や農業で生活の糧を得ているという理由から、人々は感染と常に背中合わせの状況におかれているといえる。地域によっては、かなり高い寄生率を持つ土地もある。特に子供達の間には、しばしば重感染症の例に遭遇する機会が少なくない。

住血吸虫症の調査にあたっている検査室では、Salima(首都リロングウェから東へ100km)地区を流れる川を中心に中間宿主、および水中のセルカリアを調査した結果、9・10月(hot dry season)に高い検出率を認めた。また、この地区の村落部に住むプライマリースクールの生徒達、第1学年から第8学年までを対象に検便・検尿を行い、虫卵陽性者の薬剤投与後のその後の経過を、繰り返し検査し追跡した。治療薬は*S. haematobium*にはMetrifonate 10mg/kg、*S. mansoni*にはOxamniquine 20mg/kgを使用。Senga-bay School: SH 陽性率32.9%(52/161)。うち投薬を受けた47名の生徒(1回投与)の1カ月後の検査

で71.8%(28/39)、3カ月後同数値、6カ月後83.9%(26/31)、11カ月後80%(16/20)、14カ月後95.7%(22/23)の陰転率を示した。Kaphatenga School: SM 陽性率81.3%(91/112)。初回投薬後6カ月で28.6%(16/56)の陰転率。再治療後3カ月で40.6%(13/32)、初回治療しか受けなかった生徒では45.5%(10/22)、7カ月後27.6%(8/29)、初回のみでは50.0%(8/8)。

この結果、同一生徒を追跡する難しさと投薬量の問題、生徒達の再感染等が浮きぼりにされた。

30 エチオピア飢餓被災民キャンプにおける主要疾病について

谷 莊吉 (金沢医大・医動物)
奥村 悦之 (高知学園短大・保健)
今川 八東 (都立墨東病院・感染症科)

我々は、日本国際救急医療班 JMTDR (Japan Medical Team for Disaster Relief) の隊員として、昭和60年1月23日から2月27日まで、エチオピア・マカレ市郊外の被災民キャンプで、救急医療に従事した。

1985年1月24日-2月23日までの1カ月間に治療に当たった入院患者総数は351名で、そのうちの死亡者は38名(11%)であった。14歳以下の子供群における死亡者は、122名中8名(0.65%)で、15歳以上の成人群の死亡者230名中30名(13%)に比べ、子供群の方が有意に低率であった。子供群の方が、生命力が強く、治療によく奏効し、救命効果が著明であったといえよう。主要3大疾患は、回帰熱94、赤痢31、肺炎23であった。大多数の患者が複数疾患に罹患しているので、主要症状から重症度に従って、単一病名を決定した。その他、不明熱18、腸チフス16、アメーバ赤痢16、低栄養・脱水6、肺結核6、肝炎6、気管支炎5、ジアルジア症4などが認められた。その他、診断可能であった疾病は、マラリア、髄膜炎、水痘、麻疹、中耳炎、膿瘍、分裂症、ヒステリーなどであった。死亡例の分析では、30症例について、低栄養・脱水8、回帰熱7、赤痢6例となっている。入院から死亡までの期間をみると、低栄養・脱水患者は、第3、4、5病日に死亡しているのが特徴であった。下痢便の培養では、*Shigella flexneri*

4a が分離同定できた。回帰熱が多かったのは、テント内の集団生活でシラミ (head-lice) の発生が生じたため、採取したシラミは、*Pediculus humanus* であることが同定された。

31 海外発展途上国在留邦人の最近2カ年の腸管原虫・蠕虫感染状況

藤田紘一郎, 月館 説子, 黒川 憲次,
中西 弘有, 堀井洋一郎

(長崎大・医・医動物)

杉山 雅俊 (順天堂大・医・衛生)
奥脇 義行 (女子栄養大・微生物)

小笠原ヤス子, 朝倉 健夫

(日本熱帯医学協会)

我々は、世界の海外発展途上国に在留する邦人の腸管原虫・蠕虫感染の状況と飲料水汚染との関連について経年的に調査している。今回は、1983年および1984年度の海外在留邦人の腸管原虫・蠕虫感染の状況について報告する。対象は、アジア・オセアニア地区、中近東・東アフリカ地区、中南米地区に在留する日本の商社、メーカーの駐在員およびその家族である。全員より小指頭大の糞便を採り、10%ホルマリン加バイアル瓶に入れ日本に持ち帰り、MGL集卵法にて糞便内寄生虫卵を、ヨード染色によって原虫をそれぞれ鏡検した。また、邦人の子供達を対象にセロファン紙による蠕虫検査を施行した。1983年度の結果は次の通りである。原虫感染率を国別で見ると、アジア・オセアニア地区ではタイ、フィリピン、インドネシアの在留邦人の間で高く、原虫の種類では、ランブル鞭毛虫感染が多く見られた。中近東ではトルコ、ヨルダン在留邦人に見られ、ランブル鞭毛虫のほか、大腸アメーバや小型アメーバが検出された。蠕虫感染はアジアの国で多くみられ、特にインドネシア在留邦人においては702名中48名(6.8%)の人々が回虫、鞭虫、肝吸虫、異形吸虫などに感染していた。蠕虫は、香港、シンガポールなど都市在留の子供達に高率に認められた。1984年の結果は、大略では前年度と変化はなかった。しかし、フィリピン在留の健康成人2名より赤痢アメーバ嚢子が発見された点は注目される。また、邦人が在留している国により、感染する原

虫や蠕虫の種類が異なっていることも明らかになった。たとえば、フィリピンでは邦人の感染が原虫優位であったが、インドネシアにおいては逆に蠕虫感染が多く見られた点など、興味深い事実が明らかにされた。

32 アフリカ在留邦人の巡回検診にみる疾病

力富 直人, 永武 毅, 山本 真志,
土橋 賢治, 鈴木 寛, 松本 慶蔵

(長崎大・熱帯医研・内科)

東西アフリカに居住する在留邦人の疾病調査を、巡回健診において行ったので報告する。対象は1982年から1983年が東アフリカのスーダン、エチオピア、ケニア、タンザニア、ザンビア、ジンバブエ、マダガスカルで、1984年と1985年がナイジェリア、ザイール、カメルーン、中央アフリカ、ガボン、アイボリーコースト、セネガル、モロッコであった。まず1985年の西アフリカにおける調査では受診者数202名で、成人男82人、女60人、小児男29人、女31人であった。年齢分布0-5歳にピークと25-30歳に2峰性にピークがみられた。受診時に何らかの急性、および慢性の疾病を有していたものは加齢と共に上昇し、40歳を越えると50%を越し、高齢になるほど成人病保有者が多くなった。小児、成人の疾病の種類を比較すると、小児では下痢2名、アレルギー性鼻炎2名、成人では肝炎・肝腫大8名、高血圧7名、胃炎・胃潰瘍7名などが多かった。成人の男女を比べると、男の有病者は67%、女は40%と男が多かった。男の疾病はアルコールに起因する肝炎・肝腫大、高血圧、胃炎、胃潰瘍が多いのに反し、女性に特徴的なのは心因性と思われる脱毛症1名、無月経1名、過呼吸症候群1名であった。その他関節症3名が女性にみられた。

次に1982-1983年の東アフリカと1984-1985年の西アフリカを比較すると、前者の受診数387名、後者389名とほぼ等しく、性別、年齢層もほぼ一致していた。有病者の率も西が47.3%に対し、東が43.7%とほぼ同様であった。西の上位5位は消化器16.5%、皮膚疾患16.4%、呼吸器14.8%、泌尿生殖器11.5%、感染症・寄生虫10.9%に対し、東では感染症・寄生虫18.8%、循環器15.9%、呼

吸器12.9%、皮膚疾患12.9%、消化器11.2%で若干の相違がみられた。しかしマラリア、ハエ、ウジ症などの熱帯地特有の疾患は予防、衛生環境が良好で東西アフリカとも少なかった。

33 開発途上国長期滞在者の精神健康管理

小原 博, 海老沢 功
(東邦大・医・公衆衛生)
表 光代, 大谷 杉士
(青年海外協力隊事務局)
菅又 淳 (初石病院・精神科)

昭和59年度における青年海外協力隊員に発生した主要疾患をみると、マラリア54例、下痢性疾患47例、交通事故13例、腸チフス11例、急性肝炎10例などが上位を占めている。精神疾患は3例報告されたただけだが、軽度の精神疾患、および海外生活不適應の例はかなり多いと予測されている。開発途上国滞在中の精神健康管理に役立てるため、長期滞在中に発症し治療を要した精神疾患の例について検討を試みた。

症例1: コスタリカ在住の男性。地方の工科大学で農業機械の技術指導に従事していた。60年2月、不眠と言動の異常で発症。その後幻聴、関係被害妄想も出現し、精神分裂症と診断された。

症例2: マレーシア在住の男性。開拓地の村で野菜栽培の指導を行っていた。60年1月幻聴、被害妄想、思考化声を主な症状として発症。精神分裂病と診断された。

症例3: パラグアイ在住の女性。日本人移住地の中学校教師。59年12月うつ状態で発症。その後、興奮、錯乱、啼泣状態が続き心因反応と診断された。

過去3年間に精神疾患のため帰国療養を要した者12例中、出国前に実施したTPIテストの結果、軽度の異常が認められた者は3例で、他の者はすべて正常所見であった。一方、テストで異常がみとめられても問題無く過ごす例も多く、事前にチェックすることはかなり難しいように思えた。

西アフリカ地方長期滞在者の健康調査を行った結果、精神的疲労や心気症状を訴える者はかなり多いことが判明した。生活環境、気候、言語の異なる地域に長期間滞在する際には、不適應が誘因

となって各種の心因反応や精神病が発症することがしばしば認められる。開発途上国滞在者の精神健康管理は、感染症に対する予防と同様に、極めて重要であるといえる。

34 奈良県下のベトナム難民の健康調査

西山 利正, 瀬川 武彦, 宇野 豊子,
森田 博, 古木 純子, 高橋 優三,
荒木 恒治 (奈良医大・寄生虫)
天野 博之 (天理病院・海外医療科)
赤沢 寛治 (関西医学検査センター)

我々は、昭和55年度より奈良県下におけるベトナム難民施設に収容されている難民の、健康調査を続けている。今回昭和58年度と59年度の調査結果を報告する。調査対象：奈良県御所市御所カトリック協会内ベトナム難民収容所に、昭和58年6月現在入所している難民56名、ならびに昭和59年10月現在入所している難民27名である。調査項目：内科検診、末梢血検査、白血球分類、血清蛋白分画、各種血清生化学検査、HBs抗原、HBs抗体、梅毒検査、IgE、EKG、検尿、検便、マラリア原虫の検索、肺吸虫、ならびに日本住血吸虫抗原による皮内反応、赤痢アメーバ抗原に対するオクタロニー法による抗体の検索を行った。

結果(昭和58年度)：内科学的検診にて第Ⅱ音の固定性分裂、並びにEKGにてIRBBBを呈し、ASDと診断された難民1名、その他内科検診、EKGにて病的所見無し。貧血無し。栄養失調無し。肝機能異常2名、HBsAg陽性7名(14.9%)、HBsAb陽性13名(27.7%)、白血球増多13名(27.7%)、梅毒検査陽性5名(10.4%、男4名、女1名)、好酸球増多11名(23.4%)、高IgE血症33名(70.2%)、鞭虫卵陽性8名(14.3%)、鉤虫卵陽性7名(12.5%)、回虫卵陽性3名(5.4%)、住血吸虫皮内反応陽性4名(8.5%)、赤痢アメーバ抗体陽性9名(19.1%)。(昭和59年度)：内科検診、EKGともに病的変化無し。貧血、栄養失調無し。肝機能異常1名。HBsAg陽性1名(4.8%)、HBsAb陽性3名(14.3%)、白血球増多5名(23.8%)、梅毒検査陽性1名(4.8%、男)、好酸球増多4名(19.0%)、高IgE血症13名(61.9%)、鞭虫卵陽性4名(13.8%)、回虫卵陽性1名

(3.4%), 赤痢アメーバ抗体陽性3名(14.3%)。

以上、ベトナム難民は栄養状態には問題無く、回虫、鉤虫、鞭虫の寄生を認め、好酸球増多、IgE 高値を関係づけていた。また、HB ウイルス、梅毒の高率の不顕性感染を呈している点注目しなければならぬ。

35 発展途上国との医学学術交流の現況

内山 三郎, 古川 直子, 岩井 誠三
(神戸大・医・
医学研究国際交流センター)

目的: 日本と発展途上国との医学分野における学術交流の現況を明らかにする。

方法: 昭和58年9月, 全国155の医学教育研究機関に, 1. 昭和54年以降の発展途上国との医学研究, 医科学技術研修, 医療協力の有無と今後の交流計画, 2. 学術交流の内容は, 課題名, 日本側機関, および相手機関の研究従事者数, 期間, 財源に関するアンケート調査を依頼し, 1カ月後に返送してもらった。

結果と考察: 調査を依頼した155機関のうち, 108機関から回答が寄せられ, 回収率は69.7%であった。これら108機関のうち, 学術交流の有無についての回答を分類すると, 回答時点の昭和58年9月現在, 交流を行っている機関は67(63.8%), 回答時に交流はないが調査対象期間(5年)のいずれかの時期に交流があった機関は8(7.4%)で, この2つを合計すると75機関(69.4%)となった。過去のみならず, 今後も交流するつもりはないと回答したのは, 9機関(8.3%)であった。

7地域の研究課題総件数は1,186であった。内容としては, 病原微生物学が105で最も多く, 全体の8.9%を占めた。以下, 感染症・伝染病102(8.6%), 寄生虫病学85(7.2%), 公衆衛生看護・保健指導66(5.6%), 消化器一般・胃・腸63(5.3%), 免疫・血清49(4.1%), 衛生学・公衆衛生学46(3.9%), 病理学44(3.7%), 癌・腫瘍41(3.4%)であった。総課題件数の半数以上にあたる585課題が各地域, 各国における保健の現状から種々の課題に分かれたことは, 発展途上国の現状を反映しているものといえる。7地域間でも研究課題の順位には差がみられた。

交流件数の年次推移をみると, 1979年以降, 年々増加しており, 医学分野における国際交流は着実に拡大されていることがわかった。

結びと今後の課題: 発展途上国との医学学術交流は, 病原微生物学, 感染症を中心に年々盛んになりつつある。今後は直接に研究に関与した人々の意見や現地への研究成果の応用など, より詳細なデータ分析をすすめたい。

36 卵型マラリア赤内型原虫の微細構造

松本 芳嗣, 松田 信治, 吉田 幸雄
(京都府医大・医動物)

前回(第26回日本熱帯医学会総会), 演者らは *P. ovale* 感染ヒト赤血球の微細構造的変化について報告した。今回は, 前回と同一材料を用い *P. ovale* 赤内型原虫の微細構造を観察した。Asexual parasite の微細構造: 虫体は一般に compactness を示したが, 時に linear, あるいは circular な細胞質突起が虫体より突出していた。虫体は一枚の細胞膜とその外側の宿主由来の parasitophorous vacuole membrane により全周を被われていた。これらの膜は cytostome より虫体内部に嵌入し, cytostomal cavity を形成していた。cytostome の内径は 50-90 nm であった。虫体細胞質には, 1-2 個の malarial pigment を含む一枚の単位膜で囲まれた food vacuole が辺縁に沿って観察され, また mitochondria equivalent と考えられる double membrane-bounded structure も多く観察された。単核の trophozoite には遊離 ribosome が顕著であったが, presegmenting schizont には vesicle 状の小胞体が多く観察され, ribosome は polymeric form として存在することが多かった。核にはしばしば核膜に接して高電子密度の領域が観察され, 仁であると考えられた。presegmenting schizont の核にはしばしば核分裂像も観察された。Gametocyte の微細構造: gametocyte はその特徴的な pellicle と osmiophilic body の存在により, 容易に asexual parasite と識別し得た。虫体は parasitophorous vacuole membrane に加え, 全周を被う一枚の外膜と不連続な2枚の平行して走る膜により取り囲まれていた。osmiophilic body は径 80-150 nm で円ないし卵円形を示し, 一枚の単位膜

により囲まれ、細胞質に多数観察された。ribosome は free form として多く観察され、mitochondria には明らかな vesicle 状の cristae が観察された。核は大きく、常に細胞質の一侧に偏在し、しばしば核膜に接して仁と考えられる高電子密度の領域が観察された。なお今回観察された gametocyte は Aikawa *et al.* (1969) の定義に従えば全て macrogametocyte であった。

37 熱帯熱マalaria原虫における生殖母体形成の誘発と誘導物質の解析

小野 忠相, 中林 敏夫

(阪大・微研・原虫)

マalaria原虫生殖母体はその形成が誘導される機序が不明であり、人為的に形成を誘導することが出来ない。従って生殖母体の形成過程を調べる研究は、これが自然に誘発される原虫を用いて行われている。私達は熱帯熱マalaria原虫に対する抗体を産生する hybridoma 細胞の培養上清液を用いて、原虫の増殖阻止効果を検討している際、培養上清液が生殖母体形成を誘導することを見出した。用いた原虫は熱帯熱マalaria原虫 FVO 株と FUP 株であり、hybridoma 細胞 (#219.5 および D21) はミエローマ細胞 P3-X63-Ag 8.653 および SP2/10-Ag 14 から作った。

hybridoma 細胞培養上清液による生殖母体形成の誘発は新しい培地へ原虫を継代する時用いても、また培養4-5日後、Parasitemia が10%位になった時用いても見られ、形成される生殖母体の数は concanavalin A 5-20 γ /ml の添加により増加した。誘発効果は、抗赤血球抗体を産生する hybridoma 細胞の培養上清液中や、MEM 液で培養したマウスL細胞培養上清液中にはみられなかった。しかし、ミエローマ細胞の培養上清液にはわずかにみられた。次に生殖母体形成誘発物質の性状を調べ、これが分子量10,000以下であること、80°C、10分の加熱によってもそこなわれず、耐熱性であることを認めた。またこの物質が sephadex G-25 カラムで分画出来ることも見出された。なお、hybridoma 細胞を超音波によって破壊し、これを hybridoma 細胞培養上清液と共に用いると成熟した生殖母体が出現し、cafein 1-5 mM/ml, cal-

modulin 2.5-10 γ /ml の添加によりそれが増強された。電顕によって微細構造を観察すると、生殖母体や赤血球の細胞質で膜系の増殖が顕著にみられた。生殖母体では endoplasmic reticulum が著しく膨大し活性化している像がみられ、赤血球の細胞質では虫体を取り囲むようにして多数の multistranded-layer like structure が見出された。

38 *Anopheles stephensi* 2系統のネズミマalaria原虫 *Plasmodium yoelii nigeriensis* に対する感受性の比較

藤田 和世, 栗原 毅, 海野登久子

(帝京大・医・医動物)

G. B. White, G. A. T. Targett

(ロンドン大学衛生熱帯医学校)

蚊のマalaria伝播能力に関する研究の一環として、ネズミマalaria原虫を用いて、実験室内で、*Anopheles stephensi* の2系統のマalaria感受性テストを試みた。実験は帝京大学およびロンドン大学衛生熱帯医学校において、4回行われた。

2系統のうち、A strain は1970年代にアメリカ、イリノイ大学より聖マリアンナ医大に導入されたもので、その一部が1975年日本化薬上尾研究所に維持され、さらに帝京大学医学部にて継代飼育されているものである。この間少なくとも最近10年間は、マalaria原虫の感染の機会をもっていない。一方、Beech strain は1947年にインドのデリー市で採集され、以後ロンドン大学衛生熱帯医学校で飼育されて今日に至った。本系統は、ネズミマalaria原虫に対し、高い感受性をもつことが知られている。そのため、頻繁にマalaria感染実験に供されてきた。ネズミマalaria原虫は *Plasmodium yoelii nigeriensis* N67 系統を用いた。

凍結保存されていたマalaria原虫は、DDY 系および TO 系のメス、4-6週齢マウス内で起こされ、一回のマウス passage の後、4日間の incubation period をおき、蚊の吸血実験に供した。その時点の parasitaemia は 14.91-23.08%, gametocytaemia は 0.31-0.58% であった。吸血後、蚊は 25 \pm 1°C, 70% RH 条件下の飼育室で 8-9日間飼育された後、解剖し感染率と Oocyst の数を個々に記録した。その結果、A strain はス

タンダードとして供した Beech strain と同程度に高い感受性を示した。

39 東南アジアにおける主要マラリア媒介種群の系統発生と生物学的諸性状

神田 鍊蔵

(聖マリアンナ医大・病害動物)

東アジアにおけるマラリア媒介種群内諸分類群を進化遺伝学的に解析し、分類群間の遺伝的相互関係が、それらの持つ諸生物学的性状に表れていることがわかって来た。今回はハマダラカ類の *leucosphyrus*, *minimus*, および *maculatus* について、形態の変異、交配実験による生殖的隔離状態、細胞遺伝学上の染色体多型、アロザイム多型、ミトコンドリア DNA の制限酵素によった分割の比較から相互の親和性を調べた。*leucosphyrus* 種群12分類群の遺伝的關係はマレーシア・サラワク州の *leucosphyrus s. s.* とビルマの2分類群は、生殖的隔離が明確で種としても独立性を持つことが明らかとなった。タイ国分布の *dirus* 型マレーシア・サバ州分布の *balabacensis*, そして半島部分布の2分類群ではいずれの性質も前二者の間に半島部の分類群が位置し、三者を種として独立とは解釈し得ない関係にあることがわかった。なお各分類群とも染色体 heterochromatin は多型が見られる点など分化の多様性がうかがわれた。*minimus* 群は *pampani*, *varuni*, *minimus complex* の3種にわかれるが、多糸染色体は同型を示している *minimus complex* ではさらに *pampani* 型が部分的生殖隔離を示し形態的多様性、アロザイム多型、および heterochromatin 多型も見られる。*maculatus* は形態上2型にはっきり分けられる分類群について生殖的隔離を認め *complex* 内同胞種であると解釈した。これら主要3種群は遺伝分化の過程が多様に見られた。以上とは別に生理学的に性的分化の表と見られる羽音に表れる羽の振動数を調べたところ、分類群間に雌蚊雄蚊ともに分類間相違を認めた。*leucosphyrus* 群では、IMR=477±5.1, KTD=504±9.8, CTB=530±10.2, KCH=519±10.4, SWK=476±8.2 と有意差を示した。*minimus complex* では KCH-1=464±7.6, KCH-2=473±5.2, TSG=482±8.4 と相互の重合をみたが

minimus s. s. 内分類群間の近い関係を示した。*maculatus* ではW型 462±3.4, M型 418±7.4 であった。かくて性的隔離が、遺伝的諸性質に先んじて表れている。これら羽音は、雄蚊の誘引に用いられよう。

40 サルファモノメトキシンが無効で、クロロキンが有効であった三日熱マラリアの1例

山村 好弘, 上田英之助, 橋本 泰吉

(国療刀根山病院)

わが国では、マラリアの代表的治療薬であるクロロキンの入手は極めて困難である。しかし市販されている Sulfamonomethoxine (SFM, ダイメトン, 第一製薬) が熱帯熱マラリアに有効であることは、吉永ら、村上ら、山本らによって報告されている。また演者らも、この静脈注射が熱帯熱マラリアに極めて有効であった事を前回に報告した。三日熱マラリアに対しては、海老沢が4/8例に有効であったと報告しているが、熱帯熱マラリアに比べるとその効果は弱い。今回はインドより帰国した三日熱マラリア患者に SFM を使用したが効果なく、クロロキンで治癒せしめた例を報告する。

入院までの経過: 患者は22歳の男の歯学生である。59年7月16日大阪空港発にてニューデリーに着き、バスで北上してカンゴトリーを基地として、7月21日から8月18日までヒマラヤで登山活動をした。その後バスでニューデリー、ジャイプール方面を旅行した後、9月1日大阪空港に帰着した。ヒマラヤ登山中、および帰国直後に 38°C の発熱があったが、アスピリンで解熱した。旅行中マラリア予防薬は服用しなかった。その後週3回 10 km のマラソンを行っていたが何事もなかった。最近勉学のため3時間睡眠が4-5日続いたところ、60年6月7日 40°C の発熱が3日持続し、抗生物質無効のため6月10日本院に入院した。

入院後の経過: 41°C の隔日発熱に変化した。血液標本にて *Plasmodium vivax* の原虫を認めたので、SFM 10% 10 ml 1日1回の静注を5日間行ったが解熱しないため、オロチン酸クロロキン 1,200 mg (Base で 600 mg), ついで4時間後に 600 mg, その後 600 mg を3日間投与したところ直ちに解熱、マラリア原虫も消失し、6月20日退

院した。その後プリマキン 15mg を毎日 2 週間投与を行った。現在のところ再発は認められない。なお赤血球は20%減少したが、1カ月後には正常値に復帰した。

結論：三日熱マラリアの患者に SFM を使用したが効果なく、クロロキンで治癒した。SFM は熱帯熱マラリアには有効であるが、三日熱マラリアには効果が弱いと考える。但しこの場合、サルファ剤耐性マラリアであった可能性は否定出来ない。

41 輸入マラリアの治療成績

田辺 清勝	(東大・医科研・内科)
大友 弘士	(岐阜大・医・寄生虫)
尾辻 義人	(鹿児島大・医・二内科)
中林 敏夫	(阪大・微研・原虫)
田中 寛	(東大・医科研・寄生虫)

厚生省「輸入熱帯病の治療薬に関する研究」班が昭和55年から60年までに取り扱ったマラリア治療薬について、その成績をまとめた。治験例の延べ数は244例あり、回収できた治験成績は116例(回収率52%)であった。三日熱の症例で治療後3例に再発があり(クロロキン+プリマキン1例, ファンシダール+プリマキン2例), また熱帯熱では2例に再燃(ファンシダール+キニーネで治療)がみられた。これらの症例はいずれもタイ・カンボジアでの感染症例であった。治療開始の遅れた2例(いずれも熱帯熱)に死亡例がある。抗マラリア薬の効果のうち解熱時間は、三日熱の場合クロロキンで治療した12例の平均は1.6日, ファンシダールで治療した12例の平均は2.4日と1日遷延していた。熱帯熱の場合は両薬剤とも3日間で差はなかった。また、原虫消失時間は三日熱, 熱帯熱とも3-4日程度で、両薬剤に差はなかった。両薬剤投与前後の臨床検査成績を検討してみると、薬剤による副作用の指標となる白血球の増減, 好酸球増多, 赤沈亢進はクロロキン投与例では(3/34, 3/28, 4/34), ファンシダール投与例では(3/27, 1/22, 5/25)にみられた。また、貧血, GPT, ZTT に異常をきたした例は、クロロキン投与例では(3/34, 7/31, 6/20), ファンシダール投与例では(5/25, 5/23, 7/14)に出現したが、

これらの異常が薬剤による副作用によるものか、或いはマラリア感染による直接の肝, 赤血球の破壊によるものかの判別は難しいと考えられる。マラリア治療薬による重篤な副作用は認められていない。

42 輸血マラリアを疑わしめた三日熱マラリアの1例

矢野 健一, 中林 敏夫
(阪大・微研・原虫)

渡辺 知明
(大阪府赤十字血液センター)

藤本 輝夫, 阪本 俊一
(藤本病院・外科)

