

# Photoelectric Sensing Device for Recording Mosquito Host-Seeking Behavior in the Laboratory

HITOSHI KAWADA AND MASAHIRO TAKAGI

Department of Vector Ecology and Environment, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Nagasaki 852-8523, Japan

J. Med. Entomol. 41(5): 873-881 (2004)

**ABSTRACT** A new automatic device for recording the host-seeking behavior of mosquitoes was designed using photoelectric sensors. The host-seeking rhythms of several species of mosquitoes were recorded under laboratory conditions. Use of CO<sub>2</sub>, in addition to heating and black color to activate mosquito flight, proved to be important for evaluation of the present recording device. The diel rhythms of nonblood-fed *Aedes albopictus* (Skuse), *Aedes aegypti* (L.), *Culex quinquefasciatus* Say, *Culex tritaeniorhynchus* Giles and *Anopheles stephensi* Liston females recorded by the device corresponded well with known flight and activity rhythms in field for the same mosquito species. This simple automatic recording device provided accurate information on the flight behaviors of colonized and field collected mosquitoes.

**KEY WORDS** *Anopheles*, *Aedes*, *Culex*, host-seeking, photoelectric sensor

ACCURATE KNOWLEDGE OF THE host-seeking flight behavior of mosquitoes is important for controlling and regulating mosquito bites. Many previous studies of mosquito host-seeking behavior have involved field tests relying on landing collections at human or animal baits, or baited traps. The field collection of mosquitoes is one of the most reliable ways of studying mosquito flight behavior. Field studies, however, are labor-intensive, expensive, time-consuming, and sometimes place human volunteers at risk of disease transmission. Certain aspects of mosquito flight behavior can be studied in the laboratory, and those results can be extrapolated to the field to help design more efficient and safe field experiments.

Extensive laboratory studies on mosquito behavior have been reported previously. These studies can be classified into several categories, including: flight behavior (Taylor and Jones 1969, Chiba et al. 1981, Jones 1981), sugar-feeding behavior (Bowen 1992, Yee and Foster 1992), and biting or host-seeking behavior (Ho et al. 1973, Klownen and Lea 1984, Yee and Foster 1992, Takken et al. 2001).

Many laboratory and field studies on mosquito attractants such as heat, color, light, and chemical substances have been reported. Several key factors, including carbon dioxide, 1-octen-3-ol, L-lactic acid, heat ( $\approx 35^{\circ}\text{C}$ ), and black or dark color have been found to be essential for attracting mosquitoes (Takken and Kline 1989, Kline et al. 1991). These observations resulted in the development of a variety of laboratory olfactometers designed to evaluate mosquito flight behavior (Gouck and Schreck 1965, Posey

et al. 1998, Takken et al. 2001) and a variety of mosquito traps (Parker et al. 1986, Burkett et al. 1998, Kline 2002) to evaluate mosquito flight behavior in the field. In addition, recording devices were designed to automatically record the flight activity and sugar-feeding behavior of mosquitoes in the laboratory (Chiba et al. 1981, Yee and Foster 1992). Many laboratory studies of mosquito host-seeking behavior, however, have relied on visual or videorecording observations of mosquito flight behavior. The host-seeking and blood-feeding behaviors of mosquitoes in nature are known to be extremely complex. Host-seeking behavior is affected by environmental conditions, mosquito physiological conditions, and host-produced cues. Blood feeding is affected by host physiology and environmental conditions. Simple recording of mosquito flight behavior, therefore, underrepresents the true complexity of mosquito behavior. The introduction of variables such as host cues into flight experiments are needed for a more comprehensive study of mosquito host-seeking behavior. In the current study, we designed an automatic recording device by using photoelectric sensors and report the results of mosquito flight experiments in the laboratory.

## Materials and Methods

**A General Description of the Automatic Recording Device.** The recording device was composed of four photoelectric sensors, an amplifier, a programmable controller unit, a power supply, and monitoring soft-

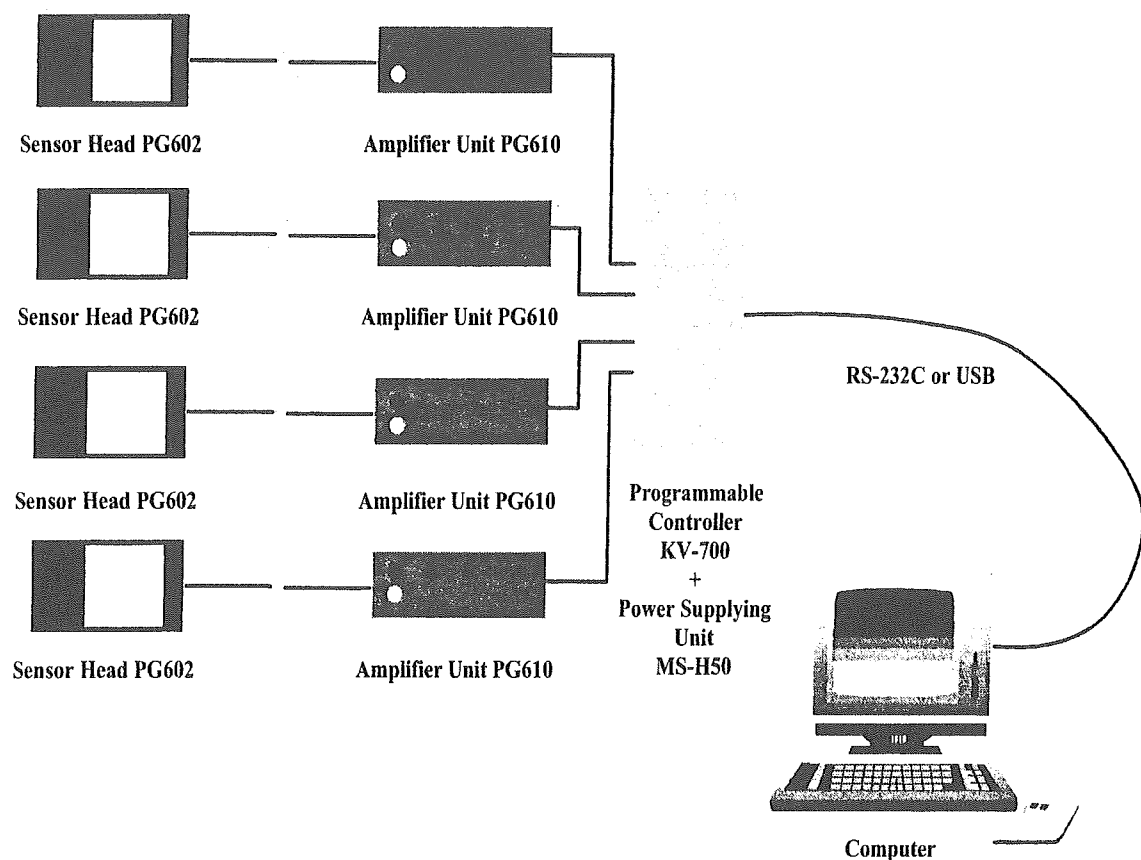


Fig. 1. Schematic view of an automatic recording device to quantify mosquito activity patterns. The device is composed of four photoelectric sensors and amplifiers, a programmable controller unit, a power supplying unit, and monitoring software installed in a computer system. Mosquitoes passing through the sensor windows, composed of an infrared LED with a light-receiving element on both sides, are detected and a signal is transmitted to the computer.

ware (Keyence Corporation, Osaka, Japan) (Fig. 1). The photoelectric sensors had a small sensor head (55 by 30 by 10 mm) with a 21 by 21-mm window. The window was composed of a pair of infrared light emission diode (LED) sensors with light receiving elements on both sides. Small objects (minimum detectable size is 0.5 mm in diameter) passing through the window were detected by the sensors, and a signal was transmitted to the computer through the controller and monitoring software. Nocturnal activity was detected by the same system by using infrared LEDs. The total cost for the recording device was  $\approx$ \$4,000 ( $\approx$ \$500 for a sensor and  $\approx$ \$2,000 for a programmable controller and monitoring software).

