

[I-29]

ATLAS OF OCULAR ONCHOCERCIASIS

Akio HOSAKA M. D.

Director and Professor, Department of Ophthalmology,
Asahikawa Medical College

Hiroto YAMADA M. D.

Assistant Professor, Department of Ophthalmology,
Fukushima Medical College

Satoru TAKANO

Chief Technologist, Department of Ophthalmology,
Fukushima Medical College

C.O. QUARCOOPOME M.D.

Associate Professor, Unit of Ophthalmology,
University of Ghana Medical School

Japan International Cooperation Agency

Tokyo, JAPAN, 1976

INTRODUCTION

Onchocerciasis, or river blindness, is one of the most important public health problems in West Africa. The authors had an opportunity to make ophthalmological study of the disease in Ghana during the period of May 1973 to May 1974.

Though the informations on onchocerciasis have recently been accumulated, it does not necessarily follow that many colour photos of the eye affection are available. Increasing attention has lately been paid to the disease all over the world. It will be authors' pleasure if this atlas could be helpful for promoting general understanding and interest as to the terrible disease — onchocerciasis.

OCULAR ONCHOCERCIASIS

Onchocerciasis is an infection by *Onchocerca volvulus* transmitted by the bite of certain kind of black fly — *Simulium damnosum* in Africa. After developing dermatitis and subcutaneous nodules (*Onchocercomata*), usually, the eye ball also gets involved. The appearance and development of ocular lesions seem to depend upon the duration and intensity of the infection. It is not yet clear how the microfilariae enter the ocular tissues, however, it seems probable that they penetrate cornea (especially at the limbus) anteriorly and sclera (alongside the vessels and nerves) posteriorly.

In the anterior segment, early manifestations are: superficial fluffy or punctate opacity of the cornea and acute iritis. Later, sclerosing keratitis and recurrent or chronic iridocyclitis develop, which may lead to blindness as the results of leucoma corneae and or secondary glaucoma.

In the posterior segment, the situation is not so simple that there is still a controversy on pathosis and pathogenesis. However, early manifestations may include: localized inflammatory lesions, discrete atrophic areas and sporadic scar formations. Recurrent or long-standing infestation may bring about larger confluent cicatricial lesions or large irregular atrophic foci. Anyhow, at the end stage,

the fundus shows generalized or extensive degeneration associated with secondary optic atrophy.

The authors are not in a position to state definitely if the optic atrophy without or with few other signs can be caused by onchocerciasis. Final four photos may offer some suggestions.

INSTRUMENTATION

The instruments used for the photography of this atlas are:

Nikon F Camera for ordinary photo
Medical Nikkor Auto for close-up photo
Nikon Zoom-photo Slitlamp Microscope for slit photo
Olympus Retinal Camera GRC-II-C for fundus photo

ACKNOWLEDGEMENT

This study was carried out under the Program of Japan-Ghana Medical Research Cooperation. The preparation of this atlas was made possible through Japan International Cooperation Agency (JICA).

We wish to express our thanks to the staff of JICA and also to the staff of Fukushima Medical College and other members of Unit of Ophthalmology, University of Ghana Medical School.

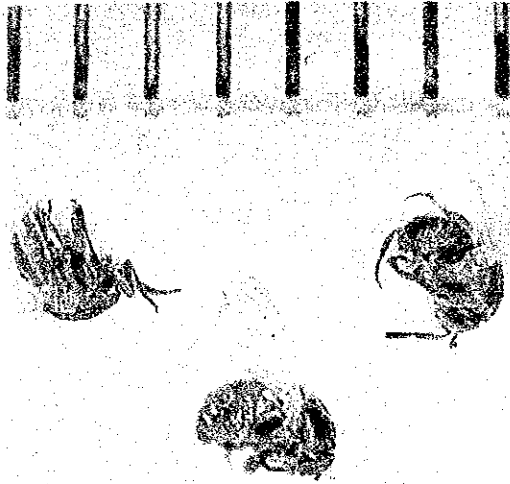


Fig. 1. *Simulium damnosum* (black fly),
vector of the disease.



Fig. 2. Larvae of the fly.

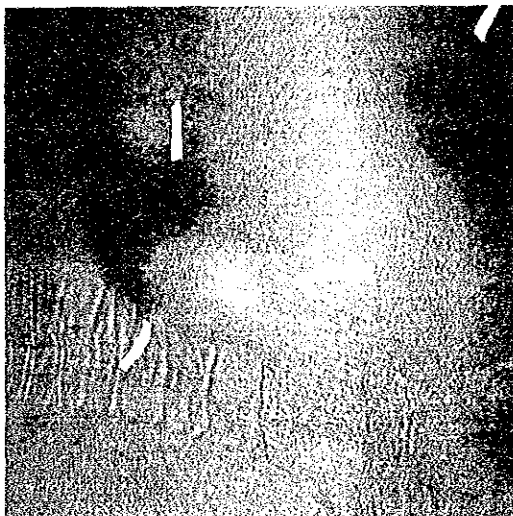


Fig. 3. Big nodule at waist.

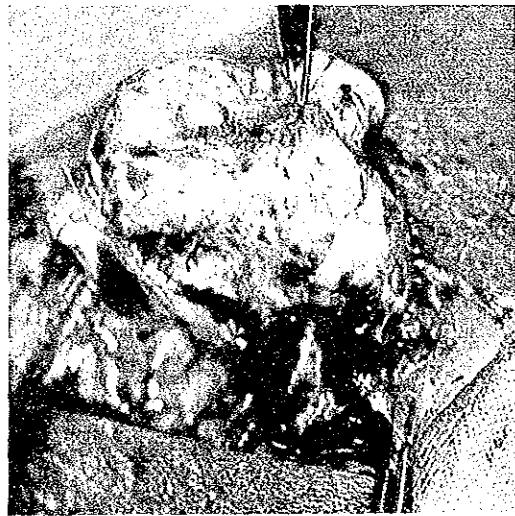


Fig. 4. Excision of the nodule.



Fig. 5. Section of the nodule including adult worms of *Onchocerca volvulus*.

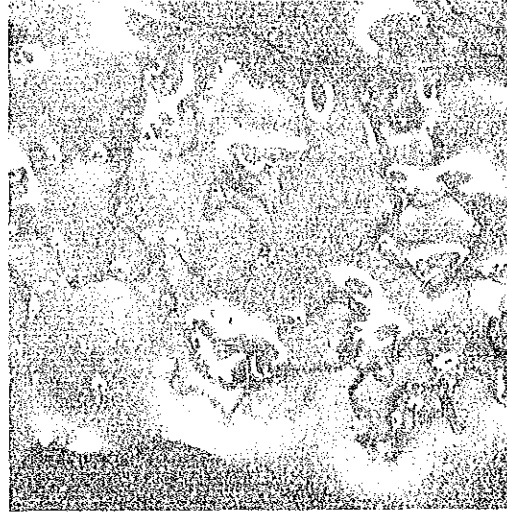


Fig. 6. Many adult worms coiling in the nodule.



Fig. 7. Palpation of nodule.

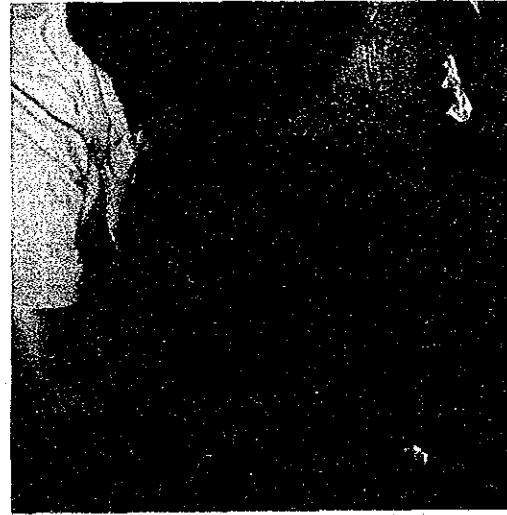


Fig. 8. Practice of skin snipping in lower leg.



Fig. 9. Snipped regions showing proper (right) and too deep (left, bleeding) snipping.

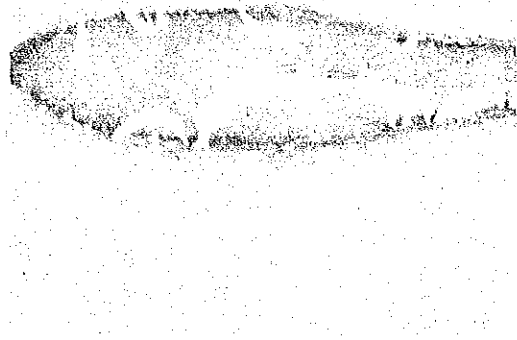


Fig. 10. Snipped skin put in tap water.

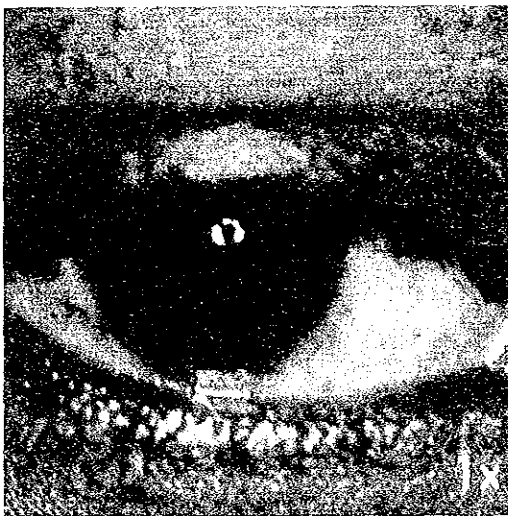


Fig. 11. Superficial diffuse opacity of the cornea, 18 year old female.

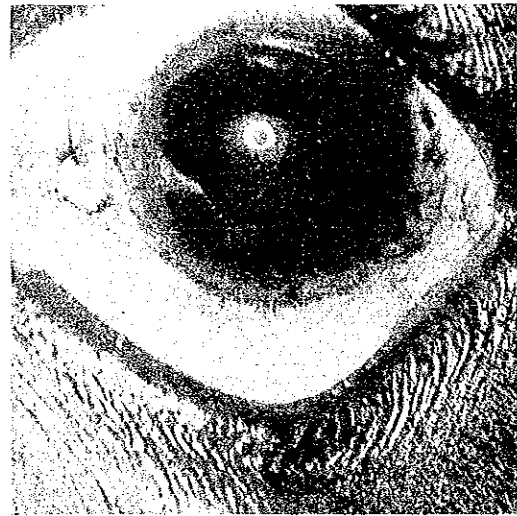


Fig. 12. Sclerosing keratitis, chronic iritis associated with synechiae and complicated cataract, 41 year old male.

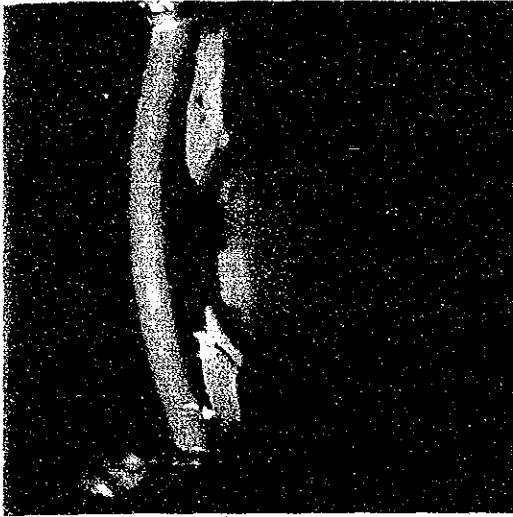


Fig. 13. Superficial keratitis and acute iritis,
19 year old male.
Many microfilariae were detected
in anterior chamber.
Vision: 6/24



Fig. 14. Superficial corneal opacity,
35 year old male, right eye.

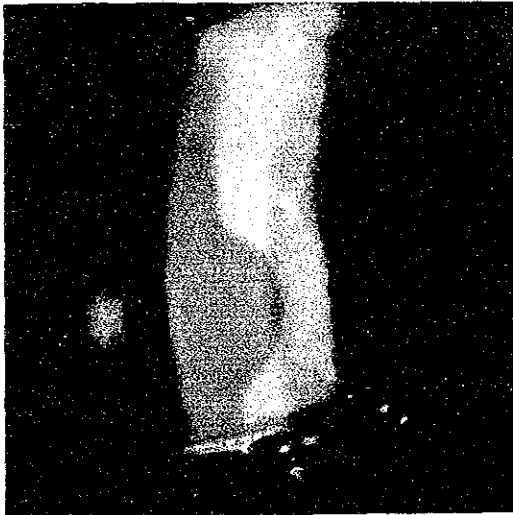


Fig. 15. Similar finding of the same patient,
left eye.

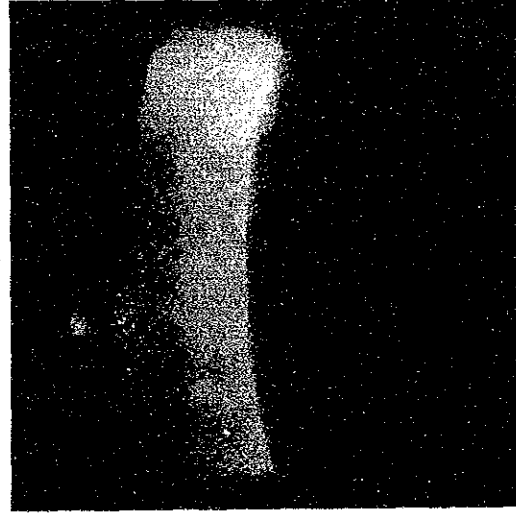


Fig. 16. Punctate keratitis, 16 year old female,
left eye.
Vision: 6/9



Fig. 17. Punctate keratitis in right eye of the same patient.
Vision was P.L. because of large leucoma and of suspected retinopathy.

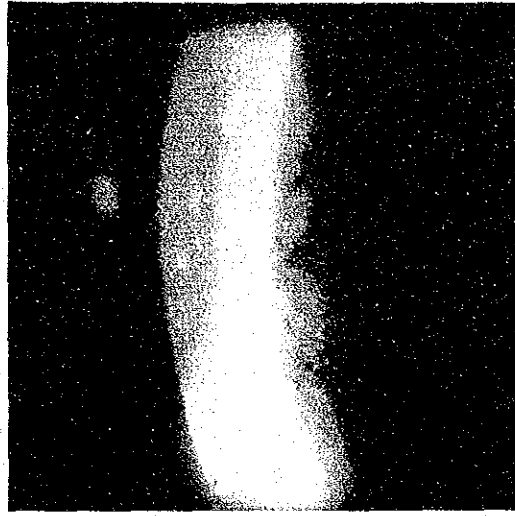


Fig. 18. Corneal opacity and degeneration associated with severe chronic iritis.
Vision: Null

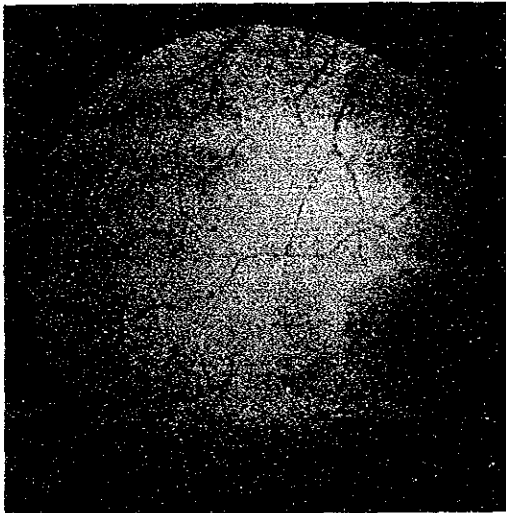


Fig. 19. Early active lesion temporal to the macula, 18 year old female, right eye.



Fig. 20. Similar finding in left eye of the same patient.

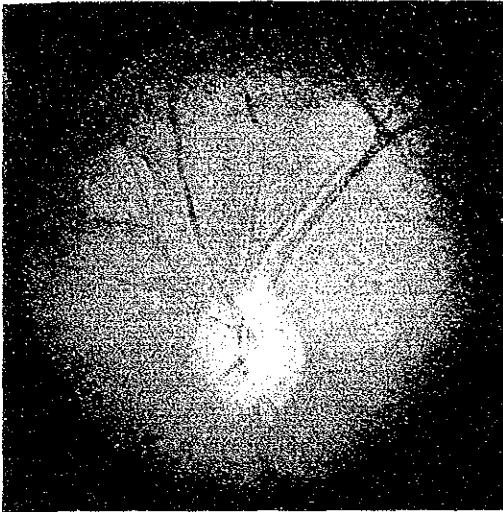


Fig. 21. Small round scarring naso-superior to the optic disc, 29 year old male.
Vision: 6/12

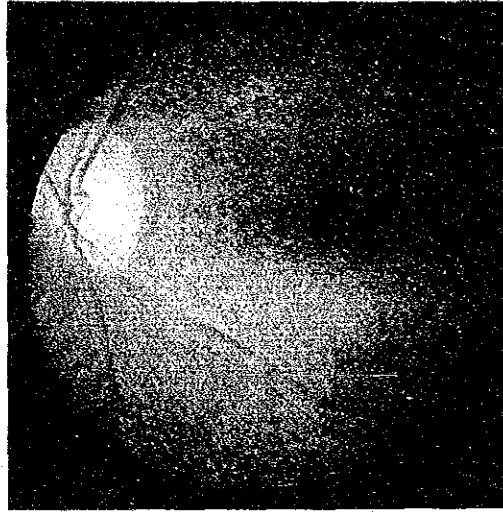


Fig. 22. Moderate lesions in the posterior pole, 19 year old male.
Vision: 6/24

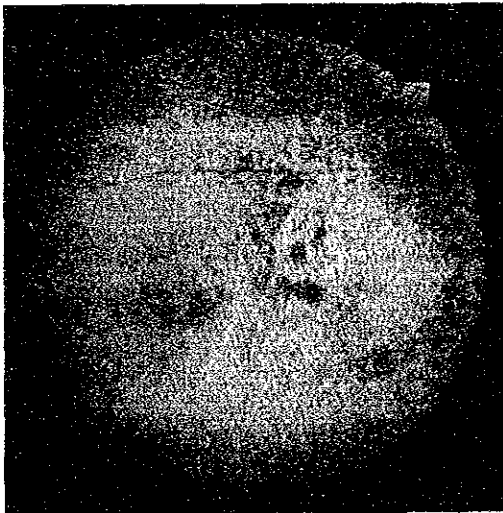


Fig. 23. Same eye as Fig. 22.

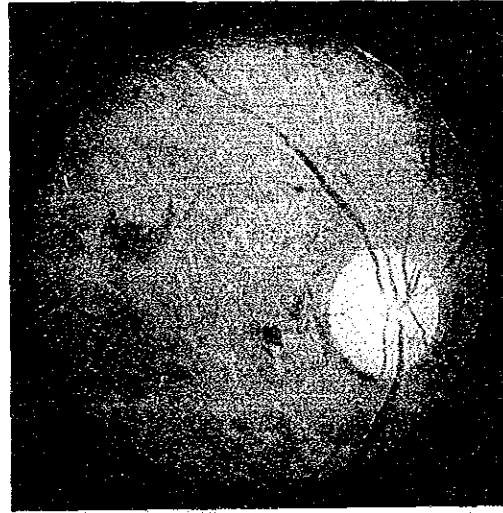


Fig. 24. Gyrate irregular atrophy of the fundus, 32 year old male.
Vision: 6/18

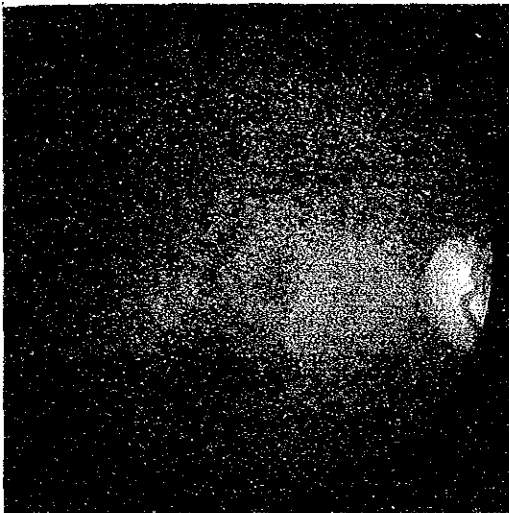


Fig. 25. Early macular lesion,
75 year old female, right eye.

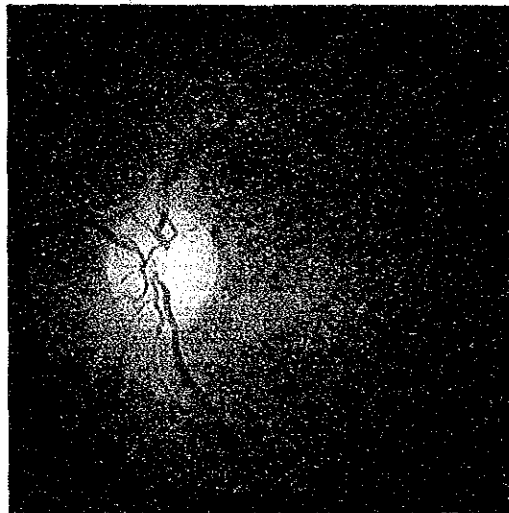


Fig. 26. Similar finding in left eye
of the same patient.

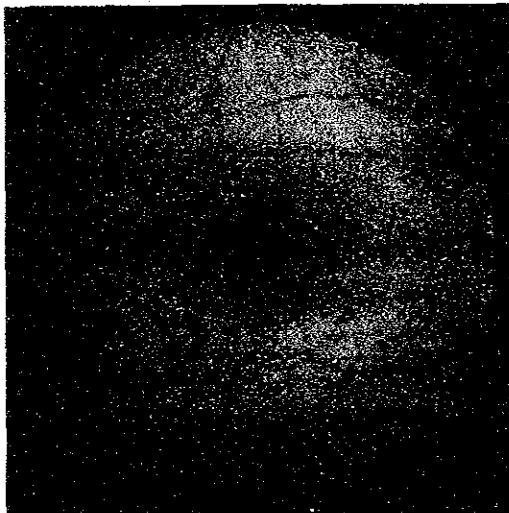


Fig. 27. Early macular lesion,
23 year old male.

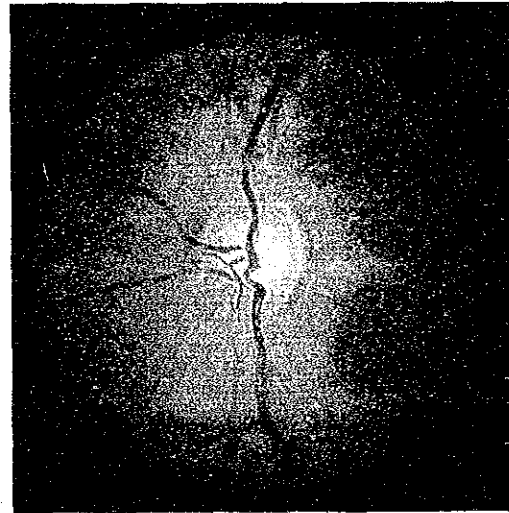


Fig. 28. Early macular lesion,
23 year old male.

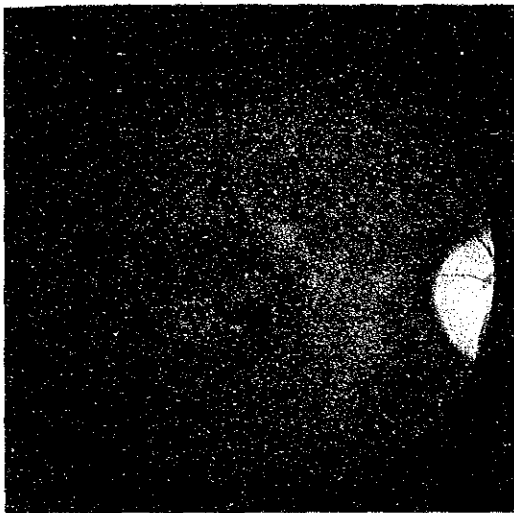


Fig. 29. Pigmented macular lesion,
17 year old male, right eye.
Vision: C.F.

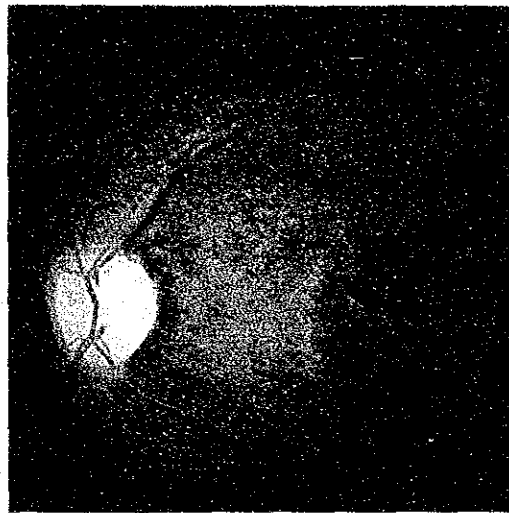


Fig. 30. Macular lesion, left eye of
the same patients.
Vision: 6/30

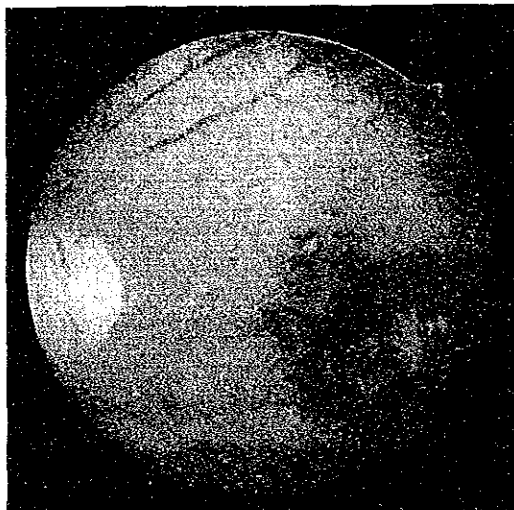


Fig. 31. Old macular lesion and
vitreous opacity,
39 year old male.
Vision: C.F.

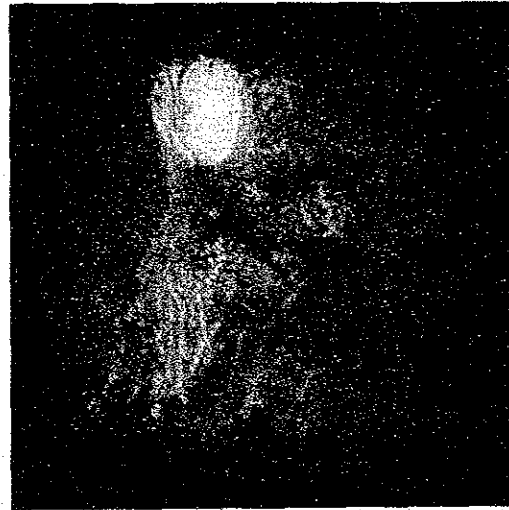


Fig. 32. Diffuse irregular degeneration and
secondary optic atrophy,
35 year old male.
Vision: H.M.