私達は輸血により感染したと考えられる三日熱マラリアの1症例を経験した。

患者は60歳の男子で職業は包装工。既往歴：昭和21年10月シベリア捕虜収容所にて約1カ月間黄疸で入院, 家族歴に特記すべきことなし。現病歴：昭和60年1月30日雪道で自転車に乗っていて転倒し入院。右大腿骨頸部骨折修復手術を行う。その後6月19日右股関節形成(人工骨頭に置換)を行い, そのため濃厚赤血球(6月10日採血)を6月19日3本, 6月20日2本の計5本輸血された。7月5日(術後16日目)より微熱, 7月10日より高熱続き悪心, 食欲不振を来した。7月13日より貧血, 血小板減少。血小板の検査時にマラリア原虫と思われるものを検出。7月15日貧血強く, 軽度黄疸出現。マラリア原虫陽性。7月17日三日熱マラリアと同定。ファンシダール2錠投与するも悪心強く嘔吐。塩酸キニーネ(400mg)を点滴に加え静注する。7月18日解熱。悪心もなくなりファンシダール1錠3日間投与。末梢血のマラリア原虫は, 7月13日1.0%, 7月15日0.68%, 7月18日0.13%, 7月19日0% (厚層では陽性), 7月20日以後は厚層塗抹でも陰性。7月26日より貧血も回復傾向を示した。濃厚赤血球5本の献血者中4名は日本人で海外渡航歴なく, 本人も含めて身近にマラリアの発症はなし。1名は来日している外国人でマラリアは否定。

考察：シベリア捕虜収容所では、寒さと栄養失調での死亡が多くマラリア発症の噂は聞かず、外

国人の献血者はマラリア流行地域で28歳まで生活し昭和60年4月来日した。本人はマラリアを否定したが、Hyponozoitesより低濃度の赤内発育の存在を否定できない。近年海外との交流量の激増で、外国人の献血者も増加し、輸血マラリアの危険性に対処する必要がある。

43 アフリカ旅行中に感染したと思われる卵形マラリアの1症例

中林 敏夫, 小野 忠相, 矢野 健一
(阪大・微研・原虫)
星加 泰宏, 片岡 由幸
(県立奈良病院・内科)

トラックによるアフリカ旅行中に感染したと思われる *P. ovale* の1症例を報告する。24歳男子、1984年1月に南アを出発し、4月末にカメルーンに到着、そこからヨーロッパを経て8月に帰国した。以後は健康で発熱等を来すことはなかった。1985年7月11日発熱、16日に県立奈良病院に入院した。17日の血液標本中にマラリア原虫を検出、検査所見では軽度肝障害、貧血を認めた。原虫所見は当初、原虫体が緻密なこと、少数の寄生赤血球が縮小していること、繁殖体の核数が12以内、シュフネル斑点が見られぬこと等から、帯状体は検出できなかったが四日熱原虫を考えた。一方、卵形原虫を思わず寄生赤血球も多く、翌日の標本を pH7.2 のギムザ液で染色した。この標本にはシュフネル斑点が見られ、典型的な卵形原虫所見が多数に検出されたので、卵形原虫と同定した。患者は塩酸キニーネ錠 1.5g/日、分3、5日間、primaquine 15mg 塩基/日、14日間の投与で治癒した。原虫は第3日目には消失した。

本症例は想定感染時期より1年余を経て発症したが、旅行中はマラプリムによる予防内服を行った(アフリカを去るとともに中止)ことから、今回の発症は再現 recurrence の形で起こったものと考えられる。一般に卵形原虫は三日熱原虫に類似性が高いという概念があるが、この原虫所見は当初、四日熱原虫を想起させるもので、再検査の結果、卵形原虫と同定されたことは興味深い。今回の標本中で典型的卵形原虫所見を呈したものは36%、非典型的なものは29%、中間的なもの35%

であった。この数値は教室保存の卵形原虫標本におけるものと同様であった。なお、シュフネル斑点の染出においてはギムザ染色液の pH に留意すべきことが強く教示された。

44 高マラリア抗体価を持続しつつ重症化を避け得た非定型的熱帯熱マラリアの1例

天野 博之 (天理病院・海外医療科)
西山 利正, 瀬川 武彦, 高橋 優三,
荒木 恒治 (奈良医大・寄生虫)
田村 遵一, 鈴木 守
(群馬大・医・寄生虫)

症例は29歳女性。1982年10月-1984年9月(2年間)、チンパンジー研究の夫に同行し、タンザニア国カソゲ(タンガニーカ湖畔)に滞在した。この間、マラリア予防内服は規則正しく行っていたが、蚊に刺されることが多く、都合5回の発熱発作を来し、その都度サルファメトキシン、ピリメサミン合剤にクロロキンを併用し軽快していた。帰国後マラリア予防内服を打切ったところ、1984年10月20日、11月1日に発熱し独自加療後、当院受診するもマラリア陰性で放置観察とされた。同年11月24日より再び悪寒を伴う微熱を来し、26日に至りマラリア原虫を発見され、翌日入院となった。入院時、体温 36.8°C、貧血なく、黄疸なく、下肢に痒疹を認めるも出血傾向なし。意識清明で神経学的異常を認めない。肝脾腫を認めず、表在リンパ節腫脹なし。心肺異常なし。RBC 384万、Hb 11.6g、Retics 2.6%、PLT 16.4万、WBC 4,500 (Lymph. 17%, Mon. 4%, Eos. 1%, Bas. 1%, N. Seg. 70%, N. Band. 7%), CRP (-), PT 10.5 sec, PTT 22.0 sec, Fbg 300mg, FDP (-), Haptglb 127.5mg, LDH 330 IU, T. B. 0.7 mg, GOT 17 KU, GPT 19 KU, Al-P 0.8 BU, γ -GTP 14 mIU, chE 0.78 Δ pH, T. P. 7.2g, Alb 3.9g, Glb 3.3g, α_1 -G 3.5%, α_2 -G 7.1%, β -G 12.5%, γ -G 22.8%, IgE 1,140 U/ml, Cholesterol 148mg, Glucose 94mg, Urea-N 8.4mg, Cr 0.7mg, 便潜血(-), 虫卵(-)。尿異常所見なし。胸部レ線像, ECG とも正常範囲。エコー上、肝、脾、膵に異常を認めず。malarial parasitemia 461/mm³ で Ring form のみを認め、その形態のみか

らは種の同定不能であった。熱型は午後37°C台に体温上昇するも、発作感を自覚せず、軽い頭痛以外の訴えもなく経過し、入院後3日目に熱帯熱マラリア生殖母体発見され、診断が確定した。同日より Salfamonomethoxine 4g/日、3日間に続き、DOXY 200mg/日、8日間、Quinine 1.5g/日、4日間を併用、さらに、Primaquine 15mg、14日間を追加し、有意な Parasitemia の減少を認め、入院14日目には、生殖母体も消失し、症状改善し軽快退院した。その後、外来にて同様の治療を1クール行い、1985年8月現在まで、再発の徴はなく治癒せしめたと考えている。群馬大学寄生虫学教室にて実施されたマラリア抗体価などの検索では、間接蛍光抗体法にて、入院時血清は三日熱マラリア抗体陰性、熱帯熱マラリア抗体×1,024と高値で、その後、1985年3月まで同値は×256の高値を持続し、6月に至り×16に低下した。また、クロロキン感受性テストで、本例熱帯熱マラリア原虫は耐性を示さなかった。本例は、本邦では興味を持たれる重症化しなかった熱帯熱マラリア例で、その非定型的な症状と、非定型的環状体の出現、および罹患地の点から猿マラリアの可能性をも疑われたが、これらの非定型性には、マラリア流行地における感染の反復と、本邦人としては稀な獲得免疫の成立が関与したと考えられた。また、治療後のマラリア抗体価を長期にわたり観察し得た点も興味のもたれる症例であり、ここに報告した。

45 西アフリカ・ガーナの一地方村におけるマラリア感染状況の調査

伊藤 誠, 高柳 担, 佐藤 重房
(名古屋市大・医・医動物)

R. K. Anteson, M. A. Appawu
(ガーナ大・野口研)

我々は、今回 JICA のガーナ大学野口研究所プロジェクトに参加し、現在のガーナにおけるマラリア感染状況を調査したので報告する。

調査地区：首都アクラの西方約 70 km の海岸沿いに位置する村 (人口約 2,000 人) で、野口研の Field Station となっている。方法：1984年1-2月の乾季に388人、同年7-9月の雨季に298人よ

り、Finger Prick 法により採血、厚層・薄層標本を作り、同研究所にて固定染色後検鏡した。赤血球ヘモグロビン型は、雨季に、ヘマトクリット管に採血した血液を用い、セルロースアセテート膜電気泳動法により判定した。結果および考察：乾季・雨季を通じ、熱帯熱 (*P. f.*)、四日熱 (*P. m.*) と卵型 (*P. o.*) の3種のマラリア原虫が検出された。中でも *P. f.* が最も優性であり、その陽性率は、雨季において乾季のその2倍に上昇していた。しかし *P. m.* にはこの傾向はみられなかった。*P. f.* の陽性率を年齢別にみると、乾季では4-6歳でピーク (36%) となり漸減したが、雨季ではほとんどの年齢群で乾季を上まわり、10-14歳で66%と高い陽性率を示した。また乾季には陽性者のみられなかった1歳未満で、33%が陽性となった。この村で行ったマラリア媒介蚊の予備調査では、雨季に多数の *Anopheles gambiae* の幼虫が発見されたが、乾季には全く発見できなかった。また *P. f.* の gametocyte の出現率も乾季には *P. f.* 陽性者中6.8%であったのが、雨季には18.6%と有意に増加しており、媒介蚊数の増加とともに雨季の *P. f.* 陽性率の増加の原因となっていると思われる。住民の赤血球ヘモグロビン型は、16%がAS型、AA型72%、AC型10%、その他2%であった。それぞれの型の *P. f.* 陽性率は、AA型37%、AS型20%、AC型30%で、AS型がAA型に比して低い値であったがその差は有意ではなかった。

46 ナイジェリア、Ijebu-Ode 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)
前田龍一郎 (帝京大・医・寄生虫)
稲岡 徹 (旭川医大・寄生虫)
E. O. Ogunba (イバダン大)

1984年9月14日より10月13日の約1カ月の間にナイジェリア南西部で、ロア糸状虫症の調査を行った際に、中学・高校生、および住民を対象にマラリア原虫の調査を行った。調査を行った地区はオヨ州、イバダン市より南へ約100kmのオグン州、Ijebu-Ode 周辺の3つの中学・高校 (A, B,

C校), 首都ラゴスより東へ約 100 km のラゴス州, Epe 周辺 (D), およびオヨ州, イバダン州 (E) であった。環境は南の Epe 市周辺はマングローブ帯に接する熱帯雨林帯で河畔林が多く, Ijebu-Ode 地区は Epe よりさらに北へ続く熱帯雨林帯, イバダン地区は市街地であった。マラリア原虫の検査は Ijebu-Ode 地区の A 校 (15-19 歳) および B 校 (12-19 歳) の中学・高校生では Finger Prick 法による採血, Ijebu-Ode 地区の C 校 (16-46 歳) 生徒, Epe (D) の給水施設住民 (29-60 歳) およびイバダン (E) の住民 (17-40 歳) では静脈採血により薄層塗抹標本を作り, ギムザ染色して原虫の有無を調べた。静脈採血した材料について血清学的検査も行ったが, 今回は塗抹標本についての成績である。マラリア原虫保有状況は地区別では Ijebu-Ode 地区 (A, B, C 校) で, 生徒 595 名中 (男子 241 名, 女子 354 名) 陽性者は 154 名, 陽性率は平均 25.9% (24.5-28.3%) の高率であった。Epe の給水施設 (D) 住民では 11 名中陽性者 1 名, イバダン (E) の住民では 15 名中陽性者 2 名, 総計 621 名 (男子 255 名, 女子 366 名) 中陽性者は 157 名 (男子 58 名, 女子 99 名), 陽性率平均 25.3% (男子 22.7%, 女子 27.0%) であった。年齢別陽性率は 10 歳台で 27.6% と多く, 20 歳台で 22.0%, 30 歳台で 5.3%, 40 歳以上で 20% であった。マラリア原虫種は 3 種が検出され, 陽性者は大部分が熱帯マラリア原虫 132 名 (陽性率 21.3%) で, そのほか, 四日熱マラリア原虫 9 名 (陽性率 1.4%), 卵型マラリア原虫 14 名 (陽性率 2.3%) および熱帯熱マラリア原虫と四日熱マラリア原虫の混合感染 2 名 (陽性率 0.3%) であった。

47 インドネシア共和国北スマトラ州アサハン県におけるマラリアの疫学的調査

糸川 英樹 (東京医歯大・医・医動物)

インドネシア共和国との共同事業として進められてきたアサハン地域保健対策プロジェクトにおいて, 演者は 1984 年 10 月より 1985 年 5 月にかけて小学校低学年児童を対象としてマラリア疫学調査を行った。調査地域は, 海岸地帯, 水田地帯, 山地の畑作地帯および山地の森林部の 4 つの地域であり, 総数 5,011 名が調べられ, 178 名の陽性が見

い出された (3.6%)。各地域の結果は以下の通りである。

海岸地帯 (Kecamatan Tanjung tiram and Lima puluh): 原虫保有率 5.7% (133/2,315), 熱帯熱マラリア (41), 三日熱マラリア (91), 混合感染 (1), 脾腫率 3.1%。水田地帯 (Kecamatan Pulau rakyat): 原虫保有率 2.2% (20/926), 熱帯熱マラリア (2), 三日熱マラリア (18), 脾腫率 0.1%。山地の畑作地帯 (Kecamatan Buntu pane): 原虫保有率 0.5% (5/999), 熱帯熱マラリア (0), 三日熱マラリア (5), 脾腫率 0.1%。山地の森林地帯 (Kecamatan Bander puluh): 原虫保有率 2.7% (21/771), 熱帯熱マラリア (17), 三日熱マラリア (4), 脾腫率 5.1%。

以上の結果より, 北スマトラ・アサハン県では海岸地帯, 山地の森林地帯にマラリア流行が常在し, 水田地帯では脾腫率が低いけれども, マラリア患者が見い出されることが判明した。

48 ナイジェリア国プラト州におけるブユ相角坂 照貴, 塩飽 邦憲, 金子 清俊

(愛知医大・寄生虫)

D. M. Roberts, M. O. E. Iwuala

(ジョス大)

高橋 弘 (国際協力事業団)

1982 年から 1987 年までの予定で実施されている, 国際協力事業団によるナイジェリア国ジョス大学医学研究プロジェクトの一環として, プラト州ジョス周辺地域においてオンコセルカ症の調査をしている。ジョス地区は, ナイジェリアのほぼ中央に位置し標高 600-1,200 m のギニアサバンナ地域である。西アフリカにおけるオンコセルカ症媒介ブユは *S. damnosum* 1 種と考えられている (近年 *S. damnosum* は, 8 種に再分類されているがここでは *S. damnosum* complex として扱う)。我々は, ジョス周辺地域での *S. damnosum* の分布を知る目的で 1984. 10-1985. 3 の間にブユ相の調査を行った。

方法: この調査期間は, 乾期に当たり成虫の動物への飛来が少ないため, 河川よりブユ幼虫, 蛹を採集し同定した。採集河川は, 18カ所とし *S. damnosum* の分布地点では数回の採集を行った。

S. damnosum は幼虫、蛹で同定し、他のブユは蛹のみで同定した。

結果：18カ所の河川より得られたブユは1属16種であった (*S. alcocki* Pomeroy, *S. schoutedeni* Wanson, *S. mcMahon* de Meillon, *S. cervicornutum* Pomery, *S. unicornutum* Pomery, *S. ruficornis* Macquart, *S. aureosimile* Pomery, *S. hirsutum* Pomery, *S. adersi* Pomery, *S. walshi*, *S. dentulosum* Roubaud, *S. loutetense* Grenier & Ovazza, *S. damnosum* Theobald, complex, *S. vorax* Pomery, *S. colasbelcouri* Grenier & Ovazza, *S. m. hargreavesi* Gibbins)。 *S. damnosum* の幼虫、蛹が採集されたのは2カ所 (River Assob, Bachi と River Buja, Ibandi) であり、表面の滑らかな岩板、あるいは水没した植物の葉、莖、根に付着していた。乾期の初期に比べ水量の減少する後期では幼虫、蛹共に減少していた。

49 長崎県で発生した恙虫病患者2例の感染経路と媒介種について

鈴木 博

(長崎大・熱帯医研・ウイルス)

藤田 宣士, 福田 博英, 鳥山 史

(健康保険諫早総合病院)

鈴木 寛 (長崎大・熱帯医研・内科)

近年、全国的に恙虫病患者が多発しているが、長崎県下でも1982年度5名、1983年度8名、1984年度10名の患者届出があった。これらの発生期間は8月31日-11月20日の間で、特に10-11月に集中し、発生地は県下に広く散在している。患者発生後の感染経路、媒介種の調査に関しては、これまでも試みられているが、患者の行動圏が広く、特定の場所にのみ関与した確証が得られず、確実な感染場所、媒介種の決定が困難で疫学上問題となっている。今回経験した2名の患者は、海岸に面し物理的に防潮堤とアスファルト道路で遮断された林内で、ほぼ同一日にキャンプして発症した時点で感染場所が限定されていると判断された。そこで、キャンプ地の恙虫相を調査し媒介種を決定することを試みた。調査は、1984年9月-1985年6月 (1985年1月-3月を除く) の間、月1回シャーメントラップ30個を設置し、野鼠を捕獲す

ると同時に、土壌採取による直接採集法も併用した。キャンプ地は長崎県西部の橋湾に面した防風林で、長さ700m、幅40m、前面を防潮堤、後面を7-8mのアスファルト道路で遮断され完全に隔離された環境であった。林内は樹齢の古い照葉樹が繁茂し、大小の岩が散在して野鼠の生息環境に好適な場所と思われた。調査の結果、アカネズミ46個体を捕獲し、これらからフクオカ、フトゲ、クロシオ、ミヤジマ、コウチ、サダスクの3属6種6,963種の恙虫を得た。特に、新型恙虫病の主要媒介種とされているフトゲが調査したすべての月に採集され、優占順位もフクオカに次いで高かった。これらの結果より、2例の患者は発症前後の行動も併せて、海岸のキャンプ地でフトゲツツガムシ刺咬による発症であると判断された。

50 長崎県におけるリケッチア・ツツガムシに関する血清疫学的研究

福本 美枝, 鈴木 寛, 松本 慶蔵

(長崎大・熱帯医研・内科)

麻生 卓郎

(有川医師会)

長崎県におけるツツガムシ病の報告例は、1950年より1981年までの間みられなかった。しかし、1982年以降長崎県各地でツツガムシ病の散発的発生例が報告されるようになった。そこで、長崎県におけるリケッチア・ツツガムシ汚染地区を知る目的で本研究を試みた。

対象および方法：対象地域は長崎市 (120名)、島原市 (50名)、大瀬戸町 (50名)、福江市 (50名)、若松町 (44名)、有川町 (210名)、新魚の目町 (60名) の7地域で、対象総数は584名であった。各対象からの血清は1983年と1984年の冬期における定期健康診断時に無作為に採取された。リケッチア・ツツガムシに対するIgGおよびIgM抗体はギリアム株を抗原として用いた immune peroxidase 法により測定された。抗体レベルは血清の1:20希釈に始まる2段階希釈法により決定された。

成績：1) 各地におけるIgG抗体陽性率は2% (島原市) から60% (新魚の目町) に分布し、新魚の目町 (60%) と有川町 (49%) の陽性率は他の地域よりも有意に高値を示した。2) IgG抗体

分布をみると、高い抗体陽性率を示した地域（新魚の目町と有川町）の抗体は1:20から1:1,280に分布していたが、低い抗体陽性率を示した地域（長崎市・島原市・大瀬戸町・福江市・若松町）の抗体はすべて1:80以下に分布していた。3) IgM 抗体は高い陽性率を示した地域においてのみ検出されたが、その抗体価は1:80以下であった。

要約と考察: 新魚の目町 (60%) と有川町 (49%) の陽性率は本邦における流行地の陽性率と類似のものであり、さらに、IgG 抗体は1:20から1:1,280に分布し、一部の対象からはIgM抗体も検出されたので、これらの地域では比較的最近リケッチア・ツツガムシの流行があったと推定した。

51 東アフリカ、モザンビークのフィラリア症について (3)

藤田紘一郎¹, 小田 力²,
月館 説子¹, 森 章夫,
上田 正勝¹, 黒川 憲次¹

(長崎大・医・医動物¹,
長崎大・医技短大²)

演者らは1981年と1982年に、モザンビークの海岸に面したケリマン地方で、フィラリアの調査をする機会を得た。8人の現地人男子について夜間採血を実施すると共に、伝搬蚊の調査も行った。このうちの1人からマイクロフィラリア (mf) が検出されたが、種類はわからなかった。これらのmfの約半数は sheath を持たず短く、残りの半数は尾端に sheath を持ち長かった。今回はmfの大きさについて、変異を起こした要因について検討すると共に、ケリマン地方での主要伝搬蚊についてこれまでの知見等を含めての考察を行った。血液の塗抹標本を、現地の高湿多湿の自然条件下で約24時間おいた後に、70%アルコールで固定し、ギムザ染色し、mfの大きさと脱鞘率の変異は、この様な標本処理によって生じたものと想像される。この点を確認するため、*Brugia pahangi* のmfを含むスナネズミの血液塗抹標本を、wet chamber の中に入れて27°Cに24時間保存した後、70%アルコールで固定、ギムザ染色した。mfの

脱鞘率と大きさを調べた。その結果、少数のmfが脱鞘し、大きさにも変異が認められた。長いmfは総て sheath を持っていたが、短いmfには脱鞘したものもかなりみられた。このことから、この現地人から採取された長いmfと短いmfは、同一種であろうと思われる。また約半数のmfが脱鞘したことや、夜間(9時)に採血した事実を合せて考えると、このmfはバンクロフト糸状虫であると思われる。一方、採集された蚊の多くは *Anopheles coustani*, アシマダラヌマカ、ネッタイシマカの3種であった。アシマダラヌマカからはI期とIII期の幼虫がみつかったが、これは動物に寄生するフィラリアと思われる。ネッタイイエカからは、I期の幼虫がみつかった。東アフリカでのバンクロフト糸状虫の主要伝搬蚊は、*An. gambiae*, *An. funestus* およびネッタイイエカといわれている。従ってケリマン地方では、ネッタイイエカが主要伝搬蚊であろうと想像される。

52 バンコック産ネッタイイエカの1系統におけるテトラサイクリンによる *Wolbachia pipientis* の駆除と和合性の変化

末永 敏

(長崎大・熱帯医研・資料室)

バンクロフト糸状虫症の主要媒介者として知られる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、*Wolbachia pipientis* 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が明らかにされている。演者は1978年以降、この細胞質不和合性がこの蚊群の生物的防除に役立つ可能性が有るかどうかを確認するために、一連の野外調査と交雑実験、およびこの微生物の駆除実験を行っている。この中、微生物の駆除実験については、テトラサイクリンで処理した長崎産のアカイエカ1系統と、チカイエカ1系統について、微生物の駆除に成功したことを既に報告したが、今回はバンコック産のネッタイイエカ1系統について、孵化直後の幼虫を20%という高濃度のテトラサイクリン水溶液で24時間処理することにより、あるいは更に引き続き10%の溶液で24時間(合計48時間)処理することにより、微生物の駆除に成功したので、その

概要について報告した。薬剤処理後、第2世代における戻し交雑実験の結果は、微生物を保有している雌と保有していない雄との交雑では産まれた卵は極めてよく孵化したが、微生物を保有していない雌と保有している雄との交雑では産まれた卵は全く孵化せず、そのほとんどが全く発育しなかった。薬剤処理後、第5世代における戻し交雑実験の結果も、第2世代の場合とほぼ同様で、不和合交雑の結果産まれた卵はそのほとんどが発育せず、テトラサイクリン処理によって変わった不和合性が維持されていることが確認された。今後、この元の系統と本来不和合性のほかの系統についても、微生物を駆除し、微生物がいなくなった両系統間の不和合性が、どのように変わるかを調べたいと考えている。

53 京都市・洛北において採集したユスリカ類、カ類について

正垣 幸男 (京大・医・病理)

京大・胸部研の大島教授がユスリカ類と吸入性アレルギーとの関連の解明を計画され、ユスリカ成虫の採集を依頼されたので、演者がかつて米軍に在籍した頃に、蚊の調査の1つのセンターにしていた洛北・深泥池畔にドライアイス・ライトトラップとライトトラップを、更にユスリカ類の外部生殖器の検討のために、市植物園横の京都府大農場にライトトラップを設置し、1983年3-11月間に、5夜毎の夜間採集を実施し、ユスリカ類の分類については静岡大学・橋本碩教授の指導を受けたので、その概要を報告したい。

ユスリカ類は14種、943個体、そのうちセスジユスリカが57.4%を占める優占種で、ついでヤマトユスリカであり、カ類は13種、25,505個体、そのうちコガタアカイエカが97.1%を占める優占種で、ついでキイロヌマカであった。ユスリカ類とカ類のおのおのについて、ドライアイス・ライトトラップ (A1) とライトトラップ (A2) による採集個体数を χ^2 検定により比較すると、ユスリカ類については、 $A2 > A1$ となり、ライトトラップによる採集結果の方がドライアイス・ライトトラップによる採集結果より有意差が大であり、カ類については $A1 > A2$ となり、ドライアイス・ライト

トラップによる採集結果がライトトラップ採集結果より有意差が大であった。ユスリカ類の雄の外部生殖器の形態を比較調査中であり、モンユスリカ亜科 Tanipodinae, エリユスリカ亜科 Orthocladinae の底節は強大であり、前者の把握器は後者のそれより長く、ユスリカ亜科 Chironominae の底節と把握器は結合しており、上部付属器の形態は種により細かく異なる。

54 暑熱順化に関する研究—温熱負荷による発汗反応の解析—

范 育仁, 小坂 光男, 大渡 伸,
岩元 純, 菅原 正志, 藤原真理子,
Ye-Win* (長崎大・熱帯医研・
環境生理, *JICA 研修生)

暑熱順化のメカニズムを究明する目的で、熱帯地住民と、日本人スポーツマンの暑熱負荷時の発汗反応を比較検討した。今回は被験者に熱帯地住民12名、日本人スポーツマン12名を選び、温度28°C、湿度60%の人工気象室内で両下肢を43°Cの循環温水に30分間浸水負荷させて皮膚局所加温刺激とし、誘発させる前胸部・腹部の発汗反応をサーモグラフィ装置を使って記録、同時に口腔温、背部体表皮膚温をサーミスタにて測定した。前胸部の平均発汗潜時は熱帯地住民で11.6分、腹部では10.8分。日本人スポーツマンでは胸部・腹部とも8.6分を示し有意 ($p < 0.05$) の差を示した。熱帯地住民の発汗時の口腔温上昇率と口腔温変化は0.045°C/min, 0.27~0.24°Cを示し、日本人スポーツマンではそれぞれ0.035°C/min, 0.18~0.19°Cを示し、共に前者が高い。腹部発汗は胸部発汗に先行し、温度下降も顕著で暑熱負荷後も更に下降、腹部と胸部皮膚温の間で温度解離現象が見られた。この解離現象の成因には、1) 交感神経の地域性支配、2) 腹部皮膚の active vasoconstriction による血流変化、3) 腹部と胸部の皮下脂肪層の差異、4) 座位による臀部皮膚圧迫反射の効果、5) 座位姿勢による内臓と皮膚の血流分布の差、6) 腹部と胸部皮膚の能動汗腺の密度や分布の差異、7) 実験室内の気流の影響などが挙げられるが、その生理学的意義は不明である。以上の結果の如く、暑熱順化の形成過程では体温