A water bath unit for the recording device was made from a white Styrofoam box (23 by 30 by 20 cm, 5 cm in thickness) that contained  $\approx$ 3.5 liter of water (Fig. 2). The temperature of the water was maintained at  $\approx$ 35°C by a heater with thermo-regulator (Powerthermo ET-30, Kotobuki Kogei Co., Ltd., Osaka, Japan). The box was covered with a white plastic panel that contained the four photoelectric sensors, the bottom sides of which were sealed with black plastic

plates. The top surface of the box, except for the sensors, was covered with a white plastic plate that helped maintain the temperature in the box.

The recording device was placed in a cage (80 by 80 cm) with white plastic panels that buffered the mosquitoes inside the cage from the external stimulations, such as airstreams, light, human movement, heat, and carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) (Fig. 3). Carbon dioxide at a flow rate of 500 ml/min was generated by a gas bomb and was released into the cage through a silicone tube, the opening of which was placed  $\approx$ 10 cm above the sensors. The CO<sub>2</sub> release was regulated (2 min on/13 min off) by a solenoid valve (FSD-0408C, Flon Industry Co., Ltd., Tokyo, Japan) controlled by timer. The air inside the cage was ventilated by an electric fan located in the bottom corner of the cage. The concentration of CO<sub>2</sub> inside the cage was measured  $\approx$ 1 cm above the sensors by a CO<sub>2</sub> detector (TECH-JAM Co., Ltd., Osaka, Japan). The light intensity in the laboratory was measured with a photo recorder (T&D Corp., Nagano, Japan) before starting the tests.

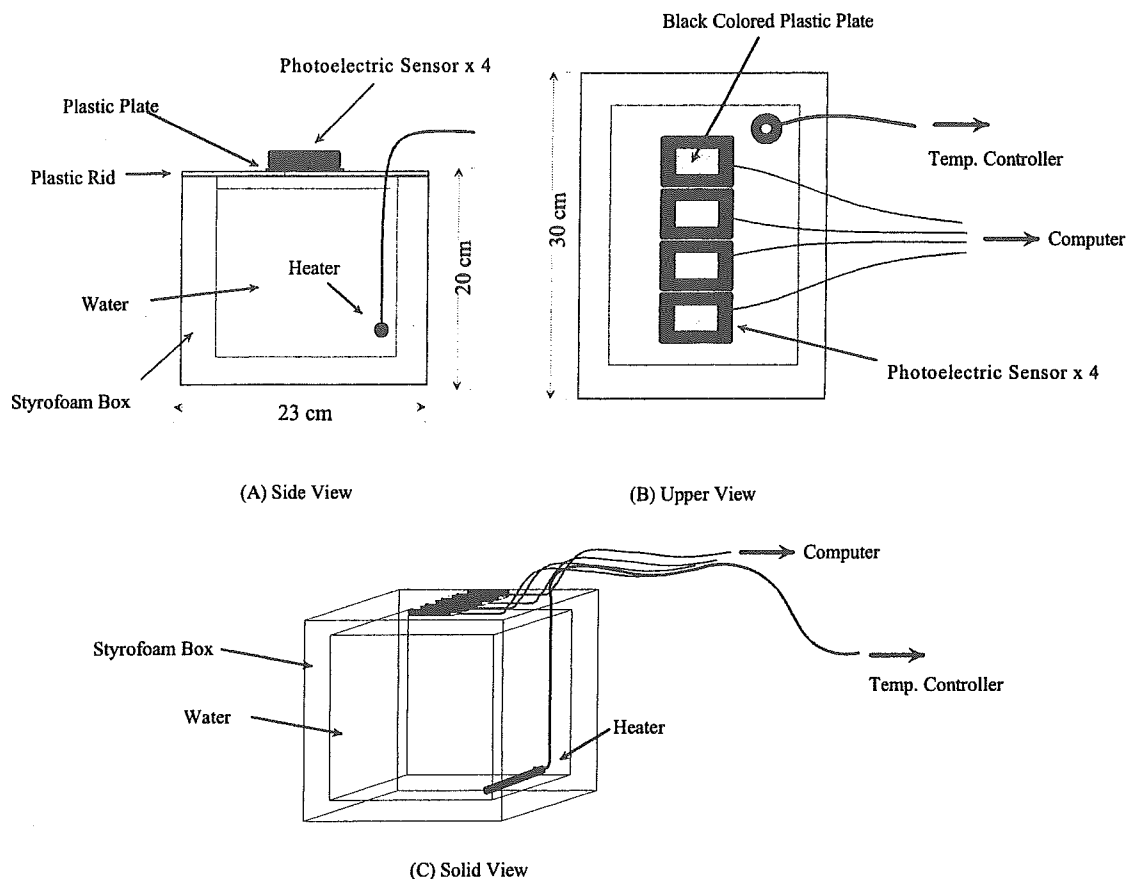


Fig. 2. Schematic view of the water bath unit of the recording device. A Styrofoam box with 3.5 liter of water kept at 35°C by a heater is covered with a white plastic panel containing four photoelectric sensors, the bottoms of which are covered with black plastic plates. The top surface of the Styrofoam box, except for the sensor plates, is covered with another white plastic plate to concentrate the heat onto the black plates.

**Recording Mosquito Flight Patterns in the Presence and Absence of CO<sub>2</sub>.** Colonized *Aedes albopictus* (Skuse), *Aedes aegypti* (L.), *Culex quinquefasciatus* Say, and *Anopheles stephensi* Liston were used for this part of the study. Both *Aedes* species were collected in Singapore during 2000. *Cx. quinquefasciatus* was collected in Vietnam during 2003. *An. stephensi* was collected in India during the 1950s. Mosquitoes were maintained in the laboratory after collection at 27°C, 70% RH, and a photoperiod of 16:8 (L:D) h. Sixty, ≈10-d-old nonblood-fed females were released into the test cage in the morning between 0700 and 1000 hours. The number of mosquitoes landing on the black plastic plate containing the photoelectric sensors was counted and recorded every 60 min for 72 h. Carbon dioxide was not released during the first 24 h of the experiment and was then released for 2 min every 15 min during the last 48 h of the experiment. Mosquitoes were provided a 1% sugar solution throughout the test. The test was carried out in a room maintained under a photoperiod of 16:8 (L:D) h where the first

and last 1 h of the scotophase were in twilight, 25–27°C, and >60% RH regime.

**Recording the Flight Behavior of Field-Collected and Colonized *Culex tritaeniorhynchus* Giles.** Third and fourth instars of *Cx. tritaeniorhynchus* were collected from a rice paddy field in Isahaya, Nagasaki, Japan, on 14 July 2003. Larvae were reared to adults under the laboratory conditions described above. Sixty, ≈7-d-old nonblood-fed female mosquitoes were released into the test cage at 1000 hours. The number of mosquitoes landing on the black plastic plate containing the photoelectric sensors was recorded as described above. The flight behavior of colonized *Cx. tritaeniorhynchus* (collected from Nishiarita, Japan, in 1998) was recorded in the same manner and compared with the flight behavior of the wild-caught females. Sixty, ≈7-d-old nulliparous females and sixty, ≈14-d-old, parous (in their second gonotrophic cycle) colonized females were used for this test. Three replicates were carried out for each recording for both wild and laboratory colonies.