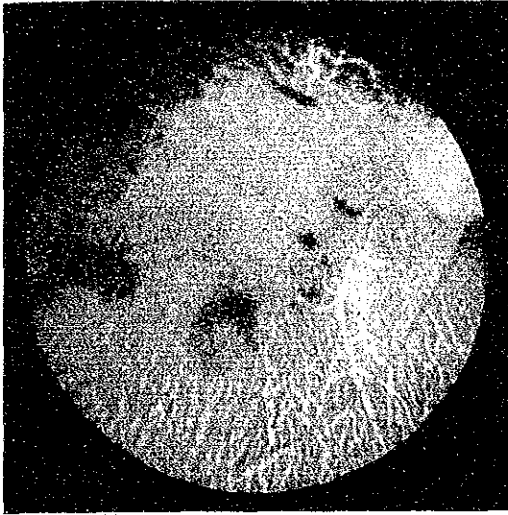


Fig. 33. Extensive degeneration,
39 year old male.
Vision: P.L.

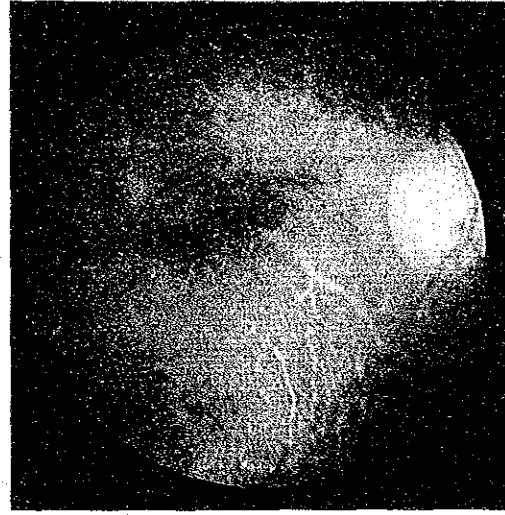


Fig. 34. Extensive degeneration,
43 year old male.
Vision: 6/24

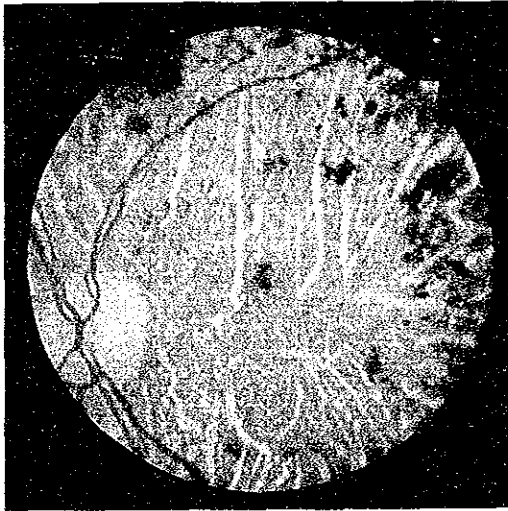


Fig. 35. Extensive degeneration,
54 year old female.
Vision: H.M.

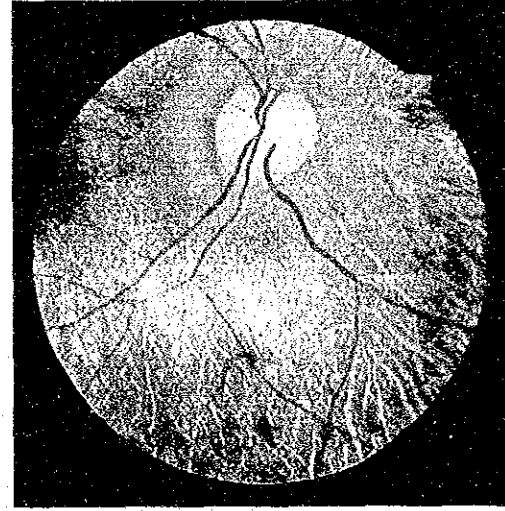


Fig. 36. Extensive degeneration,
50 year old male.

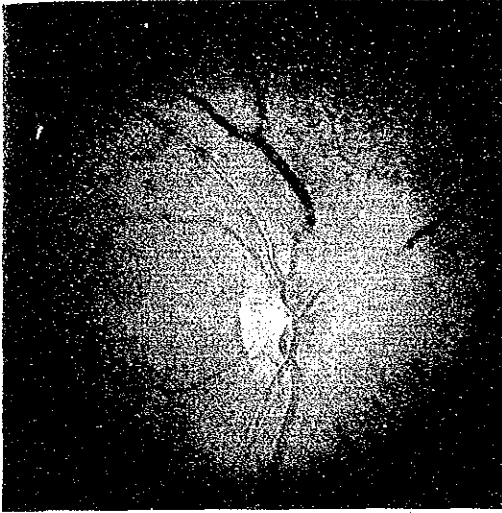


Fig. 37. Optic neuritis, 18 year old male.
Vision: H.M.



Fig. 38. Palor of the optic disc and
change of arteries,
25 year old male, right eye.
Vision: 6/9/

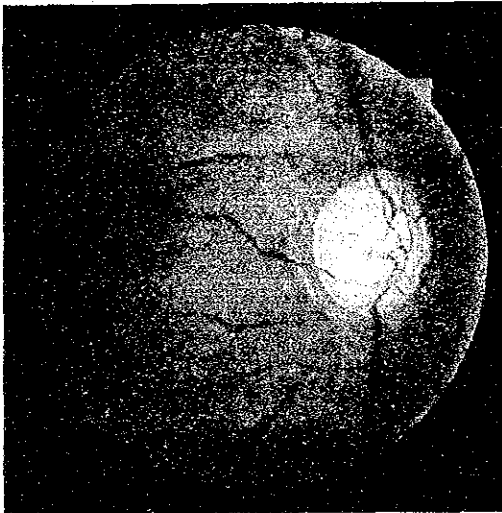


Fig. 39. Optic atrophy, 66 year old male.
Vision: 6/30

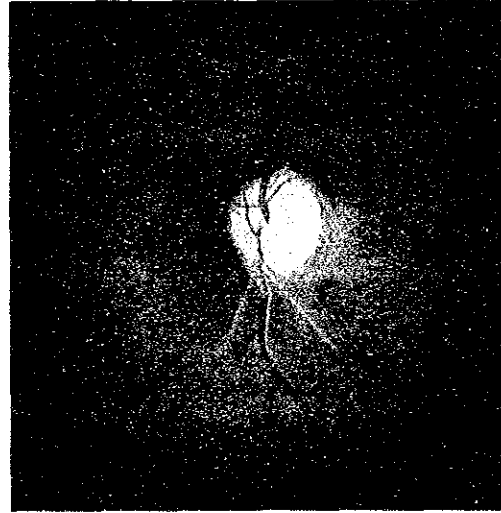


Fig. 40. Optic atrophy, 25 year old male.
Vision: H.M.

[I-30] オンコセルカ症の現況と問題点

保 坂 明 郎

HOSAKA, A.:

RECENT PROBLEMS OF ONCHOCERCIASIS

JAP. J. CLIN. OPHTH., 30 (11), 1241 - 1251, 1977.

Abstract:

Onchocerciasis (river-blindness, Robles disease) is one of the most threatening filarial disease causing blindness transmitted by blackfly, and highly infected in Africa and Central America. Onchocerciasis is not only blinding disease but also systemic infectious disease. The onchocerciasis control programme were launched in Africa in 1974 and in Guatemala in 1975. It will be authour's pleasure if the critical attention and helpful understanding should be paid to onchocerciasis.

臨 床 眼 科

第30卷 第11号 別刷

昭和51年11月15日 発行

医 学 書 院



オンコセルカ症の現況と問題点*

保坂明郎**

緒言

オンコセルカ症 (Onchocerciasis, 以下オンコ症) は糸状虫類 (Filarioidea) の1種である *Onchocerca volvulus* (以下 *O. volv.*) が、ブユを媒介虫としてヒトに寄生して起こる疾患である。アフリカでは、Riverblindness, 中米では Robles 病として恐れられている。日本でも家畜のオンコ症は分布しているが、この場合の寄生虫は *O. gutturosa* や *O. cervicalis* であつて、*O. volv.* によるヒトのオンコ症は見られていない。近年、アフリカについての関心が高まつたためテレビ、新聞などでも Riverblindness が二、三度取上げられたが、未だ一般には、よく理解されるに至っていないようである。

ヨーロッパにもヒトのオンコ症は土着していないが、ある程度長く流行地に滞在した主として宗教関係の白人の罹患が報告されている。最近では日本からも発展途上国に海外駐在員としてかなりの人々が滞在しているので、オンコ症を持ち帰る危険性もあるわけである。著者は昨年オンコ症について紹介したので、なるべく重複を避け、この2,3年の新知見に重点を置いて現況を紹介し、問題点を記してみたいと思う。

オンコセルカ症の分布と流行度

本症の流行地はアフリカ大陸次いで中南米 (ラテンアメリカ) であり、アラビアの Yemen その他の散在地を入ると、世界中の罹患者は2,000万人とも、3,000万人とも推定されている。

* Recent Problems of Onchocerciasis

** 旭川医科大学眼科学教室教授, WHO ; OCP/STAC 委員

Akio Hosaka : Department of Ophthalmology, Asahikawa Medical College. WHO, Onchocerciasis Control Programme in the Volta River Basin Area/Scientific and Technical Advisory Committee

最大の浸淫地は熱帯アフリカであつて、サハラ砂漠以南で北緯 15° を北限として西はセネガルから東はエチオピアに至る広範囲なベルト地帯である。また赤道の南ではアンゴラからタンザニアにわたつている。これらの多くの地域で住民の50%以上が、感染を受け、30%に視力低下があり、4~10%が失明している。蔓延地区では13~35%の失明率の所もある。疫学的には流行状態を4群に区別している。すなわち散発例 (罹患率が人口の9.9%以内)、軽度流行 (10~39.9%)、中等度流行 (40~69%)、高度流行 (70%以上) である。

British Empire Society for the Blind が集めた資料によると、ヨーロッパの失明率は0.25%、トラコーマ蔓延地区の失明率が0.5~1.0%であるのにオンコ症の流行地では最低1.5%であり、本症の眼障害の頻度の高さが理解されよう。

中南米での流行地はグアテマラ、メキシコ、ベネズエラ、コロンビアの4カ国であるといわれていたが、近年ブラジル、エクアドル、エルサルバドルにも発見されており、ラテンアメリカ全体の患者数は100万程度といわれる。多田氏によれば、グアテマラの流行地は太平洋にある山岳地帯から、その斜面にかけてのベルト地帯に点在しており、感染者は数万ないし10万人と推定されている。メキシコでは、南西の山岳部の部落やコーヒー園に見られ、主な流行地区は、Chitpas, Oaxaca, Guerrero などの州である。ベネズエラでは北部の州のうち、東部では Barcelona の東、西部では Valencia の南に主な流行地があり、その他数個の小流行地がある。コロンビアではアンデスの太平洋斜面の Micay 河に沿う孤立地帯である。これらの流行地における感染率はグアテマラで40~66% (Strong), 46~68% (多田), コロンビアで15%, ブラジルで63%などの報告がある。

中南米ではメキシコとベネズエラで DDT を使つて媒介ブユの駆除を行ない、ある程度成功したが、大規模な計画は立てられていない。特にグアテマラでは従来 Brigada と呼ばれる準医師によつて行なわれる定期的巡回

と結節摘除のみが行なわれていたにすぎなかつた。しかしグアテマラ政府からの要請によつて、1973年から75年にかけて、多田氏・中島氏らが派遣されて実態調査を終り、15カ年の技術援助計画が実施されることになつた。

アフリカでは1948年以来、各国によつて熱心なブユの駆除作業が行なわれ、ケニアではウガンダ国境の小さい focus を除きほぼ完全に成功した。他の国々でも一部は成功したがオンコ症は依然として猛威を振つている。不成功の原因は季節によつて河川の流れが變つて、ブユの新しい生息地ができることならびに近隣地域からの感染源の再移入があるためである。特に最大の浸淫地であるボルタ河流域地方では関係7カ国が協力して広い地域にわたつてコントロール計画を行なうことを決定し(1970)、1971~73年にかけて、およその疫学的調査を終り、WHO は要請を受けて1974年より20年間におたるオンコ症撲滅計画を開始する協定が成立した。この計画に含まれるのは、ダホメー・ガーナ・アイボリーコースト・マリ・ニジェール・トーゴ・アッパーボルタの7カ国の一部から成る約70万 km² の地域で人口約1,000万人であり、予算は1億2千万ドルと査定された。この地域内の患者数は85万人と計算されているが、調査の不備を考慮すればおそらく100万人を越すと考えられている。

伝播と感染

オンコ症を起こす寄生虫はアフリカ種とアメリカ種と

は異なるといわれたこともあるが、現在のところ *O. volv.* であつて形態的な区別はつけがたいとされる。ヒトからヒトへの感染は知られておらずブユによつて媒介される。本症に罹患しているヒトをブユが刺す際にヒトからブユに仔虫 (microfilaria) が摂取され、その一部が生き残つて感染型幼虫 (infective larva) となり次にブユがヒトを刺す時にこの幼虫が皮膚に入つて感染が成立する。伝播に関係するのはメスのブユだけであつてオスのブユは植物の汁などを食料としている。

1. *Onchocerca volvulus* の生態

オンコセルカ属の成虫は一般に哺乳類に寄生して仔虫を産生する。アフリカの動物から少なくとも7種のオンコセルカが報告されている。*O. volv.* の終宿主はヒトであるが、クモザル、ゴリラでも自然感染が認められており、チンパンジーでは、実験的に感染させることができる。最近では種が違わないまでも *O. volv.* の株間に差異があるだろうと考えられ、その研究も進められている。

ヒト宿主からブユに摂取された仔虫の大部分はブユの腸内で消化されて死ぬが、一部が腸壁を穿通して胸筋に入つて第1期幼虫 (first stage larva) となり、2回脱皮して感染型幼虫となつて体腔から物に移り、ブユの吸血時にヒトの皮膚に侵入する。ブユの体内で感染型幼虫となるまでの期間はブユの種類その他の条件で異なり、1~2週間といわれる。ヒト宿主に入つた幼虫は数カ月か

CARACTERES DES MICROFILAIRES					
	W. BANCROFTI	LOA-LOA	A. PERSTANS	O. VOLVULUS	A. STREPTOCERCA
ATTITUDE					
EXT. ANT.					
EXT. POST.					

第1図 Characters of various microfilariae.

ら1年間ぐらいで徐々に発育して成虫となる。成虫はオスでは体長約2~5cmであるが、メスは約30~50cmにも達し、多くは皮下組織内または皮下結節中にコイル状にからまつており、盛んに仔虫を生む。成虫の寿命は16年前後と推定される。仔虫は体長0.3mm前後で大小2種あるように見えるがメス・オスの区別は未確定である。仔虫は古典的には皮膚と眼にのみ存在するとされていたが、近年さまざまな組織に発見されており(後述)、仔虫の移動方式は未だ謎に包まれている。仔虫の寿命は1~3年といわれ、ヒト組織内で死亡するか、またはブユに摂取されるかの運命をたどる。なおヒトの皮膚内の仔虫数に時間的変動があるとの以前の成績は最近否定され(Buckら, Picqら, 多田ら), 多田氏によれば最小最大比が1.5にすぎず、有意な変動ではない。流行地で皮膚から仔虫が発見されれば、ほとんどが *O. volv.* であるが、他に鑑別すべきものとして、*W. Bancrofti*, *Loa-loa*, *A. Perstans*, *A. streptocerca* がある。これらはその動態・頭部と尾部の形態から容易に鑑別される(第1図)。

2. 媒介ブユ (Blackfly, Simulium)

ヒトのオンコ症を媒介するブユには現在のところ次の種類が知られている。

S. damnosum complex: アフリカ大陸の流行地では大部分がこのブユの媒介による。全く同一でなく、少なくとも3種類が区別されそうであるが、今のところ、*complex* として扱っている。

S. naevi group: アフリカの一部の地域の媒介ブユで幼虫期には淡水産のカニに寄生するのが特徴

S. ochraceum: 中南米, 特にグアテマラ, メキシコ

S. metallicum: 中南米, 特にベネズエラ

S. callidum: 中南米

この他、中南米では少数例に *S. exigua* が見られる。

一般に *O. volv.* の仔虫とブユの間には密接な関係があり、例えばグアテマラのブユ (*S. och.*) は、アフリカの仔虫よりグアテマラの仔虫をよく取りこみ、アフリカのブユ (*S. dam.*) の体内での発育はアフリカの仔虫の方がはるかに良好である (Leon and Duke, 1966)。アフリカでもオンコ症による症状がサバンナと熱帯林地帯で差があるのは、このような *Onchocerca-Simulium complex* が関係しているかもしれない。

ブユの生態については種類による差があるばかりでなく、調査不十分でなお不明な点が多い。特に成虫の休息場所は不明である。しかし最近の資料によると妊娠しているブユは川の近くに留まるか、川に沿って移動するが、その他のブユはかなり遠くまで分散するとのことで

ある。飛行範囲も数 km から 100km 以上にわたる報告がある。ただ共通的なのはどの種類も川で産卵することであり、幼虫期から成虫期直後までの生息地は川とその周囲に限られている。*S. dam.* についていえば、標高500~1,500mの土地で、水流の速い(60~250cm/sec)川の浅瀬に約250個の卵をまとめて産卵する。これがふ化して幼虫・蛹を経て成虫になるのに10~20日ぐらいを要するという。

ブユの種類によつてヒトを刺す部位、刺す時間(1日のうち何時頃が多いか)に差があるらしいが、この習性についてなお研究すべき問題がたくさんある。しかしマラリアなどと違って感染型成虫が少数侵入したからといって直ちに発病に結びつくものではなく、発病には多数の幼虫が反復してヒトの皮膚に移入されることが条件である。

臨床症状

O. volv. の成虫は皮下に限局性に遊離して存在する場合と結節内に存在する場合とがあり、定形的には仔虫は皮下組織と眼に存在し、その他の組織にはほとんど見られないというのが以前の概念であった。しかしこの数年來仔虫がいろいろな身体組織に存在することが明らかにされてきた。

オンコ症のもつとも重篤な臨床形は皮膚病変と眼兆候とから成り、眼の前眼部も後眼部も侵されて失明するに至る。しかしほとんど無症状の場合もあり、またこの中間に位する比較的良性的な形から重症に至るいろいろな段階の症状が見られる。以前には成虫の毒素や V.A. 欠乏が関係すると考える人もいたが、この数年で、症状を起こすのは成虫ではなく仔虫であるという考えが支配的になつてきた。

オンコ症の臨床像について重要なのは気候風土によつて変化があるだけでなく、同じ地域でも focus によつて差があることである。この原因については未だ明らかにされていないが、*O. volv.* やブユの差によるものか、ヒト宿主の反応に差があるのか、あるいは一元的で感染程度の問題なのか今後の課題である。いずれにしても、仔虫が死ぬと仔虫の含む物質の吸収によつて起こる組織の破壊と組織の反応との結果によつて症状が発現してくるとされている。

1. 眼部以外の症状

1) オンコセルカ結節 (Onchocercoma, Nodule)

皮下組織内に存在する成虫を中心として形成されるセンイ性結節である。やや硬い弾力性のある円形または楕円形の結節で無痛性で境界明瞭である。大きさはまちまちで直径0.5cmから10cm以上にも達し、通常ゆ着は

ないが、時として骨膜・深部筋膜または皮膚にゆ着している。結節同志が融合して、分葉状構造をとることがある。アフリカでは結節は骨盤周囲や下腿に多く見られるが、中南米では頭部に多いという(多田氏はグアテマラの調査では半数が頭部に、半数近くが腰部にあつたとしている)。結節の中心部はミルク状をなし(リポイド、コレステロール)、成虫のみでなく、仔虫も発見される。別図1はガーナ人患者の腸骨隆部の大結節であり、別図2は該結節の中心部に見られた成虫の一部である。

2) オンコセルカ皮膚炎 (Onchocercal dermatitis)

早期症状の中でもつとも重要なのは掻痒である。どの部分の皮膚も侵され、軽度感染者では唯一の兆候である場合がある。他覚的变化としては斑点状の色素沈着が見られることがある。黒人では十分な照明で観察しないと見落すことがある。初期の皮膚の biopsy を行なう機会は少ないが、この時期には炎症細胞の軽度の浸潤が血管周囲および付属器周囲に見られる (Buck)。

丘疹は初期のみでなく、どんな時期にもできる。小さくて隣り合つて並んでいることもあり、大きくて互いに離れている場合もある。掻痒が著明なため引き掻き傷を作り出血や二次感染を起し潰瘍性になることがある。この状態をアフリカではクロークロー (crawl-crawl) と呼ぶ。皮膚の炎症細胞浸潤が強くなると変化は真皮から

更に皮下脂肪にまで及ぶ。アフリカ型では記載がないが、中南米では特異な帯紫色の発疹 (Mal morado) があり、また重篤な場合には紅斑と発疹を来し、発熱を伴う (Erisipela de la costa) という。Yemen では暗色の限局性の掻痒性皮膚炎があり、丘疹が合併し、所属リンパ節が肥厚した状態 (Sowda という) が知られている。

皮膚病変の病理組織的検討は十分でないので未解決な点が多いが、慢性化してくると苔癬様変化を起し(とかげ皮, Lizard skin), また斑状限局性の色素脱失を来して汚い外観を呈する。これを café-au-lait area または Leopard skin と呼ぶ。末期には皮膚の萎縮は高度となり光沢と弾力性を失ない、乾燥して過剰なしわができて皮膚を押すとゆつくり元に戻るだけで、場所によつては垂れ下つたままになる (crushed tissue paper)。皮膚のこのような所見は Lichenification, Presbydermia, Pseudoichthyosis, Packydermia などと記載されている。

要するに仔虫を中心として起こる炎症の反復と進行のために軽度の表在性変化から高度の萎縮に終るものである。

3) 全身への影響

オンコ皮膚炎のある領域の表在性リンパ節にも炎症が起こる。しかし Buck によるとアフリカの患者と、Ye-

第1表 Evidence of systemic onchocerciasis*

Organ or site	O. volvulus adults	microfilariae	Frequency and type of observation	Geographic area and year
Blood		+	Occasional in histopathological specimens	Zaire 1970
		+	5 hospital patients	Mexico 1959
Blood vessel		+	1 autopsy	Zaire 1935
Aorta	+	+	1 autopsy	Zaire 1970
Liver		+	1 autopsy	Zaire 1970
		+	1 autopsy	Zaire 1935
Kidney		+	1 autopsy	Zaire 1970
		+	1 autopsy	Zaire 1935
Lungs		+	1 autopsy	Zaire 1970
Spleen		+	1 autopsy	Zaire 1935
Lymphatic system		+	Routine finding in histological examinations of lymph nodes in endemic areas	Tropical Africa
Cubital nerve		+	1 autopsy	Zaire 1935
Cerebrospinal fluid		+	5 cases	Mexico 1959
		+	a number of cases	Zaire 1932
Urine		+	See Table 2.	
Vaginal smear		+	2% of Papanicolaou smears in a hyperendemic focus	Cameroon (savanna) 1973
Sputum		+	3 cases following first dose of diethylcarbamazine (treatment trial)	Cameroon (savanna) 1973

* after A.A. Buck, 1974.

第2表 Geographical occurrence of microfilaruria in onchocerciasis from tropical Africa and Mexico*

Country where cases were seen	Type of population	Frequency of microfilaruria	Type of study	Method of urine examination
Nigeria	hospital patients	1 case	clinical study	routine
Mexico	hospital patients	5 cases	clinical study	routine
Uganda Zaire	nonrandom sample of general population	7/300=2.3%	survey with routine urine examinations	routine
Ethiopia	hospital patients	1 case	incidental finding in hospital lab.	routine
Liberia	hospital patients	1 case	incidental finding in hospital lab.	routine
Chad	total village population	44/386=11.4%	epidemiological study	triple concentration
Chad	selected village population	46/135=34.1%	clinical study of microfilaruria	routine
Cameroon (forest)	patients selected for treatment	3/40=7.5%	routine urine examination	triple concentration
Upper Volta	outpatients	13/100=13.0%	clinical study	triple concentration
Ivory Coast	nonrandom sample of population	5/100=5.0%	survey	triple concentration
Nigeria	hospital patients	occasional observations	not specified	routine
Cameroon (savanna)	representative sample of general	18/347=5.2%	epidemiolog. study	triple concentration
Ghana	hospital patients	8/176=4.5%	clinical study with routine urine examination	triple concentration
Mali	outpatients	22/85=25.9%	clinical study	triple concentration
Cameroon (savanna)	nonrandom sample of village population in hyperendemic area	35/94=37%	survey	routine

* after A.A. Buck, 1974.