調節反応の出現温度閾値の上昇や反応量の変化が誘起されるが、更に熱産生としての代謝性反応の測定のほか、今回の結果にみる腹部・胸部皮膚温の解離現象など、温度順化・体温変化の神経性調節の面からのデータ集積が望まれる。

55 長期暑熱暴露ウサギの温熱負荷に対する反応

藤原真理子, 大渡 伸, 小坂 光男
(長崎大・熱帯医研・環境生理)

暑熱環境として、室温 30°C・相対湿度60%を設定し、そこへ成熟雄性ウサギを6カ月にわたり連続暴露して、これを暑熱順化の動物モデルとした。この暑熱順化ウサギに、無麻酔・頸部のみを軽固定下で環境温を 0.5°C/min の変化率で 25°C → 40°C → 25°C → 10°C → 25°C と変える温熱負荷を加え、それに伴う直腸温や耳介皮膚温、呼吸数、心拍数等の変化を、中性温域(室温 25°C・相対湿度60%)で飼育した対照ウサギのそれらと比較した。暑熱刺激(25°C → 40°C → 25°C)によって直腸温は変動をみるが、その最高値と最低値の差は、暑熱順化群で平均 0.7°C, 対照群で平均 1.3°C であった。一方、寒冷刺激(25°C → 10°C → 25°C)によって変化した直腸温の最高・最低値の差は、順化群で平均 0.7°C, 対照群で平均 1.2°C であった。この事から、暑熱順化により暑熱側のみならず、寒冷側の温熱負荷に対しても、直腸温の変化幅は小さくなる事がわかった。指標として、耳介の皮膚温の動態をみた時、耳介皮膚血管の拡張発現時の外気温の閾値は、暑熱順化群で平均 28.9°C であったが、対照群は実験開始時の 25°C の中性温域ですでに閾値に達し、血管拡張が起こっていた。一方、耳介皮膚血管の収縮発現時の外気温の閾値は、暑熱順化群が平均 16.1°C, 対照群が平均 12.8°C であった。両群にみる末梢血管の拡張・収縮発現閾値の差と、深部温の変動は密接な関係があると思われる。ところが、この様な反応の差は、あらかじめ投与した Sodium Pentobarbital (20 mg/kg, i.p.) による麻酔下における温熱負荷時には消失するにもかかわらず、麻酔が完全にさめてから同様の温熱負荷を加えると再現した。この事から、暑熱順化による機能的変化の成因には、麻

酔により一過性に影響を受ける機序が関与している事が推察される。

56 海外発展途上国における最近2カ年の飲料水検査成績

月舘 説子, 藤田紘一郎, 中西 弘有
(長崎大・医・医動物)
奥脇 義行 (女子栄養大・微生物)
杉山 雅俊 (順天堂大・医・衛生)
小笠原ヤス子, 朝倉 健夫
(日本熱帯医学協会)

熱帯各地の発展途上国においては感染症、特に経口感染症が現地人のみならず在留邦人についても罹患の上位を占めている。我々は、これまでもこれらの疾病の感染源の1つとして飲料水の重要性を強調してきた。今回は、1983年3月から1984年9月までの2年間に東南アジア、中近東、東アフリカ、中南米の多くの国々を訪れ、在留邦人が実際に使用している飲料水を採取し、化学的および細菌学的検査を行ったので、その分析結果を報告する。

飲料水は、あらかじめガス滅菌したポリ容器に直接採取し、直ちに細菌学的検査(一般細菌数、大腸菌群)を実施した。検査は、ウリカルトセットにて 30°C, 24時間培養後判定した。化学的分析は、日本に持ち帰り、水質基準に関する省令に定められている方法に準じて行った。

1983年度の調査結果は、次の様であった。末端において殺菌消毒された水が得られたのは、ヨルダン(83.3%), パナマ(44.4%), トリニダードトバコ(33.3%), マレーシア(27.3%)の国々にすぎず、他の国々においては全く検出されなかった。また、糞便系汚染の直接的指標である大腸菌群は、ほとんどの国々の飲料水から検出された。その中でも特にタイ(26.7%), インドネシア(25.4%), フィリピン(13.4%)の水道水は、検出率、含有菌量が共に高値を示していた。その他、銅、鉛、鉄の金属類、アンモニア性窒素はほとんど検出されなかった。硬度は地質により大きく特徴づけられている。マレーシア、ビルマ、ケニア、コロンビア、パナマの国々には、かなりの軟水が供給されていた。他方、クウェート、イラク、ヨルダン、

トルコ、エジプトなどの国々の飲料水は、総硬度が 100 mg/l 以上の硬水であった。

1984年度は、前年度と同様の傾向を示していた。すなわち、最も大腸菌群が検出されたのはインドネシアで、約半数の検体が陽性を示し、依然として衛生環境が改善されていないことが示唆された。

57 パプア・ニューギニア各地における飲料水の細菌学的研究

奥脇 義行, 矢内 寿恵, 豊 経子
(女子栄養大・微生物)

藤田 紘一郎, 月舘 説子
(長崎大・医・医動物)

杉山 雅俊 (順天堂大・医・衛生)
朝倉 健夫 (日本熱帯医学協会)

熱帯地における衛生環境を知る研究の一環として、我々はその国の飲料水の水質に注目している。今回は、1984年9月の約2週間にわたり行ったパプア・ニューギニアの本島、New Britain 島、New Ireland 島で採水した飲料水、計40検水の細菌学的成績を報告する。

飲料水の由来は40検水中13検水が水道水で、その他はほとんど天水または河川水であった。Millipore Sampler を用いて行った一般細菌数、および大腸菌群数の算定の結果は、一般細菌数では $10^2/\text{ml}$ 以下であったものが64.5%にみられ、一方大腸菌群数でも今回の方法では算定されなかったものが70%にも認められた。

検出された菌群について鑑別したところ、腸内細菌科の菌種はみられず、ほとんどが *Pseudomonas* 属であり、そのうち多く検出された菌種は *Pseudomonas aeruginosa* と *Pseudomonas maltophilia* であるという興味ある成績であった。また、検出された菌類について Benzylpenicillin, Sulbenicillin, Mezulocillin, Tetracycline, Chloramphenicol, Kanamycin, Gentamycin, Cephaloridine, Cefoxitin, Colistin, Nalidixic acid の11種の化学療法剤の感受性試験を実施し、MIC 近似値を求めたところ、*Pseudomonas aeruginosa* は Gentamycin に対して $1.6\mu\text{g}/\text{ml}$ という良好な成績が得られた。

58 エチオピア、Makale 市周辺の飢餓被災民テント村における飲料水の水質検査成績

奥村 悦之 (高知学園短大・保健)

谷 莊吉 (金沢医大・医動物)

飢餓被災民のおかれた環境は、概ね伝染病罹患の可能性は増す。即ち、彼らの使用する生活水が病原微生物の汚染源となる危険を含んでいるため、飲料水の水質検査を行った。

対象と方法: JMTDR 第3次派遣団業務期間の1月21日より3月3日迄のうち、無作意に日を選び、わが国援助の Adyhrus, イタリア国の Quiha と No 2-Tenben, ICRC の Waereb, 西ドイツの Maydha の各 shelter 内の被災民共同上水道を対象とし、水道蛇口を開き約3分後の水を無菌的に採水、 $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NH}_3\text{-N}$, Cl^- , KMnO_4 消費量、硬度、pH、大腸菌、および一般細菌群の項目を分析した。

成績: 日本チーム医療援助の Adyhrus, および他の Quiha, Maydha 各 shelter 内の水道水は、いずれの日にも $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NH}_3\text{-N}$ が同時検出された。汚染指標となる Cl^- はいずれも高値を示さなかったが、一般細菌、大腸菌群は最小 1.4×10^4 , 最多 32.4×10^4 個の範囲にあった。全地域共硬度は 400 から 1,280 ppm で基準値を越え異常に高い。これら shelter 内の共同上水道は水源を 50~70 m 掘った地下水に求めており、かねてよりの旱魃の為朝夕2回のコントロールシステムによる時間給水制であった。

まとめ: 一般細菌および大腸菌群は、全地域の飲料水において許容基準値を遙かに越えた。更に同時に、検出されてはならない $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NH}_3\text{-N}$ の検出地域が多かった。これらの事実は、病原汚染となりうる還元環境にある上水道であると推察された。また硬度が異常に高いことは、日常生活にも支障をきたし、生体内における物質代謝障害を惹起する可能性がある。いずれにしても人為の局部的条件の影響を大きく受け、水脈が浅い故、人類活動による汚染を示唆する成績である。

59 腸アメーバ症の6例（特に内視鏡診断について）

山村 誠, 筋師 満, 堀 信治,
 橋林 尚, 大野 忠嗣, 下山 孝
 (兵庫医大・四内科)
 西村 猛 (兵庫医大・医動物)

我々は過去8年間に6例の腸アメーバ症を経験したので、その臨床所見、内視鏡所見について報告する。

性別では男性5例、女性1例で、年齢は38歳—53歳と壮年層の男性に多くみられた。臨床症状は、全例に粘血あるいは粘血下痢便がみられ、3例に腹痛もみられた。海外渡航歴は4例にあり、渡航先はビルマ、香港、ヨーロッパ、ハワイ、世界各地となっている。2例には渡航歴はなかった。

アメーバ赤痢は、最近再び増加する傾向があり、血便の鑑別診断に是非あげておくべき疾患である。本症は慢性に経過することが多く、臨床症状からも潰瘍性大腸炎と誤診されることがある。近年血便をきたす疾患に対し、ほとんど大腸ファイバースコピーが施行され、診断に役立っている。本症は、タコイボ型潰瘍という特徴的な内視鏡所見を示すことが多いため、本症の存在さえ念頭にあればその診断も可能と思われる。本症の確定診断は、もちろん赤痢アメーバの証明であるが、これにも内視鏡は有用である。1つは生検によりアメーバを証明する事ができる、1つは内視鏡を通して採取した粘液や、スコープに付着した粘液中に、栄養型赤痢アメーバを証明できるからである。生検は必ず潰瘍部から取り、しかも腸粘液を付けて生検することが重要で、PAS染色なども有用である。粘液中に栄養アメーバを検出する場合、採取直後保温して生鮮塗抹標本で鏡検し、専門家に相談する事が大切だと考える。

60 アメーバ性肝膿瘍の3治療例

千原 久幸, 安宅 啓二, 岡田 昌義,
 中村 和夫 (神戸大・医・二外科)
 本田 雅之 (高砂市民病院)
 佐野 均 (住友病院)

神戸大学第2外科および関連15施設で、過去10

年間にアメーバ性肝膿瘍3例を経験したので、診断や治療法について考察を加えて報告する。症例1は31歳の男性。右季肋部痛と全身倦怠感で発症、既往に2回の海外渡航歴がある。入院時、体温36.6°C、右季肋部に腫瘤と圧痛を認め、WBC 12,300、胸部X線で右横隔膜の挙上を認めた。内科的治療で改善せず、開腹手術を行った。肝右葉に存在する腫瘤を穿刺吸引し、イチゴミルク様膿汁をドレナージした。膿汁中に赤痢アメーバのcystを確認し、塩酸エメチンを使用し軽快したが、副作用で心不全を認めた。症例2は36歳の男性。39°Cの発熱で発症したが、海外渡航歴はない。入院時、右肺下野の呼吸音減弱と、右季肋部に圧痛を認めWBCは12,100。腹部エコーで肝右葉に膿瘍が存在、エコーガイド下にイチゴミルク様の膿汁をドレナージした。膿汁検査で *Entamoeba histolytica* (Trophozoite) を検出し、膿瘍腔の洗浄と、メトロニダゾールを投薬し治癒した。症例3は29歳の男性。発熱、血痰で発症したが海外渡航歴はない。入院時37.1°Cの発熱と右肺下野の呼吸音減弱、肝腫大と圧痛を認めた。WBC 13,000で喀痰検査は陰性。抗生剤で症状が改善しないため、ブロンコグラフィー、CT、腹部エコーを行ったところ、肝右葉の膿瘍が肺に穿破していると判明した。粘血便の既往を考え合わせ、アメーバ性肝膿瘍を疑い、ラテックス凝集反応で陽性所見を得た。約40日間のメトロニダゾール投薬で肝、および肺病変は消失した。本症は赤痢アメーバの検出で確定するが、臨床症状、血液学的検査、CT・エコー検査等が診断の助けとなる。特にCT・エコーによる肝膿瘍の診断と、免疫学的血清検査（ラテックス凝集反応）が有用である。治療には薬物療法と、ドレナージ法の併用療法が効果的である。最近登場したメトロニダゾールは塩酸エメチン等に較べ副作用もなく著効を示す。また、ドレナージ法では、エコーガイド下穿刺法が混合感染や侵襲も少なく良い。

61 日本国内で感染したと思われるメジナ虫症の1例について

小林 昭夫, 片倉 賢, 浜田 篤郎
(慈恵医大・寄生虫)
鈴木 昭男, 幡場 良明
(慈恵医大・附属研)
田代 直 (慈恵医大・二外科)
吉田 昭 (東芝沼津診療所)

最近我々は、本邦人として初めてのメジナ虫 (*Dracunculus medinensis*) 症の1例を経験した。これは今までに全く報告のない日本国内での感染と考えられる点で、今後の問題を残すものと思われる。

症例：42歳の日本人男性。工場技術員，静岡県三島市在住。昭和58年7月29日，突然全身に及ぶじんま疹の発現をみた。抗ヒスタミン剤の投与を受け発疹は消退したが，同年8月初旬より右下肢ふくらはぎの部分の腫瘍に気づく。臨床所見において右腓腹筋部に4.1×4.5 cm 大の無痛性の軟かい腫瘍が認められた。腫瘍はさらに増大したため，同年8月26日切開したところ，内部より多量の黄色粘稠な膿汁の排出をみるとともに，30 cm ほどの細長い虫体が膿瘍内壁から得られた。臨床検査成績では，好酸球増多症 (20%) 以外は特記すべきものはない。

虫体の同定：摘出された虫体は長さ29 cm，幅1.5 mm，乳白色の細長い雌の成虫で，頭部と尾部は欠如していたが，子宮内に多数の幼虫を包蔵していた。虫体の筋組織は，半月状の筋細胞群として2カ所に限局する独特の構造を呈していた。子宮内の幼虫は長さ平均654 μm (53-710 μm)，幅25 μm (22-26 μm) で，尾部は細く長く体長の1/3を占め，また肛門よりやや後方に1対の大きい phasmids が認められた。以上の所見からこの虫体を *Dracunculus medinensis* と同定した。

考察：患者にとって発症の7年前に中国へ旅行したのが唯一の国外旅行であるが，本虫の潜伏期が10-14カ月であるということから感染は中国ではなく日本国内で起こったものと推定される。しかしこれまでわが国にはメジナ虫の自然感染例の報告はない。その後，患者は発症のほぼ1年前に

2度にわたって生きたドジョウ (おそらく輸入ドジョウ) を丸呑みしていたことが明らかとなり，60年前とはいえ韓国でドジョウの丸呑みによると考えられる人体感染例がある点に鑑み，今回の症例がこれらのドジョウを介して感染したという可能性も否定できない。

62 リベリアからの農業研修員に認められたマンソン住血吸虫症の1例

松村 武男, 宇賀 昭二, 小西 英二,
中尾 雅春 (神戸大・医・医動物)
佐伯 進, 馬場 茂明
(神戸大・医・二内科)

国際交流が一般化するにつれて，熱帯感染症の機会も多くなり，多様化の像を呈している。マンソン住血吸虫の分布は，熱帯アフリカ，南米，西インド諸島その他に広く分布しているが，本邦での報告は，これまで3例に限られている (難波ら，1978；林ら，1980)。私どもは，最近アフリカからの農業研修員で，日本滞在中に本症と診断された1例を報告する。

症例 28歳，男，リベリア人，農業研究者，主訴：右側腹部の不快感，鈍痛，食欲不振。現病歴：来日以前は水田作業に従事していたことがある。1984年5月31日に，海外受託農業研修員として来日した。同年7月頃より上記主訴が出現し，某病院で胃透視等を受けるも原因不明であった。紹介により同年11月21日，当教室にて検尿，検便を施行，後者よりマンソン住血吸虫卵と鉤虫卵を検出した。身体所見では，肝を1/2横指触知した他は異常なし。第2内科外来で行った検査所見では，19%と好酸球数増多を認めたが，肝機能等は異常を認めなかった。寄生虫学的検査では，日本住血吸虫抗原，ウェステルマン肺吸虫抗原10,000倍希釈液で膨疹8×8 mm，10×9 mm と陽性を示したが，Ouchterlony 検査では，日本住血吸虫抗原に対して陰性であった。消化管の検索では，胃・小腸には寄生虫の虫体等は認めなかったが，注腸造影にてS状結腸部にポリープを認めた。しかし患者が早期に帰国したため大腸内視鏡検査，直腸生検は施行できなかった。治療として，Praziquantel 3,600 mg，コンバントリン® 7錠を投与

したが、患者の帰国により、その後の経過は不明である。

結語：本邦で4例目のマンスン住血吸虫症を報告し、本邦でこれまで報告されている3例と比較検討した。海外との文化交流が盛んになるにつれ、海外から日本国内に持ち込まれる輸入寄生虫疾患の可能性は増加しており、的確な診断のもとに早期に適切な治療を行うべきである。

63 Praziquantel, Niclosamide および Mebendazole の小形条虫に対する駆虫効果の実験的研究

牧 純, 齊藤 七瀬, 柳沢十四男
(北里大・医・寄生虫)

Praziquantel (PQ), Niclosamide (NA) および Mebendazole (MB) の小形条虫幼虫, および成虫に対する駆虫効果を比較検討した。

材料と方法：♀ICR マウス (4週齢) に、脱殻した小形条虫卵を100個ずつ胃チューブで与え、絨毛内幼虫に対しては感染後1-3日 (d1-3) に、成虫に対してはd12またはd12-16にPQ (東京女子医大・和田芳武先生より恵与), NA (バイエル薬品より恵与), MB (ヤンセンより恵与) を1% Tween 80 で懸濁したものを経口投与した。PQは25mg/kg/日の1回または連日の投与を行った。PQのみは感染後1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, または14日に25mg/kg, 1回の投与をも行った。NAとMBは100, 500mg/kg/日の1回, または連日の投与を行った。対照群には1% Tween 80のみを与えた。d18-19に実体顕微鏡下で腸管に残存する虫体の頭節数を算定した。

結果と考察：絨毛内の幼虫に対する効果は、いずれの薬剤投与においても認め難かった。成虫に対する効果は、以下の成績であった。PQは25mg/kgの投与で完全な駆虫効果を示し、Thomas and Gönner (1977, Z. Parasitenk. 52, 117-127)の結果と一致した。NAは500mg/kg 1回の投与で中程度の効果 (回収虫体減少率48%) がみられたが、100mg/kg/日1回の投与, および連日投与では効果は低度 (回収虫体減少率はそれぞれ25%, 33%) であった。MBの1回投与による効果は100mg/kgのみならず、500mg/kgにおいても低

度 (それぞれ9%, 15%) であったが、100mg/kg/日の連日投与により完全な駆虫を認めた。PQのみについて検討した投薬時期と効果の関係では感染後5日以降の投薬で完全な駆虫効果を認めた。

64 兵庫県下における児童の寄生虫卵保有者の疫学調査

中尾 雅春, 松村 武男
(神戸大・医・医動物)
角田 沖介 (神戸通信病院)
前島 健治 (兵庫県予防医学協会)

現在、わが国では、学校保健法第4条に基づき学童の健康診断の一環として、寄生虫糞便検査が行われている。今回、我々は、兵庫県下市町村による保育園児、幼稚園児、小学校の児童の糞便検査、および蟯虫検査を実施する機会を得、神戸市と他の地域の学童の腸内寄生虫卵保有率について分析・検討を加えた。

調査対象と方法

寄生虫糞便検査：神戸市内にある保育所、幼稚園の園児と小学生、合計91,776人を対象とし、セロファン厚層塗沫法を用い、昭和58年9月から昭和59年3月の期間に実施した。蟯虫検査：神戸市とその周辺市町村 (6市と淡路島) の保育所、幼稚園児と小学生、合計162,157人を対象とし、ウスイ式、蟯虫検査セロファン2回採卵式で実施し、1回でも虫卵陽性であれば陽性と判定した。

調査成績

寄生虫糞便検査：1) 寄生虫卵保有率は男子0.052%, 女子0.082%と若干女子に多かったが、統計的に有意差はなかった ($\chi_0^2=3.074$)。2) 神戸市内の地域別の比較では、東部、北部の区に若干多い傾向があるが (0.07~0.12%), 西部の区はやや少なかった (0.03~0.05%)。3) 寄生虫卵の種類別の保有者数では、蟯虫27件 (44.2%), 以下鞭虫15件 (24.6%), 横川・異形吸虫10件, 回虫9件の順であった。

肝囲検査2回法による蟯虫卵の保有率：1) 神戸市内蟯虫卵の保有率は、幼稚園、小学校とも約6%であったのに対し、保育園は約10.6%と高値であった。2) 神戸市以外の保有率では、市町村間にかなりばらつきを認めたが、淡路島地区との

保有率に差を認めなかった。

65 タイ国で分離された病原性大腸菌と赤痢菌の薬剤感受性と β -ラクタマーゼ産生性

田中 光, 河野 茂, 重野 芳輝,
山口 恵三, 斉藤 厚, 原 耕平
(長崎大・医・二内科)

S. Wongwanich, S. Ramsiri,

K. Vatcharasinghn, O. Rachtrachainchai
(タイ国医科学局・臨床病理学部)

材料と方法: タイ国医科学局の臨床病理学部に於いて確認された病原性大腸菌の146株と赤痢菌の186株を用いて, 11種の各種抗生剤に対する薬剤感受性試験, ならびにその β -ラクタマーゼ産生性について検討を加えた。薬剤感受性試験にはミューラーヒントン寒天培地による寒天平板希釈法を採用し, 接種菌液にはトリプトソイブイオンによる一夜培養液の1,000倍希釈液を用いた。また, β -ラクタマーゼの定性試験はニトロセフィンおよびpHディスク法の定性試験は, ニトロセフィンおよびpHディスク法を用いて行った。

成績: 全体的にみた場合, オフロキサシン(OFLX)に最も強い抗菌活性が認められ, 全株0.05 μ g/ml以下の濃度で菌の発育が阻止されていた。また, セフチゾキシム(CZX)にも同様に著明な抗菌力がみられ, セフェゾリン(CEZ)のそれに比較すると明らかに優れていた。赤痢菌についてみてみると, OFLXおよびCZXの抗菌活性が最も優れていたが, コリスチン(CL)も1.56 μ g/mlの濃度で全株の発育を阻止しており, 前二者に次いで優れた抗菌力を示した。しかし, ST合剤(ST)およびミノサイクリン(MINO)の抗菌活性はやや劣っていた。病原性大腸菌に対しては, OFLX, CZXの他ナリジキシン酸(NA)に強い抗菌力が認められた。一方, アンピシリン(ABPC), クロラムフェニコール(CP), テトラサイクリン(TC)などに対しては, 極めて高い頻度で耐性株が存在していることが明らかとなった。

β -ラクタマーゼの産生性は, ニトロセフィン法では, 赤痢菌の80%, 病原性大腸菌の93%で観察されたのに対して, ペーパー法(pH法)では, その頻度がやや低い傾向にあった。

66 最近のらいの新患について

熊野 公子, 村田 洋三

(神戸大・医・皮膚科)

原田 禹雄 (国立癩療所邑久光明園)

わが国のらいは, 年々その発生数の減少をみている。昭和50年から59年(10年間)に届出されたわが国の新患数は総計505例で, そのうち沖縄は335例(66%)をもつ。59年の総患者数8,407人, 菌陽性者数973人(12%)であり, 新患数35例である。一方, 昭和50年から59年に兵庫県に届出された症例は12例で, その6例を神戸大学皮膚科で扱った。また近畿北陸をサーブスエリアとする国立癩療養所邑久光明園で, 昭和52年から60年に9例の新発生患者を扱った。この2施設のうちの12例につき, その臨床的および既往歴による特徴をみると, わが国全体の新患の持つ特徴を表わしていると思われる。即ち, 4つの特徴を示す。1) 出身地: 沖縄および南西諸島に多い。昭和59年度35例中24例(69%)が沖縄および南西諸島出身者である。自験例12例中, 沖縄2例, 奄美2例, 東南アジア2例である。2) 発病年齢: 高齢化している。昭和59年度, 50歳以上の発病者21例(60%)。自験例では, 50歳以上11例(92%), その中で60歳以上は10例(83%)である。3) 病型: 沖縄県症例では類結核型(T)が多く, それ以外では, らい腫らい型(L)が多いが, ボーダーライン群(B)として発病する症例も増加している(40%)。59年度では, L型11例, B群11例, T型13例である。自験例では, B群7例, L型5例, T型0例である。4) 正しい診断治療が開始されるまでの年数が長い。自験例では8例に5年以上を必要としている。

67 膠原病患者における抗ATLA抗体

中山 志郎, 石川 隆之, 矢部 博樹,
永井 謙一 (神戸市立中央市民病院・

免疫血液内科)

矢田 久美

(神戸市立中央市民病院・輸血部)

目的: 成人T細胞性白血病(ATL)の病因にウイルスが密接に関与することが最近明らかとなっ

たが、本ウイルスが ATL 以外の疾患の原因ともなりうる可能性を考えられることから、各種の膠原病患者についても ATL ウイルス関連抗原 (ATLA) に対する抗体の測定を試みた。

対象と方法：全身性エリテマトーデス (SLE)、進行性全身性硬化症 (PSS)、多発性筋炎、皮膚筋炎 (PM・DM)、シェーグレン症候群、リウマチ様関節炎 (RA)、ベーチェット病などの膠原病並びに類縁疾患 203 例、および対照として鉄欠乏性貧血と急性感染症 67 例、また白血病、悪性リンパ腫、骨髄腫、再不貧、特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) などの血液疾患 193 例についても抗 ATLA 抗体を測定した。ATLA 抗体の測定には、ゼラチン粒子による凝集反応試薬セロディアア ATLA を用いた。