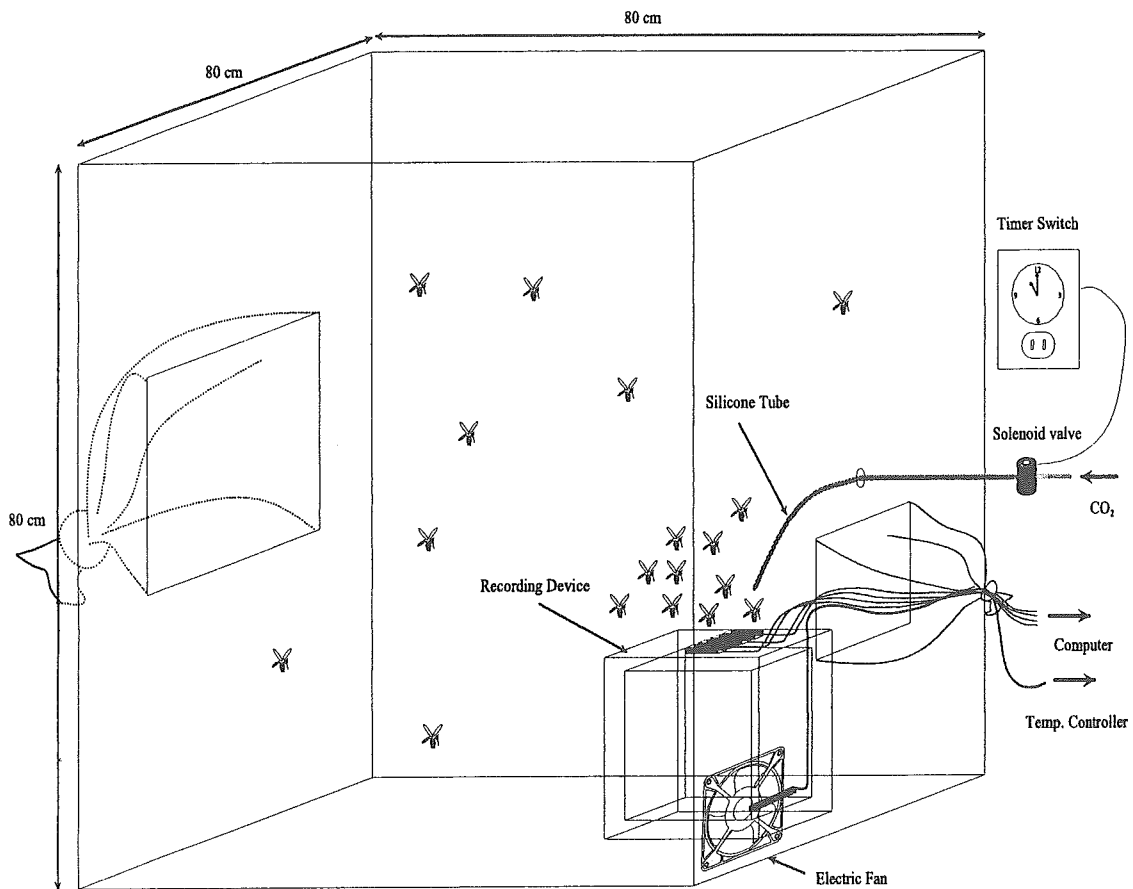


Fig. 3. Schematic view of the mosquito holding cage and recording device. Carbon dioxide was released at the rate of 500 ml/min into the cage through the silicone tube. The release of CO<sub>2</sub> was regulated by solenoid valve controlled by timer. The air inside the cage was ventilated by the electric fan located at the bottom corner of the cage. Mosquitoes inside the cage were provided a 1% sugar solution during the test.

### Results and Discussion

The changes in CO<sub>2</sub> concentration in the air  $\approx 1$  cm above the sensors inside the cage are shown in Fig. 4. The CO<sub>2</sub> concentration rapidly increased to  $>5,000$  ppm (detective limit by the detector) immediately after the release, maintained a high value ( $>5,000$  ppm) for 2–3 min, and recovered to the baseline concentration of  $\approx 2,000$  ppm rapidly after closing the solenoid valve. The CO<sub>2</sub> baseline concentration inside the cage was the balance of the release rate of CO<sub>2</sub> and the ventilation capacity with a fan and was slightly higher than that in the laboratory where the CO<sub>2</sub> baseline was 1,600–1,800 ppm.

Figure 5 shows the changes in the intensity of illumination in the laboratory. Intensity of illumination during the photophase, twilight phase, and the scotophase was  $\approx 490$ , 7, and 0 lux, respectively.

Diel changes in mosquito numbers recorded by photoelectric sensors for several laboratory colonies are shown in Fig. 6. There were significant increases in mosquito activity when CO<sub>2</sub> was intermittently

released for all species examined in the study (two-way analysis of variance [ANOVA],  $P < 0.05$ ). This indicates that CO<sub>2</sub> provided a strong stimulatory effect for all mosquito species tested. Slight amounts of flight activity were recorded for both *Aedes* species (Fig. 6A and B), even when CO<sub>2</sub> was not released, indicating that the presence of heat and color (the black plastic recording disk) may have stimulated flight activity in these normally diurnal species. The diel activity peaks in *Aedes* mosquitoes, however, were not clearly shown in the absence of CO<sub>2</sub>. The stimulating effect of CO<sub>2</sub> was more prominently shown for *Cx. quinquefasciatus* (Fig. 6C) and *An. stephensi* (Fig. 6D) than for the *Aedes* mosquitoes. The difference in the reaction of mosquitoes to CO<sub>2</sub> might be attributable to the difference in the importance of attractant cues, such as heat, color, and CO<sub>2</sub>, to each mosquito species, that is to say, *Aedes* mosquitoes might use heat and visual information as attractant cues more than *Culex* and *Anopheles*. Two peaks of *Ae. albopictus* diel activity were observed, one from 1000 to 1200, and the second

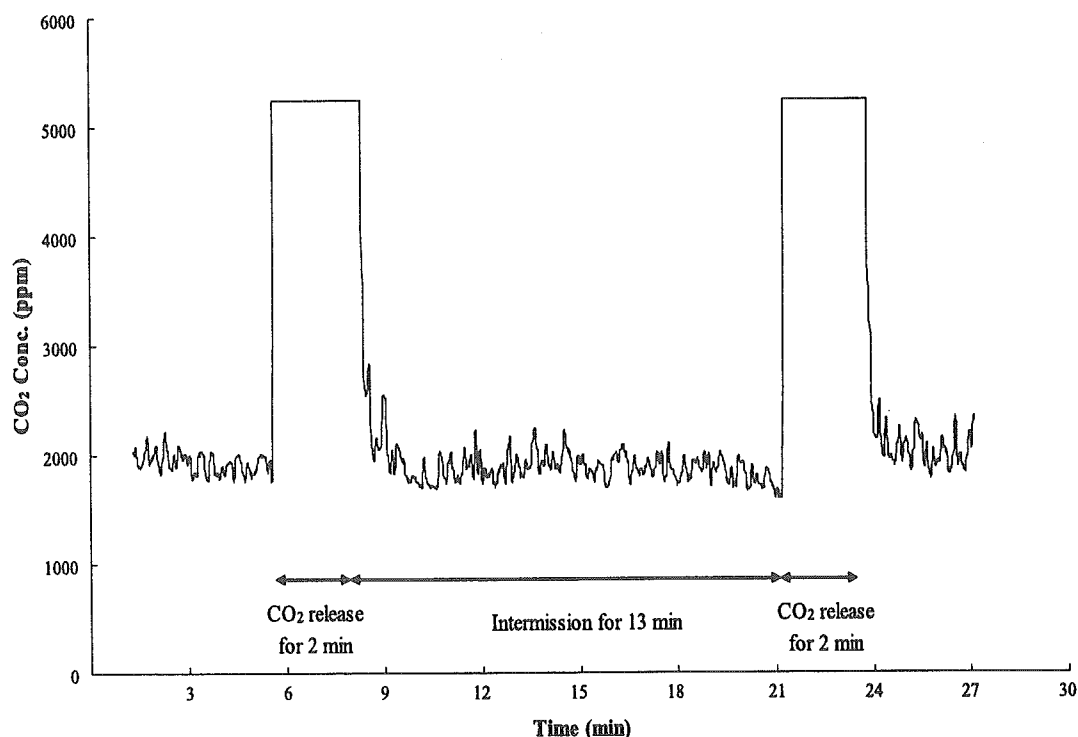


Fig. 4. Changes in the CO<sub>2</sub> concentration inside the test cage. Collection of CO<sub>2</sub> was done from the air  $\approx$ 1 cm above the sensors.