第3表 Changes of the weight : height ratio (W : H) between the 1967 and 1970* studies in Chad in relation to microfilarial counts in skin snips

Skin snip count	No. in group	Mean W : H for 1970	Difference in W : H 1967-70	t for difference
<50	25	1.74	+0.01	0.5
50-100	14	1.67	-0.05	1.1
>100	4	1.27	-0.27	3.5

* after A.A. Buck, 1974.

men の患者のリンパ節の組織は全く異なり、これは宿主の反応機序が異なるためであろうとしている。その他のリンパ系統の兆候としては Hanging groin (ソケイ部の下垂) や外陰部の象皮病が報告されている。しかし西アフリカの流行地域では、このような所見はほとんど見られていない。地域による、またヒト宿主による差が本当にあるのか更に研究が必要であるが、他のフィラリヤ症の合併の疑いも忘れてはならない点であろう。

寄生虫の教科書などにはオンコ症の病変は皮膚と眼に限局されており、仔虫が血中に入ることはないと記載されており、一般にもそう信じられてきた。しかし眼や皮膚以外の器官に仔虫を証明したという報告が近年続々と出ているのでオンコ症が全身感染および全身病の原因として他の症状を起こす可能性が考えられるようになってきた。第1表は仔虫の証明された器官や組織を示し、第2表は尿中に仔虫の発見された報告を総括してある。こ

れに関連し慢性オゾン症の全身的影響が注目されるようになり、Rolland and Balay は異なる流行度の部落間で体重を比較すると、流行度の高い部落では男女とも体重が低いことを発見した。Buck らは感染程度の異なる患者を3年間にわたって follow up し、重症感染者では有意な体重減少のあることを見た(第3表)。なお Rolland and Balay は重症オゾン症では死亡率が非常に高いことにも触れた。

血液とリンパ液の系統的検査は未だ行なわれていないが、皮膚の表在性リンパ管やリンパ節に多数の仔虫が発見されていること、時には血管内にも発見されていること、更に深部臓器にも見られていることから考え合わせると、仔虫の通路が血管またはリンパ管経由である可能性もあるので、従来の病因論は書きかえられるかもしれない。また経胎盤感染も考慮する必要が生じてきたことになる。

2. 眼部病変

眼病変の発現は従来いわれるように感染の程度と持続期間とに関連している。近年では眼症状が仔虫の局所死亡によつて惹起されることを疑う人は少なくなった。アフリカでもラテンアメリカでも流行地域では同様な眼病変が見られている。ただアフリカの熱帯林地域とサバナ地域とを比較すると後者に前眼部病変が多く、寄生虫株の差によると考えられている。しかし著者は以前述べたように、これはサンプリングの不備なことで眼科医が検査した報告が少ないためであつて本質的な差ではないと考えている。事実、最高の流行地帯では幼児期から重症の眼病変が見られ、通常前眼部も後眼部も侵されて若い内に失明する人が多いのである。

如何なる経路によつて限内に仔虫が進入するかについては近年の知見から見ると掘出しに戻つた感がある。統計的資料によれば頭部に結節が多いほど眼病変が多く、また外眼角部皮膚(および結膜)に仔虫が多いほど眼病変が多くなつている。临床上、角膜内や前房内にしばしば仔虫が見られることから、眼部附近に到達する経路は別としても、やはり抵抗の弱い輪部から穿入するという従来の説に従つてよいのではないだろうか。後眼部の病変の成立も問題である。Neumann and Gunders (1973) は1例の組織において、強膜を穿通する毛様動脈の周囲に仔虫の破片と円形細胞浸潤とを発見し、また生きた仔虫が網膜と脈絡膜にいたと報告し、後毛様動脈や神経枝に沿つて眼球後方の強膜を穿通して侵入したものと結論した。臨床的に明らかに後眼部のみが侵されている症例のあること、近年、眼組織のどの部分にも仔虫が証明されていることなどと、この報告を考え合わせれば前眼部に侵入した仔虫が後眼部に移行すると考えるよりも、抵

抗の弱い部分があれば仔虫は何処からでも限内に侵入すると考えた方が自然ではなからうか。ただしこれは著者の推論にすぎない。

1) 前眼部病変

初期には球結膜の浮腫を伴つた、輪部炎として認められ、色素沈着や残すとの記載があるが、そのような時期に患者を診察することは稀であり、また黒人では輪部の色素沈着はしばしば見られるので特徴的な所見とはいえない。

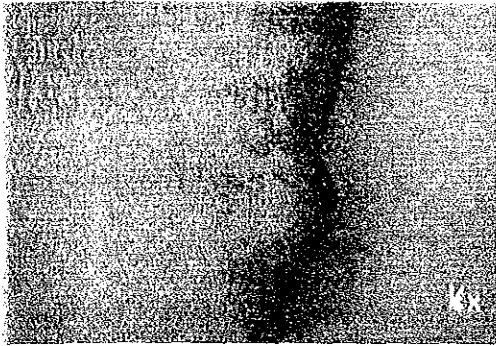
角膜の上皮性および上皮下混濁は比較的早期の所見であり、雲状混濁または点状混濁として見られる。後者は直径約 0.5mm で、EKC に類似しているが、どちらかというとも輪部に近い縁裂部に多いが、混濁そのものはEKC と区別がつかないほど似ている。サバナ地帯に見られる原因不明の円状混濁は、直径 1.0~1.5mm で、境界がもつと明瞭である。上皮下混濁は治療によつて数日で痕跡なく治癒する。これに反し硬化性角膜炎は重篤な病変で角膜内に仔虫が多数存在する場合に起こるといわれる。定型的には2~4時または8~10時位に始まる実質性混濁で普通は側方および下方に進行し、中心部と上部は比較的透明に維持されるが結局は角膜全体が白斑となり実質への血管侵入、更には色素沈着、角膜変性を起こして失明する。硬化性角膜炎と上皮下混濁とは同時に起こる場合もあり、別の時期に起こるとは限らない。進行中の硬化性角膜炎と鑑別すべきものとしてはトラコーマ、翼状片、春季カタルがあり、白斑化した場合にはトラコーマ、緑内障末期、他の原因による変性や癒痕が考えられる。

前部ブドウ膜炎も比較的仔虫の多い場合に起こるといわれる。急性・慢性、重症・軽症など種々の形が報告されているが要するに感染程度の差であつて特異的なものではない。軽い非肉芽性炎症から重い肉芽性炎症までいろいろで、しばしば慢性炎症の存在する上に急性炎症がオーバーラップする。

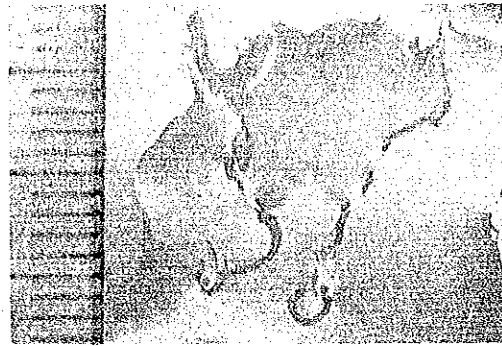
後遺症としては虹彩萎縮、癒着、瞳孔変形などを起こすのは当然で続発性緑内障はもつとも重大な合併症である。前部ブドウ膜炎が長く続けば併発白内障も起こしてくる。硬化性角膜炎が合併している時には前部ブドウ膜炎がかくされているので、常に眼圧に注意する必要がある。別図3は硬化性角膜炎と慢性前部ブドウ膜炎を合併した所見である。

2) 後眼部病変

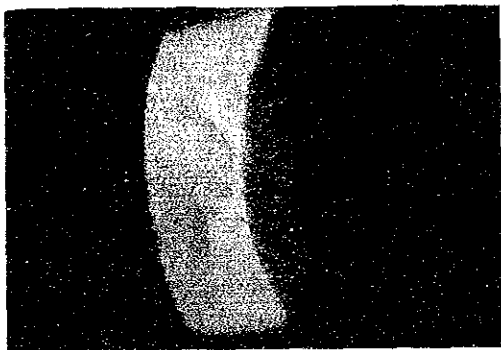
Rodger (1957~60) は滲出型(exudative type)と変性型(degenerative type)とを区別し、この2型は病因が異なると述べた。Budden (1962) はこれに反対して一原説を唱え、重症感染では Rodger の記載したような



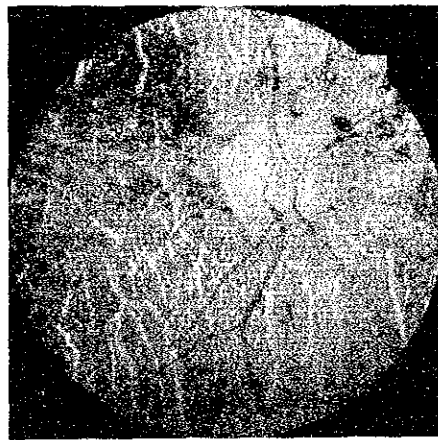
別图 1



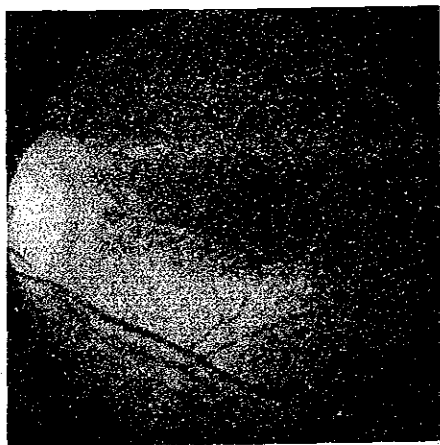
別图 2



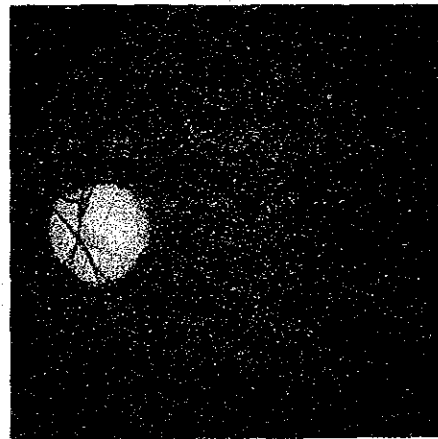
別图 3



別图 4



別图 5



別图 6

focal exudative choroiditis が起こり、烈しい場合には眼底全般に及ぶが、軽度感染では、炎症状態がほとんど見られずに変性に陥っていくのであり、本質的には脈絡膜硬化症であるとした。

Rodger 以前には遺伝性その他の網脈絡膜変性症までが混同されていたためオンコ症の後眼部病変の所見は混同としていたが、Rodger がこれを整理した功績は大きい。ただ彼のいう変性型の原因の解釈に成虫の毒素を考えたことは誤りであつたといえるだろう。現在の所見から考えれば、後眼部の病変はすべて仔虫（またはその死亡）によつて起こるものであり、仔虫の存在する部位、数、反復侵入などによつて異なる臨床像を呈すると考えるのが妥当であらう。

臨床実地上、眼科医が見る後眼部病変は多くは末期の状態であつて Rodger の degenerative type に相当し、別図4のようである。網膜は広範囲に萎縮・変性に陥り、脈絡膜もまた変性を蒙つており、点状または塊状の色素沈着が見られる。視力は多くは手動弁以下となり、網膜血管のみでなく、脈絡膜血管にも異常があり、続発性視神経萎縮を伴う。この末期像は遺伝性網膜色素変性症に類似しており、generalized または extensive ではあるが、よく見ると不規則な病巣の融合であり、色素沈着の態度も異なることがわかる。Buck によると初期病変は通常黄斑部の外側に出現し、または乳頭周囲に多く、後にこれらが融合した大病巣を形成するという。流行地にある期間滞在して眼底病変の進行を連続的に把握する必要がある。著者はガーナに滞在中比較的早い時期と思われる別図5のような所見を見た。この例は視力がなお6/24であつた。仔虫が一時に大量に後極部に侵入すれば（または死亡すれば）、広い範囲に炎症性変化が起こつてもよいと思われる。著者は炎症性網膜剝離と思われる1例を経験したが、オンコ症によるものかどうか断定できなかつた。

オンコ症の初期眼底像は特異的なものではなく、前房内や皮膚の仔虫の同定、皮膚炎などを参考にして診断される。初期から末期を通じて鑑別すべきものとしては次のものがある。トキソプラズマ症、ヒストプラズマ症、びまん性網脈絡膜炎、種々な変性性病変、遺伝的変性症。

もう一つの問題はオンコ症によつて単独の視神経萎縮が起こりうるかどうかということである。アフリカでは原因不明の視神経萎縮が多いので、オンコ症が確定されたといつても他の眼所見がなく視神経萎縮のみ存在する例の原因をオンコ症に帰せられるか議論の分れる所である。オンコ症には時々乳頭充血が見られるので炎症性視神経萎縮と考える人もいる。別図6は著者が経験した1例で一見視神経萎縮のように見えるが視力は6/9である。別に同じような所見で失明している数例を経験した。最近の報告では仔虫は往々円形細胞浸潤を伴つて血管周囲腔に発見されているので、このようなことが起こつても不思議ではないかもしれない。

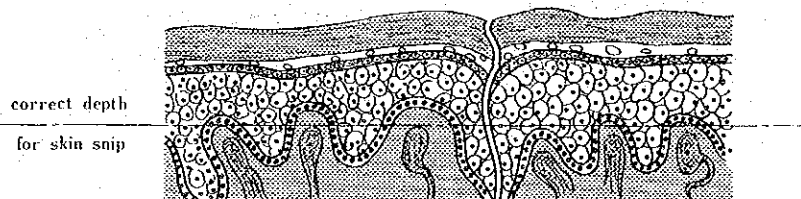
診断と治療——現状と将来

1. 診断法

オンコ症の診断は流行地域においては比較的容易であるが、軽度感染者の発見なども考慮に入れると、やはり現在のところ臨床症状と仔虫の検出とから総合的に慎重に判定する必要がある。眼病変のうちでも特に後眼部のみに所見があつて眼内に仔虫の発見されない時は、たとえ皮膚症状があつても眼病変そのものまでオンコ症に由来すると即断するわけにはいかない。しかし皮下結節と皮膚症状が揃い、流行地に居住した既往があり、さらに皮膚に仔虫が多数証明されれば上述の眼底所見と照合して診断の確実さを増す。

1) 皮膚の仔虫の検出 (Skin snip)

アフリカでは腸骨稜から2個所の皮膚を採取して仔虫を証明できれば通常の診断には十分であり、他のフィラリアとまぎらわしい時はギムザ染色をして形態的に鑑別すればよい。しかし軽度感染者、あるいは無症状の感染者の発見にはこの方法では不十分であり、定量法が開発されてきた。標準化された方法を採用すれば各個の診断のみでなく、ある地区の浸淫の程度の指針にもなる。仔虫の定性的検出には皮膚片を食塩水なり水道水なりに漬けて10~15分後に低倍率の顕微鏡で見ればよいが定量法の場合には次のような方法が推奨される。なるべく一定の深さ（真皮乳頭外側部までが適当。第2図）で約1mgの重量の皮膚片を採取し（眼科用強膜パンチがよい）蒸



第2図 Ideal depth of skin for the assessment of *O. volvulus* microfilariae.

留水に30分間浸した後出てくる仔虫数を数え、1mgあたりの数を記録する(仔虫密度 m.f.d.)。食塩水でなく蒸留水を使い30分後に検査する理由として次の四つが挙げられている。

- a) 時間的に仔虫の出現する率が一定している。
- b) 30分後には皮膚片にいる仔虫の約50%が出現する。
- c) 仔虫の動きが不活発になり、計算が容易である。
- d) 蒸発による食塩濃度の変化のリスクがない。

この方法で陰性の場合には membrane filtration technique によつて24時間後に濾過すると仔虫の検出率が上るので、徐々にルーチンに用いられるようになるであろう。

2) 眼内の仔虫の検出

确实には細隙灯顕微鏡の設備が不可欠である。著者はオンコ症47例中15例の前房内に仔虫を発見した。観察は15~20倍で十分で、前房内を跳ねるように泳ぐ仔虫がよく見える。数分以上観察したり、散瞳したりすると仔虫が虹彩後方に隠れるらしいので、この点さえ注意すれば発見は容易である。角膜にいる仔虫も多数ならば容易であるが少数の場合には倍率を上げたり、間接照明法や鏡面法などの手技を必要とする。仔虫は水晶体、硝子体にも検出されるが著者は経験しなかつた。なお眼内の仔虫の検出には数分間頭部を下げさせておくとか、眼球マッサージを行なうと検出率が上昇するといわれる。

3) 免疫学的テスト

従来他種のオンコセルカ属の抗原による皮内反応が用いられたが、非特異的なので現在のところ実用的価値のある免疫学的テストはない。1975年より Minerva Institute for Medical Research (フィンランド) で *O. volv.* の成虫の抗原の分離精製が開始され、その成績は非常に有望で、特異的超免疫血清の大量生産の可能性があるとのことである。なお、蛍光抗体テスト(Center for Disease Control, 米国), Enzyme Linked Immunosorbent Assay method (Department of Clinical Tropical Medicine, London School of Hygiene, イギリス) などの研究が進められている。

4) Mazzotti test

Diethylcarbamazine (DEC) 25~50mg を内服させ、これによる反応を見る方法であるが、判定に主観的要素が混入し、また重症者ではショックを起こすこともあり危険であることから補助的意味しかない。ただし DEC 内服により尿中への仔虫の排出が増すばかりでなく血中や髄液中にも出現するという事実があるので、むしろ仔虫のヒト体内移動経路の解明に役立つのではないかと考えられている。

2. 治療法

皮下結節には成虫がいて仔虫を産生するので、これを減らす意味で結節の摘除は有効であるが、これのみでは効果は少なく、何らかの化学療法剤が必要である。現在使用に耐えうるのは Diethylcarbamazine と Suramin の2種のみである。前者は主として仔虫に有効であり、後者は成虫に有効で仔虫にもかなり効果があるといわれるが、ともに副作用が強く、新薬の開発が強く望まれている。Mel W はほとんど使われなくなり、最近、Levamisole, Nifurtimox などが予備的に使用されている。

1) Diethylcarbamazine (DEC)

フィラリヤ症に対する薬剤として古くから知られ、商品名として Banocide, Hetrazan がある。日本では Supatoinin の名で発売されている。本剤をオンコ症に用いると、他のフィラリヤ症に用いる場合よりはるかに強い反応が起こる。掻痒、皮膚炎、浮腫などで、ひどい時には発熱、全身痛などを起こす。

副作用の予防や処置として抗ヒスタミン剤やステロイド剤が投与されるが、現在もつとも問題になっているのは、最低の副作用で最大の効果を上げる投与法の検討であつて、WHO の重要テーマの一つとして取り上げられている。従来本剤は投与法の如何にかかわらず総量が70 mg/kg になれば効果に変わりがないといわれているが、オンコ症に対してもこのことが真であるかも未解決である。

Sowa の最近の成績によると、5~15歳の小児を2群に分けて4カ月間、1群は1日量、12.5mg、他の1群は25mg を内服させたところ、2~3週後に仔虫数は非常に減り、7週後に眼症状が著明に改善された。25mg 投与群の方が効果は顕著であつたが副作用も非常に強く、子供を毎日監視せねばならなかつたという。

2) Suramin

Antrypol, Germanin などの商品名がある。本剤は尿素の誘導体で体内に蓄積され、腎臓を通じて緩徐に排泄される。1回1gを10ml に溶解して静注する(調製後30分以内に使用)。普通週1回静注で5~6週を1クールとするが、総量7gを越えてはいけぬ。必要あればクールを追加するが十分の間隔を置かねばならない。本剤はもとトリパノゾーマ症に使われた薬剤であるが、これもオンコ症に使用する時には、はるかに強い副作用が現れる。すぐに虚脱を起こすこともあるが一般に見られるのは腎臓障害、副腎皮質の変性である。また頬粘膜に潰瘍を形成して、これが気管支粘膜にまで及ぶことがある。その他全身の衰弱、高熱、関節炎、剝離性皮膚炎が報告されている。

このように2剤とも副作用が強いので一般には医師の

監督の及ぶ範囲で個人を対象として投与せねばならないが、慎重な計画の下に集団治療に応用することも試みられている。

DEC, Suramin の単独または併用で治療する場合も、既に非可逆的変化を起こした病変には無効なのは当然で、なるべく早期に治療を開始する必要があることはいうまでもない。特に眼病変に対しては、これら薬剤の全身投与のみでなく、緑内障予防その他を含め、局所に対する一般的治疗を忘れることはできない。

オンコセルカ症撲滅対策の展望と問題点

オンコ症を撲滅するには感染形式から考えて罹患者の治療(感染源を減らす)と媒介ブユの駆除の両面作戦が必要である。しかし、十分に満足できるような化学療法剤を持たない現時点ではブユの駆除を強力に進めることを主眼とせざるをえない。中南米でもオンコ症対策が計画され始めているが、西アフリカは既に1974年から開始した20年計画を実施中である。媒介ブユ駆除についても最大の効果を得るためには、なお多くの問題、多くの困難を抱えている。西アフリカのコントロール計画(OCP, Onchocerciasis Control in the Volta River Basin Area)は前述のように7カ国政府の要請が端緒となつたものであるが、現在は本部をWHOに置き、その強力な推進によつて世界中の研究者が直接間接に参加協力している。この計画の中で研究されるあるいは問題とされる点を挙げてみたい。

1. ブユの生態の研究

1) ブユ成虫を捕獲し、マークをつけて解放し、再捕獲して飛行習性などを調査する。これはカメルーンでかなり進行している。

2) *S. dam.* の卵から成虫まで一代の飼育に成功した。他種のブユでは三代まで飼育可能である(Taylor, 米国)。

3) *S. dam.* のコロニーを人工的に作る計画(米国、ドイツが参加)。

4) ブユの採取能率の向上……種々なワナの開発。

2. *O. volv.* に関連する研究

1) Animal model

実験的条件下で免疫学的、化学療法的研究をするため鳥を用いての *O. cervicalis* での実験(米国)。

2) *O. volv.* の幼虫の同定に電気泳動法の応用(Liverpool School of Medicine と Univ. of Ghana との協定)。

3) in vitro での幼虫の飼育

(Johns Hopkins Univ., 米国)。しばしば60日間生存し、中には培養21~24日に感染形幼虫らしい虫が出てい

る。

4) *O. volv.* に自然感染している動物の探索とその媒介ブユの研究。

3. ブユ幼虫の殺虫剤

DDT は自然環境下で安定なため、ほとんど使用されなくなつた。0.05~0.5p.p.m. なら安全という人もあるが否定的な見解が大勢を占め、現在ではほとんど専ら、Abate が使用される。

Abate の pH=7 の水中での半減期は8週間である(Miles)。その他 Methoxychlor, Fenithrothion, Chlorphoxim などの殺虫剤が試験されている。

若干の幼虫では DDT 抵抗性のもも見られる点から、薬剤に対する幼虫の感受性テストをフィールドで行なう必要がある(Mouchet)。

4. 症状と病理組織との関連

皮膚症状の同定、分類、記録の分野で難点がある。フィールドで少なくとも400~500の皮膚の biopsy を取り、患者の写真と一緒にローマに送つて臨床所見と組織所見を系統的に関係づける(Istituto di Istologia e Anatomia Pathologica, ローマと協定)。

眼病変については、この問題はいつそう重要だが、眼球摘出は社会習慣上困難である他早期病変の組織を見るチャンスは極めて稀である。

5. 疫学的問題

1) OCP 地域の西南部周辺で1975年5月に再伝播が起こつてきた。これはブユが近隣の計画外地域から侵入してきたことおよび地域内のオンコ症が減少したため計画外地域から人口の移入が起こつたことによる。このため現在、区域外南方の疫学的調査を進めている。

2) コントロール実施中の多数の部落につき基礎的調査を続け、そのうちサンプルとして10%の部落を取り上げて仔虫の定量、昆虫学的疫学的調査、眼症状、全身症状などにつき3年毎に継続的データをとる。

6. その他

1) コントロール計画実施のためのフィールドスタッフの充実とジュニアスタッフの訓練。

2) 環境保全の監視：特に水中の生態系に及ぼす殺虫剤の影響の調査。

3) OPC 計画地域外のアフリカ各国からコントロールの要望があるが、これに応ずる前提として、ローカルでのスタッフの確保と訓練が可能か、殺虫剤適用の条件となる基本データが既にできているかを確認する。

結 語

発展途上国には疾病を初めとして種々な問題が山積している。オンコ症は Riverblindness の名の示す通り、

高台の豊穡な土地を流れる川の近くで生活する人々に多い疾患で、失明の恐怖のために他の土地を求めて生産性の高い土地が放棄され無人化した部落が少ないという事実がある。また壮年の男子に罹患者が多いため、働き手を失なうばかりか、家族の負担になるという事情もあつて、アフリカを始めとして発展途上国では重大な経済問題でもある。のみならず、ごく最近の報告によれば、オンコ症の脅威は失明に止まらず全身感染症として内臓や神経系も侵され、死亡率も高い可能性が示唆されるようになった。WHO が主体となつてオンコ症撲滅のための技術的経済的援助に各国の専門家が直接間接に多数参加している。日本でも WHO に基金を提供する一方、主として国際協力事業団 (JICA) を通じて西アフリカおよびラテンアメリカへの医療協力を開始している。オンコ症に対する理解と関心が一層高まることを期待したい。

文 献

- 1) Advances in Parasitology : Academic Press, 1970.
- 2) Buck, A. A. : Onchocerciasis—symptomatology, pathology, diagnosis. WHO, Geneva, 1974.
- 3) Budden, F.H. : Natural History of Onchocerciasis. Brit. J. Ophth., 41 : 214, 1957.
- 4) Budden, F.H. : Ocular lesions of Onchocerciasis. Brit. J. Ophth., 46 : 1, 1962.
- 5) Hosaka, A. et al. : Ocular findings of Onchocerciasis in Ghana. The Folia Ophth. Jap., 26 : 1420, 1975.
- 6) Neumann, E. and Gunders, A.E. : Pathogenesis of the posterior segment lesion of Ocular Onchocerciasis. Am. J. Ophth., 75 : 82, 1973.
- 7) Quarcoopome, C.O. : Clinical Onchocerciasis. Ghana Med. J., 9 : 4, 1970.
- 8) Rodger, F.C. : The Pathogenesis and Pathology of Ocular Onchocerciasis. Am. J. Ophth., 49 : 104, 110, 127, 590, 1960.
- 9) Tada, I. et al. : Epidemiological studies on Robles' Disease (American Onchocerciasis) in Guatemala. Jap. J. Med. Hyg., 2 : 35, 1974.
- 10) Tada, I. et al. : The Density of Onchocerca volvulus in the Skin at Different Times of the Day in Guatemala. Jap. J. Parasit., 23 : 220, 1974.
- 11) von-Noorden, G.K. and Buck, A.A. : Ocular Onchocerciasis. Arch. Ophth., 80, 26, 1968.
- 12) W.H.O. : WHO Expert Committee on Onchocerciasis. WHO Technical Report Series No. 335, 1966.
- 13) W.H.O. : Onchocerciasis Control in the Volta River Basin Area. OCP/73.1, Geneva (20/81), 1973.
- 14) W.H.O. : Report of the Second Meeting, Scientific and Technical Advisory Committee, WHO, OCP/STAC/75.2, 1975.
- 15) W.H.O. : OCP Report on Epidemiological and Chemotherapeutic Research and proposed programme for 1976.
- 16) W.H.O. : Report of the Third Meeting, Scientific and Technical Advisory Committee, WHO, OCP/STAC/76.1, 1976.
- 17) 保坂明郎・他 : オンコセルカ症——ガーナでの観察を中心として——日本の眼科, 46 : 315, 1975.
- 18) 国際協力事業団 : グアテマラ共和国医療協力実施調査団調査報告書, 国際協力事業団 (JICA) 医 75-7 (136), 1975.
- 19) 多田 功 : グアテマラ共和国厚生省オンコセルカ部派遣専門家報告書, 海外技術協力事業団 (現 JICA), 1974.

[I-31]

10. SEROEPIDEMIOLOGICAL SURVEY OF HEPATITIS B VIRUS INFECTION IN SCHOOL CHILDREN AROUND SENCHI AREA (PRELIMINARY REPORT)

By

S. Otatume*, S. N. Afoakwa, J. A. A. Mingle, L. K. A. Derban and E. O. Laryea.

Department of Microbiology, University of Ghana Medical School, and Health and Safety Department of Volta River Authority.

Introduction

Massive development projects usually result in changes in the ecology of both plant and animal species. Such changes are of public health importance since these affect the disease patterns of the human population, in and around the affected areas. A dam has been proposed to be built at Kpong, in the Eastern Region of Ghana. As part of the evaluation of the impact of this major man-made project on the population, it was planned to conduct a sero-epidemiological study of infectious diseases in the Senchi area, before the construction of the proposed dam, and to follow it up after the completion of the dam. This programme was planned with the collaboration of the Health and Safety Department of the Volta River Authority (V.R.A.) and the Department of Microbiology, University of Ghana medical School, Korle Bu.

This brief note describes the results of the serological examination for Hepatitis B (HB) virus infection of the school children around Senchi area, which was carried out as part of the sero-epidemiological survey stated above.

Materials and Methods

The study area, Senchi, is a village about 100 KM from Accra and 10 KM. from Akosombo Dam of the Volta Lake. The village is located along the Volta River, down stream of the Volta Lake and expected to be outside of the flooded area by the proposed Kpong Dam (Lower Volta Lake). The altitude ranges from 60 to 80 meters above sea level. Estimated population is approximately 1,700-1,800, and most of them depend upon farming for their livelihood. Pipe-borne water supply and sewerage

systems have not yet been established in the area.

507 Blood specimens were collected from the school children aged between 5 and 16 years, 5-10 ml. sample of blood was collected from each child into a sterile container. The serum was separated and stored at -20°C until tested.

HB antibody (HBs-Ab) and antigen (HBs-Ag) in the sera were examined by the passive haemagglutination (PHA) and reverse passive hemagglutination (R-PHA) tests respectively as described by Imai *et al.* (1974). The HBs.-Ab and HBs-Ag coated red blood cells were kindly provided by Professor Mayumi of Jichi Medical School, Tochigi, Japan.