結果：患者合計 465 例中 32 例 (6.9%) が抗体陽性で、この 32 例中 22 例 (68.8%) は輸血の既往を有していた。またこの 22 例中 3 例が HBs 陽性であった。疾患別の抗体陽性率は、SLE 3/58 (5.2%)、PSS 1/28 (3.6%)、PM・DM 0/9、シェーグレン症候群 4/12 (33.3%)、RA 2/55 (3.6%)、ベーチェット病 0/25 で、この中で輸血歴を有するのは SLE の 3 例のみであった。血液疾患での陽性者は AML 7/23 (30.4%)、ALL 0/4、ATL 2/2、MDS 0/11、CML 1/9 (11.1%)、B-CLL 0/6、T-CLL 1/1、NHL 1/30 (3.4%)、ホジキン病 0/3、骨髄腫 1/14 (7.1%)、再不貧 2/16 (12.5%)、ITP 1/26 (3.7%)、骨髄線維症 1/3 (33.3%) などであったが、陽性者は ATL 2 例および T-CLL と NHL の各 1 例を除き、全例が輸血の既往を有していた。対照とした鉄欠乏性貧血や急性感染症 67 例での陽性者は 0 であった。また兵庫県赤十字センターから供給された赤血球濃厚液 286 本についても測定したところ、1 本のみが陽性であった (0.3%)。

結論：抗 ATLA 抗体陽性率は輸血歴を有する患者で極めて高率であったことから、輸血との関連性が示唆された。また輸血とは無関係にシェーグレン症候群、PSS、RA で陽性率は高値であった。特にシェーグレン症候群における陽性率は極めて高率であったが、本症は膠原病の中でも最も高頻度にリンパ腫を合併することが知られている

こと、および病因として EB ウイルスやサイトメガロウイルスなどのウイルスの関与が推測されていることも考慮すると、ATL ウイルスが免疫不全状態を惹起することなどを介して、本症の発症に本質的に関与している可能性が推測される。

68 ELISA による局所筋肉中のハブ毒の定量 (2) 一局所における抗毒素の中和効果について—

野崎 真敏, 山川 雅延, 富原 靖博
(沖縄県公害衛研・ハブ支所)

我々は ELISA (酵素免疫測定法) を応用すれば、ウサギ皮内注射法の 1/100~1/1000 レベルまで毒素が定量できることを前大会で報告したが、今回はハブ咬症治療への ELISA の応用の第 2 報として、局所筋肉中における抗毒素の中和効果について検討した。

中和実験は、あらかじめ抗毒素を静注した体重 2~2.5 kg のウサギの大腿外側広筋中にハブ毒を注射、1/4、1/2、1、3 時間後に屠殺して当該筋肉および周辺の筋肉中の遊離の毒素量を測定し、対照と比較した。

その結果、沖縄ハブ抗毒素 (T-78) 1.0 ml (抗 HR-1=600 単位、抗 HR-2=1,000 単位、抗致死=700 単位) 静注 1 時間後にハブ毒 200 μg を投与したウサギの局所残留毒素量は、15 分後=3.55 μg、30 分後=1.45 μg、1 時間後=1.00 μg、で 15 分後にはすでに遊離の毒素は殆ど検出されず、抗毒素 1 ml は 15 分以内で大腿筋に注入されたハブ粗毒 200 μg をほぼ完全に中和した。またハブ粗毒 500 μg を投与したウサギでも、15 分後=161.39 μg、30 分後=88.25 μg、60 分後=33.59 μg、3 時間後=1.41 μg と 15 分で激減、60 分で大部分が中和され、3 時間ではほぼ完全に中和された。このように注入された毒素が、比較的速やかに中和されたにもかかわらず、局所筋肉中にはかなり激しい出血を認めたが、その範囲は対照より小さく、受症後速やかに充分量の抗毒素が静注されれば、広範囲の損傷は防げるようであった。

なお、ハブ抗毒素 (1.0 ml) を静注したウサギの血中抗体価 (抗 HR-1 価) は 6.40 u/ml (4.57~7.83) であった。抗体価は ELISA で測定した。

69 ハブ毒とその筋壊死因子による血圧降下作用—低濃度の場合—

鎮西 弘 (東京医歯大・医・医動物)
峰下 哲, 山本 憲男
(東京医歯大・難治疾患研・臨床薬理)
中西 均 (帝京大・医・薬理)

ハブ咬傷による死の直前に、血圧の急激な降下の症例があるとされている。ハブ生毒に比べて低濃度の毒液および毒より分離した筋壊死因子(MNF)によっても血圧降下が認められたので報告する。

材料と実験方法: 麻酔下のイヌ(雑種成犬, ♂)とラット(Wistar系, ♂)を用い, 前者にはハブ毒を静注して腎血流量と血圧を, 後者にハブ毒, MNF, さらに血圧降下作用を検討するために, 抗ヒスタミン剤, カリクレイン阻害剤およびハブ毒と抗血清との混合液等の投与による血圧の変動をみた。

結果と考察: ハブ毒をイヌに静注(100 μ g/kg)すると急激な血圧降下と腎血流量の増加がみられたが, 短時間内に投与前の血圧レベルに戻り, これと対応して腎血流量も回復した。MNFのラットへの静注(100 μ g/kg)では, イヌと同様に急激な血圧降下が惹起されたが, その回復には時間を要し, MNFの量が多いことと, 種による差違とも考えられる。ラットに対するMNFの血圧降下作用は, イヌに対してハブ毒による場合と同様に低濃度でTachyphylaxisがみられ, 同一個体での同一条件による実験結果に再現性の乏しいことが見出された。ラットへのMNF投与前後にDiphenhydramineとPromethazineの静注で, ヒスタミン, およびヒスタミン以外の, 組織からの遊離が示唆されたが, 統計処理では, 前者は有意差がなく, セロトニンも有意差なしの結果ではあるが, $P=0.12$ で前者よりも遊離している可能性が大きい。しかし, ヒスタミンの場合, 分散が大きいことから, その遊離を全く否定することはできない。Trasyolを用いた実験では, カリクレインの遊離は認められなかった。今回の一連の低濃度のハブ毒によるラットにみられた血圧降下作用は, ハブ毒に含まれる出血因子によるものではなく,

少なくともMNFが関与していることが, ハブ毒と抗血清との混合液による中和実験で明らかになった。

70 ヤマカガシ抗毒素の試作およびその臨床効果について

川村 善治, 沢井 芳男

(日本蛇族学術研)

ヤマカガシ(*Rhabdophis tigrinus*)は, わが国では本州, 四国, 九州に生息し最もふつうにみられるヘビであるが, 最近はこのヘビによる全身性の出血および血液凝固阻止等を呈する重症例の報告があり, 昨年10月には急性中毒による死亡例が発生するに至った。そこで我々はウサギを用いてヤマカガシ抗毒素の試作を行い, かつ重症例の治療に応用して, その効果を確かめることができたので報告する。

ヤマカガシ毒の不活化: ドウベルノイ腺を摘出, 磨碎して抽出した毒液を凍結乾燥後, 1/60 M PBS (pH 7.0) で4mg/mlの毒液を作り, ホルマリンを1週間隔で0.5%ずつ2回, 1%1回加えて無毒化後, ホルマリンを透析除去したものを抗原とし, ウサギを免疫した。ウサギの免疫方法: 2.5~3.0kgのウサギ17頭を使用した。初回免疫量は1頭当たり4mgのヤマカガシ毒トキシドを, 同量のフロインドアジュバントと共に2mlを大腿背面の左右の皮下に注射し, 4週後に追加免疫としてアジュバントを含まないトキシドを1週間隔で3回, 2, 3.2, および5mgに増量しながら注射し, さらに粗毒を1ないし2週間隔4回, 5, 5, 8, および4mgの注射を行い, 最終免疫1週後に16頭のウサギから全採血を行った。免疫期間は約4カ月を要したが約800mlの粗血清を得た。使用した総毒量は1頭当たり36.2mgであった。血清の精製法: 粗血清の蛋白量を5%に調製, Na_2SO_4 飽和溶液(pH 7.0)を70%になるように加え, 38°C, 2時間放置した後に6,000 rpm, 15分遠心し, その沈殿を17% Na_2SO_4 1 lで2回, 洗浄遠心を反復, 沈殿を0.1 M Tris-HCl緩衝液(pH 8.0) 750 mlに溶解した。さらにこの溶液100 mlに Na_2SO_4 を15gの割合に加え, 38°C, 30分放置後, 遠心し, その沈殿を同一緩衝

液 600 ml に溶解, さらに Na_2SO_4 90 g を加え, 同様の処理を行った。その沈殿を 0.85% 食塩溶液 250 ml に溶解し, 脱塩のため流水透析を行った血清 320 ml に NaCl を 0.85%, フェノールを 0.25% マーゾニンを 0.01%, グリシン 3% を加えた後に無菌濾過を行い, 無菌, 安全試験を行った後に, 10 ml ずつ分注して凍結乾燥した。抗毒素血清の蛋白量は 2%, pH 7.0 であった。中和試験: 0.1 ml の精製抗毒素血清を, 同量の段階希釈毒と混合し, 37°C, 1 時間放置した後に 0.2 ml ずつを 1 群 4 匹ずつのマウスの尾静脈に注射し, 48 時間後の生死から LD_{50} 値を計算した。

その結果 0.1 ml の精製血清の LD_{50} は 114.95 μg で毒の LD_{50} は 2.66 μg の 43.2 倍に上昇し, 毒の最小致死量 (3.87 μg) の 26.9 倍の毒量 (104 μg) を中和することができた。毒の最小出血量はウサギの皮内注射法では 0.078 μg で, マウス筋注法では 5.0 μg であった。昭和 60 年 6 月 17 日に受傷し, 全身の皮下出血, 歯齦出血, 血尿および止血時間および PTT の延長 FDP 値の上昇, およびフィブリノゲン値の低下等を呈した重症例に対し, 6 月 19 日に本血清 20 ml を静脈内注射を行った結果, 6 月 20 日からはこれらの出血症状が改善され, 血液の凝固系の異状も回復にむかい, 患者は 7 月 1 日に退院した。この結果本血清は受傷後 50 時間以上を経過した重症例に対しても有効であることが明らかにされた。

71 虫刺創の病理組織学的研究 (第 2 報)

E. A. Jalal^{1,2}, 谷 莊吉^{1,2},
佐藤 喜一¹, 堀田 進¹,
上村 清³ (金沢医大・熱帯医研¹,
同医動物², 富山医大・病理³)

目的: 我々は, 第 25 回本学会において, イエカの刺咬創に関する経日的な皮膚の組織変化を報告した。すなわち, 初めに 1 回の吸血をうけると, その部の皮膚乳頭下層に 7 日目頃, 好酸球が出現してくる傾向にあることを述べた。今回は, 蚊の吸血の機会を増やすとどのような変化が皮膚に見られるかについて実験を行ったので, 報告した。

材料および方法: 実験動物として Hartley 系白色モルモットを使用した。背部を剃毛し, 約 2×

2 cm の被刺咬創部 (以下, 吸血部と略記) をマークし, 頻回の曝露部位とした。曝露は富山医大上村研究室で飼育しているコガタイエカ *Culex tritaeniorhynchus* spp. に吸血させた。すなわち, 吸血部を 3-4 匹の蚊に 1 回 5 分間吸血させた。これを 1 週に 1 回の割合で定期的に行い, 2 カ月間継続した。この間, 吸血部を肉眼的に観察した。発赤が現れた後, 直ちに同部の皮膚を切除し, 固定後, 病理組織学的検索の目的で通法に準じパラフィン切片を作成し, また一部は透過型電顕 (TEM) による観察標本とした。パラフィン切片は HE 染色と PAS 染色および Pinkus の Orcein-giemsa 染色を施し, 光顕的に観察した。いずれの標本も無処置モルモット皮膚標本と比較し, 虫刺創の組織学的変化を求めた。

成績: 蚊の刺咬創は初めは確認される程度であり, 24 時間後に消退した。しかしながら吸血を継続していくと, 8 週目頃より発赤 (Erythema) が早く現れ, 消退しにくい状態になった。12 週目では, その発赤が総ての吸血部に直ちに現れるようになった。発赤の大きさは多くの場合, 径 5-10 mm であったが, 最大のもは 20 mm に達した。この部の特徴的な病理組織学的所見は Mast cell と Eosin cell が皮膚乳頭下層に出現したことである。すなわち軽度から中等度の各種の細胞浸潤の中に Orcein-giemsa 染色で, Mast cell と Eosin cell を鑑別できた。TEM による観察で, この両細胞を確認した。

72 広東住血線虫卵の微細構造について

宇賀 昭二, 荒木 万嘉, 松村 武男
(神戸大・医・医動物)

演者らは過去に広東住血線虫卵の *in vitro* 培養に関する研究を行った結果, 本線虫卵は *in vitro* の条件で良く発育し, 培養の 8 日目にはフ化して第一期幼虫にまで発育することを明らかにした。この方法を用いることにより, 発育段階の同調した多数の虫卵を入手することが可能となった。そこで本実験では広東住血線虫卵の形態, 特に卵殻の微細構造を明らかにする目的で, 子宮内虫卵や *in vitro* で培養した各発育段階の虫卵を用い透過型電子顕微鏡による観察を行った。培養虫卵はす

でに演者らが報告した方法 (Uga *et al.*, 1983) に従い、培養後それぞれ1, 3, 5および7日目のものを用いた。

子宮中部および下部卵：子宮中部より得た虫卵の卵殻の電子密度は低く特記すべき点は認められなかったが、下部卵の卵殻表面には多数の突起物が認められた。それらは長さ 0.15μ 、幅は基底部分で 0.03μ 、先端部で 0.05μ であり、ほぼ 0.3μ の間隔で多数密生していた。

1日目卵：この時期になると卵殻表面の突起物の先端に1~3本の繊毛を有する様になった。これら繊毛の平均長は 0.15μ 、ほぼ真直で先端の尖った“針状”を呈していた。

3日目卵：卵殻表面の突起の数およびその形状は1日目卵のそれに似るが、その先端の繊毛が消失した突起が散見される様になった。

5日目卵：繊毛の消失した突起がその割合を増し、突起の数自身も減少してきた。

7日目卵：卵殻および突起の電子密度は低下し、繊毛はほとんど認められなくなった。突起はその長さを減じ、全体の数も減少してきた。

以上の観察結果と本線虫の生活史とを考え併せ、これら卵殻表面に認められた構造物は虫卵自身を肺の血管内に栓塞させ固定させる働きを有しているものと考えた。

PROCEEDINGS OF XXVII ANNUAL MEETING OF
JAPANESE SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE (2)

30 October-1 November 1985 Kobe

CONTENTS

Special lecture: Dengue hemorrhagic fever: a critical appraisal of current hypotheses

Dr. Leon Rosen

Science and technology and international exchange

M. Okamoto

Symposium: Tropical medicine and molecular epidemiology

Chaired by A. Ishii and K. Mifune

Symposium: Tropical countries and Japanese medicine 1-4

Chaired by K. Fukai and S. Tsuboi

5 Medical collaborations with tropical countries

Chaired by A. Fujioka and M. Tsuji

Symposium: Infectious diseases of international travelers in tropics—Present status of epidemiology and control

Chaired by T. Nakabayashi and T. Aoki

(Appeared in the last issue)

General presentation

- 1 Comparative study on susceptibility of *Aedes albopictus* to infection with chikungunya virus; some factors involved in susceptibility H. Yamanishi and E. Konishi
- 2 Electron microscopic studies on the susceptibility of arboviruses to mosquitoes
1. Multiplication of chikungunya virus in the salivary gland of *Aedes albopictus*
S. Soedarto *et al.*
- 3 Susceptibility of *Toxorhynchites splendens* to dengue virus type 2
N. Yamamoto and A. Ohyama
- 4 An epidemiological survey of mosquitoes and encephalitides in Karachi, Pakistan
K. Kamimura and T. Takasu
- 5 Clinical and epidemiologic studies on Japanese encephalitis in Chiang Mai area, Thailand, in the year of 1984
H. Shishido *et al.*
- 6 Studies on the vector mosquitoes and isolation of Japanese encephalitis virus at hill tribe villages and around Chiang Mai City in Northern Thailand
A. Mori and A. Igarashi
- 7 Detection of Japanese encephalitis virus by immune electron microscopy for rapid isolation of virus from mosquitoes
S. Furui *et al.*
- 8 The influence of suckling mouse passage on wild strains of dengue virus type 2
A. Ohyama *et al.*
- 9 Experimental study of the auditory disturbances due to dengue virus infection (preliminary report)
K. Sato *et al.*

- 10 Cloning of M RNA of snowshoe hare virus (Genus *Bunyavirus*)
Y. Eshita and David H. L. Bishop
- 11 Sequencing of M RNA of snowshoe hare virus (Genus *Bunyavirus*)
Y. Eshita and David H. L. Bishop
- 12 Transmission electronmicroscopy on *Pneumocystis carinii* and *Pneumocystis carinii* pneumonia in nude mice
M. Yamada *et al.*
- 13 Fine structure of *Pneumocystis carinii* by freeze-fracture method I. cytoplasmic organelles in the trophozoite
H. Yoshikawa *et al.*
- 14 Anti-parasite activity of nucleoside analogs in the promastigote of *Leishmania tropica* and *Leishmania donovani*
O. Hiraoka *et al.*
- 15 Culture of bloodstream forms of *Trypanosoma brucei gambiense*; effect of mouse fibroblasts from various organs
Peter J. Mhando *et al.*
- 16 Studies on the mechanism of natural resistance of sprague-dawley rats to the infection with *Trypanosoma cruzi*
S. Miura *et al.*
- 17 With time changes of lymphocytes after *Babesia* infection in mice pretreated with *Toxoplasma* lysate antigen
T. Miyagami *et al.*
- 18 On annual change in antibody level to *Toxoplasma gondii* in humans
J. Takahashi *et al.*
- 19 Studies of *Spirometra erinacei* in a new experimental host, golden hamster
A. Uchida and Y. Murata
- 20 Migration and distribution of spargana in the body of experimentally infected animals and presence of eosinophiles in peripheral blood of rats
A. Uchida *et al.*
- 21 A comparative study of eosinophil and neutrophil chemotactic activities of various helminth parasites
Y. Horii *et al.*
- 22 Influence of egg-granulomas on the activities of liver urea cycle enzymes in mice infected with *Schistosoma mansoni*
M. Tanabe *et al.*
- 23 Mutagenicity of egg- and adult worm-extracts of *Schistosoma japonicum*
A. Ishii *et al.*
- 24 Antigenic differences among human schistosome species and stage detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
Y. Ito
- 25 Efficacy of metrifonate in schistosomiasis haematobium
K. Sato *et al.*
- 26 Epidemiology and control of schistosomiasis on Bohol, the Philippines
H. Tanaka *et al.*
- 27 Establishment of a field research centre for surveillance on common communicable diseases and malnutrition in a rural village in Ghana
S. Isomura *et al.*
- 28 A sero-epidemiological study on common communicable diseases in children aged 3 months–3 years in a rural village in Ghana, West Africa
S. Isomura *et al.*
- 29 An epidemical survey in Malawi
T. Kimura and S. Akao
- 30 The experience of the provided medical care by the third team of JMTDR on the Ethiopian drought people in the camp of adyhrus shelter at Makale
S. Tani *et al.*
- 31 Infection rate of intestinal protozoas and helminths of Japanese in the tropical under-developing countries. Recent two years observation
K. Fujita *et al.*
- 32 Diseases of Japanese residents in West and East African countries — Report of travelling medical consultation
N. Rikitomi *et al.*
- 33 Mental health control of the long term sojourners in the developing countries
H. Ohara *et al.*
- 34 Health status of Vietnamese refugees in Nara Prefecture
T. Nishiyama *et al.*
- 35 Medical exchange activity between Japan and developing countries
S. Uchiyama *et al.*

- 36 Ultrastructure of erythrocytic stages of *Plasmodium ovale* in man
Y. Matsumoto *et al.*
- 37 Analysis of gametocytogenesis inducible substance and induction of gametocytogenesis in cultured *Plasmodium falciparum*
T. Ono and T. Nakabayashi
- 38 A comparative studies of the susceptibility of two strains of *Anopheles stephensi* and *Plasmodium yoelii nigeriensis*
K. Fujita *et al.*
- 39 Some biological characters and phylogeny among the taxa of malaria vector in Southeast Asia
T. Kanda
- 40 A case of *vivax* malaria cured by chloroquine, but not by sulfamonomethoxine
Y. Yamamura *et al.*
- 41 Clinical evaluation of antimalarial regimens
K. Tanabe *et al.*
- 42 A case of *Plasmodium vivax* malaria possibly induced by blood transfusion
K. Yano *et al.*
- 43 A case of *Plasmodium ovale* infection probably affected during travel in Africa
T. Nakabayashi *et al.*
- 44 A Japanese case of unusual *Plasmodium falciparum* malaria with a high malarial antibody level preventing a critical condition
H. Amano *et al.*
- 45 Malaria survey in a rural village in Ghana
M. Itoh *et al.*
- 46 Surveys of *Plasmodium* in Ijebu-ode, Nigeria
E. Hori *et al.*
- 47 Malariometric survey in Ashan regency, North Sumatra, Indonesia
H. Itokawa
- 48 Survey on black-flies *Simuliidae*, in Plateau state, Nigeria
T. Kadosaka *et al.*
- 49 Determination of transmissible route and vector mites of two patients of tsutsugamushi-disease occurred in Nagasaki Prefecture
H. Suzuki *et al.*
- 50 Seroepidemiological study on *Rickettsia tsutsugamushi* in Nagasaki Prefecture
Y. Hukumoto *et al.*
- 51 Studies on human filariasis in Mozambique, East Africa (3)
K. Fujita *et al.*
- 52 Treatment of *Wolbachia pipiensis* infection with tetracycline hydrochloride and the change of compatibility in a strain of *Culex pipiens quinquefasciatus* from Bangkok, Thailand
O. Suenaga
- 53 Chironomids and mosquitoes collected in the northern area of Kyoto City
Y. Shogaki
- 54 Studies on heat acclimatization—Analysis of sweat responses in tropical inhabitants and Japanese sportsmen—
Yu-Jen Fan *et al.*
- 55 Studies on thermoregulatory responses to general thermal stimulation in heat acclimated rabbits
M. Fujiwara *et al.*
- 56 Bacteriological and chemical study of the drinking water in the tropical countries—Recent two years observation—
S. Tsukidate *et al.*
- 57 Bacteriological study of the drinking water in Papua New Guinea
Y. Okuwaki *et al.*
- 58 Analysis of drinking water in the shelter on victims in Makale, Ethiopia
E. Okumura and S. Tani
- 59 Intestinal amoebiasis, report of six cases
M. Yamamura *et al.*
- 60 Management of amebic liver abscess
H. Chihara *et al.*
- 61 First human case of dracunculiasis in Japan
A. Kobayashi *et al.*
- 62 A case of schistosomiasis mansoni of agronomist from Liberia
T. Matsumura *et al.*
- 63 Comparative effects of praziquantel, niclosamide and mebendazole on larval and adult *Hymenolepis nana* in mice
J. Maki *et al.*
- 64 A survey of intestinal parasitic eggs in children in Hyogo Prefecture
M. Nakao *et al.*
- 65 Drug susceptibility and beta-lactamase production of enteropathogenic *E. coli* and *Shigella* spp. isolated in Thailand
H. Tanaka *et al.*

- 66 The characteristics in the new cases of leprosy K. Kumano *et al.*
67 Study of anti ATLA antibody in patients with collagen diseases S. Nakayama *et al.*
68 Determination of habu venom remained in local muscular tissue by ELISA (2), study
of anti-local effects of antivenom against habu venom M. Nozaki *et al.*
69 The action of hypotension caused by habu venom and myonecrotic factor (MNF)
isolated from it H. Chinzei *et al.*
70 Studies on the preparation of anti-yamakagashi (*Rhabdophis tigrinus*) rabbit serum
and its clinical application Y. Kawamura and Y. Sawai
71 Histopathological study on mosquito bitten wound (second report) E. A. Jalal *et al.*
72 Electron microscopic study on surface structure of *Angiostrongylus cantonensis* egg
shells S. Uga *et al.*

Student presentation (will be appeared in the next issue)

Social meeting (will be appeared in the next issue)

General presentation

1 COMPARATIVE STUDY ON SUSCEPTIBILITY OF *Aedes ALBOPICTUS* TO INFECTION WITH CHIKUNGUNYA VIRUS; SOME FACTORS INVOLVED IN SUSCEPTIBILITY

HIROSHI YAMANISHI AND EJI KONISHI

Kobe Gakuin Women's Junior College and Department of Medical Zoology,
Kobe University School of Medicine

Eight geographic strains of *Aedes albopictus* were examined for susceptibility to oral infection of chikungunya virus. The highest susceptibility was observed in the Oahu strain, indicating a mean virus titer of $10^{6.3}$ PFU/mosq. 14 days after infection. Individual semiquantification of virus amounts by fluorescen antibody technique resulted in a large proportion of high-titered mosquitoes. To study this phenomenon further, virus growth in 4 organs was compared between the Oahu strain and the Hyogo strain, moderate in susceptibility. In the Oahu strain, low virus titers were found in the midgut and foregut of all mosquitoes on day 3, and then 1 of 7 samples on day 7 showed infectivity also in the salivary gland and brain. On day 14, high titers were observed in all organs of more than 50% of mosquitoes. On the contrary, Hyogo mosquitoes had less infection rates even on day 14.

2 ELECTRON MICROSCOPIC STUDIES ON THE SUSCEPTIBILITY OF ARBOVIRUSES TO MOSQUITOES

1. MULTIPLICATION OF CHIKUNGUNYA VIRUS IN THE SALIVARY GLAND OF *Aedes ALBOPICTUS*

SOEDARTO SOEDARTO^{1,2}, TAKEO MATSUMURA², HIROSHI YAMANISHI³
AND EJI KONISHI²

Department of Parasitology, Airlangga University School of Medicine, Surabaya, Indonesia¹, Department of Medical Zoology, Kobe University, School of Medicine² and Kobe Gakuin Women's Junior College³

Aedes albopictus as well as *Aedes aegypti* is an important vector of chikungunya and dengue viruses. These transmission mechanism(s) are not clarified yet.

Electron microscopic observations of the salivary glands of *Aedes albopictus* infected with chikungunya virus, comparing with those of *Aedes aegypti* infected with dengue viruses, were presented.

No findings of the virus budding from the cell surface of the CHIK-infected mosquito's salivary glands were obtained as shown in DEN-infected ones, in contrast to the findings of the mammalian cells such as Vero, KB, IMR, J-111 and BHK-21 cells infected with CHIK.

3 SUSCEPTIBILITY OF *TOXORHYNCHITES SPLENDENS* TO DENGUE VIRUS TYPE 2

NORIMI YAMAMOTO AND AKIO OHYAMA

Department of Microbiology, Kansai Medical University

To elucidate the susceptibility of *Toxorhynchites* to Dengue viruses, we have used *Tx. splendens* which is a common nonhematophagous mosquito in South East Asia. We have compared the susceptibility of *Tx. splendens* to Dengue virus type 2 (D-2) with that of suckling mouse and cell lines (Vero cell or C6/36 cell). D-2 stocked viruses, $10^{7.5}$ PFU/ml of wildtype viruses (BR 006 and BR 116) and prototype virus (Tr 1751) were used in this experiment. In order to compare the susceptibility of 3 hosts (*Tx. splendens*, suckling mouse and Vero cell). Three D-2 viruses were assayed by these 3 hosts.