from 1400 to 1600 hours (Fig. 6A). This corresponds to the diel host-seeking rhythms in field and laboratory for the same species in Singapore reported by Ho et al. (1973). Numerous studies have demonstrated that *Ae. albopictus* rarely blood feed at night and usually exhibited a bimodal diurnal host-seeking rhythm (Hawley 1988). Yee and Foster (1992) reported diel sugar-feeding and host-seeking rhythms in *Ae. albopictus* in laboratory. *Ae. albopictus* host-seeking behavior in their study, however, showed a higher activity throughout the night. Similar observations were reported by Higa et al. (2000). No *Ae. albopictus* night time host-seeking activity was observed in the current study.

Three peaks of *Ae. aegypti* flight behaviors were observed at 0600–0700, 1100–1200 and 1500–1700 hours (Fig. 6B). These results correspond well with field observations for the same species in Trinidad (Chadee and Martinez 2000) where it was observed that landings on human bait were trimodal, with consistent peaks at 0700, 1100, and 1700. A similar trimodal activity pattern was observed for *Ae. aegypti* by Atmosejono et al. (1972) in Indonesia and by Corbet and Smith (1974) in Tanzania. Chadee and Martinez (2000) reported an increasing number of *Ae. aegypti* females landing on human hosts during the night in an urban test area, whereas no nocturnal activity was observed in a rural test area. These authors attributed

the above-mentioned difference to the adaptation of insects to electrical lighting in the urban area. Their hypothesis was supported by Taylor and Jones (1969) who reported that both light-on and light-off had phase-setting effects to the flight activity of *Ae. aegypti*, and the total amount of flight activity was correlated with the duration of light in the 24-h period. The above-mentioned theory also might be applicable to the nocturnal activity of *Ae. albopictus*. The night time activity of both *Aedes* species in the current study, however, was very low, suggesting that the dark conditions in our study (Fig. 5) caused no phase-setting or stimulating effects to the insects.

*Culex quinquefasciatus* and *An. stephensi* both showed typical night time activity patterns in our study. A prominent activity peak was observed for *Cx. quinquefasciatus* at  $\approx$ 0100–0500 hours, and no daytime activity was recorded (Fig. 6C). Most field studies reported that *Cx. quinquefasciatus* has a broad nocturnal activity pattern with several minor peaks  $\approx$ 2200–0400 hours (Mahanta et al. 1999, Pipitgool et al. 1998). A similar high and continuous nocturnal activity was observed for *An. stephensi* (Fig. 6D). In contrast to *Cx. quinquefasciatus*, however, multiple nocturnal activity peaks were observed for *An. stephensi*.

Changes in the diel flight activity of field-collected and colonized *Cx. tritaeniorhynchus* are shown in Fig.

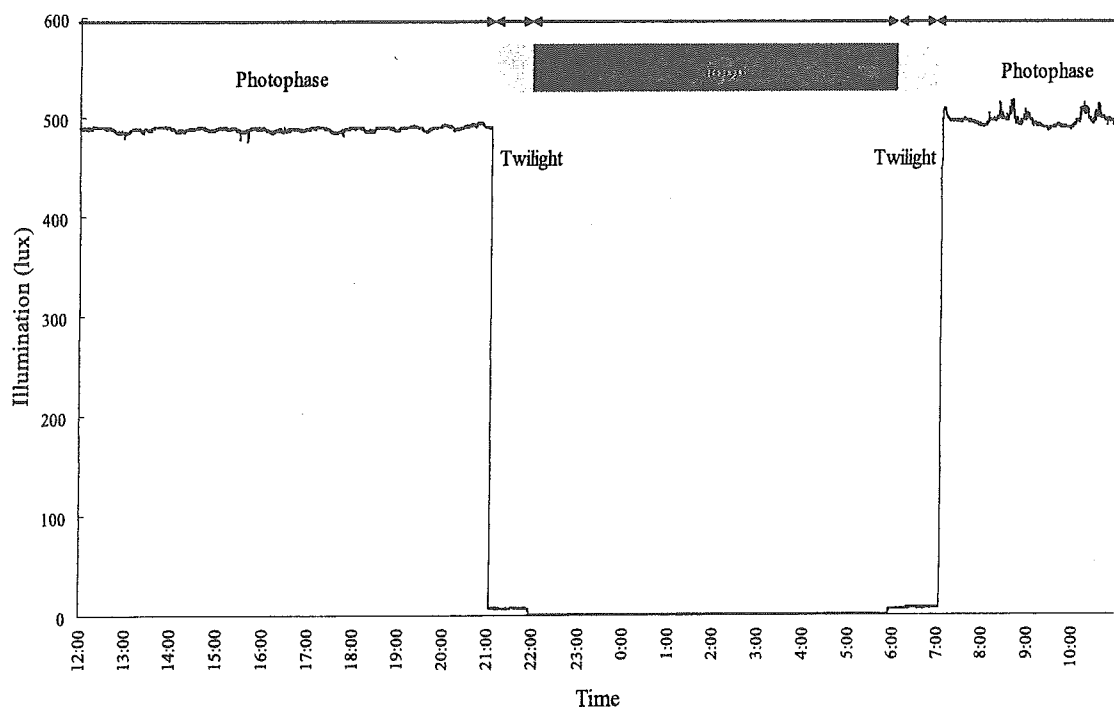


Fig. 5. Changes in the intensity of illumination in the laboratory.

7. A small activity peak at 2200 hours (just after the start of scotophase) and a larger activity peak at 0600–0700 hours (just after start of photophase) were observed in the field-collected mosquitoes (Fig. 7A). The same general bimodal activity pattern was observed for the colonized *Cx. tritaeniorhynchus* females (Fig. 7B and C). The overall activity level, however, was significantly lower for the colonized parous mosquitoes (repeated measures ANOVA,  $df = 1$ ,  $P = 0.0176$ ). A similar bimodal activity pattern has been long recognized for *Cx. tritaeniorhynchus* in the field (Wada 1969, Sonoda 1971). Sonoda (1971) reported that the height of each bimodal peak fluctuated regularly according to the population trend and the parity rate in the evening peak was lower than that in the morning peak, suggesting that the above-mentioned fluctuation related to the age composition of mosquito population. Our results, however, seem to show that *Cx. tritaeniorhynchus* intrinsically has a bimodal host-seeking pattern despite of their age, although the flight activity levels seemed to be different between nulliparous and parous adults.