Sera which were reactive at 1 : 8 were taken as positive in both the PHA and R-PHA tests.

TABLE 1: Incidence Rate of HBs-Antibody in the Serum of Children around Senchi Area According to the Age Group and Sex using PHA test.

Group	Age	Sex	
		Male	Female
1	5-6	1/32 (3.1)	7/32 (21.9)
2	7-8	4/50 (8.0)	13/54 (24.1)
3	9-10	12/54 (26.7)	6/45 (13.3)
4	11-12	10/53 (18.9)	16/57 (28.1)
5	13-14	8/42 (19.0)	5/31 (16.1)
6	15-	5/31 (16.1)	5/19 (26.3)
	Not Recorded	0/4 (-)	0/3 (-)
Total		40/266(15.0)	52/241 (21.6)

Mean S=8.4843** S=5.8279
92/507 (18.2)

*: Numerators indicate positive numbers, and denominators numbers of serum specimens examined. Numbers in the parentheses indicate percent of positive cases.

** : standard deviation in percent.

*A Virologist sent by Japan International Co-operation Agency (JICA) under the Medical Co-operation Programme between the Governments of Ghana and Japan. Present address: Department of Bacteriology, Fukushima Medical College, Fukushima (960), Japan.

TABLE 2: Incidence Rate of HBs-Antigen in the serum of Children around Senchi Area According to the Age group and Sex using R-PHA Test.

Group	Age	Sex	
		Male	Female
1	5-6	5/32 (15.6)*	7/32 (21.9)
2	7-8	15/50 (30.0)	5/54 (9.3)
3	9-10	11/54 (20.4)	5/45 (11.1)
4	11-12	6/53 (11.3)	7/57 (12.3)
5	13-14	5/42 (11.9)	2/31 (6.5)
6	15-	6/31 (19.4)	1/19 (5.3)
	No Recorded	2/4 (50.0)	2/3 (66.7)
Total		50/266 (18.8)	29/241 (12.0)
Mean		S=6.9636**	S=5.9908
		79/507 (15.6)	

*: Numerator indicate positive numbers, and denominators numbers of serum specimens examined. Numbers in the parentheses indicate percent of positive cases.

** : standard deviation in percent.

Results

HBs-Ab: As shown in Table 1, the HBs-antibody levels in the girls had an incidence rate of 21.6% and the boys 15.0%, indicating a higher incidence rate for the girls with 5% significance levels. In the boys, the incidence rate of HBs-Ab in the under 8 years old was definitely lower than the over 9 years old with 2.5% significance levels, while in the girls, HBs-Ab positive rate in the under 8 years old was higher than 9 years old.

Consequently, in the age groups, both 5-6 and 7-8 years old HBs-Ab positive rates of the boys were statistically lower than those of the girls with 2.5% and 5% significance levels. The incidence rates of HBs-Ab in the boys increased gradually with advancing age, namely 0% for 5 years, 3.7% for 6 years, 7.1% for 7 years, 9.1% for 8 years and 35.0% for 9 years old (not shown in the table). However, this particular tendency was not observed in the girls so far tested.

HBs-Ag. Table 2 shows the results of HBs-Ag test according to the age group and sex. Overall rate of HBs-Ag positive cases of the boys was higher than that of the girls, namely 18.8% and 12% respectively. The highest incidence rate of HBs-Ag was observed in the age group of 7-8 years old boys and 5-6 years old girls. It would appear from these results that the school girls in

Senchi area were infected with HB virus one or two years earlier than boys. Clinically, however, the children who carried the HBs-Ag looked healthy.

Discussion

In this report the overall incidence rate of HBs-Ag was found to be 15.6% as determined by the R-PHA test. This is much higher than the rates so far reported by other workers. Foli and Swaniker (1971) detected among blood donors at Korle Bu Teaching Hospital in Accra, HBs-Ag in the blood of 6.1-6.7%. They used the immunodiffusion test and the immune-precipitation techniques respectively. Yokota and Minami (1972), and Minami (1973) surveyed the incidence rate of HBs-Ag in patients of non-jaundice causes and healthy people from various parts of Ghana using immunoelectrophoresis technique. According to their results, the overall rates of incidence were 6.7% in the males and 4.9% in females; the incidence rates in the age groups of 5-9 and 10-14 years old boys were as high as 10% and 11.9% respectively. The R-PHA test used in this report is known to be significantly more sensitive than the agar gel diffusion, and counter-electrophoresis systems used by the previous authors (Vyas and Schulmann 1970, Germain *et al* 1972). This may partly explain the higher incidence rate in this report.

Another explanation may be the different age groups studied in each case. Byrom *et al*. (1973) reported that although HBs-Ag is detected in individuals of all ages in tropical countries, it is most frequent in children aged between five and fifteen years. Our group comprised the 5 to 15 years whilst Foli and Swaniker examined those in the 21-40 year old age group. Minami and co-workers used sera from a wider age group namely 0-45 years or over.

HBs-Ag has become very important in view of its relationship with chronic hepatitis, and liver cirrhosis and more recently with hepatocellular carcinoma (Prince *et al*. 1970, Vogel *et al*. 1970; Nishioka *et al*. 1973).

In Ghana, the present situation of infective hepatitis is becoming quite serious. Since 1969, reported cases of infective hepatitis have been rising every year with 10 to 30% of annual increasing rate (Otaturme, 1974). The implications of the high incidence of

antigen carriers, as has also been reported here, with respect to acute viral hepatitis in Ghana and the role of HBs-Ag in the genesis of chronic liver disease and primary liver cell carcinoma have been discussed by Foli and Swaniker (1971).

The role of mosquitoes and other blood sucking arthropods in the transmission of HBs-Ag has been studied (Smith *et al.* 1971, Prince *et al.* 1972, and Byrom *et al.* 1973) and it has been suggested that "the high prevalence of chronic hepatitis infections in the tropics may depend on blood sucking arthropod vectors to assure a high frequency of exposure in the early years of life when the risk of developing hepatitis B virus infection is greatest".

Senchi village where this study was done as well as other villages along the Volta Lake Basin are known to have a high density of the "black fly" (*Simulium* sp.) and no doubt of mosquitoes as well. In this country, it may be perhaps possible, therefore, with further studies to throw more light on the role of blood sucking arthropods in the spread of HBs-Ag. Also it is important to examine the HBs-Ag and HBs-Ab levels in a variety of infective hepatitis patients with a view to elucidating further the relationship of HBs-Ag and liver diseases.

Summary

HBs-Ab and Ag were tested for the sera of the school children around Senchi area using PHA and R-PHA method. Overall rate of HBs-Ab positive cases was 18.2% and HBs-Ag was 15.6%. The incidence rate of HBs-Ab was higher in the girls, and that of HBs-Ag was higher in boys. The results presented here also suggested that girls in Senchi area seemed to be infected with HB virus earlier than boys. The reason for this is not yet clear.

References

- Byrom, N. A., Davidson, G., Draper, C. C., and Zuckerman, A. J. (1973). Role of Mosquitos in Transmission of Hepatitis B Antigen, *J. Inf. Dis.* 2: 259-260.
- Foli, A. K. and Swaniker, G., (1971). High Prevalence of Australia (Au) Antigen Carriers Among Blood Donors in Accra; *Ghana Med. J.*, 10, 214-217.
- Germain, K. H., Sturdivant, S. K. and Rightsel, W. A. (1973). Evaluation of a Red Cell Agglutination Test for Detection of Australia Antigen (HB Ag). *Appl. Microbiol.*, 4, 524-527.
- Imai, M., Yamanushi, K., Ozawa, N., Takahashi, K., Sato, M. and Mayumi, T. (1974). Detection of HBs-Antigen or -Antibody using R-PHA or PHA, *Medical Technol.*, 3: 239-244, (in Japanese).
- Minami, K. (1973). An epidemiological investigation of viral diseases in Ghana. In *Viral Diseases in S. E. Pacific Area and Africa*. pp. 79-109. Intern. Med. Found. Japan, Tokyo.
- Nishioka, K., Hirayama, T., Sekine, T., Okochi, K., Mayumi, M., Juei-Low, S., Chen-Hui, L. and Tong-Min, L. (1973). Australia antigen and Hepatocellular carcinoma. *GANN monograph of Cancer Research*, 14: 167-175.
- Otatume, S. (1974.) Recent trend of infectious diseases in Ghana. *Nettai*, 8: 149-158. (in Japanese).
- Prince, A. M., Leblanc, L., Krohn, K., Maseyeff, R. and Alpert, M. E. (1970). S. H. Antigen and Chronic liver disease. *Lancet*. 2: 717-718.
- Prince, A. M., Metselaar, D., Kafuko, G. W., Mukawaya, L. G., Ling, C. M., and Overby, L. R. (1972). Hepatitis B antigen in wild-caught mosquitoes in Africa. *Lancet* 2: 247-250.
- Smith, J. A., Ogunba, E. O., and Francis, T. I. (1972). Transmission of Australia Au (1) antigen by *Culex* mosquitoes. *Nature (Lond.)*, 237: 231-232.
- Vogel, C. L., Anthony, P. P., Mody, N., and Barker, L. F. (1970). Hepatitis—Associated Antigen in Uganda Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Lancet*, 2: 621-624.
- Vyas, G. N. and Shulman, N. R. 1970. Haemagglutination Assay for Antigen and Antibody Associated with Viral Hepatitis; *Science*, 10: 332-333.
- Yokota, T. and Minami, K. (1972). An epidemiological investigation of Australia antigen in Ghana, *Jap. J. As. Inf. Disease*, 46: 233-239.

原 著

[I-32] ガーナの感染症の現状 (続報)

福島県立医科大学細菌学教室

大立目 信 六 藤 原 留 造

OTATUME, S. and HUZIWARA, T.

Recent situation of Infectious Diseases in Ghana.

Nettai (Tropics), 10, 12-17, 1976.

Since 1971, reported cases of infective hepatitis and yaws are increasing steadily in Ghana. Measles and chicken-pox which increased rapidly around 1970 reached plateau after 1972. Pertussis and leprosy have decreased gradually, but the number of reported cases of enteric fever and tuberculosis varied with the year. (Author's translation)

原 著

ガーナの感染症の現状 (続報)

福島県立医科大学細菌学教室

大立目 信 六 藤 原 留 造

前報¹⁾において1972年までのガーナにおける感染症の趨勢について述べたが、本編においては主な感染症のその後の実情について報告する。特に発生数や死亡者数の多いもの、あるいは特徴のある変化を示しつつある疾患などを中心に話題を進めていきたい。また、前報においては一部のウイルス性疾患の増加が著しかったことを指摘し、それらがどのように推移するかを見守る必要があることを記載したが、今回はその点についての1974年現在における回答も用意した。前報ではガーナを中心として、アフリカの他の地域との比較なども若干試みたが、本編では各疾患のガーナ国内における地域的分布の解析などに焦点をしばった。

筆者らは1975年4月(藤原)と同年11月(大立目)にそれぞれ1~2ヶ月ずつJICAの短期派遣専門家としてガーナ大学を訪れ、免疫学、ウイルス学の指導あるいは研究協力を行ったが、その際に同国の疫学的統計資料を蒐集して来た。本編において用いた資料は前報と同じく政府より公表された統計資料、即ち厚生省発行のGhana Monthly Epidemiological Bulletin などである。

ガーナの全般的人口動態： 周知のごとく、開発途上国における現下の最大の悩みの一つに人口増加の問題があげられるが、ガーナもその例外ではない³⁾。1973年には900万人を越えた人口はいぜん年率3%以上の勢いで増え続けている。表1に1970年の人口動態の資料を示し、また図1にガーナの9つの行政区の概略図並びに人口分布を示した。これらの各地方の人口はAshanti地方とEastern地方が他より多い程度で、概ね10%前後になっている。以下、主な感染症について最近の趨勢を述べていく。

Measles 麻疹： 1970、71年と著明な増加を

表1. ガーナの人口動態 (1970)

推定総人口 (1970)	8,559,300
5才以下	1,563,100 (18.3%)
15才以下	4,015,900 (46.9%)
女性再生産年齢人口 (15-44才)	1,785,400 (20.9%)
母子人口	5,801,400 (67.8%)
出生率	50 per 1,000
一般出生率	230 per 1,000 Women of 15-44 years old
総出生率	6.7 per Woman
1~4才児死亡率	Male : 45.6, Female : 48.3 (推定・出生時死亡を除く)
幼児死亡率	133 per 1,000 live birth
推定粗死亡率	18-20 per 1,000
人口自然増加率	3.0-3.5% per year

示したが、以後はほぼ平衡状態にあると云える。1970年以後、麻疹患者は毎年約9万5千人程度届出されているが、この数値は推定年間出生者数45~50万人の約20%に相当する。ガーナのような国情において、麻疹に感染する率が何%になるかは不明であり、そのうちの何%が発症し、どの程度が医療機関において麻疹と確認されるかは不明であるが——4才までにガーナの子供の90%が麻疹に感染するとも言われる¹⁾——患者発生届出数が年間推定出生数の20%という値はやや低いようにも思われる。それにしても報告された患者数、死亡者数ともに届出感染症の中では首位にあり、ガーナにとっては最も重要な感染症の一つである。患者の発生数は各地方ともに平均的に分布しているが、Eastern地方に若干多いようである。図2-Aに1969年以降の届出患者数の推移を示した。

Chickenpox 水痘： 1970、71年と急増したが、1972年には微増に止り、1973年には前年より

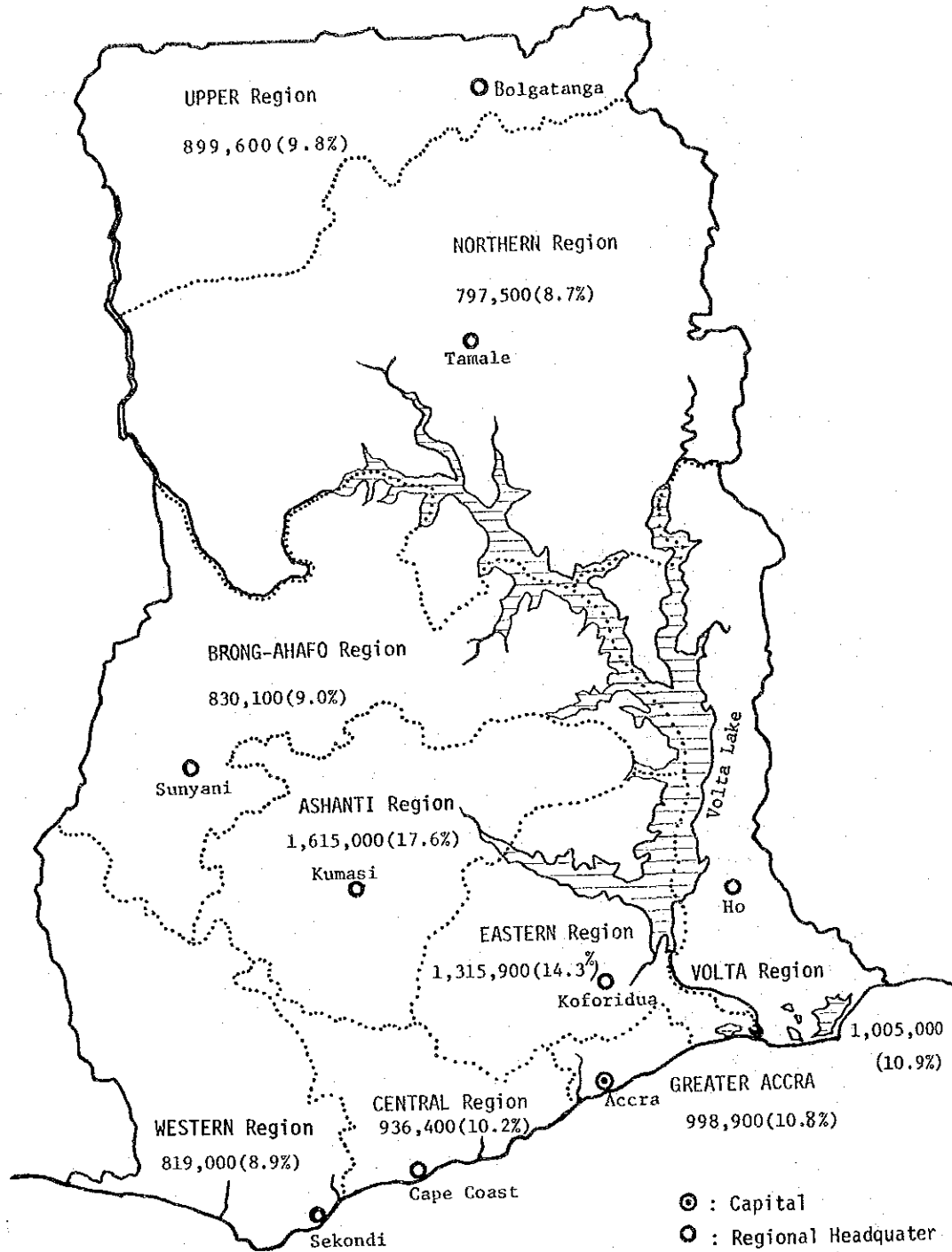


Fig.1. GHANA Regions and Populations

Estimated Population in 1973

9,191,000 (100.2%)

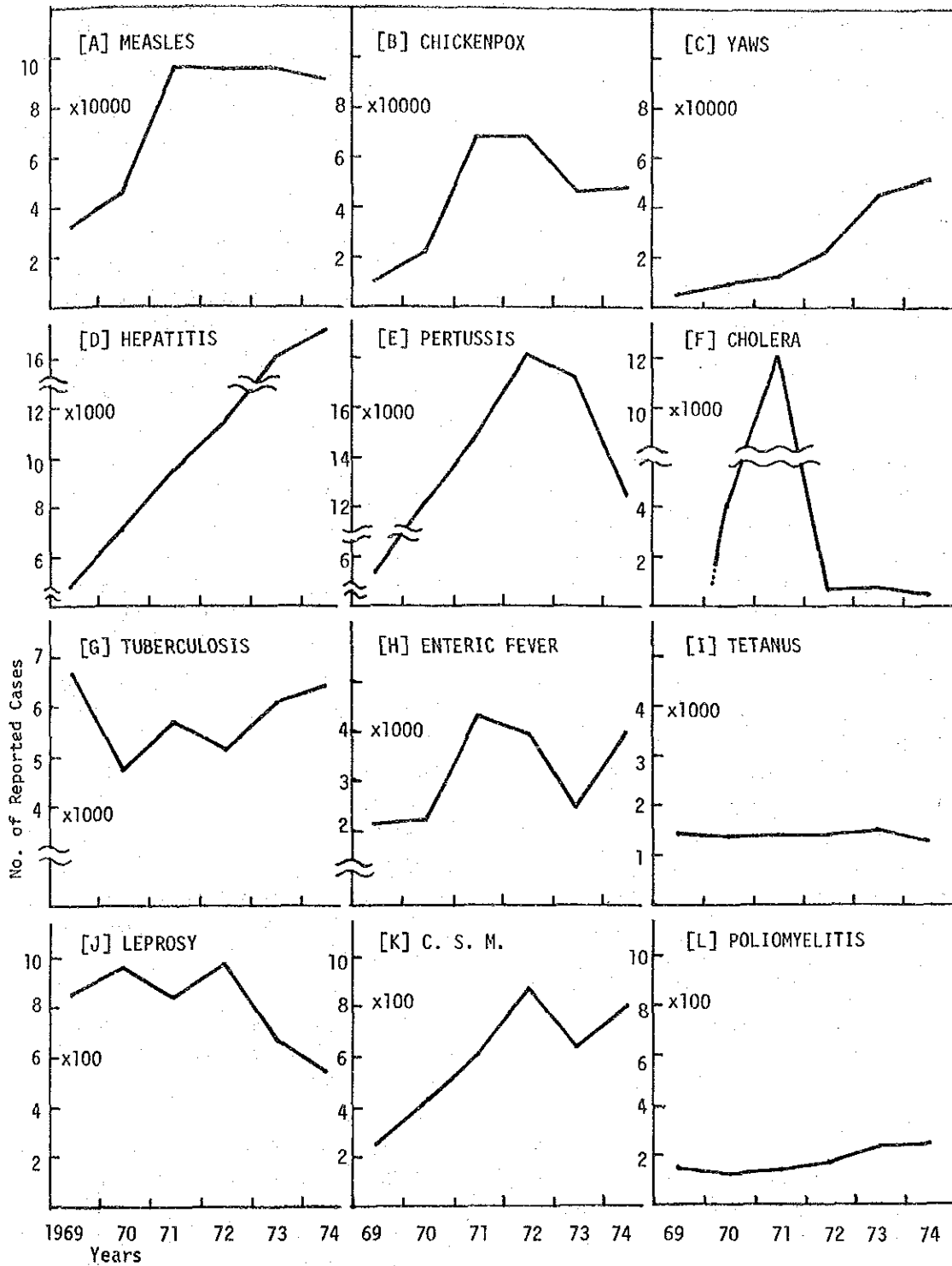


Fig.2 Reported Cases of Infectious Diseases in Ghana (1969-1974)

も約30%減少した。1974年には大よそ前年と同程度であるところから水痘の発生もほぼ平衡に達したものと解される。麻疹同様Eastern地方に多いが、他の地方にも平均的に分布している(図2-B)。

Infectious Yaws, フランベジア: 本症は最近非常に勢いで増加している。1973年には前年の倍になり、1974年には約30%の増加になっている。今や、1956年からの10年間に実施した大規模な撲滅計画の努力も水泡に來したと見るべきであろうか。本症は北部地方には少ないが、中部、特にEasternおよびCentralの両地方は人口比にして明らかに多い(図2-C)。

Infective Hepatitis 伝染性肝炎: いろいろな原因による肝炎が考えられるが、主体はウイルス性肝炎(A型およびB型など)と考えられる。本疾患は1969年には年間届出数が4,700人余りであったが、以後毎年10~30%ずつ増加し続け、1974年現在では約4倍の17,200人となっており、死亡者数も249人で約2.3倍になっている。著者の一人(大立目)はガーナ派遣中にVolta River Basinにおける感染症の疫学調査の一環としてB型肝炎の感染状況の調査を行ったが、Volta河沿いの一部落の健康な学童のHBs-抗原の保有率が15.6%、HBs-抗体保有率が18.2%という結果を得た。さらに詳細に検討したところ女子の方が男子よりも早くHBウイルスに感染したことを示唆するようなデータも得られた⁸⁾。その原因については追求する余裕がなかったが、興味のある事実である。また、少数例ではあったが肝炎患者の血清中のHBs抗原を検索したが、%以上がHBs-抗原陽性で、しかも極めて高い抗原価を示した。これらのことは、ガーナの人々の中にHBウイルスのキャリアーになっている人が多数いる可能性があることと、肝炎患者の相当な部分がB型肝炎によって占められていることを意味するであろう。肝炎患者の発生届出は1974年は第4位であったが死亡者数は1973、74年ともに麻疹に次いで第2位に上っており、極めて深刻な問題になりつつある。ガーナの肝炎患者発生の地域的分布はやや片寄っており、中部のAshanti地方とBrong-Ahafo地方、特

に前者に多数発生しているが、北部の2地方には少いことが指摘されうる。いずれにしてもガーナの肝炎は急激ではないが着実に増加し続けており、今後、重要な課題になるだろうという点で、ガーナの当局者も一致した意見を持っていた(図2-D)。

Pertussis 百日咳: 図2-Eに見られるように1972年まで急激に増加したが、以後減少の傾向にある。1974年の発生届出数は第5位になっており、いぜん感染症の中では多い方であるが、最盛期に比べると約%に減少した。Accra地区には多いがVolta地方および北部の2地方には少い(図2-E)。

Cholera コレラ: 1970、71年の爆発的な流行後、若干の変動はあるものの、概して500人前後の患者が毎年発生しているにすぎない。しかし、本症の最も重要な問題は一部地域にendemicに定着した点である。1974年のコレラ患者の発生状況を見ると海岸部だけに止まらず内陸部にも散見された。また致命率が7.6%と高い点は注目された(図2-F)。

Tuberculosis 結核: 1969年には6600人であった発生届出数が1970年ごろから一時減少した。しかし1973年より再び増加し、17%増となった上に、1974年も前年比9%増加して昔のレベルに戻ってしまった。この1974年の発生届出数、死亡者数はともに感染症の中では第6位に相当しており、結核はいぜんとしてガーナでは大きな比重を占めているように思われる。地域的には主都のアクラ地区、大きな町のあるWestern, Ashanti両地方に発生が多く、Volta, Northern, Upperの各地方には少い(図2-G)。

Enteric fever 腸チフス, パラチフス系疾患: 1972、73年と減少が続いたが1974年に再び急増して71年当時のレベルに復した。1974年の死亡者数は第4位であり、致命率も高く、4.3%である。本疾患はWestern地方および北部の2地方では明らかに少く、中部のB-Ahafo地方に多いが、概し

て年ごとの差が大きい。例えば、1973年にはEastern地方に多発し、翌74年はB-Ahafo 地方で前年比3倍増という大規模な流行が記録された。これが同年の発生数増加に大きく影響したものと考えられる(図2-H)。

Tetanus 破傷風：1974年の死亡者数は第3位に下ったものの、今なお毎年1300人前後の患者と200人前後の死亡者が届けられている。致死率は狂犬病を別とすれば感染症の中では最も高い19.4%である。一般にCentral, Accra, Easternの各地方に多く北部の2地方には少い(図2-I)。

Leprosy 癩：1972年まで毎年900人前後の発生届出でほぼ一定していたが1973, 74年と減少が続いた。Eastern, Volta, Upperの各地方の発生届出は少いが、NorthernやCentralの両地方にはまだ多い(図2-J)。

Epidemic Cerebrospinal meningitis 脳脊髄膜炎：ガーナでは数年毎に大きな流行が起るといわれるが、本症は1~3月の乾期に北部のNorthernとUpperの2地方に多数の患者が発生する。これらの地方はサハラ砂漠南部のいわゆるMeningitis Beltに当る。Accra地区でもしばしば発生しているが、この場合はあまり季節性と関係がない。また、*N.meningitidis*以外のものが原因になっているものも多いといわれる。致死率はかなり高く、14.0%に達する(図2-K)。

Poliomyelitis 小児マヒ：今回取り上げた各感染症の中では発生届出数が最も少いものであり、毎年200人前後の発生しか報告されていない。しかし、ゆるやかながら毎年少しずつ増加が続いている。Accra地区およびAshanti地方に多い。1974年にNorthern地方にやや多発の傾向が認められたが、果せるかな1975年前半に同地方に多数の発生報告があった。このことはある意味では注意しなければならない。即ち、ガーナの都市部には常時Poliovirusなどが巡り回っている^{5,6)}ので、それらが免疫のレベルが低い集団にたまたま侵入した場合、その集団内に一気にウイルスが広がり、

多くの感染者を出すに至るものと考えられる。今後の問題点の一つであろう。(図2-L)。

以上、各感染症について個々に述べたが、地域的に見ればAccra地区とAshanti地方はいくつかの感染症において単位人口当りの発生頻度の高いものがある。それに比べてVolta, Northern, Upperの各地方は平均レベルよりも著しく低いものがある。しかしこれらの数字が、実際にその疾患がその地方で少いことを示すのか、あるいは医療施設が少いことによって届出が少いのかは早急には断じられない。即ち、これらの地方はガーナの中でも非常な過疎地帯であり、小さな村落が医療機関から僻遠の地に散在していることが多いし、医療施設自体の数も北部の両地には非常に少い⁷⁾。

以上をまとめると、1973年以後のガーナにおいては肝炎やフランペジアが急速に増加し続けている。1970年ごろ、一時急速な増加を示した麻疹や水痘は1973年ごろより平衡に達したようである。また百日咳や癩のように減少してきたものもあれば、Enteric fever, 結核などのように増減の著しかったものもあった。

謝 辞

本報告に引用した各種資料を提供して下されたガーナ大学医学部微生物学教室のProf.S.N.Afoakwa 博士、並びにガーナ厚生省のDr.F.C.Grant部長および同省疫学部門のDr.K.Ward-Brew部長に衷心より謝意を表する。

文 献

- 1) Min.of Health,Ghana ((1967) : Annual Report of Medical Services of Ghana. p 9, Gov. of Ghana, Accra.
- 2) Min.of Health,Ghana (1974) : Ghana Monthly Epidemiological Bulletin. 3,(1)-4,(5) 1975
- 3) 大立目 信六(1972) : ガーナ国民の健康と厚生行政, 海外技術協力, 1972(10)46-52.
- 4) 大立目 信六(1974) : 最近のガーナにおける感染症の傾向. 熱帯, 8,149-158.
- 5) Otatume,S.and Addy,P.A.K.(1973) : Enteroviruses in infants in Accra-A preliminary

- nary report. Ghana Med.J. 12, 282-286.
- 6) Otatume, S. and Addy, P.A.K. (1974): Ecology of enteroviruses in tropics. I. Circulation of enteroviruses in healthy infants in tropical urban area. Jap. J. Microbiol. 19, 201-209.
- 7) 大立目 信六 他(1974)ガーナ大学医学部に対する医療協力, ウィルス学および電子顕微鏡学プロジェクト第2次派遣団総合報告書 p 161, OTCA医療協力部, 東京
- 8) Otatume, S. et al. (1976): Seroepidemiological Survey of Hepatitis B Infection in School Children around Senchi Area (Preliminary Report). Ghana Medical J. (in press).