The results were as follows. The titers of BR 006 were $10^{8.8}$ MID₅₀/ml (By *Tx. splendens*), $10^{1.9}$ LD₅₀/ml (by suckling mouse) and $10^{7.5}$ PFU/ml (by Vero cell). Titers of BR 116 were similar to those of BR 006 respectively. And the titers of Tr 1751 were $10^{9.2}$ MID₅₀/ml, $10^{8.1}$ LD₅₀/ml and $10^{7.8}$ PFU/ml respectively. *Tx. splendens* showed the highest susceptibility among 3 hosts. Three D-2 viruses replicated in *Tx. splendens*, suckling mouse, Vero cell and C6/36 cell. The viral yields in them were assayed with Vero cell by plaque assay method. Two wildtype viruses showed similarity in their replication, that is, the viral yields were $10^{8.3}$ PFU/ml in *Tx. splendens*, $10^{6.5}$ PFU/ml in suckling mouse and $10^{7.2}$ PFU/ml in Vero cell and C6/36 cell. The viral yields of Tr 1751 were about the same yields as 2 wildtype viruses in *Tx. splendens* and cell lines but not in suckling mouse. That is, D-2 replication was best in *Tx. splendens*. Furthermore, titers of 3 D-2 viruses in the head and thorax of *Tx. splendens* were increased gradually until day 15. Especially the increase of the viral titers in the head were prominent and the maximum titers were $10^{8.0}$ to $10^{8.4}$ PFU/g on day 15.

From these data, we can conclude that *Tx. splendens* is susceptible to D-2, especially the head of this mosquito is the most susceptible part.

4 AN EPIDEMIOLOGICAL SURVEY OF MOSQUITOES AND ENCEPHALITIDES IN KARACHI, PAKISTAN

KIYOSHI KAMIMURA¹ AND TOSHIAKI TAKASU²

Department of Pathology, Toyama Medical and Pharmaceutical University¹ and

Department of Neurology, Nihon University School of Medicine²

In 1983 the field study team of encephalitis visited Karachi, Pakistan. Using spray sheet collection, 12,636 female and 7,952 male mosquitoes were collected. *Culex tritaeniorhynchus*, the principal vector of Japanese encephalitis and WN virus, was distributed all over Karachi. It was abundant in summer season from July to August, and its common breeding places were ground pools of riverside, rice fields, and swamps. *Anopheles stephensi*, the principal vector of

malaria, was rare in rooms. *An. subpictus* was abundant from July to October, and its common breeding places were ground pools, cesspools and ditches in human habitations. *Aedes aegypti* was abundant in summer season in midtown area. Its common breeding places were water tanks. *Cx. pipiens quinquefasciatus* appeared in all seasons and its common breeding places were cesspools and ditches in human habitations with dirty water.

In 14 of the 55 encephalitis cases at the Karachi Civil Hospital during the one-year period, the aetiology was identified serologically, including 3 Japanese encephalitis cases. The positive rate of sera from 280 non-neurological patients and healthy volunteers was 75% for JEV. The antibody positive rate of serum increased July to March for JEV.

5 CLINICAL AND EPIDEMIOLOGIC STUDIES ON JAPANESE ENCEPHALITIS IN CHIANG MAI AREA, THAILAND, IN THE YEAR OF 1984

HARUMI SHISHIDO¹, AKIRA IGARASHI², KEIKO BUNDO², PIEN CHIOWANICH³,
BOONSON PONEPRASERT³, PINIT LIMSUKON³, JIRAPORN SUPAWADEE³
AND SUPIN METHEEDOL³

Department of Internal Medicine¹ and Department of Virology², Institute for
Tropical Medicine, Nagasaki University, and Faculty of
Medicine, Chiang Mai University³

Japanese encephalitis (JE) is an extraordinarily serious infectious disease because of high mortality and poor prognosis with neurological sequelae. Since the last large epidemic in 1966, number of JE in Japan dramatically decreased. Encephalitis presumably due to JE virus infection sometimes occurred in other parts of Asia than Japan.

We conducted clinical and epidemiologic studies on JE in Chiang Mai Area, Northern Thailand. These data were obtained from statistics of Provincial Health Office of Chiang Mai and Chiang Mai University Hospital (CMUH) and from clinical investigations of hospitalized patients in CMUH.

JE was diagnosed definitely by virological methods. Patients with JE tended to have higher fever than those with dengue virus infections. The JE patients showed leukocytosis as well as low Na and low Cl probably due to SIADH. The mean \pm S. D. of cell count in cerebrospinal fluid (CSF) was $249.5 \pm 163.6/\text{mm}^3$; mononuclear cells, $75.2 \pm 24.1\%$; protein content, $67.1 \pm 31.3 \text{ mg/dl}$; glucose level, $60.0 \pm 12.0 \text{ mg/dl}$ (simultaneous blood glucose level, $102.4 \pm 34.4 \text{ mg/dl}$). The CT scan was examined in a few patients with JE and demonstrated generalized brain edema. In diagnosing JE, IgM-ELISA against JE antigen appeared to be more specific and sensitive indicator, especially in CSF.

6 STUDIES ON THE VECTOR MOSQUITOES AND ISOLATION OF JAPANESE ENCEPHALITIS VIRUS AT HILL TRIBE VILLAGES AND AROUND CHIANG MAI CITY IN NORTHERN THAILAND

AKIO MORI¹ AND AKIRA IGARASHI²

Department of Medical Zoology, Nagasaki University School of Medicine¹ and Department of Virology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University²

Vector mosquitoes of Japanese encephalitis (JE) virus were collected by light traps at hill tribe villages and around Chiang Mai City in Northern Thailand in June to July, 1984, and attempts were made to isolate JE virus. In hill tribe villages above 1,200 m altitude, the number of vector mosquitoes collected were not plenty, even when the settlements are located near paddy fields. Around 500 m altitude, the number of vector mosquitoes collected in hill tribe villages were less than that around Chiang Mai City. JE virus was not isolated from mosquitoes collected in hill tribe villages. On the other hand, in the pigsties around Chiang Mai City, JE virus was isolated from 1 pool of *Culex fuscocephala*, 5 pools of *Cx. tritaeniorhynchus* and 1 pool of *Cx. gelidus*. It seems that the transmission of JE virus by vector mosquitoes is more frequent at the beginning of rainy season than in the middle of rainy season.

7 DETECTION OF JAPANESE ENCEPHALITIS VIRUS BY IMMUNE ELECTRON MICROSCOPY FOR RAPID ISOLATION OF VIRUS FROM MOSQUITOES

SATARO FURUI, KENJI WAKAKI AND IWAO TANABE

Section of Bacteriology and Virology, Kyoto Prefectural Institute of Hygienic and Environmental Sciences

Immune electron microscopy (IEM) for detection of Japanese Encephalitis virus (JEV) in C6/36 cell culture was attempted. The method of IEM using staphylococcal protein A performed was our modified procedure of the serum-in-agar diffusion method of Anderson and Doane (1973). In this method, samples consisted of crude culture supernatant were tested directly and were not lysed, purified or concentrated in any way, and many virus particles could be detected. These particles were identified as JEV by enhanced trapping, coagulation and attachment of antibody which showed decoration of virions. These results may indicate that JEV in C6/36 cell culture can be detected by IEM within 1.5 hours.

8 THE INFLUENCE OF SUCKLING MOUSE PASSAGE ON WILD STRAINS OF DENGUE VIRUS TYPE 2

AKIO OHYAMA, YUKIO OHSUGI, KOUHEI MAEDA
AND TOYOKO YOSHIKI

Department of Microbiology, Kansai Medical University

We have reported the pathogenicity and sensitivity of wild type strains of dengue virus type 2 (D-2) by intraperitoneal (i. p.) and intracerebral (i. c.) inoculation into suckling mice. In the present study, plaque size and virulence of 2 wild strains of D-2 were investigated after serial passage in suckling mice.

D-2 wild strains of BR 006 and BR 116, isolated from DHF/DSS patients in Burma, were used. Both strains were passed 4 times in C6/36 cells before use. ICR suckling mice of 1 to 2 days were employed for virus passage, estimated of mortality and histopathological observations. At fixed times after virus inoculation either i. c. or i. p. route, each mouse was killed and the brain was removed. The brain was used for viral titration and measurement of plaque size by plaque assay method using Vero cells. The other brain was subjected to the histopathological observations. These procedures were referred to every suckling mouse passage level.

Results were obtained as follows: 1. Though a few deaths occurred after i. c. inoculation of both strains without any passage in suckling mouse, mortalities increased according to passage levels. By the 10th passage, mortality rate reached 100% after i. c. inoculation of both strains. 2. Virus titers in the brain were rather higher even though the viruses were at the first passage; i. e. 10^{5-6} PFU/g. They also increased according to passage levels. By the 10th passage, they were 10^{8-9} PFU/g. 3. No deaths were seen after i. p. inoculation of both strains by the 9th passage. By the 10th passage, mortalities after infection of both strains increased abruptly; i. e. 20–40%. By the 20th passage, they were 60–80%. 4. The starting materials of both strains had heterogeneous population of plaque size. By the first passage, plaque size of BR 006 showed small size (av. 0.25 mm) and intermediated size (0.93 mm), while those of BR 116 formed mainly intermediate size (0.78 mm). Large size (>1.4 mm) plaques were observed in lower frequency in both strains. By the 10th passage, plaques of BR 006 formed mainly small size (<0.4 mm). Though plaques of BR 116 became smaller like those of BR 006, they were mainly 0.4–0.6 mm (0.53 mm) in size. 5. The BR 006-S clone which was isolated from starting material of BR 006 showed more than 90% of characteristic pinhole sized plaques (0.3 mm) even in the 2nd i. c. passage. 6. The BR 006 was temperature sensitive at 38.5°C when it was passed 10 times in the brain. 7. Both of wild type parent strains produced no striking histological changes in brains after i. c. infection. By the 5th passage, diffuse edema and extensive perivascular cuffs in cortex were observed.

9 EXPERIMENTAL STUDY OF THE AUDITORY DISTURBANCES DUE TO DENGUE VIRUS INFECTION (PRELIMINARY REPORT)

KIICHI SATO, SUSUMU HOTTA AND HIROMI SAKAI

Institute for Tropical Medicine, Kanazawa Medical University

The authors performed experiments to clarify the effects of dengue virus (DV) on the auditory function in mice. Six DDY strain mice received an intracranial injection of mouse-adapted DV (type 1, Mochizuki strain). Besides general observation on each animals, the auditory brainstem response (ABR) was measured for evaluation of auditory function.

The results indicated as follows: The DV infected mice died within only 6 days. The thresholds of ABR in the infected mice were more elevated than control mice, which suggested an auditory dysfunction due to the dengue virus infection. Histologically, marked edema of mucoepithelium in middle ear cavity and mucous effusion were present in the infected mice. There were, however, no remarkable changes in the inner ear under this experimental condition.

10 CLONING OF M RNA OF SNOWSHOE HARE VIRUS (GENUS *BUNYAVIRUS*)

YUKI ESHITA^{1,2} AND DAVID H. L. BISHOP^{1,3}

Department of Microbiology, University of Alabama in Birmingham, USA¹

(Present address: Department of Parasitology, Teikyo University School of Medicine² and National Environment Research Council Institute of Virology, United Kingdom³)

Snowshoe hare (SSH) virus is a member of the bunyaviridae family of arthropod transmitted viruses. The virus has a genome consisting of 3 segments of RNA that are designated on the basis of size differences as small (S), medium (M) and large (L). Genetic and molecular studies have established that the S RNA of SSH virus codes in a viral-complementary sequence for 2 gene products, the nucleocapsid protein (N, 26.8×10^3 Da) and nonstructural protein (NS_S, 10.5×10^3 Da) that are read from overlapping reading frames. A single type of S mRNA species of SSH virus has been identified and shown to have nonviral 5' termini that are some 14 nucleotides in length and are presumably derived from cellular RNA species. Genetic and molecular analyses of the M RNA species of bunyaviruses have demonstrated that it codes for the viral glycoproteins (G1, 115×10^3 Da, G2, 38×10^3 Da) and a second nonstructural protein (NS_M, 15×10^3 Da). It is presumed that the bunyavirus L RNA species codes for the 200×10^3 Da large protein. In order to obtain the complete sequence of SSH M RNA species, we employed the cloning strategy: 1. Virus was grown in monolayers of BHK-21 cells. 2. RNA was recovered from purified virus by extraction with a phenol-8-hydroxyquinoline-*m* cresol-chloroform mixture. 3. Complementary DNA (cDNA) synthesis using oligonucleotide primer, reverse transcriptase (etc.). 4. Molecular cloning of the derived double-stranded DNA into PstI site of the *Escherichia coli* (MC-1061) vector pBR 322. 5. Colonies containing inserted DNA

were screened for the presence of viral DNA by hybridization assay using a ^{32}P -labeled short copy cDNA probe. 6. DNA nucleotide sequences were determined on strand-separated, end-labeled, restriction fragments containing viral DNA sequences by the method of Maxam and Gilbert (1980). And the SSH M RNA sequence results demonstrate that the viral M RNA is 4,527 nucleotides in length, 1.5×10^6 daltons in size.

11 SEQUENCING OF M RNA OF SNOWSHOE HAREVIRUS (GENUS *BUNYAVIRUS*)

YUKI ESHITA^{1,2} AND DAVID H. L. BISHOP^{1,3}

Department of Microbiology, University of Alabama in Birmingham, USA¹

(Present address: Department of Parasitology, Teikyo University School of Medicine²
and National Environment Research Council Institute of Virology, United Kingdom³)

The complete sequence of the viral M RNA (4,527 nucleotides in length) of snowshoe hare virus (genus *Bunyavirus*, family Bunyaviridae) has been determined. The data indicate that a single primary gene product (the viral glycoprotein) is coded in one reading frame of the viral complementary sequence. No other large open reading frames have been identified in either the viral, or viral-complementary, M RNA sequences. The protein is comprised of 1,441 amino acids in length, has a +27 charge, and a size of 162,391 daltons. Some 5% of the amino acid residues of this protein are cysteins, although which are involved in intramolecular S-S linkaged is not known. Only 5 asparagine-linked glycosylation sites are predicted from the sequence, 4 are located in the amino terminal half of the protein. Examination of the sequence of the M gene product reveals the presence of an 18 residue amino acid terminal hydrophobic sequence (putative signal) and a much longer 32 amino acid carboxy proximal hydrophobic region that is followed by a terminal sequence rich in charge amino acids (12 out of 20 residues). The size and constitution of the carboxy end regions are consistent with a transmembranal and anchor function for the glycoprotein in the viral envelop. In addition to the terminal hydrophobic sequences, a localized internal region of the gene product contains several hydrophobic sequences, 15 to 29 amino acids in length. They may function to prevent the viral glycoprotein from leaving the Golgi apparatus (the site of virus maturation). Like the S RNA of snowshoe hare virus, the non-coding sequence at the 5' end of the M viral-complementary RNA (message sense RNA) is shorter (61 nucleotides) than the 3' non-coding sequence (142 nucleotides). Both RNAs have similar 3' proximal purine rich sequences that may as transcription terminators.

**12 TRANSMISSION ELECTRONMICROSCOPY ON *PNEUMOCYSTIS*
CARINII AND *PNEUMOCYSTIS CARINII*
PNEUMONIA IN NUDE MICE**

MINORU YAMADA, YOSHITSUGU MATSUMOTO, HISAO YOSHIKAWA
AND YUKIO YOSHIDA

Department of Medical Zoology, Kyoto Prefectural University of Medicine

The present paper showed the morphology, life cycle, and behavior of *Pneumocystis carinii* (Pc) in nude mice by transmission electronmicroscopy. The interaction between Pc and host cells was also studied. 1. The organisms usually lived on type I alveolar epithelial cells with close contact to them in the alveolar lining layer. They were not found on type II cells which have microvilli. They were rarely found subepithelially. 2. Phagocytosis of the organism by alveolar macrophage and neutrophil was frequently seen in the alveolar lumen. 3. It is of interest to note that there were tremendous trophozoites but few cysts and precysts in nude mice compared with the results in rats and man. On the other hand, we frequently found the trophozoites which had two nuclei or those in the course of nuclear division. From the results, it is suggested that development of Pc in nude mice is mainly taken place by trophozoite to trophozoite cycle probably by binary fission in contrast to that of Pc in rats in which trophozoite to cyst cycle is predominant.

**13 FINE STRUCTURE OF *PNEUMOCYSTIS CARINII* BY FREEZE-
FRACTURE METHOD I. CYTOPLASMIC ORGANELLES
IN THE TROPHOZOITE**

HISAO YOSHIKAWA¹, YUKIO YOSHIDA¹ AND HIROYUKI MORIOKA²
Department of Medical Zoology¹ and Electron Microscope Laboratory²,
Kyoto Prefectural University of Medicine

With the freeze-fracture, inner or outer membrane halves or fractured surfaces of the cytoplasmic organelles can be seen when replication cells have cleaved through the cytoplasm of the trophozoite.

Nucleus can be easily identified by the presence of typical nuclear pores. The mean number and mean size of the pores examined on 50 cells were $8/\mu\text{m}^2$ and 95 nm in diameter respectively. The number of nuclear pores in *P. carinii* was fewer than that of other human pathogenic protozoa reported until now. In general, high frequency of pores means active function of the nucleus. Our results suggest that *P. carinii* has less active nucleus compared with other protozoa.

Distribution of the intramembranous particles (IMP) of nuclear envelope was heterogeneous on P face, whereas it was homogeneous on E face. The distribution of IMP in endoplasmic reticula was similar to that of the nucleus both on P and E faces. In outer mitochondrial

membrane, IMP showed somewhat heterogeneous distribution both on P and E faces.

In the cytoplasm, there were many cytoplasmic vacuoles, which were varied in size and shape. These vacuoles could be divided into 2 types, one has IMP and the other not.

14 ANTI-PARASITE ACTIVITY OF NUCLEOSIDE ANALOGS IN THE PROMASTIGOTE OF *LEISHMANIA TROPICA* AND *LEISHMANIA DONOVANI*

OSAMU HIRAOKA¹, HIROYASU SATAKE¹, YUSUKE WATAYA¹,
AKIRA MATSUDA² AND TOHRU UEDA²

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Okayama University¹ and Faculty of
Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University²

A promising approach for developing chemotherapeutic agents that possess selective toxicity toward parasites is the one based on certain unique features in structure or function of the parasite that differ from those of the host cells. *L. tropica* and *L. donovani* are incapable of synthesizing purines *de novo* and are thus dependent on the host for the source of purines. One hundred thirty nucleoside analogs were tested in the anti-*Leishmania* assay. The results show that 3'-deoxyinosine is a potent inhibitor for the growth of the promastigote of *L. tropica* and *L. donovani*. 3'-Deoxyinosine is metabolized into cordycepin-5'-mono-, di-, and tri-phosphates. This metabolic conversion provides a mechanism for the parasite-selective toxicity of 3'-deoxyinosine: *Leishmania* can aminate the 6-position of 3'-deoxyinosine, thereby converting the nucleoside with a low toxicity into the cordycepin nucleotides that are highly toxic to cells. In this screening, some features in the structure activity relationship have emerged. 1) Nucleosides that are effective have either ribose or 3-deoxyribose as their sugar component, whereas those with 2-deoxyribose are ineffective. 2) The pyrimidine nucleosides are not effective.

15 CULTURE OF BLOODSTREAM FORMS OF *TRYPANOSOMA BRUCEI* *GAMBIENSE*; EFFECT OF MOUSE FIBROBLASTS FROM VARIOUS ORGANS

PETER JOHN MHANDO, TETSUO YANAGI, SHUSUKE NAKAZAWA,
TOSHIHIDE FUKUMA AND HIROJI KANBARA

Department of Protozoology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

Since Hirumi *et al.* (1977) had succeeded in continuous cultivation of bloodstream forms of *Trypanosoma brucei brucei* using feeder layers of bovine fibroblast-like cells, several researchers successfully cultivated *T. b.* species using various mammalian cells and sera which were scarcely available in common laboratories. In the present experiment we attempted to simplify the culture system for the cultivation of *T. b. gambiense* by using fibroblasts from mouse, fetal bovine and calf sera which are available in most laboratories, and to examine the ability of fibroblasts

isolated from various organs of mouse in supporting the growth of bloodstream forms of the parasites.

The modified system consists of a feeder layer of new fibroblasts derived from different organs of ICR mouse, MEM supplemented with 5% fetal bovine serum and 5% calf serum. The new fibroblasts were used for experiments within 3 months after the initial cultivation. Cultures were initiated with bloodstream forms from infected ICR mice. Stable propagation of trypanosomes was maintained in new fibroblasts derived from brain and muscles through experimental period (2 months), and a final density 2×10^7 parasites/ml was continuously obtained every day from them. New fibroblasts from the heart, kidney and skin, L-cell and established fibroblasts from muscles couldn't support the growth. Trypanosomes were observed to penetrate and move actively between the fibroblasts of feeder layers derived from the brain and muscles, but scarcely in fibroblasts from other sources. These cultured parasites were infective for mice and retained the morphological characteristics of bloodstream forms under light microscopic observation.

16 STUDIES ON THE MECHANISM OF NATURAL RESISTANCE OF SPRAGUE-DAWLEY RATS TO THE INFECTION WITH *TRYPANOSOMA CRUZI*

SACHIO MIURA, TSUTOMU TAKEUCHI, KEIZO ASAMI,
SEIKI KOBAYASHI AND EIICHI OKUZAWA

Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University

We have previously demonstrated that Sprague-Dawley athymic nude (rnu/rnu) rats are highly susceptible to the infection with *Trypanosoma cruzi*, while the parasites are cleared from the heterozygous, thymus-bearing littermates (rnu/+). Moreover, we have found that macrophages may be responsible, at least partially, for the resistance of littermates against *T. cruzi* infection through electron microscopic studies. To investigate further the cellular mechanism of the resistance, production of such active oxygen derivatives as superoxide of macrophages were compared between nude rats and the littermates by determining luminol dependent chemiluminescence (CL) which is produced during ingestion in phagolysosomes. Macrophages were cultivated at 37°C in Hank's solution supplemented with 5% FCS using a CO₂ incubator. Trypomastigotes of *T. cruzi* (Tulahuen strain) were isolated with DEAE cellulose (Whatman DE52) column chromatography. Glutaraldehyde-fixed trypomastigotes and viable epimastigotes as well as FMLP were also employed for investigating phagocytic activity. The intensity of CL were determined by Luminophotometer (Lab Science).

Light microscopically, significantly more amastigotes of *T. cruzi* were found in macrophages of nude rats than those of the littermates. The amount of CL was also significantly higher in macrophages of the littermates than those of the nude rats, suggesting production of higher amounts of superoxide and related compound in the former. The CL values by epimastigotes were much lower than those by trypomastigotes. These data suggest that phagocytic ability may be responsible for the difference in the susceptibility of these rats to *T. cruzi*.

17 WITH TIME CHANGES OF LYMPHOCYTES AFTER *BABESIA* INFECTION IN MICE PRETREATED WITH *TOXOPLASMA* LYSATE ANTIGEN

TADATOSHI MIYAGAMI¹, SHIN-ICHI SEKIGUCHI¹, HARUHISA SAKURAI¹,
ATSUSHI SAITO¹, MOTOYOSHI SATO², TSUNEO HIROSE²
AND NAOYOSHI SUZUKI¹

Department of Veterinary Physiology¹ and Department of
Clinical Radiology², Obihiro University

It has been reported that *Toxoplasma* lysate antigen shows nonspecific resistance to babesiosis in rodents. The aim of the present study was to clarify the histological changes in mice which were treated with TLA and infected with *Babesia rodhaini*. ICR/JCL (8 weeks old) mice were injected with 100 μ g of TLA which was emulsified in light mineral oil twice with a 2 weeks' interval. Two weeks after the last injection, the mice were inoculated (i. p.) with 10² parasitized erythrocytes. In TLA treated mice, thymi were larger than in untreated control mice 1 day before the infection. In the course of infection, atrophy of the thymus was observed in both treated and untreated mice and the number of thymocytes decreased in both groups. There was no significant difference in the rate of decrease between 2 groups. Ten days after the infection, there were more than 3 times as many Thy-1(+) cells in the spleen in the treated group as in the untreated group.

In the liver, the number of Thy-1(+) cells in the treated group increased and about 70% of the mononuclear cells were Thy-1(+) cells.

Histological and immunofluorescence observation showed that the mononuclear cells highly accumulated in the liver in the treated group were mostly T-cells but this finding was not seen in untreated controls. The increase of T-cells in the spleen and liver and the decrease of those in the thymus suggest that T-lymphocytes may be released from the thymus and carried to the spleen and liver by the blood circulation. Histological damages induced by the infection were milder in TLA treated group than in untreated control group. These results suggest that TLA has some potential that may induce the activation of T-cells and other mononuclear cells and the increase of the immune response against the *Babesia* infection in the host.

18 ON ANNUAL CHANGE IN ANTIBODY LEVEL TO *TOXOPLASMA GONDII* IN HUMANS

JUNKO TAKAHASHI, EIJI KONISHI AND TAKEO MATSUMURA
Department of Medical Zoology, Kobe University School of Medicine

Quantitation of antibody to *Toxoplasma gondii* in 636 paired sera collected from general inhabitants in Miki City was carried out by enzyme-linked immunosorbent assay to study annual change in antibody level. Increase of 0.1 or more in ELISA value was observed in 13 samples

(2.0%) and decrease of 0.1 or more in 27 samples (4.3%), which corresponded to 10.9% and 22.7% of positive samples, respectively. Mean ELISA values of samples with increase (0.496) and decrease (0.920) were significantly different. Mean annual change was 0.273 in increase and 0.204 in decrease. Samples ranged from 0.2 to 0.8 in ELISA value before they increased and samples were 0.3 or more before they decreased. Proportion of samples with decrease increased with increase of their antibody level, and reached 100% at ELISA value of 1.6, in contrast to samples with increase where the proportion did not exceed 20%. This result well provides theoretical interpretation for maintenance of the bimodal pattern in frequency distribution of ELISA values, especially for the consistent mean ELISA value in positive individuals of various ages.

19 STUDIES OF *SPIROMETRA ERINACEI* IN A NEW EXPERIMENTAL HOST, GOLDEN HAMSTER

AKIHIKO UCHIDA AND YOSHIHIKO MURATA

Department of Environmental Biology, Azabu University

Natural infection with *Spirometra erinacei* has been in a few animals of the family Canis and Felis. The experimental infected worms revealed the morphological characteristics of coiled uteri, separated vaginal opening from the cirrus sac, distribution of testes at the junction between proglottides, asymmetrical eggs with one pointed eggs etc., and were identified as *Spirometra erinacei* (Rud, 1819). This study was undertaken to determine whether or not a Golden hamster could be the final host for *Spirometra erinacei*.

20 MIGRATION AND DISTRIBUTION OF SPARGANA IN THE BODY OF EXPERIMENTALLY INFECTED ANIMALS AND PRESENCE OF EOSINOPHILES IN PERIPHERAL BLOOD OF RATS

AKIHIKO UCHIDA, MAYUMI HORIKAWA AND KIKUE UCHIDA

Department of Environmental Biology, Azabu University

The migration and distribution pattern of Spargana in mouse and chicken bodies was observed after experimental infection through mouth. The migration route of mice, abdominal cavity→subcutaneous tissue→muscles and chickens, Route I. abdominal cavity→subcutaneous tissue, Route II. abdominal cavity→branch→subcutaneous tissue. Eosinophiles increased abruptly from week 1 and reached a maximum at week 2 after infection. After that, they decreased gradually till week 7, and again they increased and reached a maximum at week 9. The eosinophile number became normal at week 11 after infection.