Heat, dark color, and carbon dioxide have long been demonstrated as effective mosquito attractants (Takken and Kline 1989, Pates et al. 2001, Kline 2002). The addition of attractants, especially carbon dioxide, in the current study greatly enhanced mosquito flight activity. In the absence of a stimulatory substance, background flight activity for nocturnally active spe-

cies (Fig. 6C and D) was not recorded by our device. Several automatic devices for recording mosquito activity patterns have been developed since the 1960s. Most of these devices record flight. Jones et al. (1967) used a small recording chamber to monitor activity patterns of individual females. Chiba et al. (1981) recorded the circadian flight activity of mosquitoes with an actograph modified by adding a phototransistor and far-red beam. Yee and Foster (1992) monitored the sugar-feeding rhythms of mosquitoes with a copper landing platform that completes a circuit during the mosquito feeding. Recording of mosquito host-seeking behavior has been most successful with visual or video observations by using animal or human bait. The automatic recording of mosquito activity patterns are most successful in the absence of a host because, once blood fed, mosquito activity patterns change drastically. The recording device reported in the current study will provide an alternate method to record mosquito activity patterns in the presence of stimulatory effects such as  $CO_2$ . The diel activity patterns of non blood fed *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. tritaeniorhynchus*, and *An. stephensi* females recorded by the device compared well with the published diel activities for these species in the field. The device reported here can be used to evaluate the activity patterns of field-collected mosquitoes as well as other hematophagous species that use  $CO_2$ , heat, and vision as major cues for orientation to hosts.

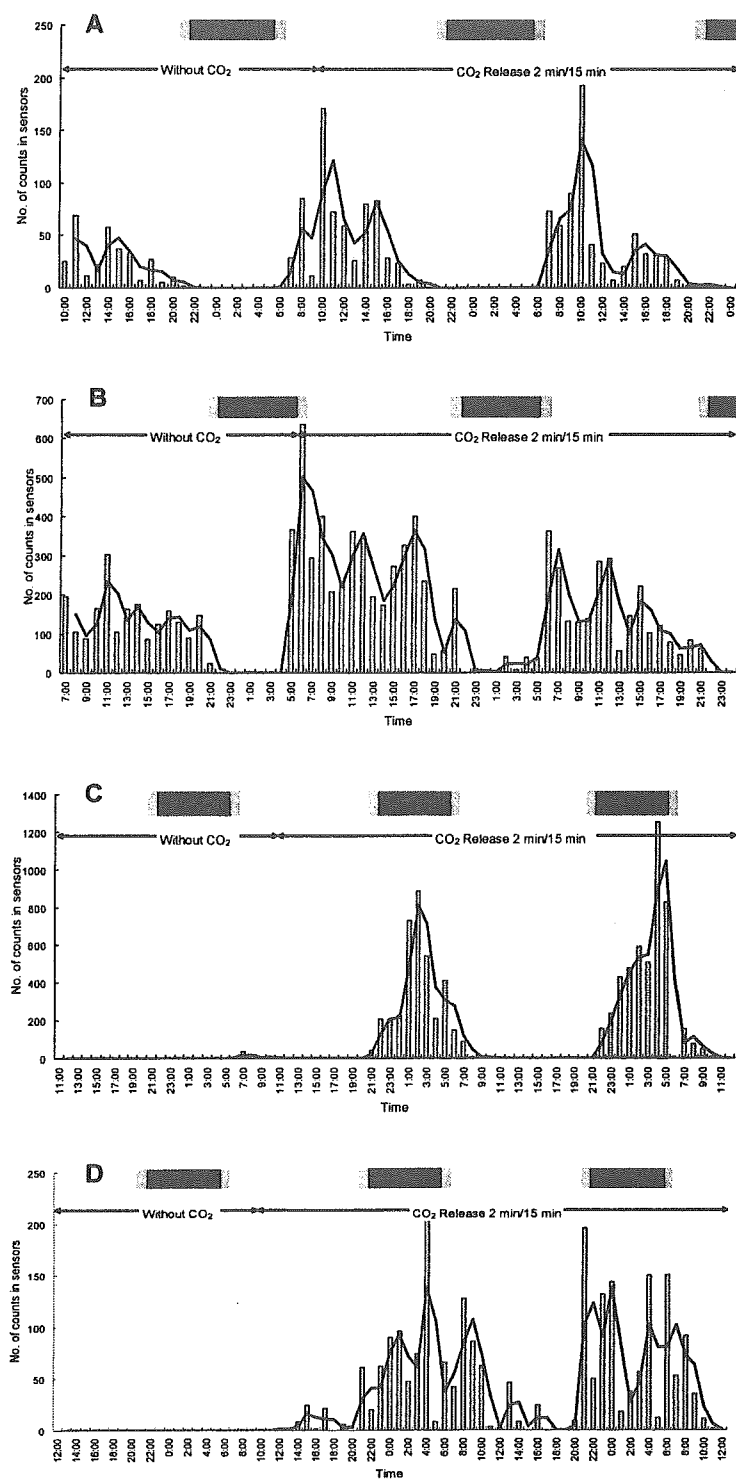


Fig. 6. Activity patterns of female (A) *Ae. albopictus*, (B) *Ae. aegypti*, (C) *Cx. quinquefasciatus*, and (D) *An. stephensi* detected and recorded by the automatic recording device. The solid line indicates a moving average of two successive counts in the sensors. Carbon dioxide was not released during the first 24 h of the test and was then released intermittently (for 2 min at 15-min intervals) during the final 48 h of the test.