[1-33]

LETTER TO THE EDITOR:

Sir

Poliovirus Serotypes 1 and 2: The Major Cause of Infantile Paralysis during 1972 through 1974 in Ghana

The epidemiological pattern of poliomyelitis among the indigenous population of Ghana is that of "Infantile Paralysis", the most susceptible age group being 0-4 years (Addy *et. al.*, 1973; Otatume & Addy), as has also been found in Nigeria (Collis, 1973) *et al.* 1961). Commulative virological and serological data in support of this assertion were obtained by examination of sera and stool samples of healthy individuals (Addy, *et. al.*, 1973; Otatume & Addy, 1973; Otatume & Addy, 1975). Poliovirus serotype 1 was found to be the most rampant isolate of the 3 poliovirus serotypes, whilst serotype 3 was least rampant. It was, therefore suggested that poliovirus serotypes 1 and 2 should be considered potential causes of poliomyelitis in Ghana (Addy *et. al.*, 1973). Infants in this country run a very high risk of infection with those viruses within a few months after birth and indeed some healthy infants have been found excreting the viruses as early as one month after birth (Otatume & Addy, 1975).

We report here the result of preliminary isolation and serological findings of 50 selected, unvaccinated infants and children with paralytic syndromes, aged between 3 months and 4 years. From these 50 cases, 19 (38.0%) polioviruses, (types 1, 2 and 3 together) were isolated, out of which 10 (52.63%) were poliovirus type 2, 5 (26.31%) poliovirus type 1 and 4 (21.05%) were poliovirus serotype 3.

Of the two infants in the age, group 0-5 months in our study population, one yielded poliovirus type 2. In the age group 6-11 months, two of three stool samples examined yielded polioviruses, one poliovirus type 1 and the other poliovirus type 2. Poliovirus serotypes isolated from the age-group 12-24 months, numbering 28 children, were 5 poliovirus type 2, 4 type 1 and 4 serotype 3. The age group above 2 years up to 4 years which totalled 17, yielded 3 poliovirus serotype 2 only.

Serological evidence (4 fold or more increase in reciprocal neutralising antibody titres between acute and convalescent sera taken 14 to 21 days apart) in support of the

isolation results and incrimination of the various poliovirus isolates as the cause of paralysis in the sample donors is set out in the accompanying table. Apart from the 19 children whose samples were both virologically and serologically positive to the one or the other of the three poliovirus serotypes, there were, however, three children, aged 4, 6 and 11 months, seropositive (i.e. 4-fold or more antibody titre rise) to poliovirus serotype 1 whose stools failed to yield virus. Furthermore, two serum samples among the 19 virus yielders, showed patterns of mixed infection; one was due to all 3 poliovirus types and the other to poliovirus types 2 and 3.

Neutralization indices calculated for Reference Hyperimmune Sera to all three poliovirus serotypes against all isolates and against Reference Poliovirus serotype 1, 2 and 3 antigens, using 20 Neutralizing Units of sera, were in all cases of identity higher than $2 \log_{10}$

It has been found that maternal antibodies begin to wane or disappear a few months after birth, reaching at about the end of the 12th month the lowest level in about 75% of children, giving way to naturally acquired immunity or to disease, and at the end of 24 months about the same proportion of children might have solid immunity or fallen victims to paralytic poliomyelitis (Addy, unpublished data). In this survey 73.63% (14 out of 19 children) of the paralysed children, from whose virus was isolated, were between 7 months and 24 months old, suggesting that in Ghana the age group most susceptible to paralytic poliomyelitis should be the 2 years and below age group. Infants below the age of 7 months are protected by maternal antibody.

The isolation of polioviruses from the stools of these patients, the highly significant neutralizing antibody titre rises between acute and convalescent sera from these patients and the correlation between isolated virus serotype and antibody titre rise to the particular poliovirus serotype, incriminate the paralysis of the proportion of children found virologically and serologically negative to polioviruses must be sought among the echo-viruses, coxsackieviruses, Arboviruses, etc.

The high rate of poliovirus serotype 2 isolation in our present survey and the fact that poliovirus type 1 is the most frequently isolated poliovirus type from healthy individuals in Ghana and the added fact that

Poliovirus Isolation and Serological results of 50 selected, Unvaccinated Ghanaian Children (0-4 years) with Paralytic Syndromes

No.	Age Group	Ages in Months	Poliovirus Stereotype Isolated	IN VITRO NEUTRALIZATION TITRE RISES		
				Poliovirus Stereotype 1	Poliovirus Stereotype 2	Poliovirus Stereotype 2
				Folds of Titre Rises Between Acute and Convalescent Sera	Folds or Titre Rises Between Acute and Convalescent Sera	Folds of Titre Rises Between Acute and Convalescent Sera
1	0-5 months	3	2	1	6	1
2	6-11 "	6	1	5	—	—
3		7	2	1	8	—
4	12-24 "	12	1	6	—	—
5		12	3	1*	—	5
6		12	2	—	7	4
7		12	2	1	7	—
8		18	3	—	—	9
9		18	3	1	—	5
10		18	3	1	—	6
11		18	1	4	—	—
12		24	1	5	1	—
13		24	2	1*	5	1
14		24	1	5	—	1
15		24	2	1	7	1
16	24	2	1	7	1*	
17	2-4 years	30	2	1	6	—
18		30	2	3	6	4
19		40	2	2	6	—

* Decline in Titre.

76.34% of all isolated poliovirus serotype 1 (of which 58.62% were from children aged 0-4 years) have been shown to be virulent and therefore constituting a source of infection to susceptible individuals (Addy *et. al.* 1973) lend credence to the claim that poliovirus serotypes 1 and 2 are indeed the major causes of infantile paralysis in Ghana. Poliovirus serotype 3 may play a rather minor role in infantile paralysis in Ghana. We are etc.

DR. P. A. K. ADDY AND DR. S. OTATUME

*Virus Laboratory Department of Microbiology
University of Ghana Medical School, Accra.
Ghana.*

References

- Addy, P. A. K., Beckley, C., Tagoe, D. Q. and Otatume, S. (1973), *Ghana Med. J.* 12/3: 259.
Collis, W. R., Ransome-Kuti, O., Tallor, M. E. and Bate, L. E. (1961). *W. Afr. Med. J.* 10: 217.
Otatume, S. and Addy, P. A. K. (1973). *Ghana Med. J.*, 12/3: 282.
Otatume, S. and Addy, P. A. K. (1975). *Japan J. Microbiol.*, 19/3: 201.

[I-34]

ANAEMIA IN PREGNANCY IN A TROPICAL AREA

S. Furukawa
T. Yoshida
S. Sekimoto
University of Fukushima
Fukushima, Japan.

Introduction

As part of our joint program for medical care in Ghana we have been carrying out a study on anaemia in pregnancy there. This area, which faces the Gulf of Guinea in the western part of Africa, is very hot and quite humid. There are a number of documented studies so far available as to haemoglobin anomalies, congenital diseases exemplified by sickle cell disease, which are frequent there. Malaria is also predominant in that area, some studies having been made public as to the relationship between that illness and sickle cell disease.

Over a period of one year from Feb., 1975 through Jan., 1976, we made a status of anaemia and the neonatal body weight at birth in 167 pregnant women with haemoglobinopathy in the main seen at the Maternity Block of Ghana Medical School. At the same time, morphology of erythrocytes closely related to anaemia was investigated by means of scanning electron microscopy. The results obtained are presented in this preliminary report.

Materials and Methods

Our series consisted of 167 pregnant women. Initially, an attempt was made to identify the type of haemoglobin by electrophoresis. Then the blood was sampled regularly; a total of 816 samples were obtained. These samples were examined for general haematologic parameters and for the presence of Plasmodium. Measurement was also made of the body weight at birth of newborn infants from our subjects to compare the mean neonatal body weight in pregnant women with a Hb level of less than 10.0 gm./dl and those with a Hb level of 10.0 gm/dl or more. A comparison was also made of the mean neonatal body weight between groups of women with different types of haemoglobin.

A morphological study was then made of erythrocytes with Hb S-S, Hb S- β thalassaemia or Hb F-F or infected with malaria, with those with normal haemoglobins, Hb A-A, serving as control. A comparative study was also made of the morphology of sickle cells in crisis and erythrocytes with Hb S-S after treatment with 2% sodium metabisulphite. After sampling and treatment, these cells were immediately fixed in 1% glutaraldehyde, dehydrated with graded alcohol, dried spontaneously or by the critical point method and then, after double binding of carbon and gold in vapor, subjected to observation with the SEM-15 scanning electron microscope.

Results

a) Haemoglobin level and packed cell volume

In 129 cases it was possible to identify the type of haemoglobin by electrophoresis. Of these cases, 66 had normal haemoglobin Hb A-A; 19 Hb A-S or the sickle cell trait; 7 Hb A-C or the Hb C trait; 20 Hb S-C disease; and 1 Hb S- β thalassaemia.

Fig. 1 illustrates the mean maternal haemoglobin level at different stages of pregnancy in relation to different types of haemoglobin. As seen, maternal haemoglobin level was generally reduced throughout the entire course of pregnancy. In the Hb S-S group it was distinctly lower than in other groups; 8.87 g/dl until 27 weeks, 8.80 g/dl for a period from 28 through 33 weeks and 8.57 g/dl subsequently.

Fig. 2 shows the mean maternal packed cell volume at different stages of pregnancy in relation to different types of haemoglobin. It is seen that Hb S-C disease or sickle cell disease as a haemoglobinopathy was associated with a diminished packed cell volume as well at all stages of pregnancy examined.

b) Serum iron and total iron binding capacity (TIBC)

The serum iron level and total iron binding capacity in groups with different types of haemoglobin are shown in Fig. 3. The Hb A-A group had a mean serum iron level of 126.3 μ g/dl with a mean TIBC value of 448.5 μ g/dl, both within the normal limits, although there was a lowered serum iron level or an elevated TIBC value in some cases. Essentially the same pattern was observed in the Hb A-S and Hb A-C groups. An elevated serum iron level of 226.3 μ g/dl was noted in the Hb S-C group, and a somewhat lowered TIBC value of 399.5 μ g/dl was obtained in the Hb S-S group.

c) Relationship between the neonatal body weight at birth and maternal haemoglobin level and type

Table 1 shows the mean neonatal body weight at birth in groups with a haemoglobin level of 10.0 g/dl or more and with a lower haemoglobin level. The mean body weight of the newborn infant was not lower but rather higher for the group with a haemoglobin level below 10.0 g/dl than for one with a higher haemoglobin level: 2,967 g for the former group and 2,872 g for the latter.

Groups with different types of haemoglobin are compared with each other in respect of the mean neonatal body weight at birth in Fig. 4. The mean body weight of the newborn infant was 2,876 g for the Hb S-C group and as low as 2,593 g for the Hb S-S group as compared with 2,943 g for the Hb A-A group.

d) Morphological study of erythrocytes by scanning electron microscopy

Fig. 5 shows a x 3,000 magnification of erythrocytes with normal haemoglobin Hb A-A. They are featured by narrowing on both sides in the middle of the typical round shape.

A x3,000 magnification of erythrocytes with Hb S-S suffering from sickle cell disease is presented in Fig. 6. The cells are so deformed as to assume a unique club-like shape.

Fig. 7 represents a x3,000 magnification of cells afflicted with Hb S- β thalassaemia. Some target cells can be seen along with club-shaped cells.

Fig. 8 represents a x1,000, and Fig. 9 a x3,000 magnification of erythrocytes with Hb S-S which have been treated with sodium metabisulphite and then fixed. Almost all of the cells are so deformed as to have processes like a leaf of holly. Fig. 10 represents a x3,000, and Fig. 11 a x7,500 magnification of blood with sickle cell in crisis, which has been fixed immediately after sampling. A number of cells can be seen, which are deformed like a leaf of holly just as those treated with a reductant.

A x3,000 magnification of cells with Hb F-F is shown in Fig. 12. Oval cells of varying size can be seen.

Fig. 13 represents a x7,500 magnification of erythrocytes infected with malaria. There are some convexes where malaria parasites are presumably harbored.

Discussion

Our present study could cover a reasonably large number of pregnant women with haemoglobin anomaly, because the institution where this study was carried out is the only medical center available in that district so that every patient previously diagnosed as Haemoglobinopathy is transferred to the Maternity Block as soon as she becomes pregnant. It is reported that as high as approximately one-third of the population in Ghana have haemoglobin anomaly or its trait, suggesting a considerably high frequency in which the illness is complicated by pregnancy.

The results of this study indicate that both haemoglobin level and PCV value were slightly lowered at all stages of pregnancy examined, even in normal women with Hb A-A, whereas Hb S-C especially Hb S-S disease was often associated with severe degree of anaemia in our series. No aggravation in these respects with the progress of pregnancy was observed, however.

In general, serum iron level and TIBC were within normal limits, although there were some cases even in normal group with Hb A-A in which evidence of iron deficiency anaemia was present: low serum iron level with elevated TIBC. An elevated serum iron level was noted in the Hb S-C group and the TIBC was found somewhat lowered in the Hb S-S group. No valid explanation can be given at present.

The mean neonatal body weight at birth was not lower in the anaemic group with a haemoglobin level below 10.0 g/dl, but was apparently lower in the Hb S-S or S-C group than in the Hb A-A, A-S or A-C group. These findings cannot be accounted for by anaemia due to pregnancy but might be explained by the fact that Hb S-S or Hb S-C disease is associated with frequent premature birth due presumably to severe maternal anaemia with resultant fetal anoxia, disturbance of maternal development resulting from chronic anaemia or the occurrence of some complication or complications. Alternatively, placental infarction might be responsible in this regard.

Our morphological study of erythrocytes from the subjects revealed the presence of Plasmodium in only 10 of the 816 samples examined. The cells infected with malaria were found to have a convex at places, a change which is ominous enough to predict destruction of the cells during the forthcoming mitotic phase.

As to haemoglobin anomalies it was shown that, apart from Hb F-F which is extremely rare, Hb S-S is associated with extraordinary morphological changes of cells including an irreversible change into a club-like shape and a reversible one into a holly leaf-like contour and that cells with such a holly leaf-like contour frequently occur in association with S-S in crisis and resemble those with Hb S-S treated with a reductant. It was thus suggested that the anoxic state of puerperium might somehow be implicated in S-S in crisis, which is believed to occur in about half of patients with Hb S-S disease during the puerperium.

The present study covered a short period of 1 year and was also limited both in the number of cases and in the geographical area concerned. Further study in larger series in a more extended area will be needed for hereditary diseases, with special attention directed to the subject of tribes. We are going to make a study of the way in which such illnesses are favorably affected by our therapeutic measures.

Acknowledgements

This work was supported by grants from the Japanese International Co-operation Agency, Japan and the University of Ghana Medical School, Ghana. The authors wish to thank Dr. C. Klufio, (Dept. of Obst. and Gynec., University of Ghana Medical School) and the other Clinicians at Korle Bu Teaching Hospital whose patients were used in this study.

We also wish to thank Dr. J.A.A. Mingle (E.M. Unit, Dept. of Microbiology, University of Ghana Medical School) for his helping in the morphological study of erythrocytes.

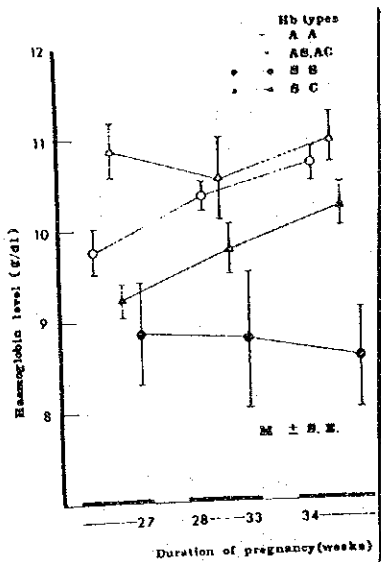


Fig. 1 Mean maternal haemoglobin Levels at different stages of pregnancy in relation to different types of haemoglobin.

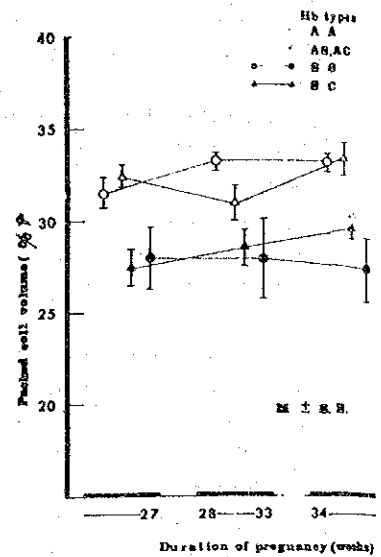


Fig. 2 Mean maternal packed cell volumes at different stages of pregnancy in relation to different types of haemoglobin.

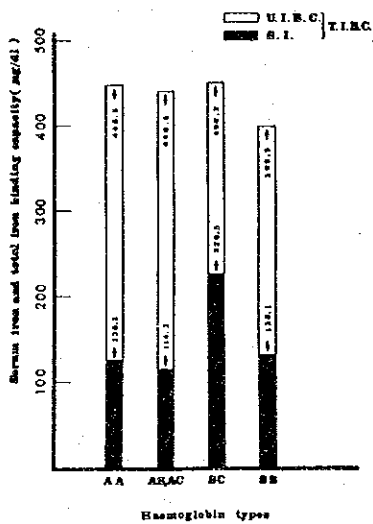


Fig. 3 Serum iron levels and total iron binding capacities in groups with different types of haemoglobin.

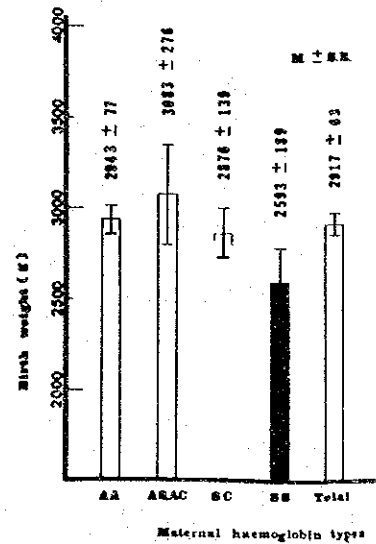


Fig. 4 Mean birth weights in groups with different types of haemoglobin.

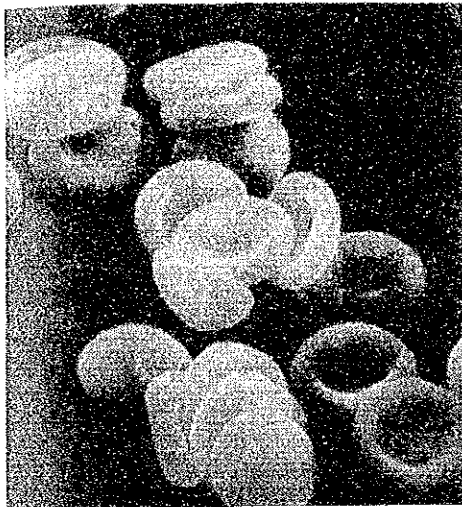


Fig. 5 Scanning electron micrograph of normal erythrocytes. (Hb.type AA).X 3,000.



Fig. 6 Scanning electron micrograph of erythrocytes from Hb.type SS.X 3,000

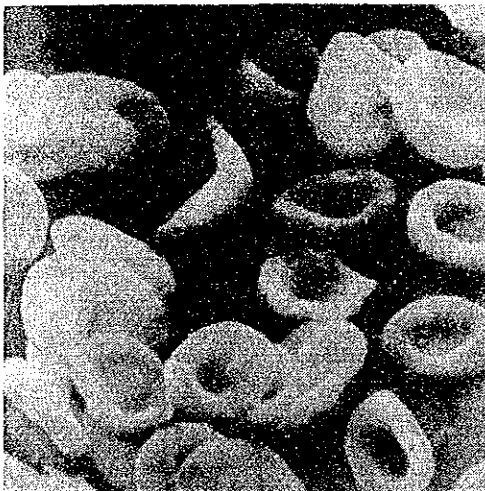


Fig. 7 Scanning electron micrograph of erythrocytes from Hb.type S-B thalassaemia.X 3,000

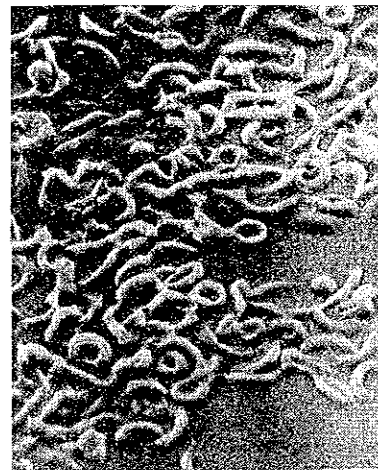


Fig. 8 Scanning electron micrograph of erythrocytes from Hb.type SS after deoxygenation with sodium metabisulphite. X 1,000.



Fig. 11 Scanning electron micrograph of erythrocytes from Hb. type SS in crisis. X 7,500

Fig. 12 Scanning electron micrograph of erythrocytes from Hb. type FF. X 3,000

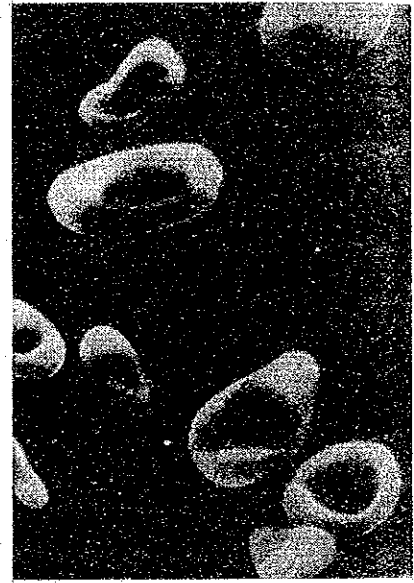


Fig. 13 Scanning electron micrograph of erythrocytes infected with malaria. X 7,500



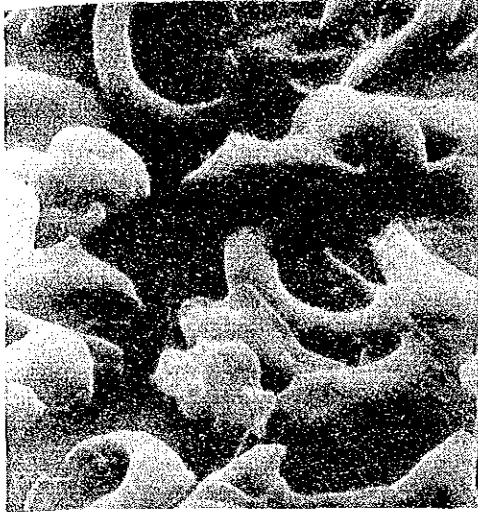


Fig. 9 Scanning electron micrograph of erythrocytes from Hb. type SS after deoxygenation with sodium metabisulphite. X 3,000

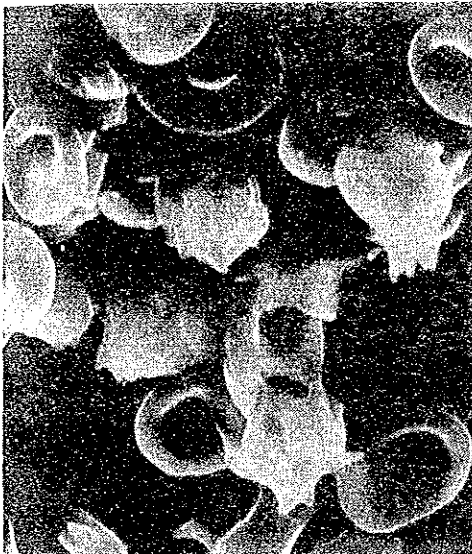


Fig. 10 Scanning electron micrograph of erythrocytes from Hb. type SS in crisis. X 3,000

Haemoglobin 10.0g/dl & above.	2872 ± 104 M ± S.E.
Haemoglobin below 10.0g/dl.	2967 ± 69 M ± S.E.

Table 1 Mean birthweights(g) accordint to antenatal haemoglobin levels.

[1-35]

River Blindness*

保坂明郎

HOSAKA, A.:

River Blindness.

Igaku no Ayumi, 102, 791-798, 1977.

The author reviewed the clinical aspects and control program of onchocerciasis infected in Africa and Central America.

River Blindness*

HOSAKA, A.:

River Blindness

Igaku no Ayumi, 102, 791-798, 1977.