21 A COMPARATIVE STUDY OF EOSINOPHIL AND NEUTROPHIL CHEMOTACTIC ACTIVITIES OF VARIOUS HELMINTH PARASITES

YOICHIRO HORII¹, HIROKUNI NAKANISHI¹, KOICHIRO FUJITA¹,
MAKOTO OWHASHI² AND AKIRA ISHII³

Department of Medical Zoology, Nagasaki University School of Medicine¹, Department
of Parasitology, Miyazaki Medical College² and Department of
Parasitology, Okayama University Medical School³

Eosinophil and neutrophil chemotactic activities of various species of helminth parasites were examined using blind-well chemotaxis chambers, Millipore filters and guinea pig peritoneal exudate cells as the indicator cells. *Spirometra erinacei*, *Gnathostoma dororesi*, *Paragonimus westermani*, *P. miyazakii*, *Schistosoma japonicum* eggs and Japanese strain of *Fasciola* sp. showed strong eosinophil chemotactic activity. It has been well known that these were tissue-invading parasites and they induce severe eosinophil infiltrations in the host tissues. Parasite-derived eosinophil chemotactic factors detected in the present study well account for the eosinophil accumulations in the lesions caused by parasites. In contrast, *Dirofilaria immitis* did not show any detectable eosinophil chemotactic activity. On the other hand, all of the present parasites showed strong neutrophil chemotactic activity. These neutrophil chemotactic activities might be contributed to neutrophil accumulations around the invading parasites, especially in early phase of infection.

22 INFLUENCE OF EGG-GRANULOMAS ON THE ACTIVITIES OF LIVER UREA CYCLE ENZYMES IN MICE INFECTED WITH *SCHISTOSOMA MANSONI*

MASANOBU TANABE, NOBUAKI KANEKO, TSUTOMU TAKEUCHI
AND KEIZO ASAMI

Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University

We have already demonstrated that the activities of urea cycle enzymes, i. e., carbamoyl phosphate synthetase I (CPS-I), ornithine carbamyltransferase (OTC) and arginase, were significantly reduced during the course of the infection with *S. mansoni*. To clarify the mechanism of the reduction of these enzymatic activities, following experiments were attempted. Intraperitoneal implantation of intact granulomas isolated from the liver of infected mice into normal female ICR mice caused a significant reduction of CPS-I activities. Although intraperitoneal injection of egg homogenate, crude extract of normal liver, spleen cells or spleen crude extract prepared from non-infected normal mice had no effect on the activity of CPS-I in mice, injection of spleen cells or spleen crude extract isolated from infected mice, and of crude extract of granulomas showed a significant decrease in the activity of CPS-I. The crude extract of granu-

lomas also functioned in the same manner on primary culture of mouse hepatocytes *in vitro*. Moreover, the supernatant fluid isolated by centrifugation of serum-free culture media of granulomas significantly diminished the CPS-I activity in the injected mice. The active material(s) was partially purified by ammonium sulfate fractionation, DEAE-Cellulofine column chromatography and Cellulofine gel filtration from crude extract of granulomas. These evidences indicate that egg-granulomas and spleen cells may contain a material(s), which influences the activities of urea cycle enzymes in the hepatocytes.

23 MUTAGENICITY OF EGG- AND ADULT WORM-EXTRACTS OF *SCHISTOSOMA JAPONICUM*

AKIRA ISHII¹, HIROYUKI MATSUOKA¹, TOSHIKI AJI¹, HIKOYA HAYATSU²,
YUSUKE WATAYA² AND SAGAE ARIMOTO²

Department of Parasitology, Okayama University Medical School¹ and Department of
Bio-organic Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Okayama University²

In relation to carcinogenesis in Schistosome infections, we have examined mutagenicity of egg and adult worm extracts of *Schistosoma japonicum* (SEA and SAWA) by using the Ames test. Mutation of *Salmonella typhimurium* strain TA98 and TA100 was assayed with or without addition of the liver microsome fraction (S-9). At the amounts of 1–400 $\mu\text{g}/\text{plate}$ of SEA and 4.4–1,100 $\mu\text{g}/\text{plate}$ of SAWA, no conspicuous enhancement was observed. In addition, mutation of the other strains — *S. t.* strain TA97, TA102, *Escherichia coli* strain WP2 and WP2uvrA pKM101 — to SEA was examined. They also showed no mutation. Since it is said that some unsaturated fatty acids interrupt the appearance of mutagenicity in the Ames test, we used an adsorbent blue-cotton (Funakoshi Pharmaceutical Co., Tokyo, Japan) to absorb mutagens from SEA and SAWA. However no mutagen was absorbed from these extracts.

S-9 activities of the livers of C3H mice infected with *S. j.* were examined. Liver S-9s were prepared from infected and uninfected mice sacrificed at 7, 9, 11, 13 and 15 weeks after infection. The Ames test was carried out using 100 nmoles/plate of 2-acetylaminofluorene (2AAF) with each S-9 preparations. With 7, 9 and 11 weeks S-9 preparations, no difference was detected between the liver S-9s from infected and uninfected mice using *S. t.* strain TA98. However, with 13 and 15 weeks S-9 preparations, the number of His⁺ revertants using infected mice S-9s were fewer than those using uninfected mice S-9s. It showed that S-9 preparations from the livers of *S. j.* infected mice could induce less 2AAF mutagenic activity than the livers from uninfected mice. The same result was obtained by using aflatoxin B₁ instead of 2AAF.

24 ANTIGENIC DIFFERENCES AMONG HUMAN SCHISTOSOME SPECIES AND STAGE DETECTED BY ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY (ELISA)

YO-ICHI ITO

Department of Parasitology, Kitasato University School of Medicine

The use of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) has been contemplated for serodiagnosis and seroepidemiological studies in endemic areas of schistosomiasis. But little information is available relating the presence of crossreactivities between the antigens derived from human schistosome species and the different stages of the parasite. The present study was designed to know the crossreactivities between the antigens from *S. mansoni* and *S. japonicum* and sera from mice infected with schistosomes or immunized by antigens. Preparation of antigens for the test: Four crude soluble antigens used in this assay were prepared from *S. mansoni* adults and eggs and *S. japonicum* adults and eggs obtained from infected mice (Sm-AWA, Sm-SEA, Sj-AWA and Sj-SEA respectively). These lyophilized organisms were ground in a teflon-glass homogenizer into cold ether and the homogenate was centrifuged at 3,000 rpm for 15 minutes. After these precipitates were also homogenated with 0.05 M phosphate buffered saline, pH 7.2, they were extracted at 4°C overnight. Supernatant materials were obtained by the centrifugation at 10,000 rpm for one hour and dialyzed against PBS. Sera: Serum samples were collected from mice immunized with Sm-AWA or Sm-SEA, and infected with 250 *S. mansoni* cercariae/mouse 57 days before or 50 *S. japonicum* cercariae/mouse 4 months before serum collection. ELISA was performed in microtiter trays using horse radish peroxidase-conjugated protein A, anti-mouse IgG, IgM, IgG1, IgG2a or IgG2b rabbit sera. Results: Using with Sm-SEA and labeled protein A, all sera except sera from Sm-AWA immunized mice had specific antibody detectable in the ELISA. But with S-AWA only AWA-immunized mice sera showed the antibody response. Specific antibody to Sj-SEA was high in the sera from *S. japonicum* infected mice. When anti-mouse IgG1 rabbit sera was used as the labeled sera, every antigen showed a strong reactivity against all anti-sera using in this experiments.

25 EFFICACY OF METRIFONATE IN SCHISTOSOMIASIS HAEMATOBIIUM

KATSUYUKI SATO¹, SHIN-ICHI NODA², MASAOKI SHIMADA¹,
N. MUHOHO³, YOSHIKI AOKI¹ AND ATSUO SATO²

Department of Parasitology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University¹,

Department of Medical Zoology, School of Medicine, Kagoshima University²

and Kenya Medical Research Institute, Kenya³

Selective population chemotherapy with Metrifonate was carried out at Mwachinga village (population about 1,200) at Coast Province in Kenya, in February and March, 1984. The

regimen was 3 doses of 7.5 mg/kg administered at intervals of 2 weeks interval. Four months after the completion of treatment, the villagers were re-examined for eggs in urine. The prevalence and intensity of infection before treatment were 69% and 53 eggs/hour (geometric mean). The corresponding values after treatment were 53% and 9 eggs/hr. The parasitological cure rate was 23.2% for patients who received one dose, 31.8% for those who received 2 doses and 38.5% for those who received 3 doses. The cure rates of male and female patients were 31.4 and 38.9% respectively. The cure rate differs much by the level of intensity of infection before treatment. The rates were 70% for the patients with less than 10 eggs/hr and 15.1% for those with more than 1,000 eggs/hr. When the parasitological cure rate was compared between the children and adults who had the same level of intensity of infection before treatment, much lower cure rate was observed in children. The degree of reduction in egg excretion was also smaller in children than in adults.

26 EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF SCHISTOSOMIASIS ON BOHOL, THE PHILIPPINES

HIROSHI TANAKA¹, HAJIME MATSUDA¹, KAZUO YASURAOKA², YUJI IRIE²,
KUNIOKI ARAKI³, HARUO KAMIYA⁴, HIROSHI SHIMOMURA⁵,
MINORU NAKAO⁶, ALFREDO T. SANTOS, JR.⁷,
JULIAN S. NOSEÑAS⁷ AND BAYANI L. BLAS⁷

Department of Parasitology, Institute of Medical Science, The University of Tokyo¹, Department of Parasitology, Institute of Basic Medical Sciences, University of Tsukuba², Laboratory of Parasitology, Institute of Public Health³, Department of Parasitology, Akita University⁴, Department of Parasitology, Hiroshima University⁵, Department of Parasitology, Asahikawa Medical College⁶, and Schistosomiasis Control and Research Service, Ministry of Health, the Philippines⁷

Schistosomiasis japonica on Bohol Island, the Philippines is infested at restricted north eastern areas in 2 municipalities, Trinidad and Talibon, where 6,000 of population are living under risk. Snails are infested on restricted areas of small waters therein. A schistosomiasis control project aiming eradication was commenced in 1981 by means of case detection, selective mass chemotherapy with Praziquantel and mollusciciding.

By 1984, household surveys were completed in 6 villages, San Roque, Sto. Tomas, M. Cabigohan, San Agustin, San Vicente and Kinan-oan, and 1,109 households and 5,735 dwellers were registered, putting the ID number to households and individual persons. Stools were examined for schistosome eggs in 4,117 dwellers and eggs were detected in 210 persons or 5.1%. The number of egg positives increased much with repetition of examinations by the cellophane thick smear method (Kato-Katz) for the same population. By trials with different detection methods, it was considered that the case detection was most efficiently performed by egg detection in a limited population screened by COP test.

Patients were treated with Praziquantel at the Rural Health Office and a total of 475 people including suspected cases who showed only positive COP reactions was treated by the end of 1984.

Snail surveys were conducted at 4 water path ways, Omaguin, Kinan-oan, Kasilion and Caombokan and snails were controled by mollusciciding after cutting vegetation at snail habitat. In 1983 and 1984, synthetic molluscicides, niclosamide and phebrol and plant molluscicide from *Jatropha curcas* seeds were sprayed at snail infested areas and it would be necessary to molluscicide a few times a year to make successful snail control.

Discovery of a new snail habitat from the epidemiological analysis was peculiar aspect to this project. The distribution of COP reaction positives at San Vicente in 1984 indicated the presence of a new snail colony. By surveys of doubtful waters, a new snail colony was readily found at and around Palawan Swamps at Apao creek, the cercaria positive rate was found to be as high as 8.8% of collected snails and the colony was proven to be the source of infection in this village.

27 ESTABLISHMENT OF A FIELD RESEARCH CENTRE FOR SURVEILLANCE ON COMMON COMMUNICABLE DISEASES AND MALNUTRITION IN A RURAL VILLAGE IN GHANA

SHIN ISOMURA¹, RICHARD B. BIRITWUM² AND ADELINE ASOKU²

Department of Pediatrics, Nagoya University School of Medicine¹,
Noguchi Institute, Ghana University Medical School²

A trial to establish a primary health care centre aiming prospective field research on prevalence of common communicable diseases and on incidence of malnutritions in children in a tropical rural area was carried out in a farm village, Gomoa Fetteh, in Central Region of Ghana, West Africa. Followed by a preliminary cultural and socio-economical background survey beginning with registration of inhabitants, active surveillance on growth and infectious diseases, including diarrheal episodes have been carried out since August 1982; the preschool children are examined weekly and are monitored on growth and infectious diseases. Since October 1982, immunizations with OPV, DPT and measles were started in children under 3 years of age. To establish and maintain a good coverage of the well baby clinic and to get good immunization acceptance rate, there revealed many problems related to health education on primary health care through these clinical activities in the village.

28 A SERO-EPIDEMIOLOGICAL STUDY ON COMMON COMMUNICABLE DISEASES IN CHILDREN AGED 3 MONTHS-3 YEARS IN A RURAL VILLAGE IN GHANA, WEST AFRICA

SHIN ISOMURA¹, RICHARD B. BIRITWUM², HIDEAKI YAMAGUCHI¹,
MASANORI TOBA³, KUNIAKI NEROME⁴, YUUJI SATO⁴
AND MAKOTO ITO⁵

Department Pediatrics, Nagoya University School of Medicine¹, Noguchi Institute, Ghana
University Medical School², Department of Public Health, Yokohama City University
School of Medicine³, National Institute of Health, Tokyo⁴ and Department of
Medical Zoology, Nagoya City University⁵

Serological surveillances on measles, pertussis, poliovirus type 1, 2, 3, rotavirus and parainfluenza virus type 1, 2, 3 were carried out in a rural village in Central Region of Ghana, West Africa, where no immunization had been done previously. A total of 128 children, more than 90% of registered inhabitants aged between 3 months and 3 years in the village participated blood sampling from Oct. 1982 to Mar. 1983. Age distribution of IAHA antibody against rotavirus disclosed the occurrence of rotavirus infection in the early infancy and the prevalence of the virus in almost all the children by 3 years of age. Antibodies against measles (HI), polio 1, 2, 3 (NT), and parainfl. 1, 3 (HI) after natural infections were also detected in some children as early as infancy but others remained as seronegatives until 3 years of age. Household clusterings of the seropositives were observed on these viral infections. Most children studied were seronegative for pertussis (ELISA) and parainfl. 2 (HI), suggestive for no recent outbreaks of the diseases in the community.

29 AN EPIDEMICAL SURVEY IN MALAWI

TOMOKO KIMURA¹ AND SHINKICHI AKAO²

Japan Overseas Cooperation Volunteers, OG¹ and Department of
Parasitology, National Defense Medical College²

There are lot of people infected by bilharziasis with the other parasitic disease in Malawi. Bilharziasis is now endemic in almost all countries of Africa. The infection is acquired through the skin at places, river, pond and lake where people contact with fresh water during washing, drowing, bathing, fishing, farming and recreational activities. On the other hand, they always have possibilities to get infections. The human infection levels are very high and heavy infection with parasites, occurring mainly in children, cause the actual disease.

In the laboratory of Bilharzia Survey, the eggs has been counted using a plate with hole which measures the amount of stool. Specimens were collected every 2 to 3 month from primary school students (from standard 1 to 8) in Salima, and checked prevalence through the year. Also the differences of between pretreatment and after given drug treatment to the student was checked.

30 THE EXPERIENCE OF THE PROVIDED MEDICAL CARE BY THE THIRD TEAM OF JMTDR ON THE ETHIOPIAN DROUGHT PEOPLE IN THE CAMP OF ADYHRUS SHELTER AT MAKALE

SHOKICHI TANI¹, ETSUJI OKUMURA² AND YATSUKA IMAGAWA³

Department of Medical Zoology, Kanazawa Medical University¹, Department of Health Science,
Kohchi-Gakuen Paramedical College² and Department of Infectious Disease Clinic,
The Bokuto Metropolitan Hospital of Tokyo

The 3rd team of JMTDR (Japan Medical Team for Disaster Relief) had joined with disaster relief to the Ethiopian drought people in the ADYHRUS Shelter Camp at Makale from Jan. 23 to Feb. 27, 1985. Our team had provided primary medical care on 351 inpatients from Jan. 24 to Feb. 23. Out of the 351 patients treated with the first aids, 38 patients died. The major causes of death included the disease of severe malnutrition with marked dehydration, relapsing fever and dysentery. Most prevalent diseases were relapsing fever, dysentery and pneumonia. Most of the diseases of the drought people in the camp were infectious diseases, which could be treated with popular antibiotic therapy.

31 INFECTION RATE OF INTESTINAL PROTOZOAS AND HELMINTHS OF JAPANESE IN THE TROPICAL UNDERDEVELOPING COUNTRIES. RECENT TWO YEARS OBSERVATION

KOICHIRO FUJITA¹, SETSUKO TSUKIDATE¹, KENJI KUROKAWA¹, HIROKUNI NAKANISHI¹,
YOICHIRO HORII¹, MASATOSHI SUGIYAMA², YOSHIYUKI OKUWAKI³,
YASUKO OGASAWARA⁴ AND TAKEO ASAKURA⁴

Department of Medical Zoology, Nagasaki University School of Medicine¹, Department of
Hygiene, Juntendo University School of Medicine², Department of Microbiology,
Kagawa Nutrition College³ and Japan Association for Tropical Medicine⁴

Many Japanese inhabit in tropical countries and some of them are suffering from infectious diseases. In order to know the prevalence of these diseases, we have examined the infection rates of intestinal protozoas and helminths among the Japanese who stayed in these countries, and we reported here the recent 2 years' results. In protozoa infection, higher infection rates were observed in the Japanese living in Thailand, Philippine, Turkey and Jordan. Infection rate of *Giardia lamblia* was especially high. The most important result was that 2 healthy persons of Philippine had cysts of *Entamoeba histolytica*. In helminth infection, people in Indonesia and in Egypt showed highest infection rates. Namely, in Indonesia, infections of *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* was observed frequently, on the other hand, in Egypt, infection of *Heterophyes heterophyes nocens* was prominent. *Enterobius vermicularis* infection was found in highest frequency among Japanese children in the more developing countries, such as Hong Kong and Singapore.

32 DISEASES OF JAPANESE RESIDENTS IN WEST AND EAST AFRICAN COUNTRIES—REPORT OF TRAVELLING MEDICAL CONSULTATION

NAOTO RIKITOMI, TSUYOSHI NAGATAKE, SHINSHI YAMAMOTO,
KENJI TSUCHIHASHI, HIROSHI SUZUKI
AND KEIZO MATSUMOTO

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

Travelling medical consultation has been conducted for Japanese residents in East and West Africa by our group dispatched from the Ministry of Foreign Affairs since 1981. In 1985, medical consultation was done in West Africa (Zaire, Cameroon, Gabon, Central Africa, Senegal, Morocco). Two hundred and two persons were examined, and 47% of them were suffering from some diseases. In adults, diseases of the liver, mainly due to drinking (7 persons), gastritis (7) including peptic ulcer (3) and hypertension (7) were prevalent. Five persons had episodes of Malaria. In adult female, hyperventilation syndrome (1), amenorrhoe (1), and hair loss (1) probably caused by mental problem were observed.

Comparing West Africa (Zaire, Gabon, Cameroon, Ivory Coast, Central Africa, Nigeria, Senegal, Morocco) from 1982 to 1983, with East Africa (Sudan, Ethiopia, Kenya, Tanzania, Zambia, Zimbabwe, Madagascar) from 1984 to 1985, the ratio of people suffering from diseases was 47.3% and 43.7% respectively.

In West Africa, gastrointestinal diseases (16.5%), skin diseases (16.4%), respiratory diseases (14.8%), urogenital diseases (11.5%), and infection or parasitic diseases (10.9%) ranked high, while in East Africa infection or parasitic diseases (18.8%), cardiovascular diseases (15.9%), respiratory diseases (12.9%), skin diseases (12.9%), and gastro-intestinal diseases ranked high.

In all countries, malaria or other tropical infectious diseases were observed fewer than we had expected.

33 MENTAL HEALTH CONTROL OF THE LONG TERM SOJOURNERS IN THE DEVELOPING COUNTRIES

HIROSHI OHARA¹, ISAO EBISAWA¹, MITSUYO OMOTE²,
SUGISHI OHTANI² AND JUN SUGAMATA³

Department of Public Health, Toho University, School of Medicine¹, Headquarters of
the Japan Overseas Cooperation Volunteers² and Department of
Psychiatry, Hatsuishi Hospital³

It is often experienced that various kinds of psychogenic reactions or psychosis occur induced by mal-adaptation, when one lives in the districts in which the living environment, climate and language are all different from those in Japan.

In the present study investigations were made on the cases of mental diseases which occurred among the Japan Overseas Cooperation Volunteers during their stay in the developing countries. In 1984, 2 cases of schizophrenia and one case of psychogenic reaction occurred and came home for treatment, but minor cases are estimated to be more. The results of Todai personality inventory (TPI) tests which were performed before their assignment were not well correlated with the occurrence of mental diseases. The results of health investigation conducted on the volunteers staying in West African countries revealed that considerably high percentage of them were complaining of mental fatigue or hypochondriasis.

It is concluded that mental health control is as important as the prevention against infectious diseases, when Japanese stay in such districts.

34 HEALTH STATUS OF VIETNAMESE REFUGEES IN NARA PREFECTURE

TOSHIMASA NISHIYAMA¹, TAKEHIKO SEGAWA¹, TAKAKO UNO¹,
HIROSHI MORITA¹, JUNKO FURUKI¹, YUZO TAKAHASHI¹,
KANJI AKAZAWA², HIROYUKI AMANO³
AND TSUNEJI ARAKI¹

Department of Parasitology, Nara Medical University¹, Kansai Medical Laboratory,
Osaka² and Department of Overseas Medical Services, Tenri Hospital³

During 1983 and 1984, health status of Vietnamese refugees (1983: 56 cases, 1984: 27 cases) in Nara Prefecture was studied by several means, including physical examination, peripheral blood analysis, EKG, feces examination of helminths, skin tests of *Paragonimus westermani* and *Schistosoma japonicum* and serum examination against *Entameba histolytica*.

The results in 1983 was as follows: 7 (14.9%) positive for HBsAg, 13 (27.7%) positive for HBsAb, 5 (10.4%) positive for *T. pallidum*, 13 (27.7%) cases with leucocytosis, 11 (23.4%) cases with eosinophilia, 33 (70.2%) cases with high level IgE, 8 (14.3%) ova-positive for whipworm, 7 (12.5%) ova-positive for hookworm, 3 (5.4%) ova-positive for roundworm, 4 (8.5%) skin-test-positive for *Schistosoma*, 9 (19.1%) Ab-positive for *E. histolytica*. And the results in 1984 was follows: 1 (4.8%) positive for HBsAg, 3 (14.3%) positive HBsAb, 1 (4.8%) positive for *T. pallidum*, 5 (23.8%) cases with leucocytosis, 4 (19.0%) cases with eosinophilia, 13 (61.9%) cases with high level IgE, 4 (13.8%) ova-positive for whipworm, 1 (3.4%) ova-positive for roundworm and 3 (14.3%) Ab-positive for *E. histolytica*.

Anemia and hypoalbuminemia were not detected in refugees in both years.

In conclusion, the results were characterized by higher prevalence of infection with several intestinal parasites, HB virus, *E. histolytica* and *T. pallidum* compared with Japanese population.

35 MEDICAL EXCHANGE ACTIVITY BETWEEN JAPAN AND DEVELOPING COUNTRIES

SABURO UCHIYAMA, NAKO FURUKAWA AND SEIZO IWAI

International Center for Medical Research, Kobe University School of Medicine

For the purpose of surveying the medical exchange activity between Japan and developing countries, questionnairing was conducted in 155 medical, educational and research institutes in Japan. About 70% of the questionnaire was replied, and their answers are summarized as follows:

1. On the table of regions, Southeast Asian countries are given much weight. Middle-South American countries, the number of whose countries being the most, the number of their Japanese counterparts and the research themes are numerous. However, most of the researchers actually taking place in the exchange are from those Asian countries whose geographical location are near Japan.

2. On the table of research theme, these on pathogenic microbiology, infectious diseases, contagious diseases, parasitology rank high. Five hundred and eighty five research themes, more than half of the total number of the themes, were divided into various themes because of the health circumstances of each region and country. It reflects the present condition of the developing countries.

3. Medical exchange with the developing countries is getting more active every year.

36 ULTRASTRUCTURE OF ERYTHROCYTIC STAGES OF *PLASMODIUM OVALE* IN MAN

YOSHITSUGU MATSUMOTO, SHINJI MATSUDA AND YUKIO YOSHIDA

Department of Medical Zoology, Kyoto Prefectural University of Medicine

An electron microscopic study of *Plasmodium ovale* in man supplied information of the fine structure of erythrocytic trophozoites, presegmenting schizonts, and gametocytes. Ultrastructural features of *P. ovale* appeared quite similar to those described in other mammalian malarial parasites. However, some minor structural variations were observed. Parasites did not show much ameboidicity in shape but did show compactness. Ingestion of host cell cytoplasm occurred cytostomally. Nucleus contained a nucleolus-like dense region. The asexual parasites possessed acristate mitochondria and a single-membraned pellicle in addition to a membrane of parasitophorous vacuole. The gametocytes, however, possessed cristate mitochondria and an interrupted 3 membraned pellicle in addition to a membrane of parasitophorous vacuole.

37 ANALYSIS OF GAMETOCYTOGENESIS INDUCIBLE SUBSTANCE
AND INDUCTION OF GAMETOCYTOGENESIS IN
CULTURED *PLASMODIUM FALCIPARUM*

TADASUKE ONO AND TOSHIO NAKABAYASHI

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

Up to date, all attempts that induce artificially differentiation of the asexual stages of malaria parasites into sexual stages were unsuccessful. In the present experiment, we recognized the existence of gametocytogenesis-inducible activity in culture supernatant of antimalarial antibody producing hybridoma cells. This report describes the results of 1) The experiments on the induction of gametocytogenesis, 2) Characterization of the inducing substance and 3) Ultrastructural observations on artificially induced gametocytogenesis.

Plasmodium falciparum strain FVO and FUP were used in the present experiment. Two hybrid cell lines, 219.5 and D 21, were derived from fusion of myeloma cell lines, P3-X63-Ag 8.653 and SP/10-Ag 14 respectively.

Gametocytogenesis were consistently found 3 days after addition of culture medium prepared by dissolving powdered RPMI in culture supernatant of anti-*P. falciparum* antibody producing hybridoma cells in place of distilled water. Addition of 5–10 μ g concanavalin A and 1–5 mM caffeine or 2.5–10 μ g calmodulin into the culture supernatant and hybridoma cell lysate supernatant enhanced the appearance of mature gametocytes. A few gametocytes appeared after addition of culture supernatant of myeloma cells, used as control experiments.