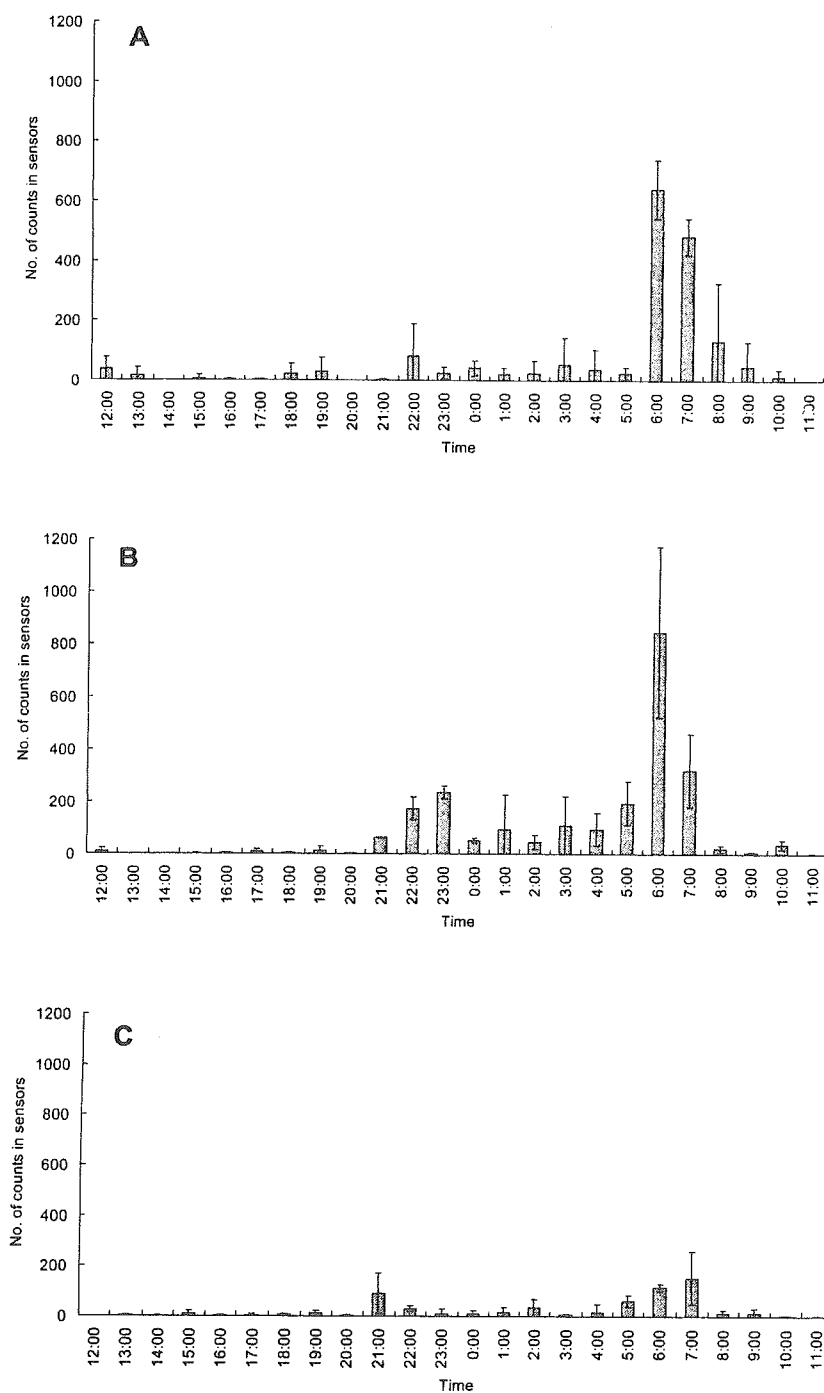


Fig. 7. Activity patterns of (A) field-collected nulliparous *Cx. tritaeniorhynchus* females, (B) laboratory-reared nulliparous *Cx. tritaeniorhynchus* females, and (C) laboratory-reared parous *Cx. tritaeniorhynchus* females detected and recorded by the automatic recording device. Each solid bar indicates the standard deviation. Carbon dioxide was released intermittently (for 2 min at 15-min intervals) throughout the experiment.

#### Acknowledgment

We thank S. Saita, M. Hasegawa, and E. Kawashima (Department of Vector Ecology and Environment, Institute of

Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan), T.B.O. Argueta (Ministry of Public Health and Social Assistance, Verbena, Guatemala), K. Ikari (SunAim Inc., Saga,



Japan), and K. Shimabukuro (Teikyo University of Science, Yamashiro, Japan) for rearing and providing the experimental insects and for assistance to the study.

#### References Cited

- Atmosoedjono, S., P.F.D. van Peenan, R. See, and J. S. Sorono. 1972. Man-biting activity of *Aedes aegypti* in Djakarta, Indonesia. *Mosq. News* 32: 467-469.
- Bowen, M. F. 1992. Patterns of sugar feeding in diapausing and nondiapausing *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) females. *J. Med. Entomol.* 29: 843-849.
- Burkett, D. A., J. F. Butler, and D. L. Kline. 1998. Field evaluation of colored light-emitting diodes as attractants for woodland mosquitoes and other diptera in north central Florida. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 14: 186-195.
- Chadee, D. D., and R. Martinez. 2000. Landing periodicity of *Aedes aegypti* with implications for dengue transmission in Trinidad, West Indies. *J. Vector Ecol.* 25: 158-163.
- Chiba, Y., C. Yamakado, and M. Kubota. 1981. Circadian activity of the mosquito *Culex pipiens molestus* in comparison with its subspecies *Culex pipiens pallens*. *Int. J. Chronobiol.* 7: 153-164.
- Corbet, P. S., and S. M. Smith. 1974. Diel periodicities of landing of nulliparous and parous *Aedes aegypti* (L.) at Dar es Salaam, Tanzania (Diptera: Culicidae). *Bull. Entomol. Res.* 64: 111-121.
- Gouck, H. K., and C. E. Schreck. 1965. An olfactometer for use in the study of mosquito attractants. *J. Econ. Entomol.* 58: 589-590.
- Hawley, W. A. 1988. The biology of *Aedes albopictus*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* (Suppl. 1) 4: 1-39.
- Higa, Y., Y. Tsuda, N. Tuno, and M. Takagi. 2000. Temporal variation in feeding activity and density of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) at peridomestic habitat in Nagasaki, Japan. *Med. Entomol. Zool.* 51: 205-209.
- Ho, B. C., Y. C. Chan, and K. L. Chan. 1973. Field and laboratory observations on landing and biting periodicities of *Aedes albopictus* (Skuse). *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 4: 238-244.
- Jones, M.D.R. 1981. The programming of circadian flight activity in relation to mating and the gonotrophic cycle in the mosquito, *Aedes aegypti*. *Physiol. Entomol.* 6: 307-313.
- Jones, M.D.R., M. Hill, and A. M. Hope. 1967. The circadian flight activity of the mosquito *Anopheles gambiae*: phase setting by the light regime. *J. Exp. Biol.* 47: 503-511.
- Kline, D. L. 2002. Evaluation of various models of propane-powered mosquito traps. *J. Vector Ecol.* 27: 1-7.
- Kline, D. L., J. R. Wood, and J. A. Cornell. 1991. Interactive effects of 1-octen-3-ol and carbon dioxide on mosquito (Diptera: Culicidae) surveillance and control. *J. Med. Entomol.* 28: 254-258.
- Klowden, M. J., and A. O. Lea. 1984. Blood feeding affects age-related changes in the host-seeking behavior of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) during oocyte maturation. *J. Med. Entomol.* 21: 274-277.
- Mahanta, B., R. Handique, P. Dutta, K. Narain, and J. Mahanta. 1999. Temporal variations in biting density and rhythm of *Culex quinquefasciatus* in tea agro-ecosystem of Assam, India. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 30: 804-809.
- Parker, M., A. L. Anderson, and M. Slaff. 1986. An automatic carbon dioxide delivery system for mosquito light trap surveys. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 2: 236-237.
- Pates, H. V., W. Takken, K. Stuke, and C. F. Curtis. 2001. Differential behaviour of *Anopheles gambiae sensu stricto* (Diptera: Culicidae) to human and cow odours in the laboratory. *Bull. Entomol. Res.* 91: 289-296.
- Pipitgool, V., P. Waree, P. Sithithaworn, and W. Limviroj. 1998. Studies on biting density and biting cycle of *Culex quinquefasciatus*, Say in Khon Kaen City, Thailand. *Southeast Asia J. Trop. Med. Public Health* 29: 333-336.
- Posey, K. H., D. R. Barnard, and C. E. Schreck. 1998. Triple cage olfactometer for evaluating mosquito (Diptera: Culicidae) attraction responses. *J. Med. Entomol.* 35: 330-334.
- Sonoda, H. 1971. Observations on the diurnal change of *Culex tritaeniorhynchus* (in Japanese). *Jpn. J. Sanit. Zool.* 22: 45-48.
- Takken, W., and D. L. Kline. 1989. Carbon dioxide and 1-octen-3-ol as mosquito attractants. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 5: 311-316.
- Takken, W., J. J. van Loon, and W. Adam. 2001. Inhibition of host-seeking response and olfactory responsiveness in *Anopheles gambiae* following blood feeding. *J. Insect Physiol.* 47: 303-310.
- Taylor, B., and M. D. Jones. 1969. The circadian rhythm of flight activity in the mosquito *Aedes aegypti* (L.). The phase-setting effects of light-on and light-off. *J. Exp. Biol.* 51: 59-70.
- Wada, Y. 1969. Ecological studies of *Culex tritaeniorhynchus summorosus* (Diptera: Culicidae) I. Biting rhythm of the mosquito. *Jpn. J. Sanit. Zool.* 20: 21-26.
- Yee, W. L., and W. A. Foster. 1992. Diel sugar-feeding and host-seeking rhythms in mosquitoes (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions. *J. Med. Entomol.* 29: 784-791.

Received 5 January 2004; accepted 21 June 2004.