保坂明郎

はじめに

本症は糸状虫類 (filarioidea) の一種である onchocerca volvulus (以下 o. volv.) がブユを介してヒトに寄生して起こる疾患で、一般名をオンコセルカ症 (onchocerciasis) という。アフリカでは以前から山間部の河川の付近に住む人々に失明者が多いことが知られており、river blindness として恐れられてきた。中南米では発見者の名にちなんで Robles 病といわれている。

1. OCP (onchocerciasis control programme in the Volta river basin area)

アフリカにおける本症の流行地帯はサハラ砂漠の南で、西から東へとベルト状に伸びる広い地域にわたっている。とくに西アフリカの Volta 河流域のサバンナ地帯は世界でもっとも endemic な地域で、面積はほぼ70万

km²、人口約1,000万人のうち、100万人以上が罹患し、うち少なくとも7万人が失明していると推定されている(図1、表1)。

本症による失明は成人男子に多く、原始的農業協同体の機能が低下し、重大な社会的経済的問題になっている。事実、集団的な失明のために肥沃な土地を放棄して住民が移動し、廃虚となった村落が多数ある。

上記の地区に関係する7国 (Dahomey, Ghana, Ivory Coast, Mali, Niger, Togo, Upper Volta) は、1970年に本症を撲滅するための共同調査機関を作り、1973年までに基礎調査を終わり、WHO にその援助を要請した。WHO のよびかけによって UNDP (開発局)、FAO (食糧農業機構)、IBRD (世界銀行) が協力して1974年より20年計画の OCP が開発され、本部がジュネーブに置かれた。また実施本部は Upper Volta の首都 Ouagadougou にあり、現在精力的に本症と取り組んでいる。

表 1 OCP (撲滅計画に含まれる地域)

country	total area (km ²)	area covered by the programme (km ²)	estimated total population	approximate population in programme area
Dahomey	112,620	56,000	2,770,000 (1)	547,000
Ghana	238,377	98,000	8,546,000 (3)	1,600,000
Ivory Coast	333,270	110,000	5,100,000 (2)	1,000,000
Mali	1,204,000	125,000	5,300,000 (1)	1,400,000
Niger	1,187,000	17,000	4,000,000 (2)	90,000
Togo	56,600	18,000	1,956,000 (2)	555,000
Upper Volta	274,000	230,000	5,421,000 (1)	4,900,000
total	3,405,867	654,000	33,093,000	10,092,000

(1) 1971. (2) 1970. (3) 1970~1971 census.

* River blindness

HOSAKA, Akio: Department of Ophthalmology, Asahikawa Medical College 旭川医科大学眼科学教室, WHO/OCP/STAC 委員

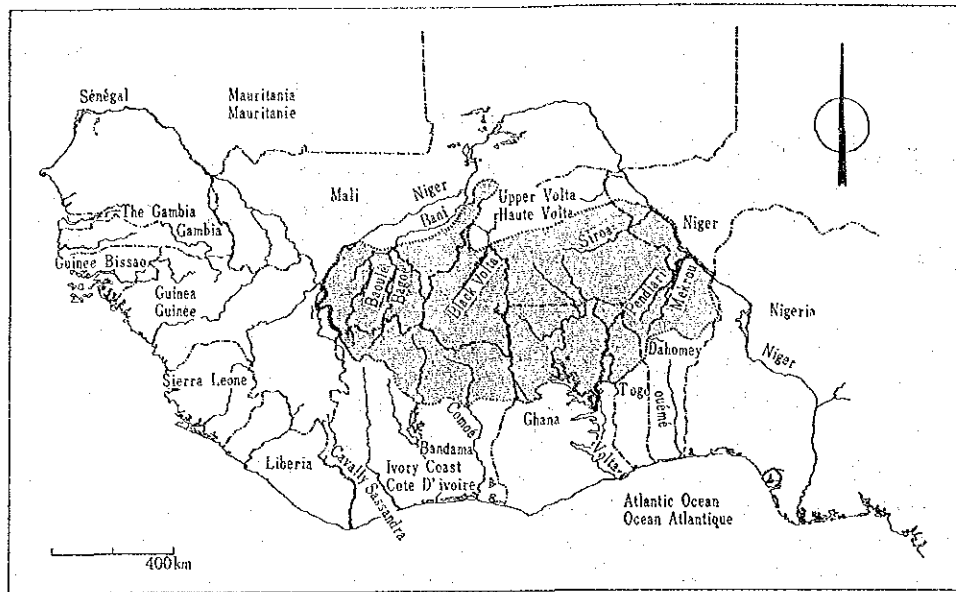


図1 OCP 計画地域 (西アフリカ7カ国)

2. river blindness の分布と伝染

流行地はアフリカ大陸、ついで中南米であり、Yemen その他の散発地を入れると世界中の罹患者は2,000万人以上と推定される。熱帯アフリカの多くの地域で住民の50%以上が感染を受け、4~10%が失明しており、蔓延地区では13~35%の失明率の所もある(図2)。

本症を起こす寄生虫はアフリカ種とアメリカ種とは異なり、また熱帯林地帯とサバンナ地帯とでも異なるといわれるが、現在のところ未解決で、形態学的には区別しがたいとされている。

普通ヒトからヒトへの感染はなく(最近、母親からの経胎盤感染が知られてきた)、ブユによって媒介される。本症に罹患しているヒトをブユが刺すときにヒトからブユに仔虫(microfilaria, 以下 m.f.)が摂取され、その一部が生き残って感染型幼虫(infective larvae)となり、次にブユがヒトに刺すときに、この幼虫が皮膚に入って感染が成立する(図3)。

ヒト宿主に入った幼虫は数カ月から1年間ぐらいで徐々に発育して成虫になる。成虫はオスでは体長2~5cm、メスでは30~50cmにも達し、多くは皮下組織または皮下結節中にコイル状にからまっており、盛んに m.f. を生む。m.f. は体長約0.3mmで古典的には皮膚と眼にだけ存在するとされていたが、近年さまざまな組織(肺、肝、腎、脾、大動脈など)のほか、血液、リンパ

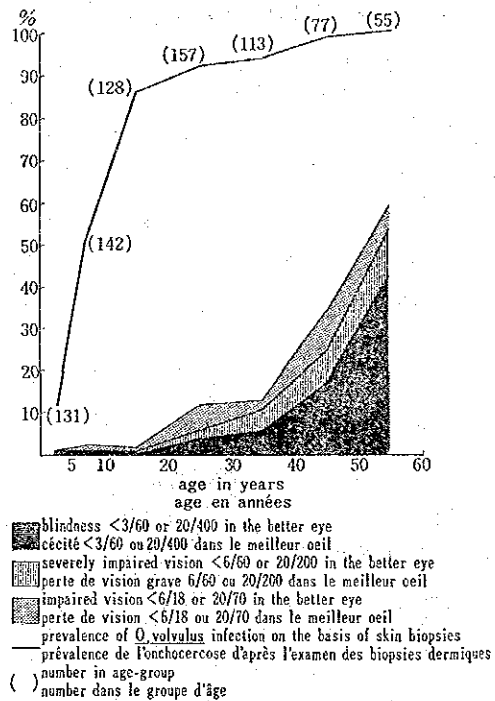


図2 高度流行地(3部落)における流行度と視力障害程度(主として年齢に関連して)(OCP/1973)

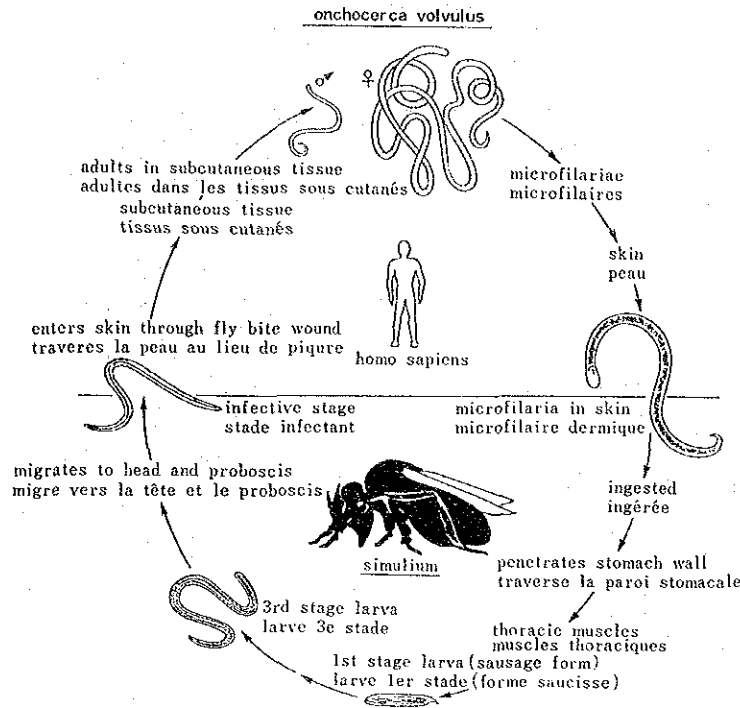


図3 onchocerca volvulus の生活環 (OCP/1973 による)

管系、髄液、尿にも証明されており、皮下を移動するだけでなく、脈管系経由で全身に拡がる可能性が注目されている。

ヒトのオンコ症を媒介するブユは中南米とアフリカでは異なる(中南米では *simulium ochraceum*, *S. metallicum*, *S. callidum*)。アフリカではほとんどが *S. damnosum* である。しかしまったく同一種類ではなく3種の亜型に区別されそうだとする人もいるが不確実で、現在は *S. damnosum complex* として取り扱っている。

ブユの生態については種類による差があるばかりでなく、調査不十分でなお不明な点が多い。最近の資料によると妊娠しているブユは川の近くにとどまるか、川に沿って移動するが、その他のブユはかなり遠くまで分散する。飛行範囲も数 km から 100 km 以上という報告もあり、また風に乗って移動するときはかなり遠くに達するようである。共通的なのは、川で産卵することであり、幼虫期から成虫期直後までの生息地は川とその周囲に限られている。*S. dam.* についていえば、標高 500~1,500 m の土地で、水流の速い (60~250 cm/sec) 川の浅瀬に約 250 コの卵をまとめて産卵する。これがふ化して幼虫・蛹を経て成虫になるのに 2~3 週間かかるという。

本症の感染は *O. volv.* の幼虫をもったメスのブユに

刺されることによって成立するが、発病は何百回か何千回か反復して刺されて初めて起こるので、この点マラリアなどとは違う。

3. 臨床症状

オンコ症の主要症状は皮膚病変と眼兆候とから成り、眼では前部も後部も侵されて失明する。しかしほとんど無症状の場合もあり、またこの中間に位する比較的良性の形から重症に至る種々の段階の症状がみられる。以前には成虫の毒素やビタミンA欠乏が症状発現に関係するとの説もあったが、この数年で症状を起こすのは成虫ではなく *m.f.* に限るという考え方が支配的になり、その裏づけになる資料も続々報告されている。

1) 皮下結節 (nodules, onchocercomata)

皮下組織内に存在する成虫を中心として非特異性線維性の皮下結節が形成される。大きさはいろいろで直径 0.5 cm から 10 cm ぐらいなものまであり、これらが融合して巨大結節を作っていることもある。弾力性でやや硬く通常癒着はないが、ときとして骨膜・深部筋膜または皮膚に癒着している。結節は骨髄周囲や下腿に多くみられるが、至るところにでき、頭部にもよくみられる。

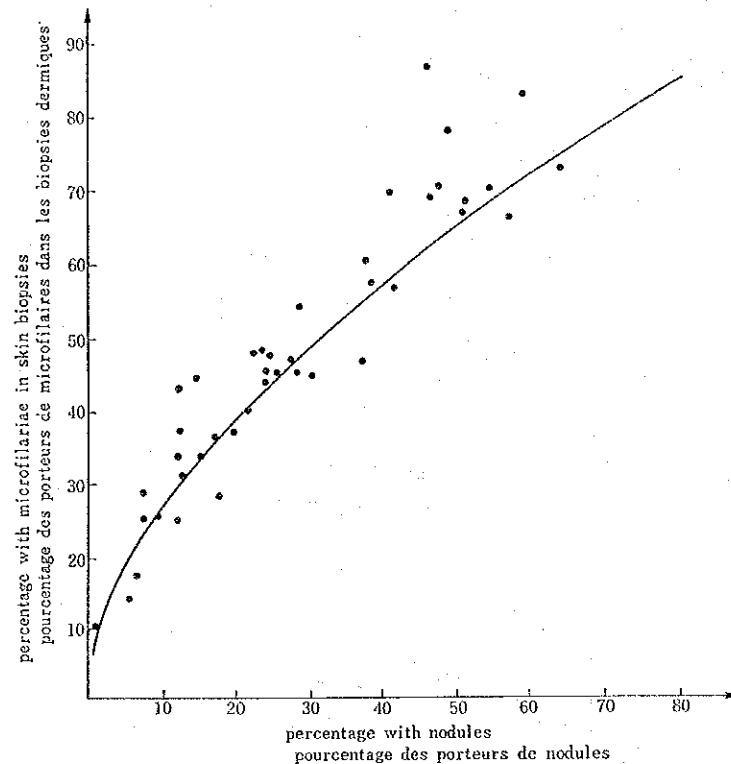


図4 結節数と skin snip 陽性率との関係
(44部落, 人口総数 13, 113名の統計) (OCP/1973 による)

2) 皮膚炎 (onchocercal dermatitis)

早期症状のなかでもっとも重要なのは、掻痒である。どの部分の皮膚も侵され、軽度感染者では唯一の兆候である場合がある。初期の皮膚の biopsy によると血管周囲および付属器周囲に軽度の炎症性細胞浸潤がみられる。丘疹は初期に多いが、どんな時期にもでき、小さくて隣り合って並んでいることもあり、大きくて互いに離れていることもある。掻痒が著明なため引っかき傷を作り、出血や二次感染を起こし、しばしば潰瘍性になる。この状態をアフリカでは *craw-craw* とよんでいる。皮膚の炎症細胞浸潤が強くなると変化は真皮からさらに皮下脂肪にまで及び、慢性化してくると苔癬様変化や限局性の色素脱失をきたし、他の部では反対に色素沈着を起こしてくる。

末期には皮膚の萎縮は高度となり、光沢と弾力性を失い、かさかさになって、いわゆる *lizard skin* の状態になる。要するに *m.f.* を中心として起こる軽度の表在性変化に始まり、高度の皮膚萎縮に至るものである。

一般に感染程度が重いほど皮膚症状も高度であり、皮

膚の biopsy で *m.f.* が証明され、この率は結節数と平行関係にある(図4)。

3) 眼病変

眼病変の発現は従来いわれるように、感染程度と持続期間とに関係する。現在では眼症状が *m.f.* の局所死亡によって起こることを疑う人は少なくなった。地域によって前眼部と後眼部の侵され方が異なり、これは寄生虫株の差によるとされているが、眼科医が検査した報告が少ないため本質的な差はないと思う。事実、最高の流行地帯では幼児期から重症の眼病変がみられ、通常前眼部も後眼部も侵されて若い内に失明する者が多い。

統計的資料によると、頭部に結節が多いほど、また外眼角部皮膚および結膜に *m.f.* が多いほど眼兆候が多くなっている。角膜内や前房内にしばしば *m.f.* が発見されることから、眼の付近に到達する経路は不明としても、やはり抵抗の弱い輪部から穿入するとする従来の説は正しいと思われる。後眼部病変の成立も未解決である。Neumann と Gunders (1973) は1例の組織において、強膜を穿通する毛様動脈の周囲に *m.f.* の破片と円

表 2 眼病変の部位 (カーナ大学: 47例, 94眼)
(保坂・他: 1975)

	眼数	%
前眼部のみ	22	23.4%
後眼部のみ	10	10.6%
前・後眼部とも	45(49)	47.9%(52.1%)
所見なし	11	11.7%
不確実	6*(2)	6.4% (2.2%)

* このうち4眼は後眼部も侵されていることが他の所見からはほぼ確実なので、これを入れると前・後眼部とも侵されているのが52.1%になる。

形細胞浸潤とを発見し、また生きた m.f. が網膜と脈絡膜にいたと報告し、後毛様動脈や神経枝に沿って眼球後部の強膜を穿通したものと結論している。臨床的に明らかに後部のみが侵されている症例のあること、近年眼組織のどの部にも m.f. が証明されていることなど考え合せると、眼球前部から侵入した m.f. が後部に移行すると考えるよりも、抵抗の弱い部分があれば何処からでも眼内に侵入すると考えた方が自然のように思われる(表2)。

(1) 前眼部病変

初期には球結膜の浮腫を伴った輪部炎がみられるが、この時期に患者を診察する機会はまだである。比較的初期の所見としてしばしばみられるのは角膜の上皮性および上皮下混濁で、雲状混濁または流角結に類似した点状混濁の形をとる。これらは治療によって数日で痕跡なく治癒するが、これに反し硬化性角膜炎は重い病変で、角膜内に m.f. が多数存在するときに起こる。定形的には3時または9時位に始まる実質性混濁で普通は側方および下方に進行し、中心部と上部は比較的透明に維持されるが結局は角膜全体が白斑となり、実質への血管侵入、色素沈着、角膜変性を起こして失明する。硬化性角膜炎と上皮性混濁とは同時に起こる場合もあり、別の時期に起こるとは限らない。

前部ブドウ膜炎もよくみられ、多くは上皮性角膜炎や硬化性角膜炎を合併している。角膜や前房に m.f. がみられ、ときには水晶体にもみられる。急性・慢性、重症・軽症などいろいろな報告があるが、要するに感染程度の差であって本質的には同じである。生きている m.f. の数や治療による m.f. の死亡などと関連して多彩な所見を呈するが、非特異性の炎症であって、軽い非肉芽性炎症から重い肉芽性炎症までさまざまで、しばしば慢性炎症の存在するうえに急性炎症がオーバーラップしている。

後遺症としては虹彩萎縮、癒着、瞳孔変形などを起こすのは当然で、続発緑内障はもっとも重大な合併症である。前部でブドウ膜炎が遷延すれば併発白内障も起こってくる。硬化性角膜炎があるとブドウ膜炎が隠されて見落されることがあるので常にブドウ膜炎の併発を考え、眼圧に注意しなければならない。

(2) 後眼部病変

眼底病変は外見上3つのタイプに分けられる。①滲出性網脈絡膜炎、②網脈絡膜変性、③視神経炎および萎縮である。Rodger (1957~1960) は、①(滲出型)と②(変性型)とを区別し、これらは病因が異なるとしたが、Budden (1962) が一原説を唱えて以来、古典的なRodgerの説を支持する人はいなくなった。③についてはなお異論があり、他の原因による病変であるとする人もいるが、オンコ症研究にたずさわっている人の多くは本症によって網脈絡膜の変化を伴わない視神経炎または視神経萎縮が起こるとしている。

临床上、眼科医がみる眼底病変は多くは末期の状態で、網膜は広範囲に萎縮・変性に陥り、脈絡膜もまた変化を受け、点状または塊状の色素沈着がみられる。視力は多くは手動弁以下で、網膜血管のみでなく脈絡膜血管にも異常があり、続発性視神経萎縮を伴っている。この所見は遺伝性網膜色素変性症に類似して generalized ではあるが、よくみると不規則な病巣の融合であることがわかる。

しかし、初期と思われる症例を注意してみると、通常後極部で黄斑部の外側に限局性の炎症浸潤があったり、または斑状の瘢痕巣や変性巣がみられる。まれにはびまん性の滲出性炎症が著明で網膜剥離を伴っていることもある。

以上から著者個人としては次のように想像している。軽度感染では眼球後部から穿入する m.f. の数が少なく、比較的限局性の炎症が起こるが瘢痕治癒する。ただ長年にわたって、いろいろな場所にこれが何回か起こると炎症状態があまりみられずに萎縮変性が進行し広範囲に及ぶ。眼球後部にいる m.f. の数が多いか、一時に大量に死亡するかすると急性の激しい炎症像がみられる。このように考えれば m.f. の存在する位置によって視神経が単独に侵されても不思議はない。

眼病変が発現してから治癒し、あるいは失明に至るまでを整理してみると表3のようなになる。また主な失明原因をみると前眼部病変では続発性緑内障であり、後眼部では網脈絡膜の萎縮である(表4)。

表3 眼病変の発展型式(推定)

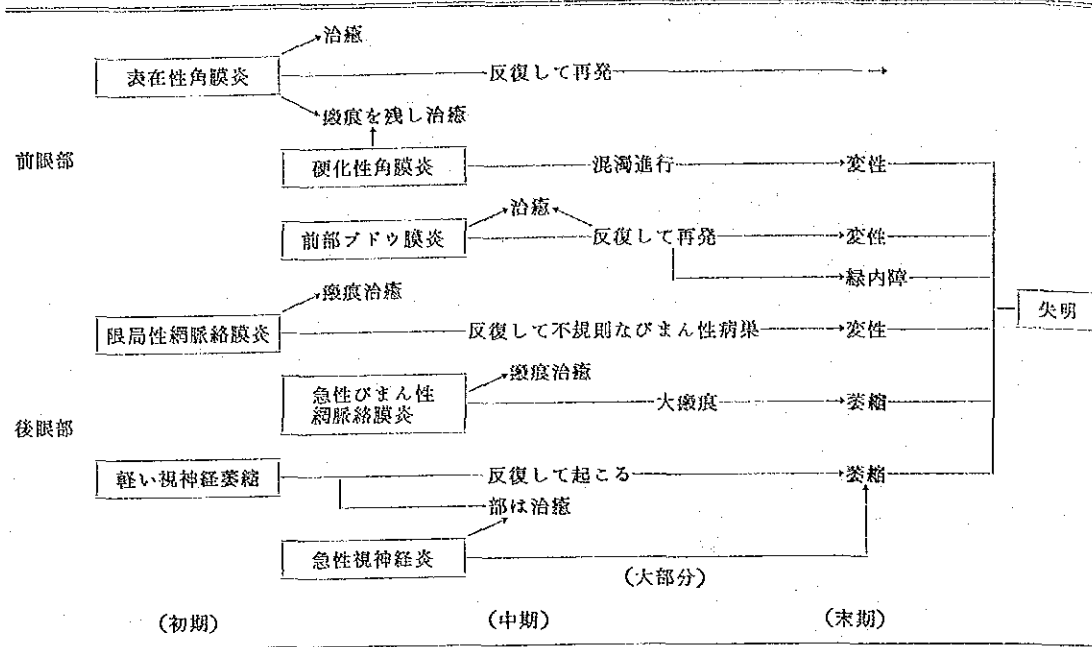


表4 視力と主要眼病変との関係
(ガーナ大学：43例，77眼，保坂・他，1975)

視力	角膜	前部ブドウ膜	緑内障	網脈絡膜	視神経	(計)
6/5~6/12	11	10	1	2	4	28
6/18~6/60	3		1	3	2	9
指数			2	3	1	6
手動以下			5	26	3	34
計	14	10	9	34	10	77

4. 診断と治療

免疫学的テストの研究はかなり進歩してきたがまだ実用の段階に達していない。昔から有名なのは Mazzotti test である。これは治療剤である Diethylcarbamazine (DEC) 25~50 mg を内服させて反応をみる方法であるが、判定に主観的要素が入り、また重症者ではショックを起こすことがある。またオゾン症の患者では、DEC 内服により尿中への m.f. の排出が増えるばかりでなく、血液や髄液中にも出現するという事実があるので、むしろ m.f. のヒト体内移動経路の追究に使われるようになっている。

いまのところ臨床症状と m.f. の検出との両面から判定すれば流行地での診断はまず間違いない。とくに眼内

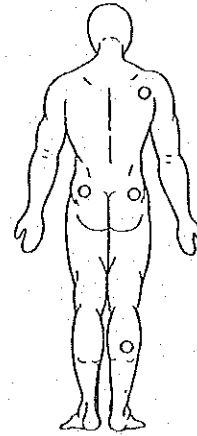


図5 適切な skin snip の部位
(Buck, A.A., 1974)

に m.f. を発見できれば眼病変が本症に由来することの確証になる。

1) skin snip

皮膚病変のあるところ、とくに結節に近い部位での検出率は高い。アフリカでは腸骨稜や下腿の皮膚片を採取するのが普通である(図5)。眼病変との関係を検査したいときには外眼角部皮膚も用いられる。鑷子または虫ピンなどで皮膚をちょっと引き上げて剪刀またはパンチを使って2~3mm長の皮膚片を切りとる。深さは真皮

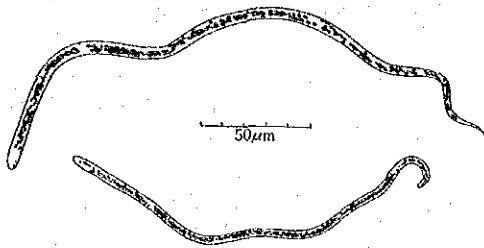


図6 (上) *O. volvulus*
(下) *D. streptocerca* } 仔虫の差
(Buck, A.A., 1974)

の乳頭外側部までが適当で、出血してくるようでは深すぎる。オブジェクトグラスの上に水道水なり食塩水なりを滴らしておいて皮膚片を(表層を上にして)漬けておき、10~15分後に低倍率(10~30×で十分)で鏡検すると、皮膚片から水中に向かって多数の m.f. が出てくる。他のフィラリアの流行も併存する地域ではとくに *D. streptocerca* と鑑別する必要がある。その差は図6のようで体長の差と頭部と尾部との違いに重点が置かれる。これにはギムザ染色がよい。

2) 眼内の m.f. の検出

これには細隙灯顕微鏡が不可欠である。角膜内、ときとして水晶体に発見されることもあるが、もっとも有力で発見しやすいのは前房内の m.f. である。15~20×で観察すると前房内を泳ぐ m.f. がきらきらと光って見える。あまり長く観察していたり散瞳したりすると m.f. が隠れるので手早くおよその数を数えてしまう。記録は5段階に分ける(0=存在せず, 1=1~4, 2=5~19, 3=20~49, 4=50以上)。もし発見できないときは数分間頭部を下げさせておくとか、眼球マッサージをしてから観察すると、隠れていた m.f. が出てくることもある。

3) nodulectomy (結節摘除)

結節を摘出して内部にからみあった成虫の塊りと m.f. が存在するのを確かめる。しかし、これはむしろ治療の意味に行われることが多く、中南米の成績では頭部の結節を切除すると眼病が減少するという。

4) DEC

他の薬物の開発が進められているが、現在もっとも有効で比較的安全に使えるのは DEC のみである。日本では Supatonin の商品名で発売されている。もっとも能率的な投与方法についての研究も行われているが、投与方法の如何にかかわらず総量が 70 mg/kg になればよいとの説もある。掻痒、皮膚炎、浮腫などの副作用があり、発熱・全身痛が起り、患者が苦しむことが多い。しかし

表在性の角膜炎など軽度の病変は数日間の投与で治療する。ショックなどの予防として抗ヒスタミン剤やステロイド剤を併用することもある。

5. OCP 活動の実際

オンコ症を撲滅するには罹患者の治療(感染源の減少)とブユの駆除(媒介者の根絶)との両面作戦が必要である。各地で DEC による集団治療も試みられているが、アフリカの広大な地域でこれを徹底することは並大抵でなく、OCP の20カ年計画はもっぱらブユの駆除に向けられている。Ouagadougou の本部には疫学、経済学、昆虫学、地理学、水力学、眼科学などの専門家がおり、事務局があって、director がこれを統括している。計画区域内にはそれぞれのセクションが置かれ、河川の状態、水質検査、ブユの生態、駆除剤の効果など WHO で定めた一定の書式で報告してくる。本部は報告にもとづいて対策を立てて指示する一方、ジュネーブに報告を送る。

このように field と本部との連絡は非常に密で1974年に作戦を開始していろいろブユがまったく撲滅され、オンコ症の発生のとまった地域もある。しかし、一方では計画区域外からの罹患者の移入があったり、遠隔の流行地からのブユの飛来で再び伝播が起こったり、なかなか容易なものではない。

駆除剤としては以前は DDT が使われていた。しかし、DDT は安定なため河川を汚染することがわかったので現在は Abate が使われている。地形的に陸上からの撒布が不可能な地域では小型機とヘリコプターを使って空中撒布も行っている。通常20%の乳剤を 2 ppm の濃度になるように撒布している。水量の豊富な時期(4~9月の雨季)に重点的に実施し、乾季では流れている川だけを対象として撒布している(乾季では干上ってほとんど水のない川ができるし、また反対に雨季ではしばしば新しい川ができたり流域が変わる)。同時に河川の水質調査とくに Abate による環境汚染のチェックも嚴重に行われており、今は一般的に撒布量が多すぎるらしいといわれている。

フィールドでは別に疫学的調査も継続されている。これも一定の書式にしたがい、簡単な検査と詳細な検査がある。前者は simple evaluation card (S表) というもので、1家族別の個人表を作る。skin snip, 簡単な視力検査、尿検査などの結果を記入する。後者は detailed evaluation card (D表) であり、これには疫学的調査だけでなく、必要な器材をもった眼科専門医の診察が加わる。つまり社会学者を中心としたチームでS表による

スクリーニングを行う一方、疑わしい例についてD表で徹底的に検査を行う。これにより治療対象者を発見するだけでなく、各地区の流行度・感染度を知ることができ、昆虫学的調査とつき合わせて実施計画にフィードバックするわけである。WHO方式による調査方法は検査成績の評価に一定性を保たせるため非常に重要であり、有益である。しかし、一方現地人のアシスタントを使って実際に行う苦勞は想像を絶するものがある。

おわりに

OCPの計画実施に当たっての当初予算は、20年間で1億2,000万ドルであったが、1974~1976年の3年間にすでに約2,000万ドルを費やしている。このなかには日本政府からの供出金50万ドルも含まれている。

river blindnessは日本にはまったくみられない疾患であるが、アフリカ、中南米では大問題であり、人々を失明から守るだけでなく、社会的経済的問題もからみ世界中の関心が寄せられている。日本では外務省・厚生省・JICA（海外協力事業団）がこの問題に協力し、また専

門家のグループであるオンコセルカ研究会が組織されている。

注：オンコ症の臨床症状のカラー写真はすでに何回も発表したので今回は省略した。興味ある読者は他の文献を参照されたい。

文献

- 1) WHO: Onchocerciasis Control in the Volta River Basin Area. OCP/73, 1. Geneva, 1973.
- 2) Buck, A.A.: Onchocerciasis—Symptomatology, pathology, diagnosis. WHO, Geneva, 1974.
- 3) 多田 功: グアテマラ共和国厚生省オンコセルカ部派遣専門家報告書, JICA, 1974.
- 4) 保坂明郎・他: Atlas of Ocular Onchocerciasis. JICA, 1976.
- 5) 保坂明郎: オンコセルカ症の現況と問題点. 臨床眼科, 30(11): 1241, 1976.
- 6) 田中 寛・山田宏図: 昭和51年度西アフリカ援助計画オートボルタ国における国連オンコセルカ症対策計画に関する調査報告書, 日本船舶振興会, 1977.