Character of the gametocytogenesis-inducible substance was examined. The substance was dialyzable in cellulose tube having pore size of 24A and was found not to be affected by heating of 80°C for 10 min. Moreover, culture supernatant containing the gametocytogenesis-inducible substance was fractionated by Sephadex G-25 column. Fractions containing the activity were definitely separated. On the other hand, fractions obtained from culture supernatant of myeloma cells did not contain gametocytogenesis-inducible activity. The fine structure of gametocytes induced with culture supernatant of hybridoma cells was studied. A large number of the multistranded layer-like structure originating from the host cell was observed in the cytoplasm of the erythrocyte. The gametocyte was surrounded by the structure. Other notable finding was outstanding increase of the endoplasmic reticulum of the gametocyte cytoplasm.

**38 A COMPARATIVE STUDIES OF THE SUSCEPTIBILITY OF
TWO STRAINS OF *ANOPHELES STEPHENSI* AND
*PLASMODIUM YOELII NIGERIENSIS***

KAZUYO FUJITA^{1,2}, TAKESHI KURIHARA¹, TOKUKO UMINO¹,
GRAHAM WHITE² AND GEOFF TARGETT³

Department of Medical Zoology, Teikyo University School of Medicine¹,
Department of Entomology² and Department of Protozoology³,
London School of Hygiene and Tropical Medicine

Two strains of *Anopheles stephensi* were examined for their susceptibility to *Plasmodium yoelii nigeriensis* (N67) under laboratory conditions. The strain A was obtained from Illinois University in the early 1970's. Since then, this strain has not been infected with malaria parasites. On the other hand, the BEECH strain originated from Delhi, India and it has been maintained in London School of Hygiene and Tropical Medicine since 1947. Because of its high susceptibility to rodent malaria this strain has been frequently used for malaria infection experiments.

In 4 experiments, the mosquitoes were fed on infected mice, after a 4–7 day incubation period at parasitaemia of 14.91–23.08% gametocytaemia of 0.31–0.58%. The mosquitoes were dissected and the number of oocysts produced were counted on the 8–9th day after feeding. It was found that the strain A was as susceptible to malaria parasite as the BEECH strain. The susceptibility of mosquitoes to malaria was maintained after a long-period in the absence of infection.

**39 SOME BIOLOGICAL CHARACTERS AND PHYLOGENY AMONG
THE TAXA OF MALARIA VECTOR IN SOUTHEAST ASIA**

TOZO KANDA

Department of Medical Zoology, St. Marianna University

Various biological characters elucidated from morphology, hybridization tests, cytogenetics allozyme polymorphism and mit-DNA, and wing beating frequency of mosquitoes among the taxa of anopheline vectors of malaria in Southeast Asia were phylogenically proved from the point of evolutionary genetics. The materials were the malaria vector members of the species group, series, species complexes distributed in East Asia. However, this limited reports on the taxa of the *Anopheles leucosphyrus* group, *An. munimus* group, and *An. maculatus* complex.

In the *leucosphyrus* group (consisted of morphological species, *leucosphyrus* s. s., *balabacensis*, *dirus*, and *takasagoensis*) phylogenic relationships and genetic affinities among 12 member taxa were proved by morphology, cytogenetics, hybridization, allozyme polymorphism and mit-DNA. They were detected to have various genetic affinities each other. Taxa in Peninsular Malaysia showed intermediated morphological characters between *dirus* and *balabacensis*, and

incomplete reproductive isolation, synaptic polytene chromosomes of the F_1 hybrids from crosses between these 2 and a taxon (CTB) of *dirus* or taxa of *balabacensis*. The mit-DNA among these taxa of the *leucosphyrus* group showed same morphological patterns. Although some genetic differences were proved among these taxa they are conspecific with exception of *leucosphyrus s. s.* and 2 Burmese taxa. The taxa among the group had different genetic relationships and affinities within the group. In the *minimus* group morphological variations were observed among the members and reproductive isolations was demonstrated. Cytogenetic observations and electrophoretic analysis of isozymes and protein components of various taxa from Japan and Thailand gave a great deal of homogeneity among them. Bionomical studies suggested that *minimus s. s.* is very adaptive to environmental changes and conditions influenced by malaria control operations and their factors. In the *maculatus* group the 2 taxa which were classified by their abdominal scale distribution had reproductive isolation each other, and a number of chromosomal polymorphism in polytene chromosomes from ovarian nurse cells of them.

Beside above these phylogenetic evidences, wingbeat frequency has been proved that among the taxa of these anopheline groups or complexes genetic divergences as one of sexual isolation has advanced than the other genetic characters as showing follows: In the *leucosphyrus* group, females were $IMR=477 \pm 5.4$, $KTD=504 \pm 9.8$, $CTB=530 \pm 10.2$, $KCH=519 \pm 10.4$, $SWK \pm 8.2$, and males were $IMR=733 \pm 10.5$, $KTD=707 \pm 23.2$, $CTB=737 \pm 14.3$, $SWK=728 \pm 10.5$. In the *minimus* complex females were $KCH-1=464 \pm 7.6$, $KCH-2=473 \pm 5.2$, $ISG=482 \pm 8.4$, and males were $KCH-1=713 \pm 22.4$, $KCH-2=709 \pm 10.5$, $ISG=787 \pm 22.2$. In *maculatus* complex females were $W\text{-type}=462 \pm 3.4$, $M\text{-type}=418 \pm 7.4$. Some possibilities of these wingbeat frequencies are in progress of sound trap method for their male mosquitoes.

40 A CASE OF VIVAX MALARIA CURED BY CHLOROQUINE, BUT NOT BY SULFAMONOMETHOXINE

YOSHIHIRO YAMAMURA, EINOSUKE UEDA AND TAIKICHI HASHIMOTO

Department of Internal Medicine, Toneyama National Hospital

In Japan, there has been a difficulty in obtaining chloroquine which is most commonly used against malaria in the world. In 1970, Yoshinaga *et al.* reported that Sulfamonomethoxine (SFM, Daimeton, Daiichi Seiyaku Co. Ltd.) was effective against *falciparum* malaria in Kenya. Murakami *et al.* and Yamamoto *et al.* indicated the effectiveness of SFM against *falciparum* malaria. In the past conference, we have reported that intravenous injections of SFM effectively cured a case of *falciparum* malaria infection. In case of *vivax* malaria, Ebisawa *et al.* reported that SFM was effective in 4 of 8 cases (effective at 50%), but it seems to be less effective against *vivax* infection than *falciparum* infection. A case reported here shows that SFM was ineffective against tertian fever; the patient was cured by the subsequent treatment with chloroquine.

Present history of illness: The patient was a 22 year old male student of a dental college who had always been healthy. He flew from Osaka to New Delhi on July 7, 1984, and then moved to Cangotory by bus. He was engaged in mountain climbing on Himalaya mountains between July 21 and August 31. After that, he had a small trip to New Delhi and Jaipur and then

returned to Osaka by air on September 9. During his stay in India, he had never taken any antimalarial drug. He had fever for 3 days in Himalaya and also had fever up to 38°C on the arrival day at Osaka, but each time the fevers soon dropped by taking aspirin. Thereafter, he had been healthy and carried on 10 km-running 3 times a week. At the beginning of June, 1985, he could not take sleep enough for 3 to 5 days, since he had to study hard for the examination. Suddenly, he had high fever up to 40°C for 3 days and was treated with antibiotics and aspirin, but his fever did not drop, and then he was admitted to our hospital on June 10.

Process in the hospital: He had fever up to 40.5°C every other day, and *Plasmodium vivax* was detected on the blood film. He received intravenous injections of 10 ml of 10% SFM solution once or twice a day for 5 days, but the tertian fever continued. Then, the drug was changed to chloroquine. He was orally given 1,200 mg of chloroquine orotate (equivalent to 600 mg of chloroquine base), 600 mg, 4 hours later, and 600 mg for the next 3 days. His temperature soon dropped below 37°C and *Plasmodium vivax* disappeared from his peripheral blood. He got better and was discharged on June 20. We gave him 15 mg of primaquine daily for the further 14 days. His peripheral red blood cells decreased of malaria infection, but recovered 1 month later.

Conclusion: From this result, SFM seems to be less effective against *vivax* malaria than against *falciparum* malaria, unless this case was an infection with sulfonamide-resistant malaria.

41 CLINICAL EVALUATION OF ANTIMALARIAL REGIMENS

KIYOKATSU TANABE¹, YOSHITO OTSUJI², HIROSHI OHTOMO³,
TOSHIO NAKABAYASHI⁴ AND HIROSHI TANAKA⁵

Department of Internal Medicine, Institute of Medical Science, The University of Tokyo¹,
The Second Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kagoshima University²,
Department of Parasitology, Gifu University School of Medicine³, Department of
Protozoology and Parasitology, Research Institute for Microbial Diseases,
Osaka University⁴ and Department of Parasitology, Institute of
Medical Science, The University of Tokyo⁵

Our study group on the Treatment of Imported Tropical Diseases by Drugs organized by the Ministry of Health and Welfare of Japan have administrated orphan drugs, including antimalarial drugs, such as chloroquine, Fansidar, quinine (solution for an injection), and primaquine. There were 162 cases of malaria during the period from 1980 to 1985. Thirtynine cases were with *falciparum* malaria. They were subjected to the treatment with some different regimens: 10 cases (26%) with chloroquine, 5 (13%) with Fansidar, and 24 (62%) with combination of quinine and others. Ninety-three were with *vivax* malaria: 34 (37%) were treated with chloroquine, 31 (33%) with Fansidar, and 28 (30%) with combination of these both drugs. In 71 cases out of the 93 (76%) of *vivax* malaria, a radical treatment was taken with primaquine. After treatments, 2 cases out of the 39 of *falciparum* malaria recrudescenced and 2 cases of 93 cases of *vivax* malaria recurred 3%.

42 A CASE OF *PLASMODIUM VIVAX* MALARIA POSSIBLY INDUCED BY BLOOD TRANSFUSION

KENYICHI YANO¹, TOSHIO NAKABAYASHI¹, TOMOAKI WATANABE²,
TERUO FUJIMOTO³ AND SHUNICHI SAKAMOTO³

Department of Protozoology and Parasitology, Research Institute for Microbial Diseases,
Osaka University¹, Osaka Red Cross Blood Center² and
Department of Surgery, Fujimoto Hospital³

We experienced one case of possible transfusion malaria. A man aged 60, a wrapper, had no history of malaria in the past. He was in a hospital due to fracture of the right femoral neck since 30 January 1985 and had a plastic surgery of the right hip joint on 19 June. He was transfused with 3 red cell concentrates on 19 June and 2 on 20 for the bleeding at the operation. He suffered of moderate fever from 5 July (16 days after the operation), and high fever, nausea and anorexia from 10 July, and anemia from 13 July. He was diagnosed as *Plasmodium vivax* malaria on 17 July and treated intravenously with quinine dihydrochloride (400 mg) and then Fansidar (3 tablets for 3 days).

Four of 5 blood donors were Japanese and had no relationship to malaria. Another donor was a foreigner, who stayed in Osaka without any malarial symptoms after coming in October 1984 from one of epidemic countries of malaria. Vivax malaria would be possibly induced by red cell concentrate from the foreign blood donor. Since personnel interchanges between Japan and many foreign countries increased heavily in recent years, we should pay more attention to transfusion malaria.

43 A CASE OF *PLASMODIUM OVALE* INFECTION PROBABLY AFFECTED DURING TRAVEL IN AFRICA

TOSHIO NAKABAYASHI¹, TADASUKE ONO¹, KENYICHI YANO¹,
YASUHIRO HOSHIKA² AND YOSHIYUKI KATAOKA²

Department of Protozoology and Parasitology, Research Institute for Microbial Diseases,
Osaka University¹ and Internal Medicine, Prefectural Nara Hospital²

A case of *P. ovale* malaria presumably infected in Africa is reported. The patient (24-year old male) joined a group-travel by truck-van for 4 months from January to April 1984 in Africa, starting from South Africa until Cameroons via several countries. In July 1985, he had a fever onset and was admitted to the Prefectural Nara Hospital. Malaria parasites found in blood specimens of the patient were identified as *P. ovale*. He was treated with Quinine hydrochloride (1.5 g/day, 5 days, oral) and Primaquine (15 mg base/day, 14 days, oral). Clinical signs were subsided on day 5 and parasites disappeared on day 3. The initial parasitemia was 0.3%. Of 300 parasites counted in the specimens, 36% was identified as typical *P. ovale*, 29% as atypical and the remaining 35% as intermediate. The patient took Malaprim, once a week, for prophyla-

xis during the travel but stopped it in Cameroons. He had no fever until this onset. From these facts, this malaria onset by *P. ovale* was thought to be caused by recurrence of *P. ovale* affected in Africa.

44 A JAPANESE CASE OF UNUSUAL *PLASMODIUM FALCIPARUM* MALARIA WITH A HIGH MALARIAL ANTIBODY LEVEL PREVENTING A CRITICAL CONDITION

HIROYUKI AMANO¹, TOSHIMASA NISHIYAMA², TAKEHIKO SEGAWA²,
YUZO TAKAHASHI², TSUNEJI ARAKI², JUN-ICHI TAMURA³
AND MAMORU SUZUKI³

Department of Overseas Medical Services, Tenri Hospital¹, Department of Parasitology, Nara Medical University² and Department of Parasitology, Gunma University School of Medicine³

We generally have neither malaria nor persons with malarial antibodies in Japan. Therefore, most patients with imported *Plasmodium falciparum* (Pf) malaria become seriously ill, partly owing to a delay in diagnosis. Sometimes we had fatal cases of complicated Pf malaria such as cerebral malaria because of a delay in suitable treatment. In this report, we present a case of Pf malaria in a 29 year-old Japanese female who was thought not seriously ill because of her high malarial antibody level.

She was admitted to our hospital in November 1984, suffering from low grade fever. For 2 years before admission she had been in Tanzania with her husband, an ecologist of chimpanzees. And she had administered appropriate drugs herself at 5 times of febrile attack, considering them to be malaria in spite of her taking regular malarial prophylactics. On admission, her body temperature was 36.8°C and no anemia, jaundice, bleeding tendency, neurological abnormality and hepatosplenomegaly were found. Malarial parasitemia was 461/mm³ and only intraerythrocytic ring forms were seen. However, it was too difficult to make a differential diagnosis from these morphological findings as many of these ring forms were degenerated. Pf gametocytes were discovered 3 days after admission, and remained without progression of symptoms. The Pf malarial antibody titer was $\times 1,024-256$ for 3 months, although she was cured by administration of Sulfamonomethoxine, Quinine, Doxycycline and Primaquine.

45 MALARIA SURVEY IN A RURAL VILLAGE IN GHANA

MAKOTO ITOH¹, TAN TAKAYANAGI¹, SHIGEFUSA SATO¹,
REGINARD K. ANTESON² AND MAXWELL A. APPAWU²

Department of Medical Zoology, Nagoya City University¹ and Parasitology Unit, Noguchi Memorial Institute for Medical Research, Ghana²

A survey on malaria was carried out in a rural village, Gomoa Fetteh, in Ghana in both dry

and rainy seasons in 1984. Three plasmodium species: *P. falciparum* (P. f.), *P. malariae* (P. m.) and *P. ovale* were detected. Samples of the mixed infection with both *P. f.* and *P. m.* were occasionally observed. *P. f.* was the most dominant species of the three and its positive rate much more exceeded in the rainy season (32%) than that of the dry season (15%). On the other hand, that of *P. m.* didn't increase conversely.

Many larvae of *Anopheles gambiae*, which transmit malaria parasites in West Africa, were detected around the village in the rainy season but not in the dry season. Gametocyte positive rate in the *P. f.* positive cases rose higher in the rainy season. These findings might strongly support the result that the *P. f.* positive rate in inhabitants of the village advanced sharply in the rainy season. Sixteen percent of people examined congenitally possessed AS-type hemoglobin. However, no significant differences between AA and AS groups could be found on *P. f.* positive rate (This study was supported in part by JICA and by Ghana Government).

46 SURVEYS OF *PLASMODIUM* IN IJEBU-ODE, NIGERIA

EITARO HORI¹, TERUAKI AMANO², RYUICHIRO MAEDA³,
TOHRU INAOKA⁴ AND EUGENE O. OGUNBA⁵

Department of Parasitology, Saitama Medical School¹, Department of Parasitology, School of
Medicine, Yokohama City University², Department of Parasitology, Teikyo University
School of Medicine³, Department of Parasitology, Asahikawa Medical College⁴
and College of Medicine, University of Ibadan⁵

The surveys of *Plasmodium* were carried out in Ijebu-Ode, Epe and Ibadan, south-west Nigeria, from September to October, 1984. Thin blood films were made and examined after stained by Gimsa's solution. A total of 621 persons were examined and 157 (25.3%) were positive for *Plasmodium*. In 3 secondary and high schools of Ijebu-Ode, 595 students (aged 12-46) were examined and 25.9% (24.5-28.3%) were positive on the average. The positive rate among 11 workers (aged 29-60) in the water works of Epe was 9.1%, and the positive rate among 15 persons (aged 17-40) in Ibadan was 13.3% and it was lower than those in above. The positive rates among teenes, twenties, thirties, forties and above were 27.6%, 22.0%, 5.3% and 20% respectively. Most of them (21.3%) were infected with *Plasmodium falciparum*, 9 (1.4%) were infected with *P. malariae*, 14 (2.3%) were infected with *P. ovale* and 2 (0.3%) were infected with *P. falciparum* and *P. malariae*.

47 MALARIOMETRIC SURVEY IN ASHAN REGENCY, NORTH SUMATRA, INDONESIA

HIDEKI ITOKAWA

Department of Medical Zoology, Tokyo Medical and Dental University

Malariometric surveys were carried out in Ashan reGENCY, North Sumatra, Indonesia as activities of the health promoting project between Japan and Indonesia from October 1984 to May 1985. All together 5,011 pupils of the lower classes were examined in this study and 178 positive cases were found (3.6%). The surveys were conducted in 4 geographical types of areas, a coastal area, a paddy field area, a mountainous farming area and a mountainous forest area. The results are given as follows (P. f=*P. falciparum* P. v=*P. vivax*). Coastal area (Kecamatan Tanjung tiram and Lima puluh): parasite rate 5.7% (133/2,315), P. f 41, P. v 91, Mix 1, spleen rate 3.1%. Paddy field area (Kecamatan Pulau rakyat): parasite rate 2.2% (20/926), P. f 2, P. v 18, spleen rate 0.1%. Mountainous farming area (Kecamatan Buntu pane): parasite rate 0.5% (5/999), P. f 0, P. v 5, spleen rate 0.1%. Mountainous forest area (Kecamatan Bandar pulau): parasite rate 2.7% (21/771), P. f 17, P. v 4.

48 SURVEY ON BLACK-FLIES *SIMULIIDAE*, IN PLATEAU STATE, NIGERIA

TERUKI KADOSAKA¹, KUNINORI SHIWAKU¹, KIYOTOSHI KANEKO¹,
D. M. ROBERTS², M. O. E. IWUALA²
AND HIROSHI TAKAHASHI³

Department of Parasitology, Aichi Medical University¹, University of
Jos² and Japan International Cooperation Agency³

This survey was carried out from Oct. 1984 to Mar. 1985, as one of the entomological projects in "The University of Jos, Medical Research Project" in Nigeria, and supported by the UNIJOS and JICA. Larvae and pupae of all black-fly species were collected from around the Jos Plateau in the dry season, a total 18 rivers and streams. As the results, the vector of onchocerciasis, *Simulium damnosum* complex was obtained from River Assob at Bachi and River Buja at Ibandi.

The following is the list of the black-fly species recorded in this survey: *S. alcocki* Pomeroy, *S. schoutedeni* Wanson, *S. mcMahon* de Meillon, *S. cervicornutum* Pomeroy, *S. unicornutum* Pomeroy, *S. ruficorne* Macquart, *S. aureosimile* Pomeroy, *S. hirsutum* Pomeroy, *S. adersi* Pomeroy, *S. walshi*, *S. dentulosum* Roubaud, *S. loutetense* Grenier & Ovazza, *S. damnosum* Theobald, complex, *S. vorax* Pomeroy, *S. colas-belcouri* Grenier & Ovazza, *S. m. hargreavesi* Gibbins.

**49 DETERMINATION OF TRANSMISSIBLE ROUTE AND VECTOR
MITES OF TWO PATIENTS OF TSUTSUGAMUSHI-DISEASE
OCCURRED IN NAGASAKI PREFECTURE**

HIROSHI SUZUKI¹, SENJI FUJITA², HIROHIDE FUKUDA²,
FUMI TORIYAMA² AND HIROSHI SUZUKI³

Department of Virology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University¹,
Isahaya General Hospital² and Department of Internal Medicine,
Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University³

Two different groups camped out on the same day at the same place, the wind-belt of wood near the seaside in Nagasaki Prefecture in Aug. 1984. And then, few days after 2 patients of Tsutsugamushi-disease occurred among them. We had been conducted survey on trombiculid mites fauna in the camping place during a period between Sep. 1984 and June 1985 by a monthly (excepted from Jan. to March 1985). The survey were performed especially for confirmation of the mites which be a vector of Tsutsugamushi-disease in the camping place.

As the results, 22 males and 24 females of rodent, *Apodemus speciosus* were captured. From them, 6,963 trombiculid mites consisting of 3 genera 6 species as *L. fukuoka*, *L. pallidum*, *L. kuroshio*, *L. miyajimai*, *M. kochiensis* and *G. saduski*. *L. pallidum* were collected every month through the survey period. This species is known as one of the most important vector of new type of Tsutsugamushi-disease. The results of this survey were meaningful because 2 patients were infected with Tsutsugamushi-disease by the bite of *L. pallidum*.

**50 SEROEPIDEMIOLOGICAL STUDY ON *RICKETTSIA TSUTSUGAMUSHI*
IN NAGASAKI PREFECTURE**

YOSHIE FUKUMOTO¹, HIROSHI SUZUKI¹, KEIZO MATSUMOTO¹
AND TAKURO ASO²

Department of Internal Medicine, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University¹
and Arikawa Medical Association²

A total of 584 healthy inhabitants in 7 different areas (Nagasaki City, Shimabara City, Oseto Town, Fukue City, Wakamatsu Town, Arikawa Town and Shin-uonome Town) in Nagasaki Prefecture were examined for antibody to *Rickettsia tsutsugamushi* using the immune peroxidase method. The Gilliam strain was used as antigen. The IgG antibody positive rates ranged from 2.0 (Shimabara City) to 60.0% (Shin-uonome Town). The IgG antibody rate at 2 areas (Arikawa Town and Shin-uonome Town) was significantly higher than that at other 5 areas. In addition, the level of IgG antibody distribution of these 2 areas is significantly higher than in the other areas. Furthermore, IgM antibody was detected only in these 2 areas.

51 STUDIES ON HUMAN FILARIASIS IN MOZAMBIQUE, EAST AFRICA (3)

KOICHIRO FUJITA¹, TSUTOMU ODA², SETSUKO TSUKIDATE¹,
AKIO MORI¹, MASAKATSU UEDA¹
AND KENJI KUROKAWA¹

Department of Medical Zoology, Nagasaki University School of Medicine¹ and
School of Medical Technology and Nursing, Nagasaki University²

Blood examination for microfilariae of bancroftian filaria and a mosquito survey were made during the evening in April 1981 and 1982, in a village of Queliman, Mozambique, East Africa. The microfilariae were found in an African male. The worms appeared to be *Wuchereria bancrofti*. In the area, *Anopheles coustani*, *Culex pipiens quinquefasciatus* and *Mansonia uniformis* were usually collected by human baited traps. The mosquitoes were dissected to find the filarial larvae. In *Mn. uniformis* the larvae of the 1st and 3rd stages were found, while in *Cx. p. quinquefasciatus*, those were only in the 1st stage. The species of these filariae is unknown. In this village, this disease is supposed to be mainly transmitted by the mosquito of *Cx. p. quinquefasciatus*.

52 TREATMENT OF *WOLBACHIA PIPIENTIS* INFECTION WITH TETRA- CYCLINE HYDROCHLORIDE AND THE CHANGE OF COMPATIBILITY IN A STRAIN OF *CULEX PIPIENTIS QUINQUEFASCIATUS* FROM BANGKOK, THAILAND

OSAMU SUENAGA

Reference Center, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University

There is an evidence that one of the cytoplasmic factors responsible for incompatibility in *Culex pipiens* complex is a rickettsia-like microorganism, *Wolbachia pipientis*, in the cytoplasm of the mosquitoes. However, it is not clear whether the microorganism is the only one factor or not. To find out other factors, if they present, several strains of different crossing types of *Cx. pipiens* complex were tested to cure the microorganism by using an antibiotic. A wild type strain of *Cx. p. quinquefasciatus*, which originated from Bangkok, Thailand, and is maintained at the Department of Medical Zoology, Nagasaki University School of Medicine, was cured by exposing first-instar larvae to 10%, 20 and 10% (double treatment), and 20% water solutions of tetracycline hydrochloride for 24 hours before foods (mouse pellets) were added. Two lines of the strain have cured the wolbachia infection when it was treated by 20% solution only, and when treated twice with 20% followed by 10% solution. Although treated and aposymbiotic (or wolbachia free) females produced viable progeny when mated with aposymbiotic males, the females produced no progeny when back crossed with the original males with symbiotes. The newly established aposymbiotic strain is already maintained for 5 generations.

53 CHIRONOMIDS AND MOSQUITOES COLLECTED IN THE NORTHERN AREA OF KYOTO CITY

YUKIO SHOGAKI

Department of Pathology, School of Medicine, Kyoto University

Adult chironomids and mosquitoes were collected using a dryice-baited light trap in the Midoroga-ike pond area, and a light trap in the Experimental Farm of Kyoto Pref. Univ. at 5 night intervals from the beginning of March to the end of November 1983. These adults were used for studies on the reagenic sensitivity of patients with bronchial asthmas.

A total of 943 chironomids, representing 14 species were collected, among which *Chironomus yoshimatsui* was dominant (57.4%) with the highest seasonal succession seen in the end of July. Also 25,505 mosquitoes were collected, representing 13 species, among which *Culex tritaeniorhynchus summosus* was dominant (97.1%) with the highest seasonal succession seen in the beginning of July. A comparison of chironomids and mosquitoes collected by dryice-baited light trap (A1) and light trap (A2) was made. Regarding the collection of chironomids; $A1=78$, $A2=865$, $\chi^2=656.8$ ($n=1$, $\alpha=0.001$) >10.827 , and $A2 > A1$ insignificantly. Regarding the collection of mosquitoes, $A1=24,675$, $A2=830$, $\chi^2=22,293$ ($n=1$, $\alpha=0.001$) >10.827 , and $A1 > A2$ insignificantly.