### 7. マラリア

木村 幹 男\*1 狩野 繁 之\*2

#### 要 旨

熱帯熱マラリアでは短期間で重症化・死亡の危険がある。脳症の機序として sequestration の重要性が明らかとなり、細胞接着などに関係する分子が同定されている。マラリアの一般検査では特徴的な所見もあり、理解しておく役立つ。診断の gold standard は古典的な顕微鏡法であるが、抗原検出法、PCR法などの併用も望まれる。治療においては熱帯熱マラリアでの薬剤耐性を考慮する必要がある。予防については主に「旅行医学」で扱われている。

**Key words** マラリア, 重症マラリア, 抗原検出法, 薬剤耐性, 熱帯病治療薬研究班(略称)

#### はじめに

マラリアは流行地における morbidity と mortality, 経済損失などの要因として重要な疾患である。また、先進国から流行地への渡航者や滞在者が増え、逆に流行地から先進国への入国者も増えているので、輸入感染症としても重要性を増している。さらにわが国のみならず欧米先進国でも、不十分なマラリア予防、発症後の受診の遅れ、医療機関での診断の見逃しや遅れ、治療の遅れや不適切な治療などが問題となっている。本稿では渡航者のマラリアに焦点を

絞って解説し、国内の医療機関で適切な医療対応が行われることを目指すものである。

#### I. 概 説

マラリアはハマダラカ属の蚊に媒介される疾患である。病原体は原虫に属し、ヒトに感染するマラリア原虫としては熱帯熱(病原体は *Plasmodium falciparum*), 三日熱 (*P. vivax*), 卵形 (*P. ovale*), および四日熱マラリア原虫 (*P. malariae*) の4種類がある。このなかで熱帯熱マラリアは短期間で重症化や死亡の危険があり(重症マラリア), また薬剤耐性が深刻な点で最

#### Malaria.

\*1 Mikio KIMURA, MD

Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases

国立感染症研究所 感染症情報センター(〒162-8640 東京都新宿区戸山 1-23-1)

\*2 Shigeyuki KANO, MD

国立国際医療センター研究所 適正技術開発移転研究部(〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1)

も重要であり、見逃してはならない疾患である。しかし最近、三日熱マラリアでも頻度は少ないが重症マラリアの症候を呈することが示されており、注意が必要である。

世界的にはマラリアは熱帯・亜熱帯に広く分布する。最も流行が高度なのはサハラ以南アフリカで、しかもそこでは熱帯熱マラリアが殆どを占める。北アフリカ、中東、インド亜大陸では三日熱マラリアが多くを占める。東南アジアでも三日熱マラリアが多いが、熱帯熱マラリアも広域に分布し、特にタイ・ミャンマーやタイ・カンボジアの国境地帯では薬剤耐性が最も深刻である。パプアニューギニア、ソロモンなどのメラネシアでも三日熱マラリア、熱帯熱マラリアの両者がみられ、中南米では一般に三日熱マラリアが多いが、アマゾン流域では熱帯熱マラリアも少なくない。

わが国では現在マラリアは土着していないので、輸入マラリアとして扱われる。1999年4月のいわゆる感染症法施行以降のマラリア報告数は、1999(この年のみ4~12月)~2001年では年間100例を超えていたが、2002~2004年では73~83例と減少している。最近の減少の理由としては、米国同時多発テロ、SARS流行などによる渡航者数の減少、ハイリスク渡航者における防蚊対策や予防内服の徹底などが考えられる。

## II. 病態生理

蚊の刺咬によりスポロゾイトとして体内に入ったマラリア原虫は、血中から速やかに肝細胞に侵入する(一次肝臓内ステージ)。その後、一定期間後に肝細胞内で数千個に分裂してからメロゾイト(分裂小体)として血中に放出され、それらは赤血球内に侵入する。赤血球内では輪状体(幼弱栄養体)、栄養体(成熟栄養体)、分裂体のステージを経過し、分裂体を有する赤血球が壊れて放出されたメロゾイトは新たな赤血球に侵入し、上記の過程を繰り返す(赤血球内サイクル)。一次肝臓内ステージでは無症状であり、発熱を含むマラリアの症状は赤血球内サイクル

により引き起される。さらに、三日熱、卵形マラリアでは肝細胞内に潜伏するヒプノゾイト(休眠原虫)が形成され、これが一定期間後に分裂・増殖を開始して血中に侵入すると再発を来す。マラリアの特徴である発熱は、多数の分裂体が破裂するときに生ずる。

熱帯熱マラリアでは栄養体、分裂体など後期ステージの原虫が感染した赤血球が、脳などの細小血管に閉塞しており、sequestrationと呼ばれる。それにより局所の循環障害、原虫からの毒性物質の遊離などが考えられるが、後者の実態は明らかではない。また、感染に伴って宿主組織からTNF、IL-1、IFN- $\gamma$ およびその他の炎症性サイトカイン、および種々の抗炎症性サイトカインの遊離が生じ、発熱、全身倦怠などの症状、場合により脳症などの臓器障害に関与する可能性があるが、十分に解明されたとは言えない。TNFにより誘導される酸化窒素(NO)が神経伝達を遮断する機序も考えられている。病理学的には、脳の閉塞血管の周囲に輪状の出血が見られることがある。

Sequestrationの機序としては細胞接着、すなわち感染赤血球表面のknob(電子顕微鏡的突起物)に表出するマラリア原虫関連抗原と、血管内皮細胞上の接着分子による結合が重要である。前者の分子としては、150にも上るvar遺伝子にコードされるPfEMP1が挙げられ、後者の分子としてはCD36、ICAM-1、VCAM-1、ELAM-1、CSA(コンドロイチン硫酸A)などが知られている<sup>2)</sup>。これらの中で、脳ではICAM-1、臓器一般ではCD36、胎盤ではCSAを介した細胞接着が重要と考えられる。Sequestrationにおいては細胞接着以外に、感染赤血球が周囲に非感染赤血球を結合する現象、すなわちロゼット形成も関係すると思われるが、これはPfEMP1とCR1(補体レセプター1)との結合を介するとされている。

熱帯熱マラリアでの他の臓器病変については、脳症ほどには解明が進んでいない。肺毛細血管では感染赤血球の閉塞は顕著ではなく、むしろ好中球の接着像がみられるが、補体系を介した

脱顆粒により肺毛細血管の透過性が亢進すると考えられている。腎症については皮質での虚血性変化が主体で、急性尿細管壊死の形をとる。糸球体毛細血管に感染赤血球の付着や免疫グロブリンの沈着も見られるが、糸球体腎炎の関与は重要でないとされている。

### III. 症候・一般検査所見

#### A. 症候

発熱は殆ど必発に近く 38℃を超え、通常は悪寒を伴う。ただし、戦慄は熱帯熱マラリアで見られないことがある。典型的には三日熱や卵形マラリアでは1日おき、四日熱マラリアでは2日おきの周期的発熱であるが、発病初期には連日に発熱し、数日間無治療で経過すると周期的発熱に移行する。ときに悪心・嘔吐、下痢、腹痛などの消化器症状、乾性咳嗽などがみられ、腸管感染症や呼吸器感染症を疑わせることもある。理学的所見では脾腫が挙げられるが、初感染では触知するほどの脾腫は多くはない。

#### B. 一般検査所見

貧血は早期にはみられないことが多いが、これには血液濃縮も関係すると思われる。白血球数はやや減少～正常のことが多いが、特に重症の場合には増加もみられる。一方、血小板減少は高頻度にみられる。生化学検査ではLDHの上昇、総コレステロール(特にHDLコレステロール)の低下、アルブミンおよび総蛋白の低下などがみられる。