* * *

5. GERMFREE ANIMALS AS TOOLS FOR MEDICAL RESEARCH

By

Tomezo Huziwara, M.D., DR.MED. SCI.

Mr. chairman, ladies and gentlemen,

I have the honour to address you on this occasion of Noguchi Centenary celebrations. As to Dr. Noguchi, I remember that when I was a schoolboy, I was very much stirred up on reading his biography as a self-made man. He was born of a poor farmer, and so he could receive no higher education than primary school. Nevertheless, he was so intelligent that he was able to become a teacher soon after finishing his primary school education. He studied medicine with a town physician while working as a house boy. Without formal education, he managed to obtain a medical licence, since that was possible in those days in Japan. Then, he went to America and worked very hard there as microbiologist, and distinguished himself in his field. It was in 1913 that he established the pathogenesis of paralytic dementia and *Tabes dorsalis*. For that, it is said that he examined, under microscope, over several hundred slide films of successive microsections of brain tissue, so to speak, without getting sleep and rest for three consecutive days and nights. When at last he found *Spirochaeta pallida*, or *Treponema pallidum* of current name, in the brain cortex, he was excited, so much so that he immediately rushed to the house of Dr. Flexner, his leader; it was still early at dawn. Over a cup of coffee, the two scholars affirmed the truth of this finding together. This well-known episode may show you how hard and enthusiastically he worked at his research.

By this discovery he became world-famous with a leap and, in the following year, in 1914, he was appointed a staff member of the Rockefeller Institute. Thereafter he strived harder for researches and thus enhanced his reputation.

When he was sent to Ecuador in 1918 on the mission to determine the pathogenic agent of yellow fever, he fulfilled his purpose in only two months. At the press interview, he made public his "*Leptospira icteroides*" as yellow fever agent. Almost all the world believed in his success. There was a rush of honorary doctorates and decorations from many countries.

Well, I can hardly tell whether such a fame was really happy for him. Only I suppose that too much reputation would have made him fall into overconfidence in his ability. It was in 1927 that in West Africa Dr. Stokes and his colleagues succeeded in transfer of yellow fever to Rhesus monkeys with filtrable material from patients. On learning this news in New York, the self-conceited, Noguchi must have been excited, and become impatient to reconfirm his own theory by himself. At that time, if he had been a little more humble, he would not have come to Ghana. As it was, he fell a victim to research in Accra, after realizing his theory could not be substantiated.

Thus, in spite of all his faults, we look up to him as one of the pioneers in the field of medicine, and as our model of a diligent researcher. At the same time, we feel much affection for him because this man of merit had many humorous weak points such as strong self-conceit, making sometimes mistaken discoveries, persisting in his own theories, and so on. Every body has his faults.

After all, it is through the sacrifice of Dr. Noguchi that we have been and shall be able to enjoy the medical co-operation and cordial friendship between Ghana and Japan.

Now, I would like to turn to the topic of my talk — germfree animals as tools for medical research. As bacteriologist, I have been teaching medical students for many years. I always start my course by requesting every student to bring a sample of his own faeces and stain it after mounting on a slide. According to my experience, the students, who are usually indifferent to other things, would be particularly interested in personal effects. Now, on microscopic observation of Gram-stained slide film of faeces, the students were always surprised to see the numerous bacteria present in the films. In fact, from one fourth to one third of solid part of faeces consists of bacteria, alive or

* Lecture delivered in the Auditorium, University of Ghana Medical School on the occasion of the Noguchi Centenary Celebrations; on Nov. 1st, 1976.

dead. This fact — what does it mean? What significance has it? Louis Pasteur was the first who thought about its meaning. He considered that intestinal flora would be useful to the host and, in order to prove this relation, he suggested an experiment of germfree rearing of the vertebrate. Since then, many investigators devised various types of apparatus, and made studies on nutrition concerned. Thus, since the end of the world-war II, it has become possible to breed various kinds of animals in germfree state for long periods (Table 1). The apparatus in the early days consisted of metallic cylinder and was very expensive. Recently, however, simple and flexible vinyl isolators have become available. As a result, germfree rearing and breeding have become relatively easy, especially with small animals like mice

It goes without saying that, using germfree animals many studies have been made on various subjects about nutrition, host-parasite-relationship, immunological problems, and so on. In addition, germfree apparatus and technique are going to be applied to special surgery and clinical therapy.

In our laboratory we started rearing germfree rabbits several years ago. It was for the purpose to solve the long-pending question whether any immune factor participates in the mechanism of the production of Shwartzman phenomenon. For this phenomenon the rabbit is the most suitable animal of experiment.

What is the Shwartzman phenomenon, then? In brief, it is as follows: When a rabbit is injected intracutaneously with a small amount of bacterial endotoxin, nothing much happens. But if 24 hours later the same rabbit is injected intravenously with the same

endotoxin or with other appropriate substances, there occurs a haemorrhagic and necrotic lesion at the site of previous, intracutaneous injection, within 2 to 4 hours after the intravenous injection. This is a local Shwartzman phenomenon, reported for the first time in 1928. The histological findings of the lesion produced are very similar to those of the Arthus phenomenon but, while the latter is an immune reaction between antigen and antibody, the Shwartzman phenomenon is not. According to Shwartzman, it is a non-specific reaction because of the following reasons:

(1) It is not necessary that the endotoxin or substances used for skin preparing injection and subsequent intravenous injection should be antigenically related.

(2) The provocative injection must be given intravenously. If it is also given into the skin, it is not effective.

(3) The provocative injection must follow within a limited interval — generally 8 to 32 hours — after the preparatory injection. Or else, it is ineffective. In other words, the time range between the two injections differs from that of any known immunological response.

From these reasons, the Shwartzman phenomenon has been considered to be a non-specific reaction, independent of any immunological mechanism.

In the meantime, Stetson in 1955 suggested the following hypothesis: "Normal" animals are all hypersensitized with endotoxins. This delayed type hypersensitivity has been spontaneously induced by the endotoxins derived from the endogenous bacterial flora. On this hypersensitivity may be based the biological activity of endotoxins, including the Shwartzman phenomenon, so proposed Stetson.

Since then, this kind of view has prevailed among the people who are interested in this field. If the existence of "natural" hypersensitivity to endotoxins is a necessary condition for the production of Shwartzman phenomenon, it will be interesting to know whether or not this phenomenon can be induced in animals which are deprived of any influence by endotoxins. To this end, we studied it in germfree rabbits (Huziwara, *et al.* 1975).

For germfree breeding, infant rabbits were delivered from pregnant animals by hysterectomy on the day of term and immedia-

TABLE 1: Germfree rearing of Animals (Historical)

Authors	Animals	Duration in Days
Pasteur, 1885	(Suggestion)	
Nuttals & Thierfelder, 1895	Guinea pig	6-13
Schottelius, 1899-1902	Chicken	10-30
Cohendy, 1912... ..	Chicken	13-45
Kuster, 1913	Goat	35
Glimstedt, 1932-37	Guinea pig	28-60
Balzam, 1937	Chicken	59
Reyniers, 1932-43	Chicken	4 months
"	Rat	Breeding
"	Various kinds	Breeding
Miyakawa, 1953-57	Guinea pig	100-300
" 1965	Rat	Breeding

tely transferred into a vinyl isolator by sterile technique throughout. The new-born rabbits were fed by hand on a diet of goat's milk fortified with vitamin supplement until the 4th week of life. By the 5th week they were fully weaned on to a solid diet of modified formula of the Lobund-L-478 diet. Milk and solid diet were sterilized in an autoclave. Stools were checked weekly for sterility by direct staining as well as culture. Thus, starting from 24 infants of 3 litters from among 18 pregnant rabbits, we could succeed to rear 15 germfree rabbits aged 100 days or more (Table 2). However, at the age of 100 days they weighed 1.2 to 1.5kg or no more than half the weight of rabbits of conventional breeding.

We performed the experiment of Shwartzman phenomenon with germfree as well as conventional rabbits at the age of about 100 days or more. Boivin type endotoxin from *E. coli* culture was employed as a Shwartzman reagent. The procedure to induce a local Shwartzman reaction was conducted in the usual way. As a result, lesions of typical haemorrhagic necrosis were produced at the prepared sites of skin in all the 11 germfree rabbits tested (Table 3).

Before and after injections of endotoxin, blood was taken by cardiopuncture from each animal for various examinations such as leucocyte and platelet counting and determination of fibrinogen, haemolytic complement and various kinds of natural antibodies. From among these examinations, the content of natural antibodies was the most different point between the two groups of rabbits. In conventional rabbits there were always natural antibodies such as anti-endotoxin, anti-sheep red blood cells and bactericidal antibody for *E. coli*, while none of them was

detected in germfree rabbits. In addition, using a goat anti-rabbit serum we performed an immuno-electrophoresis with sera of both groups. Then, no precipitation line corresponding to gamma globulin appeared in the case of sera of germ-free rabbits, that is the germfree rabbits were found to be agamma- or hypogammaglobulinaemic. These facts suggested that the germ-free rabbits utilized here had not been sensitized to bacterial endotoxins.

From the results obtained, therefore, it may be concluded that a state of hypersensitivity to endotoxin is not indispensable to the production of local Shwartzman phenomenon. In other words, immunological factors may be excluded from the mechanism to induce the phenomenon. This phenomenon seems to be a manifestation of the proper effects of the endotoxin.

In germ-free breeding of rabbits, we have experienced much trouble, the details of which I have omitted. On the other hand, it is relatively easy to breed germ-free mice, with which we have made some experiments. At present, however, we are much interested in the nude mouse. This mutation mouse lacks thymus; therefore, it is a very interesting animal for immunological experiments.

In this connection, I think I had better refer somewhat to immunocompetent cells or lymphocytes. As you know well, there are two types of lymphocytes, T and B (Table 4). They are different in derivation and roles played in immunity. T lymphocytes are derived from thymus, forming the most part of circulating lymphocytes, and distributed to definite areas of spleen and lymph nodes, that is, thymus dependent areas as demonstrated by Prof. Parrott *et al.* (1966). T cells are responsible for cell-mediated immune

TABLE 2: *Breeding of Germfree Rabbits*

No. of Mother Rabbit	Neonatal Rabbits		Germ-free Rabbits		Subsequent Legend
	Delivered Number	Average Weight in g	Number	Age in Days	
2	7	53	7	29	Infection by contact with another litter infected Infection caused by breakage of the gauntlet. Died. Caecal distension. Infection due to Incomplete sterilization of the diet.
4	7	30	7	28	
13	7	35	4	35	
14	7	41	5	35	
5	8	40	8	100	Supplied for the experiment. Died. Supplied for the experiment. Died. Supplied for the experiment.
16	8	49	3	70	
17	8	52	2	100	
			3	84	
			5	130	

TABLE 3: Local Shwartzman Reaction with *E. coli*-endotoxin in Germ-free Rabbits.

Rabbit No.	Age in days	Weight in kg	Provocative dose of endotoxin in μ g	Skin-preparing doses of endotoxin in μ g						
				200	100	50	25	12.5	6	
GF-1 ...	102	1.5	1,000	+++	+++					
GF-2 ...	102	1.4	1,000	+++	++					
GF-3 ...	102	1.3	500	++	+					
GF-4 ...	102	1.2	200	+						
GF-5 ...	115	1.06	500		+++	++	++			
GF-6 ...	115	1.10	500		+++	—	+			
GF-7 ...	135	1.11	1,000		+++	++				
GF-8 ...	135	0.94	1,000		+++	—				
GF-9 ...	135	1.36	1,000		+++	+++				
GF-10 ...	135	1.14	1,000		+++	+++				
GF-11 ...	130	1.45	500		+++	+++	++	++	+	

Degree of haemorrhagic necrosis: +++, of diameter more than 15mm; ++, of 10-15mm; +, less than 10mm; —, no reaction. *Counted on the day of reading the reaction. **Weighed on the day starting the experiment. (The table of similar results obtained in conventional rabbits was omitted for convenience.)

TABLE 4: T and B Lymphocytes: Difference in Derivation, Role in Immunity, and some Properties.

Lymphocytes	Derivation through Processing by	Role in Immunity	Blast Transformation by PHA	Release of Soluble Mediators
T	Thymus	Cellular Immunity & Regulator for B-Cells	+	++
B	Bursa-Equivalent	Humoral Immunity	—	—(+)

PHA = Phytohaemagglutinin

TABLE 5: T and B Lymphocytes: Difference in Antigens and Receptors on the Surface of Cellmembrane.

Lymphocytes	Immunofluorescent Staining for		Rosette Formation with		
	Ig-Light Chain	Θ -Ag (Mouse)	Sheep RBC (Human)	C'3-Coated RBC	Fc-Coated RBC
T	—	++	++	—	—(+)
B	++	—	—	++	++

RBC = Red Blood Cells

TABLE 6: Anti-Carcinoma effect of Killed *Corynebacteria* in Nude Mice (i.p. Dose of Ehrlich Carcinoma Cells: 10^5)

BALB/c MICE GENOTYPE NUMBER	DOSES OF CORYNEBACTERIA INOCULATED	DAYS AFTER INOCULATION OF EHRlich CELLS							
		10	15	20	25	30	35	40	50
nu/nu	10	100	80	10	0	0	0	0	0
	10	100	100	80	60	60	50	50	50
t-TEST OF RATE DIFFERENCE P			1.49	3.15	2.93	2.93	2.58	2.58	2.58
			>0.05	<0.01	>0.01	>0.01	<0.01	<0.01	<0.010
nu/+	10	100	40	20	0	0	0	0	0
	8	100	100	100	100	100	87.5	75	75
t-TEST OF RATE DIFFERENCE P			2.78	3(22)	4.40	4.40	3.91	3.48	3.48
			<0.01	<0.01	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

responses like delayed type hypersensitivity and transplantation immunity.

B lymphocytes are derived from the Fabricius bursa in birds and from bursa-equivalent apparatus in mammals. They are to produce antibody globulins, differentiating or maturing into plasma cells. In this case, the co-operation by T cells is needed for B cells to produce antibodies against certain antigens, e.g. heterogeneous red blood cells. T and B cells can be distinguished by testing the special antigens or receptors present on the surface of cell membrane (Table 5).

Now, I would like to return to the hairless or nude mouse. Issacson and his colleagues in 1962 recognized its appearance. Franagan in 1966 elucidated that the hairless character was a recessive one, controlled by "nude" or "nu" gene. This mutation mouse showed retarded growth, short life of 3 to 5 months and decreased fertility. The most remarkable character of this mouse is its lacking in thymus, as was discovered by Pantelouris in 1966. As a consequence, the number of circulating lymphocytes in this mouse is remarkably less than that in the normal one, and the thymus dependent areas of spleen and lymph nodes are deprived of lymphocytes (De Sousa, Parrott and Pantelouris, 1969). Short life is caused by the sensitiveness to infection on account of immunodeficiency due to T cell deprivation. Accordingly, when reared in special pathogen free or germ-free conditions, the nude mouse can live long and breed (Rygaard and Fritis, 1969).

The nude mouse was imported to Japan in 1972. In our Laboratory, we have been breeding nude mice of BALB/c strain since 1974. The mode of our breeding procedure is as follows: Crossing is made between a congenitally nude male and a phenotypically normal female. 20-21 days after, delivery occurs. New-born infants count usually 7-8. The ratio of nude to normal is 3 to 5 approximately. At the age of 10 days, one can distinguish nude from normal. At 4 weeks nude mice are separated from normal ones.

As the nude mouse is lacking in thymus, and so in T cells, it can receive any tissue transplantation such as xenograft as well as allograft. Thus, a nude mouse which had received a subcutaneous transplant of HeLa cells produced a large tumour at the inoculated site in 3 months. Like this, we can transplant to nude mice various kinds of tumour cells, in order to investigate anti-

tumour substances as well as therapeutic methods.

In this way, we also have made a small study on the anti-carcinoma effect of killed anaerobic *Corynebacteria* (Katahira *et al.* 1977) Its efficacy was already recognized by Halpern *et al.* 1966 and by some others (Woodruff *et al.* and it was assumed that T cells would have nothing to do with this efficacy (Woodruff *et al.*, 1973). In order to reconfirm this point, we performed the following experiment.

We used two groups of athymic nude mice and their phenotypically normal litter-mates. Each mouse was inoculated with 10^5 Ehrlich Carcinoma cells into peritoneum. Before or after it, half the mice of each group received each 2 or 4 intraperitoneal injections of killed *corynebacteria*. Then, the survival rate was observed in each Group of 10 mice.

As you can see it in the Table 6, an anti-carcinoma effect of *corynebacteria* was confirmed in the nude mouse group as well as in the normal one. The effect was more evident with 4 injections of bacteria than with 2 injections. From these results, it may be concluded that T cells are not needed for this effect.

However, as you see in the table, a better effect was shown in the normal mouse group than in the nude mouse group. This fact will suggest that T cells also appear to contribute in some way to the effect. This point remains to be investigated.

Now, to close my discussion, I'd like to inform you another interesting topic concerning the nude mouse. Recently, it was reported that at Osaka University in Japan, some investigator had succeeded in an attempt to establish an infection and proliferation of *Lepra* bacilli in nude mice. I think this fact is very suggestive of further extension. So, if you want to study any infectious disease, such as Leprosy, which has no known susceptible host except human beings, then the nude mouse would be worthy of your trial.

References

- Halpern, B. Biozzi, G., Stiffel, C. & Mouton, D. (1966): Inhibition of tumor growth by administration of killed *Corynebacterium parvum*. *Nature*, 212, 853.
- Halpern, B. N. (Ed.) (1975): *Corynebacterium parvum*. Applications in Experimental and Clinical Oncology, Plenum Press, New York and London.
- Huziwaru, T., Ito, M., Yonemura, M. & Hyodo,

S. (1975): Etude du phenomene de Shwartzman local chez le lapin axenique, *C. R. Soc. Biol.* 169, 473.

Katahira, S., Kitamura, H., Ito, M. & Huziware, T. (1977): Effect anti-carcinomeux de *Corynebacterium acnes* tue, mis en evidence chez la souris nue athymique. *C. R. Soc. Biol.* (not published).

Woodruff, M. F. A. & Boak, J. L. (1966): Inhibitory effect of injection of *Corynebacterium parvum* on the growth of tumour transplants in isogenic hosts. *Brit. J. Cancer*, 20, 345.

Woodruff, M. F. A., Dunbar, N. & Ghaffar, A. (1973): The growth of tumours in T-cell deprived mice and their response to treatment with *Corynebacterium parvum*. *Proc. R. Soc. B.* 184, 97.

[1-37]

ORIGINAL ARTICLES:**1. APPLICATION OF SCANNING ELECTRON MICROSCOPE IN OBSERVATION OF RED BLOOD CELLS IN HAEMOGLOBINOPATHIES**

By

J. A. A. Mingle

E.M. Unit, Dept. of Microbiology,

S. Furukawa* and S. Sekimoto*

*Dept. of Chemical Pathology, University of Ghana Medical School, Accra.***Introduction**

Sickle cell disease which is an inherited disease affecting predominately people of the Negro race has gained much attention among researchers especially in tropical Africa and United States of America where the highest concentration of carriers live. (Addae 1975; Barreras and Diggs 1964; Bentsi-Enchill and Konotey-Ahulu 1969; Djabanor 1974 and Konotey-Ahulu 1974). Extensive work has been performed on the morphological characteristic of red blood cells (rbc) in this type of hemoglobinopathy using the light microscope (Herrick 1910; Bertles and Milner 1968; Bertles and Dobler 1969). These morphologic studies have revealed the typical crescent shape of the rbc. affected. Because of the limitations of the light microscope the cells are presented in two-dimensional forms only.

The recent introduction of the scanning-electron microscope (SEM) with its great depth of focus and high resolution power and the fact that images are presented in three dimensional forms have enabled researchers to study gross morphological characteristics of many biological specimens.

Up to the present and to our knowledge very few SEM micrographs have been published on rbc. in different hemoglobinopathies especially in tropical Africa. (Jensen 1969; Konotey-Ahulu 1975; Lessin *et al.* 1972; Salsbury and Clarke 1967) This present communication represents SEM micrographs of cells in various forms of sickle cell disease in the steady state as well as in crisis and also of blood from an adult patient with the homozygous F phenotype. The implications of certain forms of the cells observed are discussed.

Materials and Methods

Venous blood specimens were taken from the following patients attending the Sickle-Cell Clinic at the Korle Bu Teaching Hospital, Accra. The types of hemoglobinopathies had been previously diagnosed by electrophoresis. The different hemoglobin (Hb) patterns examined were as follows:—

	Age	Sex
1. Normal Hemoglobin type AA	37 years	Male
2. Hemoglobin type SC	6½	" "
3. Hemoglobin type SS	8	Female
4. Hemoglobin type SS	10	Male
5. Hemoglobin type SS in crisis	9	" "
6. Hemoglobin type S—thalassemia	2½	" "
7. Hemoglobin type FF	46	" "

The blood samples were taken with heparinised syringes and needles and either transferred immediately from the syringe into 1% glutaraldehyde solution (GA) in 0.1M Phosphate buffer (pH 7.4) or into heparinised tubes for subsequent fixation.

In some cases, the blood sample in the heparinised tube was split into two aliquot portions. One of these was fixed immediately using 1% G.A. which was kept at 4°C overnight. 2% sodium metabisulphite solution was added to the other aliquot and this was left to react for 1 hour at room temperature. The mixture was then centrifuged and the rbc. were fixed in G.A.

The fixed rbc. in all cases were washed with the phosphate buffer. Dehydration of the specimens was done with graded concentrations of ethyl alcohol (30%, 50%, 70%.

*Present Address: Department of Obstetrics and Gynaecology, Fukushima Medical College, Fukushima (960), Japan.

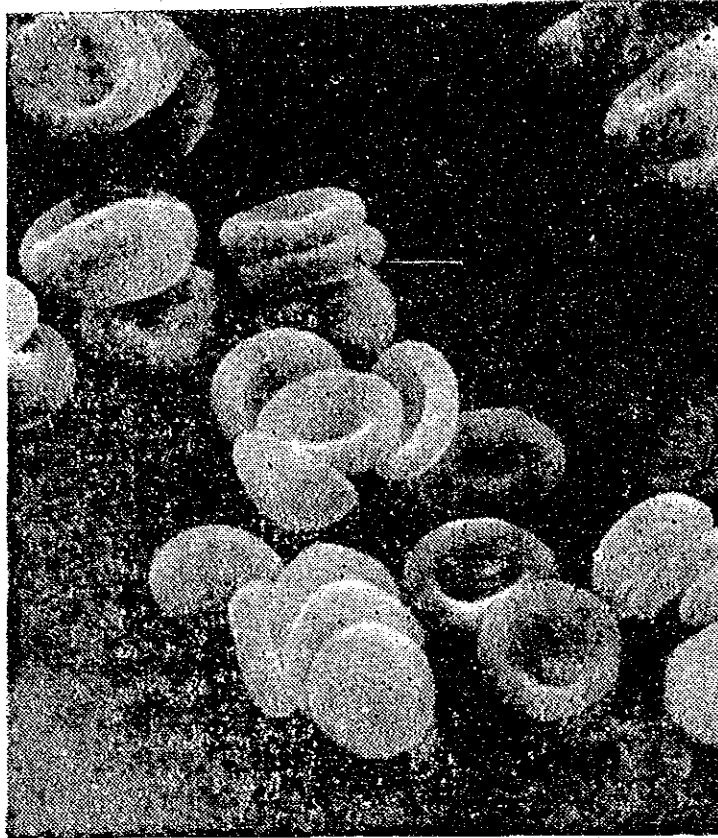


FIG. 1. Electron micrograph of normal red blood cell, (Hb. type AA). X 6,600*

80%, 90%, 100%) and suspended finally in amyli acetate.

The specimens were either air-dried in a dessicator, or dried by the critical point drying method, and coated with a thin layer of carbon and gold. The specimens were observed using JEOL Scanning Electron Microscope JMS-15 at an accelerating voltage of 15 KV.

Results

Blood from hemoglobin Type AA: The red blood cells appeared as biconcave discs with smooth surfaces. Occasionally few cells with less pronounced central depressions were seen (Fig. 1). The surfaces of the cells were uniformly smooth even at higher magnification.

Blood from Hemoglobin Type SC: A fair number of the cells have the normal biconcave disc form. A variety of malformed cells were

also seen with some of these losing their central depression and others having ridges across the depressions. A few cells have convoluted surfaces. Some of the cells tend to have spicules or crenations and very few of the typical crescent shaped cells or sickle cells were seen. (Fig. 2).

Hemoglobin types SS: The red blood cells from a SS patient in various stages of ill-health were mostly without the biconcave appearance and there were many elongated cells (Fig. 3). At higher magnification some of the cells were noticed to possess blebs.