54 STUDIES ON HEAT ACCLIMATIZATION—ANALYSIS OF SWEAT RESPONSES IN TROPICAL INHABITANTS AND JAPANESE SPORTSMEN—

YU-JEN FAN¹, MITSUO KOSAKA¹, NOBU OHWATARI¹, JUN IWAMOTO¹,
MASASHI SUGAHARA¹, MARIKO FUJIWARA¹ AND YE-WIN^{1,2}

Department of Environmental Physiology, Institute for Tropical Medicine,
Nagasaki University¹ and JICA Trainee, Burma²

The sweating onset time on the chest and abdomen of Japanese sportsmen and tropical inhabitants were determined by using thermography in an environmental chamber (28°C, 60%). The lower limbs were immersed in 43°C circulating water for 30 minutes, while oral, skin and room air temperatures were continuously monitored and recorded in every minute. The sweating onset on the chest and abdomen were determined by the use of thermography pictures. The duration between starting heat load application and sweating onset was found to be longer in tropical subjects ($n=12$, mean onset time 11.6 min) compared with that of Japanese sportsmen ($n=12$, mean onset time 8.6 min). The rate of rise of oral temperature in tropical subjects (0.045°C/min, $\Delta t: 0.24-0.29^\circ\text{C}$) was higher than that of Japanese sportsmen (0.035°C/min, $\Delta t: 0.18-0.19^\circ\text{C}$). Individually, the mean skin temperature on the abdomen during sweating was always lower than that on the chest. The abdomen tended to sweat faster compared with the chest. After terminating the heat load, the chest skin mean temperature instantly rised

whereas the abdominal skin mean temperature showed a little bit definite dip of dissociation, the physiological significance of which is a task for further investigation leading to solution of the problem of heat-acclimatization.

55 STUDIES ON THERMOREGULATORY RESPONSES TO GENERAL THERMAL STIMULATION IN HEAT ACCLIMATED RABBITS

MARIKO FUJIWARA, NOBU OHWATARI AND MITSUO KOSAKA

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

Rabbits were reared in a hot environment (30°C, 60% R. H.) for 6 months as a model of heat acclimated animals. To clarify the mechanisms of physiological modification of heat acclimation, these rabbits were submitted to general thermal stimulation of 25°C→40°C→25°C→10°C→25°C; the rate of ambient temperature (Ta) change was 0.5°C/min. And, change patterns in the rectal (Tre) and ear skin (Tea) temperatures to Ta displacement were compared with those of control rabbits which were reared in thermo-neutral condition (25°C, 60% R. H.). The variation of Tre during Ta displacement was 0.7°C in heat acclimated rabbits, and 1.4°C in control group, respectively. Mean threshold temperature of Ta for starting the vasodilation of the ear skin was 28.9°C in heat acclimated rabbits, but in the control, vasodilation already occurred at the thermo-neutral (25°C) condition. On the other hand, vasoconstriction in the ear skin occurred at 16.1°C of Ta, and it was 3°C higher than that of control group. It is supported that after heat acclimation, shift of threshold temperature of Ta for inducing the peripheral vasodilation and vasoconstriction appeared in order to prevent the change of core temperature. In the anesthetized condition with Sodium Pentobarbital (20 mg/kg, i. p.), however, differences of pattern changes in Tre and Tea between 2 groups disappeared. These differences during Ta displacement were observed again one day or 2 days after anesthesia. From these results, it is assumed that functional modifications in heat acclimation might occurred in the neuronal mechanisms which were influenced by anesthesia.

56 BACTERIOLOGICAL AND CHEMICAL STUDY OF THE DRINKING WATER IN THE TROPICAL COUNTRIES —RECENT TWO YEARS OBSERVATION—

SETSUKO TSUKIDATE¹, KOICHIRO FUJITA¹, HIROKUNI NAKANISHI¹,
YOSHIYUKI OKUWAKI², MASATOSHI SUGIYAMA³, YASUKO
OGASAWARA⁴ AND TAKEO ASAKURA⁴

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

Diseases such as typhus, cholera, dysentery, endemic hepatitis and various parasitosis are

still prevalent in the tropical countries. We focus our attention to the drinking water, as it plays an important role in the outbreak and transmission of these diseases. We report here the recent 2 years results of the bacteriological and chemical study of the drinking water in the various tropical countries. The results showed that the drinking water in these countries contained a large amount of microorganisms, and chlorinization of drinking water was never carried out except in some countries such as Jordan, Panama, Trinidad and Malaysia. *Escherichia coli*, which suggests the existence of fecal matters, was isolated very often in the tap water of Thailand (26.7%), Indonesia (25.4%) and Philippine (13.4%) and well water of Thailand (50%) and Papua New Guinea (16.7%). The results suggest that drinking water in almost all tropical countries is polluted by fecal contamination with relatively high probability.

57 BACTERIOLOGICAL STUDY OF THE DRINKING WATER IN PAPUA NEW GUINEA

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

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

Forty samples of drinking water were collected in many Papua New Guinian regions in September, 1984. Total colonies and coliform group from drinking water were counted, and the enteric bacteria and its related bacteria were detected in samples. We carried out the quantitative test of total colonies and coliform group counts, using Millipore Sampler set. As to total colonies counts, less than 10^2 /ml of living bacteria were found in 26 out of 40 samples (65%), and coliform group counts were not detected in 28 out of 40 samples (70%). The most frequently detected species of bacteria were *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas maltophilia*. However, the enteric bacteria were not detected. The results of tests for sensitivity against isolated *Pseudomonas aeruginosa* were sensitive to Gentamycin.

58 ANALYSIS OF DRINKING WATER IN THE SHELTER ON VICTIMS IN MAKALE, ETHIOPIA

ETSUSHI OKUMURA¹ AND SHOKICHI TANI²

Department of Health Science, Kohchi-Gakuen Paramedical College¹ and
Department of Medical Zoology, Kanazawa Medical College³

The quality of drinking water on victims were examined in each area. An increase of total bacteria, *E. coli*-group and hardness of water were shown uncommonly. A simultaneous detec-

tion of $\text{NO}_2\text{-N}$ and $\text{NH}_3\text{-N}$ were found here and there. Therefore, we would like to assert that these drinking water is contaminated by the activities of many hunger-victims in the shelter. These findings suggest that diverse infectious diseases spread more and more in these specific circumstances.

59 INTESTINAL AMOEBIASIS, REPORT OF SIX CASES

MAKOTO YAMAMURA¹, MITSURU SUZISHI¹, SHINJI HORI¹, TAKASHI
NARABAYASHI¹, TADATSUGU OHNO¹, TAKASHI SIMOYAMA¹
AND TAKESHI NISHIMURA²

The 4th Department of Internal Medicine¹ and Department of
Medical Zoology², Hyogo College of Medicine

We experienced 6 cases of intestinal amoebiasis in these 8 years. Five cases were male and one was female and the age ranged from 38 to 53 years. All cases complained of bloody mucous stools. Four cases (67%) had a history of travel to endemic areas. The feature of endoscopic finding was multiple tiny ulcers with central white yellowish coat surrounded by slight elevation. Detectability of *Entamoeba histritica* was 100% (6 cases) in the colonic mucosa through colonofiberscope and 67% (4 out of 6 cases) in biopsy specimens. Therefore, colonofiberscopy was very useful in the diagnosis of intestinal amoebiasis.

60 MANAGEMENT OF AMEBIC LIVER ABSCESS

HISAYUKI CHIHARA¹, KEIJI ATAKA¹, MASAYOSHI OKADA¹,
KAZUO NAKAMURA¹, MASAYUKI HONDA²
AND HITOSHI SANO³

The 2nd Department of Surgery, Kobe University School of Medicine¹,
Takasago Municipal Hospital² and Sumitomo Hospital³

During a past decade 3 patients with amebic liver abscess have been treated in the 2nd Department of Surgery, Kobe University Hospital, and its affiliated hospitals. All of them were young males who had inflammatory findings such as high fever and leukocytosis. Besides, abnormal mass was confirmed in all cases by CT scan and echo examinations in the region of the liver. In 2 out of 3 cases drainage was performed from abscess cavity through a catheter. Appearance of drained fluids were strawberry-milky pus indicating to amebic abscess. Emetin hydrochloride and Metronidazole were especially effective drugs for this disease. CT and echo examinations as well as immunological test were useful methods to make diagnosis of liver abscess. Diagnosis and management of the patients with amebic liver abscess are reported in detail.

61 FIRST HUMAN CASE OF DRACUNCULIASIS IN JAPAN

AKIO KOBAYASHI¹, KEN KATAKURA¹, ATSUO HAMADA¹, TERUO SUZUKI²,
YOSHIKI HATABA², NAOSHI TASHIRO³ AND AKIRA YOSHIDA⁴

Department of Parasitology¹, Division of Morphology, Biomedical Research
Laboratories², Department of Surgery³, Jikei University School of
Medicine and Toshiba-Numazu Hospital⁴

The patient is a 42-year-old Japanese engineer residing in Shizuoka, Japan. He developed generalized urticarial reaction on 29 July 1983. He was given antihistamine by injection and the exanthema receded. In the following week, he noticed the presence of a tumor at the right leg. By palpation, the tumor measured 4.1×4.5 cm and seemed to be located on the gastrocnemial muscle, without tenderness to pressure. However, in the following days it was felt that the size of the tumor increased. A surgical operation was therefore performed on 26 August. As a result, the tumor was found to be a large abscess containing yellowish pus. By removing the pus and scratching inside wall of the abscess, a white-colored worm-like substance was obtained. Laboratory data showed normal values except for eosinophilia (20%).

The removed specimen was fixed in 10% formalin. On examination, it was a long, slender female worm of white color, measuring 29 cm long by 1.5 mm wide. Neither head nor tail were found. The uterus of the worm contained numerous embryos. The cross section of the gravid female revealed that somatic musculature is of strong coelomyarian type and is divided into 2 semilunar shaped fields. The embryos in the uterus measured 654 μm (range, 530 to 710 μm) in length by 25 μm (range, 22 to 26 μm) in width. The tail is long and filiform, measuring about one-third of entire length of the body. The embryo provides large paired phasmids on the tail. These figures of adult and embryos correspond to those of *Dracunculus medinensis*.

For him, China was the only foreign country where he had visited 7 years before occurrence of the clinical symptoms. It is unlikely that he might have acquired the infection in China because 7 years are too long for the prepatent period of this parasitic disease, which is estimated at 10–14 months. Therefore, he might have been infected at some place in Japan, although there had appeared no report so far on the occurrence of *Dracunculus* infection among man and animals.

It is told that he had swallowed loaches raw twice at a restaurant in Numazu, Japan, about one year before the clinical manifestation. It is not known that this might have been the cause of the infection and also that whether these loaches were domestic or imported ones. Although no particular survey was made on those loaches for the presence of *Dracunculus medinensis* larvae, we can not neglect the possibility that *Dracunculus* larvae might have been brought into Japan through live loaches from some other countries and happened to cause the infection as was the cause reported about 60 years ago in Korea.

62 A CASE OF *SCHISTOSOMIASIS MANSONI* OF AGRONOMIST FROM LIBERIA

TAKEO MATSUMURA¹, SHOJI UGA¹, EIJI KONISHI¹, MASAHARU
NAKAO¹, SUSUMU SAEKI² AND SHIGEAKI BABA²

Department of Medical Zoology¹ and The 2nd Department of Internal
Medicine², Kobe University School of Medicine

An increase in international travel between tropical countries and Japan has resulted in a rise of the incidence of various tropical disease in Japan.

Schistosomiasis mansoni has mainly been distributed in areas such as Africa, South America and West India. Until the present time, only 3 cases of *Schistosomiasis mansoni* have been reported in Japan (Nanba *et al.*, 1978; Hayashi *et al.*, 1984). A recent case of an agronomist from Liberia diagnosed as *Schistosomiasis mansoni* during his stay in Japan will be presented here.

Case: A 28-years-old man from Liberia, agronomist.

Chief complaint: discomfort and dull pain around the right lateral abdomen, loss of appetite.

Present history: Before he came to Japan, he worked at a paddy field in Liberia. He came to Japan on May 31, 1984, as an agricultural trainee. In the beginning of July 1984, he noticed right lateral dull pain and loss of appetite. He came to our laboratory on November 21st and urinalysis and fecal examination were executed. *Shistosoma mansoni* and hookworm eggs were discovered in the feces.

On physical examination, a 1/2 finger-width protrusion of the liver was palpable on R. M. C. L. On peripheral blood examination, eosinophilia (19%) was recognized in spite of no disorder in the liver function. In parasitological examination, an antigen skin test for *Schistosoma japonicum* showed positive reaction (8×8 mm), but Ouchterlony method (using *S. japonicum* antigen) showed negative. In an intestinal survey, no parasitic body was seen in the stomach or small intestine, but a sigmoid colon polyp was found. Fiberscopic examination and a biopsy of the rectum could not be performed, because the patient left Japan. As therapy, Praziquantel 3,600 mg, and Pyrantel pamoate 700 mg were administered but the effects of the drugs were unknown because of his departure from Japan.

Conclusion: A case of *Schistosomiasis mansoni* was reported and has been discussed. This was the fourth case of *S. mansoni* in Japan. The more common cultural exchanges between tropical countries and Japan becomes, the more the possibility of imported parasitic disease increases.

**63 COMPARATIVE EFFECTS OF PRAZIQUANTEL, NICLOSAMIDE
AND MEBENDAZOLE ON LARVAL AND ADULT
HYMENOLEPIS NANA IN MICE**

JUN MAKI, NANASE SAITO AND TOSHIO YANAGISAWA

Department of Parasitology, Kitasato University School of Medicine

Anthelmintic effects of Praziquantel (PQ), Niclosamide (NA) and Mebendazole (MB) on larval and adult *Hymenolepis nana* in mice were studied as follows. Four-week-old females of ICR-strain mice were each inoculated orally with 100 shell-removed eggs using a stomach tube, medicated as below and autopsied 18–19 days post-infection under a stereoscopic microscope. PQ given at 25 mg/kg 12 days post-infection showed complete effectiveness against adult *H. nana*. This result was similar to that of Thomas and Gönner (1977, *Z. Parasitenk.*, 52, 117–127). NA and MB given at 500 mg/kg 12 days post-infection was not very effective against adult *H. nana* if any activity was seen (mean worm reduction was 48% and 16%, respectively). At 100 mg/kg/day for 5 consecutive days (12–16 days post-infection), the effectiveness of NA against adult *H. nana* was low (mean worm reduction: 33%) while the effectiveness of MB against adult *H. nana* was complete. None of the drugs, PQ (25 mg/kg/day for 3 consecutive days), or NA, MB or bithionol additionally examined (500 mg/kg/day for 3 consecutive days) had significant effect on cysticercoids of *H. nana* presumably in the intestinal villi when they were given 1–3 days post-infection. PQ given 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 12 or 14 days post-infection at 25 mg/kg was completely effective in the elimination of *H. nana* when it was given 5 days post-infection onwards.

**64 A SURVEY OF INTESTINAL PARASITIC EGGS IN
CHILDREN IN HYOGO PREFECTURE**

MASAHARU NAKAO^{1,2}, TAKEO MATSUMURA¹, OKISUKE TSUNODA²
AND KENGI MAESHIMA³

Department of Medical Zoology, Kobe University School of Medicine¹, Kobe
Teishin Hospital² and Hyogo Preventive Medical Association³

According to the school health law, fecal examination and scotch-tape test of stools are carried out in Japan. In Kobe in 1983, we had the chance of conducting such tests on children in nursery schools, kindergartens and elementary schools. Subsequently, we compared infectious rates and discussed the regional differences in the occurrence of parasitic eggs among children throughout Hyogo Prefecture.

Method: 1) Stools from a total of 91,776 children in Kobe City were examined by the cellophane thickening smear method between September 1983 to March 1984. 2) A total of 162,157 children in Kobe City, 6 cities around Kobe and Awaji Island were examined twice by the scotch tape method.

Results:

Fecal examination: 1) The positive occurrence of parasitic eggs in girls (0.082%) was a little higher than in boys (0.052%). 2) The eastern and northern districts in Kobe City were more infected with parasites than the western districts. 3) The rate of occurrence of parasitic eggs was highest for *Enterobius vermicularis*, 27 cases (44.2%), followed by *Trichuris trichiura*, 15 cases (24.6%); *Metagonimus Yokogawa* and Heterophyes, 10 cases; *Ascaris lumbricoides*, 9 cases. Scotch tape method: 1) The infection rate for *E. vermicularis* in nursery schools was about 10.6%, more than that in kindergartens and elementary schools (about 6%) in Kobe City. 2) Regional differences in the spread of *E. vermicularis* were not found.

**65 DRUG SUSCEPTIBILITY AND BETA-LACTAMASE PRODUCTION
OF ENTEROPATHOGENIC *E. COLI* AND *SHIGELLA* SPP.
ISOLATED IN THAILAND**

HIKARU TANAKA¹, SHIGERU KOHNO¹, YOSHITERU SHIGENO¹, KEIZO YAMAGUCHI¹,
ATSUSHI SAITO¹, KOHEI HARA¹, S. WONGWANICH², S. RAMSIRI²,
K. VATCHARASINGHN² AND O. RACHTRACHAINCHAI²

The 2nd Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine¹
and Division of Clinical Pathology, Department of Medical Science, Thailand²

The in vitro susceptibility of 146 strains of enteropathogenic *E. coli* and 186 strains of *Shigella* spp. to 11 antimicrobial agents was determined by the agar dilution technique. Ofloxacin (OFLX) was the most active agent as well as Ceftizoxime (CZX) against the tested organisms and inhibited the growth of all strains at the concentration with 0.05 µg/ml. Colistin (CL) showed greater activity than other antimicrobial agents except OFLX and CZX against *Shigella* spp. at <1.56 µg/ml and against enteropathogenic *E. coli* at <3.13 µg/ml. Nalidixic acid (NA) and Kanamycin (KM) were effective against *Shigella* spp. at <6.25 µg/ml. The latter 2 agents were less active than Cefazolin (CEZ) but they were more active than TMP/SMX and Minocycline (MINO) against *Shigella* spp. However, NA acid showed greater activity against enteropathogenic *E. coli* than CEZ or MINO or TMP/SMX, respectively. TMP/SMX was active against only 72% of enteropathogenic *E. coli* and 74% of *Shigella* spp. at <12.5 µg/ml. Most of tested organisms demonstrated high resistance to Ampicillin (ABPC), Chloramphenicol (CP) and Tetracycline (TC). All strains of *Shigella* and enteropathogenic *E. coli* were tested for beta-lactamase production by using nitrocefin assay and detection paper. By the nitrocefin assay, 80% of *Shigella* spp. and 93% of enteropathogenic *E. coli* produced beta-lactamase, whereas incidence of beta-lactamase producing strains was very low by the paper detection method.

66 THE CHARACTERISTICS IN THE NEW CASES OF LEPROSY

KIMIKO KUMANO¹, YOZO MURATA¹ AND NOBUO HARADA²

Department of Dermatology, Kobe University School of Medicine¹
and Leprosy Sanatorium Oku-Komyoen²

Here we report 12 patients suffering from leprosy who were found in Hyogo Prefecture and some neighbouring areas. The analysis of these patients suggest the following characteristics which may represent the present status of affairs about leprosy in Japan: 1) most cases are from Okinawa or the South-west Islands, 2) aged people preponderance, 3) relatively high incidence of borderline-group, 4) taking long periods from the onset to correct diagnosis and treatment.

67 STUDY OF ANTI-ATLA ANTIBODY IN PATIENTS WITH COLLAGEN DISEASES

SHIRO NAKAYAMA¹, TAKAYUKI ISHIKAWA¹, HIROSHI YABE¹,
KEN-ICHI NAGAI¹ AND KUMI YADA²

Department of Immunohaematology¹ and Blood Center²,
Kobe General Central Hospital

Anti-ATLA (ATLA associated antigen) antibody was investigated in sera from patients with various kinds of collagen diseases and allied disorders by agglutination tests using gelatin particles. Seropositivity was demonstrated in 3 cases (5.2%) out of 58 systemic lupus erythematoses, one (3.6%) out of 28 progressive systemic sclerosis, none out of 9 dermatomyositis and polymyositis, 4 (33.3%) out of 12 Sjögren's syndrome, 2 (3.6%) out of 55 rheumatoid arthritis, none out of 25 Behçet disease, and only one (0.3%) out of 286 healthy individuals. Among the seropositive patients, there was no record of blood transfusion except 3 cases of systemic lupus erythematoses. It is noteworthy that the ratio is very high in Sjögren's syndrome as compared with healthy individuals and other collagen disease patients. This results showed that ATL virus might play a certain role in the pathogenesis of some Sjögren's syndrome by injuring T cell functions.

**68 DETERMINATION OF HABU VENOM REMAINED IN LOCAL
MUSCULAR TISSUE BY ELISA (2), STUDY OF
ANTI-LOCAL EFFECTS OF ANTIVENOM
AGAINST HABU VENOM**

MASATOSHI NOZAKI, MASANOBU YAMAKAWA AND YASUHIRO TOMIHARA
Habu Branch, Okinawa Prefectural Institute of Public Health

Experiments were performed for the study of anti-local effects of antivenom against Habu venom. Habu antivenom (Lot T-78) 1.0 ml (anti HR-1: 600 u/ml, anti HR-2: 1,000 u/ml, antilethal: 700 u/ml) was injected to the rabbits intravenously. One hour after injection, rabbits were challenged to *M. vastus lateralis* with 200 μ g and 500 μ g of Habu venom. Then they were killed at intervals of 1/4, 1/2, 1 and 3 hours respectively, and the amount of venom remained in the muscular tissues were determined by ELISA.

The results obtained were as follows: 1) The amount of venom remained in the local muscular tissue of the rabbits which were challenged with 200 μ g Habu venom were decreased to 3.55 μ g, 1.45 μ g and 1.00 μ g after 1/4, 1/2 and 1 hour respectively. The 200 μ g of Habu venom were almost perfectly neutralized by 600 u of Habu antivenom within 1/4 hour. 2) The amount of venom remained in the local muscular tissues of the rabbits which were challenged with 500 μ g Habu venom were decreased to 161.39 μ g, 88.25 μ g, 33.59 μ g and 1.41 μ g after 1/4, 1/2, 1 and 3 hours respectively. The 500 μ g of Habu venom were partially neutralized by 600 u of Habu antivenom within 1/4 hours and almost perfectly neutralized within 3 hours. 3) The circulating anti HR-1 titers of rabbits (2,000–2,500 g) which were injected intravenously with 600 u of Habu antivenom were 6.40 u/ml (4.57–7.83). The anti HR-1 potency were determined by ELISA. 4) Though the Habu venom were almost perfectly neutralized by antivenom in the local muscular tissue, the local symptoms were considerably severe, but milder than the control.

**69 THE ACTION OF HYPOTENSION CAUSED BY HABU VENOM AND
MYONECROTIC FACTOR (MNF) ISOLATED FROM IT**

HIROSHI CHINZEI¹, SATORU MINESHITA², NORIO YAMAMOTO²
AND HITOSHI NAKANISHI³

Department of Medical Zoology¹, Department of Clinical Pharmacology, Medical Research
Institute², Tokyo Medical and Dental University and Department of
Pharmacology, Teikyo University School of Medicine³

It was found that immediate hypotension in dogs occurred after intravenous injection of Habu (*Trimeresurus flavoviridis*) venom (100 μ g/kg) and in rats after injection of MNF (100 μ g/kg), and the pattern of action caused by them showed "Tachyphylaxis". Our data by statistical analysis suggest that the action caused by Habu venom and MNF may be based on serotonin

rather than histamine released from the tissues. On the other hand, hemorrhagic factors contained in the venom, in low concentration, could not cause hypotension in rats.

70 STUDIES ON THE PREPARATION OF ANTI-YAMAKAGASHI (*RHABDOPHIS TIGRINUS*) RABBIT SERUM AND ITS CLINICAL APPLICATION

YOSHIHARU KAWAMURA AND YOSHIO SAWAI

Japan Snake Institute

Yamakagashi, a colubrid, is a common snake in Japan. Recently, certain severe cases of the bite including a fatal case, have been reported. This report deals with the preparation of anti-Yamakagashi antivenom and its clinical use.

The Yamakagashi venom extracted from Duvernoy's glands and inactivated by 2% formalin was used for immunization of rabbits. Rabbits were injected subcutaneously with one dose of 2.0 ml containing 4 mg of the venom and the same amount of Freund's adjuvant. Four weeks after the injection, 3 doses of plain toxoid and 4 doses of the crude venom at an interval of one week. One week after the last shot, 800 ml of antivenom collected from 16 rabbits was fractionated by Na₂SO₄. The final product of 10 ml vial of freeze-dried antivenom was prepared according to the standard method of biological products. One-tenth ml of the antivenom neutralized 114.95 μg (43.2 LD₅₀) of the venom.

It was elucidated that the antivenom injected intravenously into one patient of severe envenomation was effective to improve the symptoms of subcutaneous hemorrhage, hematuria, gum bleeding and prolonged coagulation of blood.

71 HISTOPATHOLOGICAL STUDY ON MOSQUITO BITTEN WOUND (SECOND REPORT)

ELYUSRAR A. JALAL^{1,2}, SHOKICHI TANI^{1,2}, KIICHI SATO¹,
SUSUMU HOTTA¹ AND KIYOSHI KAMIMURA³

Institute for Tropical Medicine¹, and Department of Medical Zoology², Kanazawa
Medical University and Department of Pathology, Toyama Medical
and Pharmaceutical University³

The authors have previously reported that the appearance of eosinophilic cells were noted in the sub papillar layer of the corium in the histopathological examination of the guinea pig's skin after the single bite of the mosquito. In the present study, the histological alteration of the cutaneous reaction after repeated bite was examined. Experimental conditions are as follow; 1) Experimental animal: Hartley strain guinea pigs. The hair in the 2×2 cm area on the back skin was removed and exposed to mosquito bite. 2) Mosquito: *Culex tritaeniorhynchus*. 3) Bite frequency: weekly, 4–5 mosquitoes for 5 minutes per bite, continued up to 12 weeks.

Results: 1) The cutaneous reaction as 5–10 mm diameter erythema and wheal was observed after 8–12 weeks. 2) Histopathological examination revealed eosinophylic cell infiltration in the sub papillar layer of the bitten area. 3) Eosinophylic cells were clearly demonstrated by Pinkus's Orcein-Giemsa stain as also later proved in TEM observation. 4) In our SEM observation, eosinophylic cells cannot be distinguished clearly from other blood cells.

72 ELECTRON MICROSCOPIC STUDY ON SURFACE STRUCTURE OF *ANGIOSTRONGYLUS CANTONENSIS* EGG SHELLS

SHOJI UGA, KAZUYOSHI ARAKI AND TAKEO MATSUMURA

Department of Medical Zoology, Kobe University School of Medicine

The egg shells of *Angiostrongylus cantonensis* were observed by means of a transmission electron microscope. The eggs used in this study were those recovered from uterus and those cultured *in vitro* for 1 to 7 days. Immature eggs were found in the middle part of uterus without specific structures. In the lower part, innumerable projections were observed on the egg shell. On the 1st and 3rd days, the projection became to have a few microbilli on its tip. These structures decreased in number with ageing of eggs.

Considering the life cycle of this nematode, the structure found on the egg shells seems to play a role in embedding themselves in the capillary.

JAPANESE JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE

Vol. 14 No. 3

September, 1986

CONTENTS

Original article

Yamada, M., Takeuchi, S., Ogino, K., Ikai, T. and Yoshida, Y.

Manifestation of *Pneumocystis carinii* Pneumonia in Rats with
Protein Deficient Malnutrition (in Japanese) 155-162

Proceedings of XXVII Annual Meetings of Japanese Society of Tropical Medicine (2)

Contents 207-210

General presentation 211-254

Letter to the editor 255-259

Published by

JAPANESE SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE

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