Fig. 4 shows the types of cells seen when Hb. type SS cells were deoxygenated using sodium metabisulphite. There were a great variety of changes in shape. The cells became longer and narrower and the central depression was eliminated in most cases. At higher magnification the central depression

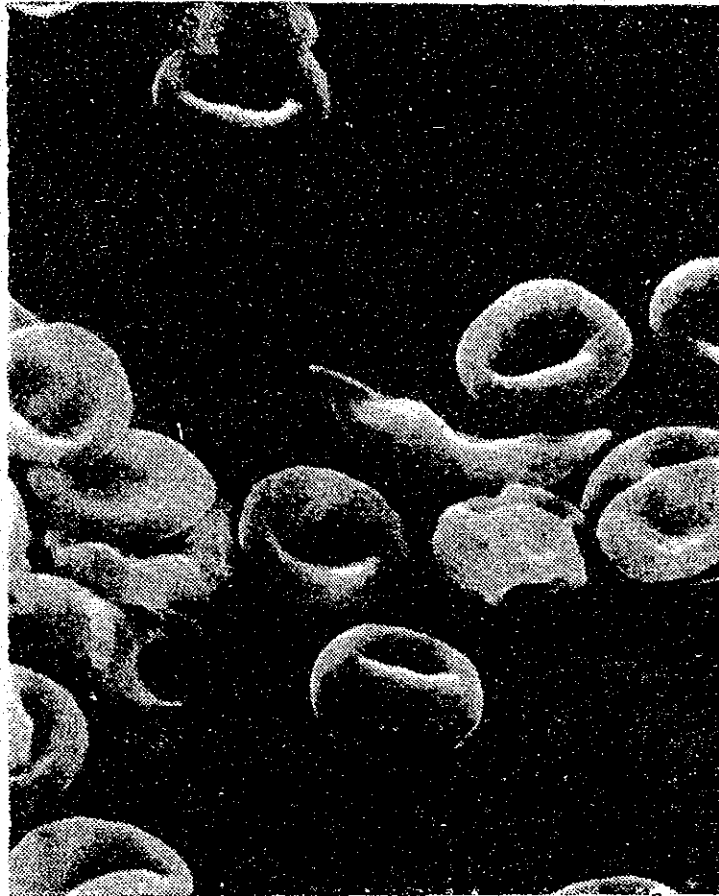


FIG. 2. Electron micrograph of red blood cells from Hb. types SC. A variety of malformations are seen. X 6,600.

was seen to have elongated correspondingly.

Blood cells from a 9 year old male with Hb. types SS in crisis are also shown in Fig. 5. Biconcave cells were seen which showed a less pronounced central depression which tended to be eccentrically placed. There were a few crenated cells as well as typical sickle cells or mini-cigar shaped cells.

Hemoglobin type S thalassaemia: A few cells in this case possessed a central ridge which extended across the central depression and this was not in continuity with the outer rim of the cell. Crenated and elliptocytes as well as target cells were also seen (Fig. 6).

Hemoglobin type FF: In this type of hemoglobin phenotype which is very rare, almost all the cells seem to have lost their biconcave shape. Some of the cells looked like sperma-

tozoa (head and tail) or tad-poles and a few others like the violin. The central depression of some of the cells were almost lost and in one cell two "psuedo-depressions" were noticed (fig. 7). Another cell assumed the shape of a pear (Fig. 8).

Comparison of method of drying on morphology of the cells:

From our observations, there were differences between specimens dried by the critical point drying method and natural drying in air. Fig. 9; (a, b, c) shows cells from Hb SS patient treated or untreated with sodium metabisulphite. In (a) and (b), which were air dried, the cells appeared smooth whereas the surfaces of cells in preparations dried by the critical point drying method (c) appeared

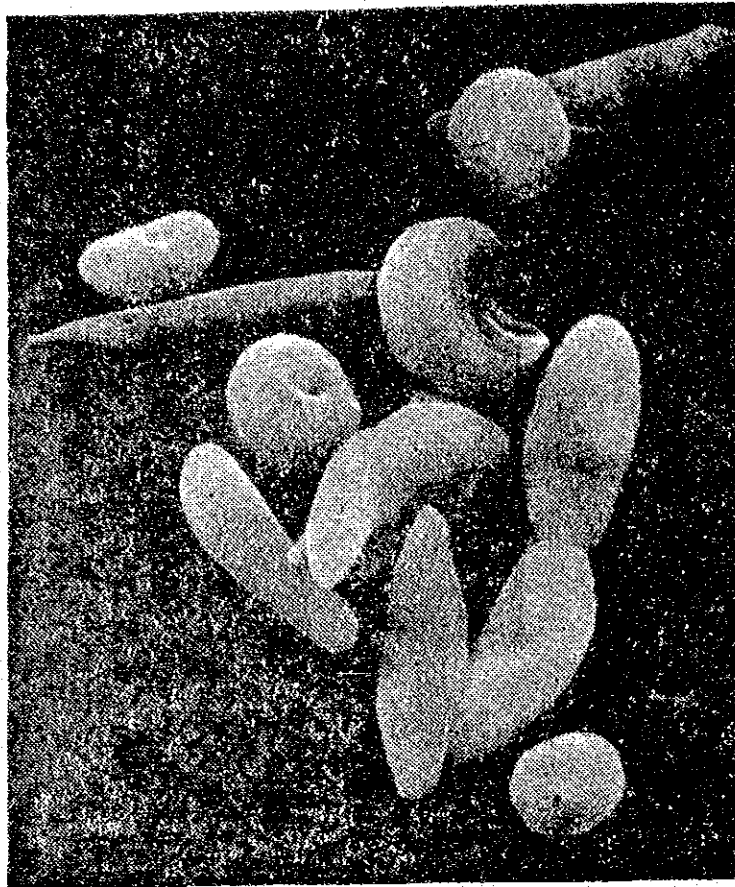


FIG. 3. Electron micrograph of red blood cells from Hb. type SS in steady state. This specimen contains too many sickled cells, which is unusual for a steady state. X6,600.

coarse or rough. Similarly cells from a patient in crisis showed the same differences in the surface appearance when these were dried differently (Fig. 10; a, b, c.).

Discussion

The present communication represents SEM micrographs obtained using rbc's. in different types of hemoglobinopathies. The appearances of rbc's. described in this paper agree well with published micrographs obtained with the light microscope. As already mentioned, there were differences between specimens dried by the critical point drying method and air dried preparations. Cells from air dried preparations, have smooth surfaces whilst those dried by the critical point dryer have rough surfaces.

It has been observed earlier on by many workers (Bertles and Dobler, 1969; Jensen, 1969; Muruyama, 1966) using the transmission electron microscope that sickling involves conformation of the erythrocyte membranes of rigid bundles of filaments of deoxygenated Hb. S. We are therefore inclined to state that the critical point drying preparations which showed coarse surface appearance may represent the filament formation observed by these earlier workers.

Comparison of the micrographs obtained with hemoglobin type SS, and type SS in crisis revealed different cells types. Some of the cells in the steady state have the mini-cigar shape or the typical crescent form of sickled cells. A few of this cell shape can be seen in the crisis state. Cells with crenations were also

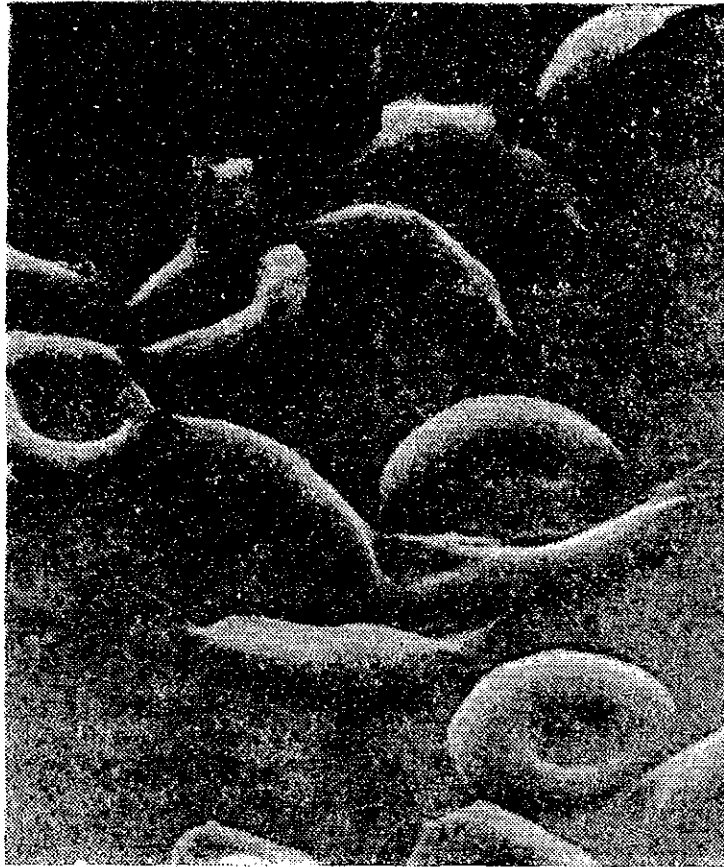


FIG. 4. Electron micrograph of red blood cells from Hb. type SS after deoxygenation with sodium metabisulphite. X6,600.

seen in the crisis state. The deoxygenated cells were mostly of the elongated type with spicules and crenations. The crenated cells were therefore common to the crisis and the deoxygenated states. Since the type of cells seen in the deoxygenated specimen can be reverted to their original steady state forms, by reoxygenation, namely biconcave shape, we are tempted to comment that the crenated cells represent the reversible sickling cell and the mini-cigar or crescent shape, the irreversible sickling cell. This point reinforces an earlier observation made by Bertles and Dobler (1969) using the light microscope that oxygenated non-irreversible cells resembled normal erythrocytes and when deoxygenated, they developed sharp projection or acquired an appearance of exaggerated crenations. We also observed similar morphological changes

when we examined wet and stained preparations under the light microscope.

The micrographs of cells from hemoglobin type FF are unique since this phenotype is rare (Ringelmann *et al.*, 1970). One may wonder whether some of the cell types described here do represent artefacts. The answer to this question is that since the same method was used for the other hemoglobinopathies and the micrographs obtained compared favourably with accepted light microscopic descriptions the cells in the FF hemoglobinopathy represent true images of the real thing.

The potential of the SEM in producing micrographs which convey a sense of reality normally lacking in micrographs made by other means cannot be over emphasized. The application of this instrument in studies

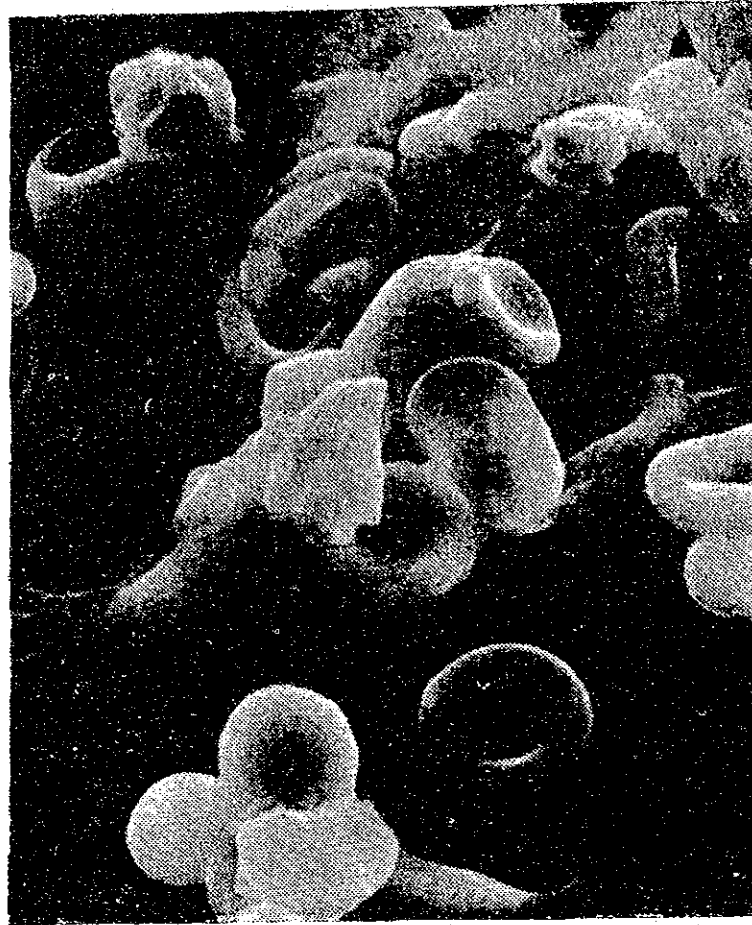


FIG. 5. *Electron micrograph of red blood cells from Hb. SS in crisis (?haemolytic). Note the crenated edges which are well defined. X6,600.*



FIG. 6. *Electron micrograph of red blood cells from Hb. type S-thalassaemia. X6,600*

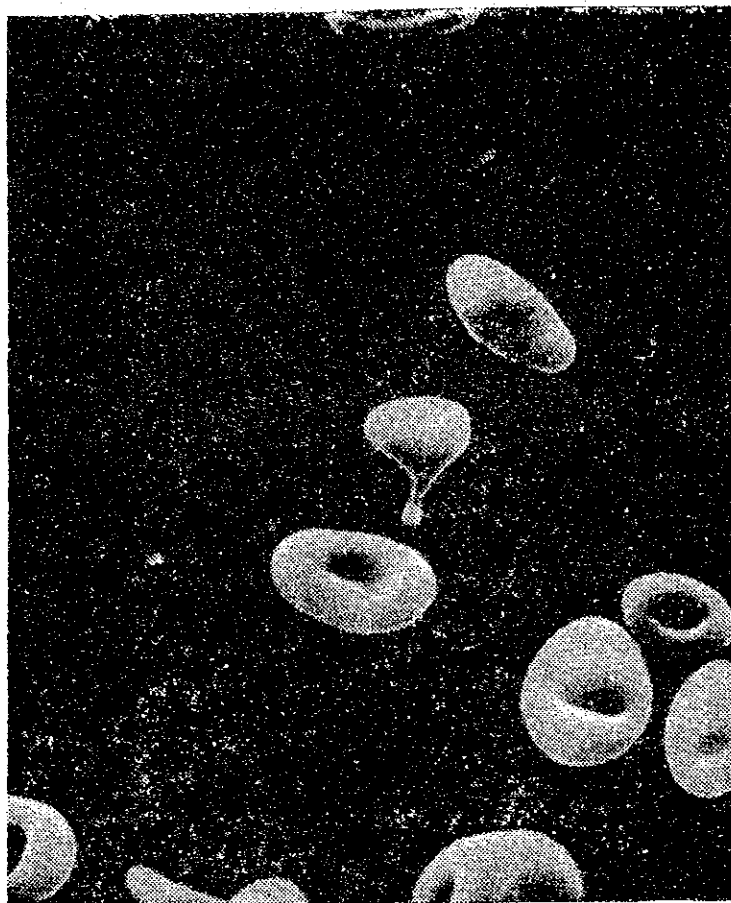


FIG. 7. *Electron micrograph of red blood cells from Hb. type FF. Note the two "pseudo-depressions" in one of the cells. X6,600*

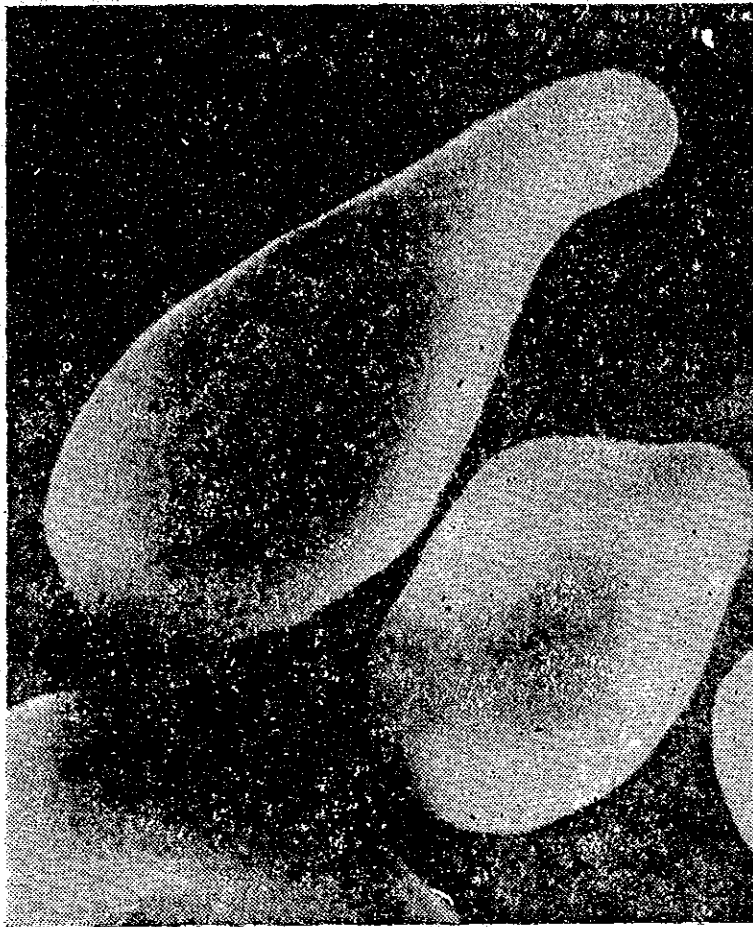


FIG. 8. Electron micrograph of red blood cells from Hb. type FF. Note the pear-shape appearance of one of the cells. X20,200

of surface morphologic changes of tissues and organs which may reflect modification in cell function can help elucidate further some of the mystery of certain diseases which seem to be unique in our tropical environment.

Summary

A method of examining red blood cells from patients with different haemoglobin patterns using the scanning electron microscope (SEM) is described. The implications of certain forms of the cells observed and the potentialities of the SEM in studying surface morphology are discussed.

Acknowledgements

This work was supported by grants from the Japanese International Co-operation Agency, Tokyo Japan and the University of Ghana Medical School, Accra, Ghana. The authors wish to thank the Clinicians at Korle Bu Teaching Hospital whose patients were used in this study. We thank Dr. F. I. D. Konotey Ahulu of the Ghana Institute of Clinical Genetics, Korle Bu, Accra for the blood from a man with FF haemoglobin phenotype and for his kind suggestions during the preparation of the manuscript. Finally our thanks go to Mr. Y. Saito (Japanese technical assistant, Mr. A. K. Ayim and Mr. P. Gyaateng (E.M. Unit, Department of Microbiology) for their technical assistance which is very much appreciated.

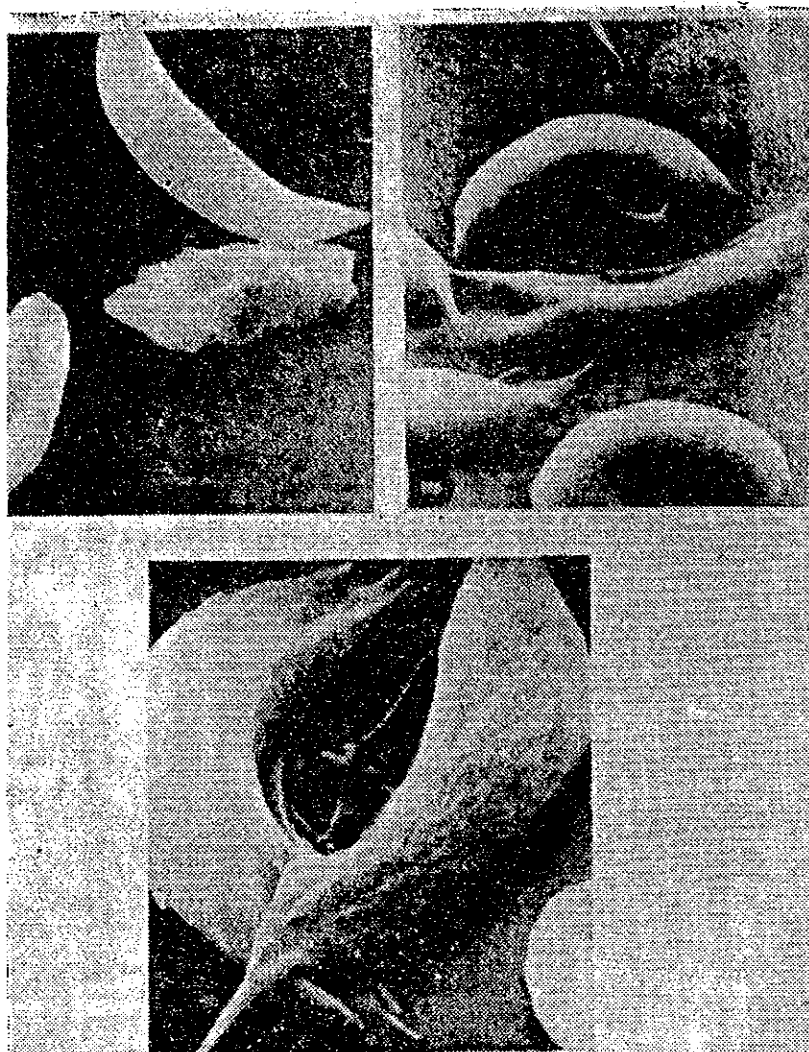


FIG. 9. Electron micrographs of red blood cells from Hb. SS patient. (a) Specimen was dried by the natural drying method (b) Sodium metabisulphite treated specimen dried by the natural drying method (c) Sodium metabisulphite treated specimen dried by the critical point drying procedure. Note the smooth surfaces of the cells in 'a' and 'b' and the rough surface appearance of the cells in 'c'.

References

- Addae, S. K. (1955). The kidney in sickle cell disease. Ghana University Press, Accra.
- Barreras, L., and Diggs, L. W. (1964). Bicarbonates, pH and percentage of sickle cells in venous blood of patients in sickle-cell crisis. *Amer. J. Med. Sci.*, 247: 710-718.
- Bentsi-Echill, K. K. and Konotey-Ahulu, F. I. D. (1969). Thirteen children from twelve pregnancies in sickle cell thalassaemia. *Brit. Med. J.*, 3: 762.
- Bertles, J. F. and Dobler, J. (1969). Reversible and Irreversible Sickling. A distinction by electron microscope. *Blood* 33: 884-878.
- Bertles, J. F. and Milner, P. F. A. (1968). Irreversible sickle erythrocytes: a consequence of heterogenous distribution of hemoglobin types in sickle cell anaemia. *J. Clin. Invest.*, 47: 1731.
- Djabanor, F. F. T. (1974). Sickle cell disease in Ghanaian children. Clinical features and principles of management. *Paediatrician*, 3: 13-30.
- Herrick, J. B. (1960). Peculiar elongated and sickle shaped red blood corpuscles in a case of severe anaemia. *Arch. Intern. Med.*, 6: 517-521.
- Jensen, W. N. (1969). Editorial: Fragmentation and Freakish Poikilocytes. *Amer. J. Med. Sci.*, 257: 355-364.

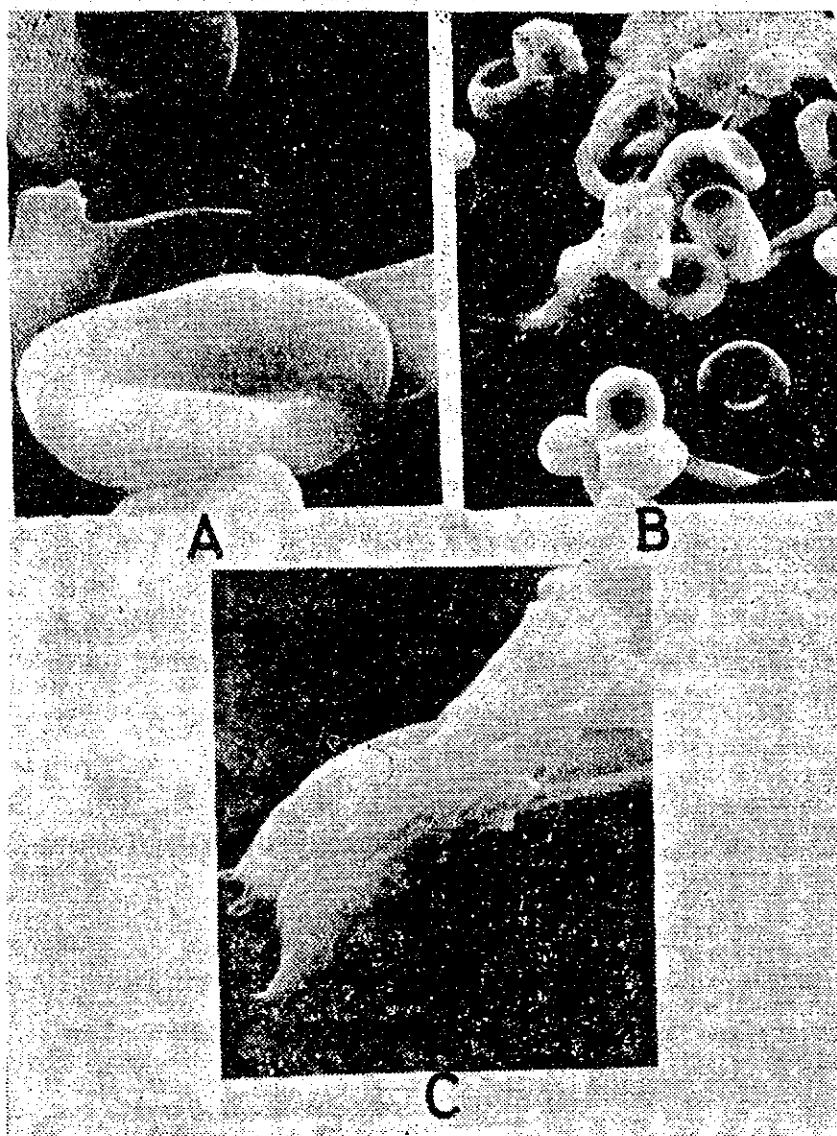


FIG. 10. Electron micrographs of red blood cells from Hb. SS patient in crisis. (a) and 'b' were air dried preparations and 'c' critical point dried preparation.

Konotey-Ahulu, F. I. D. (1972). Definition of sickle cell trait and sickle cell disease. *Ghana Med. J.*, 11: 417-422.
 (1974). Effect of environment on the course of sickle cell disease. In symposium of Ghana Working Group on the environment— 2nd Technical Meeting, June, 1974. (Inst. of Aquatic Biology), p. 67.
 (1975). Management of the sickle cell disease patient including emergency treatment of sickle cell crisis. *Ghana Med. J.*, 14: 347-366.
 Lessin, L. S., Jensen, W. N. and Klug, P. (1972) Ultrastructure of normal and haemoglobinopathic

red blood cell membrane. *Arch. Intern. Med.*, 129: 306-319.

Muruyama, M. (1966). Molecular mechanism of red cell "sickling". *Science*, 153: p.145.

Ringelmann, B., Konotey-Ahulu, F. I. D., Lehmann, H. and Lorkin, P. A. (1970). A Ghanaian Adult, Homozygous for hereditary persistence of foetal haemoglobin and heterozygous for elliptocytosis. *Acta Haemat.*, 43: 100-110.

Salsbury, A. J. and Clarke, J. A. (1967). New method for detecting changes in the surface appearance of human red blood cells. *J. Clin. Path.*, 20: 603-610.