#### C. 重症マラリア

重症マラリアでは種々の臓器や系統が侵され、それに対応する症状、理学的所見、一般検査所見がみられる。表1に重症マラリアの診断基準および病態生理<sup>3)</sup>を示すが、それらの基準を満たさなくても、重症マラリアとしての対応が必要なこともある。また、これらの合併症が複数みられることもある。

### IV. 診断

マラリア診断の gold standard は現在でもギムザ染色血液塗抹標本の光学顕微鏡検査(顕微鏡

法)であり、十分に熟練すれば顕微鏡法のみでマラリアの確定診断(原虫種鑑別を含む)、あるいは否定が可能である。しかし、原虫数が非常に少数の場合などでは見逃すこともあり、他の検査法、すなわち抗原検出法やPCR法などの併用が勧められる。また、熟練していない場合には早急に専門機関に相談するか、患者を移送することも求められる。

#### A. 顕微鏡法

血液塗抹には厚層塗抹と薄層塗抹があり、理論的には厚層塗抹の方が検出感度が良いとも言えるが、形態の判別に熟練を要することもあり、通常は薄層塗抹標本を丹念に観察の方が勧められる。マラリア原虫が検出されたら原虫種の同定を行うが、その際の鑑別点を表2に示す。また、図1には4種のマラリア原虫につき、典型的な顕微鏡像を示す。4種のマラリア原虫の中での鑑別が不可能でも、熱帯熱マラリア原虫であるか否かの鑑別は重要である。

マラリアを否定するには慎重さが求められる。顕微鏡の視野を動かしながら白血球数をカウントし、通常白血球数(5,000~8,000/ $\mu$ l)の場合に白血球300~400個をカウントする視野数を観察して原虫が見つからなければ、一応陰性とする。白血球数が多い場合には、さらに多い白血球数をカウントするまで観察を続ける。1回の検査で陰性ではあっても、発熱が続くようであれば12~24時間後に必ず繰り返して検査する。

#### B. アクリジンオレンジ蛍光染色法(AO法)

これは、アクリジンオレンジ(AO)蛍光色素が核酸に結合する性質を利用した方法である。キットとしてはQBC法(Becton Dickinson社)があり、AOがコーティングされた毛細管の中に全血を吸い、遠沈の後、マラリア原虫感染赤血球が集簇する層を蛍光顕微鏡で観察する。わが国では川本が、スライドガラス上の血液塗抹標本を直接にAO染色する簡便な方法を開発した<sup>4)</sup>。

AO法による蛍光ではクロマチンが黄緑色に発色し、細胞質は赤く見えるので、蛍光顕微鏡の暗い視野の中で目立って見える。そのため、

表1 重症マラリアの診断基準と提唱されている病態生理(文献<sup>3)</sup>より改変)

合併症	診断基準	病態生理
脳 症	刺激しても覚醒しない昏睡。脳症を生ずる他の原因(細菌性髄膜炎, 現地で流行中のウイルス性脳炎など)を否定。全身性痙攣の後の昏睡では, 30 分以上続くことが必要	原虫感染赤血球による脳血管の閉塞(sequestration)。その後の機序の詳細については不明
重症貧血	原虫数 > 10,000/ $\mu$ l で, Hb < 5g/dl あるいは Ht < 15% の正球性貧血	脾臓における赤血球の破壊(免疫学的機序?), 骨髄における赤血球産生不全
急性腎不全	24 時間尿量が成人では < 400 ml, 小児では < 12ml/kg で, 補液で改善せず, しかも血清クレアチニン > 3.0mg/dl	急性尿細管壊死であるが, 詳細は不明。Sequestration, 糸球体腎炎の関与は余りない
肺水腫/ARDS	呼吸状態, 血液ガス, 胸部 X 線, 中心静脈圧(通常は正常)などの総合判断	体液過剰, 肺毛細血管の透過性亢進。通常は心原性でなく, ARDS に類似する
低血糖	血糖 < 40mg/dl	キニーネやキノジンのインスリン分泌作用, ブドウ糖の消費過多, グリコーゲンの枯渇, 糖新生の障害
循環虚脱, ショック	収縮期血圧が成人では < 70mmHg, 1~5 歳の小児では < 50mmHg, あるいは冷たく湿潤した皮膚, あるいは核心温度と皮膚温度の差 > 10 $^{\circ}$ C	脱水, 消化管出血, 肺水腫/ARDS, グラム陰性菌敗血症, 代謝性アシドーシスなどに関連
出血傾向	歯肉, 鼻腔, 消化管などの自然出血, および/あるいは DIC を示す検査所見	真の DIC は稀。血小板の血管内破壊, 脾臓での取り込み増加, sequestration による消費, あるいは産生の低下
反復する全身性痙攣	クーリングにもかかわらず, 24 時間以内に 2 回を超える痙攣	上記の脳症に関連
酸血症/アシドーシス	動脈血 pH < 7.25, あるいは血漿 HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> < 15 mmol/l	脳の sequestration で低酸素状態となり, 嫌氣的解糖が進行して乳酸の生成
マラリアによる血色素尿(黒水熱)	急性マラリア感染と関連する肉眼的血色素尿。単に, 赤血球酵素欠損患者(G6PD など)に酸化性抗マラリア薬を投与した場合を除く	重症貧血に記載の赤血球破壊と関連。古典的には, キニーネによる赤血球の感作

他に, 死後の脳組織における特徴的組織所見(特に脳灰白質において, 熱帯熱マラリア原虫成熟栄養体や分裂体の感染赤血球が細静脈/毛細血管に閉塞)も含まれる。また, 重症マラリアに準ずる合併症として, 刺激で覚醒する意識障害, 極度の衰弱, 高原虫血症(non-immune で > 5%), 黄疸(臨床的, あるいは血清ビリルビン > 3.0mg/dl), 異常高熱(直腸温 > 40 $^{\circ}$ C)などが挙げられている。

熟練すると顕微鏡法より短時間で判定が可能であるとされる。しかし, 熱帯熱マラリアでは殆どが輪状体であり, 比較的判定はしやすいが, 熱帯熱マラリア以外では白血球核の蛍光との区別が必要である。

### C. 抗原検出法

抗原検出キットは国内未発売であるが, 現在海外で 2 種類発売されている。一方は熱帯熱マラリア原虫の histidine-rich protein 2 (HRP2) と 4 種のマラリア原虫が共通して保有するアルドラ

ーゼを検出し, 他方はマラリア原虫特異的 LDH (pLDH) を検出する<sup>5)</sup>。前者の製品については, 現在は Now<sup>®</sup> Malaria (Binax 社) が主流であり, 後者としては OptiMAL-IT (DiaMed 社) である。いずれも熱帯熱マラリアでは原虫種の判定が可能であるが, 他の 3 種では相互の区別はできない。図 2 には両者のキットを用いた測定例を示す。

感度については, 最も重要な熱帯熱マラリアの場合, HRP2 検出系で概ね 95% 以上, pLDH

表2 顕微鏡法によるマラリア原虫種の鑑別

項目	熱帯熱マラリア原虫	三日熱マラリア原虫	卵形マラリア原虫	四日熱マラリア原虫
感染赤血球の大きさ	普通	大	やや大	小
感染赤血球表面の棘	なし	なし	あり	なし
感染赤血球内斑点	ときに Maurer 斑点	Schüffner 斑点	Schüffner 斑点	まれに Ziemann 斑点
1 個の赤血球に複数個の原虫の感染	あり	ときにあり	殆どなし	殆どなし
血液塗抹標本での原虫ステージ	通常輪状体のみ	すべてありうる	すべてありうる	すべてありうる
粗大な輪状体	なし	あり	あり	あり
クロマチンドット	複数	単数(ときに複数)	単数	単数
帯状体	なし	なし	なし	あり
ソーセージ様生殖母体	あり	なし	なし	なし

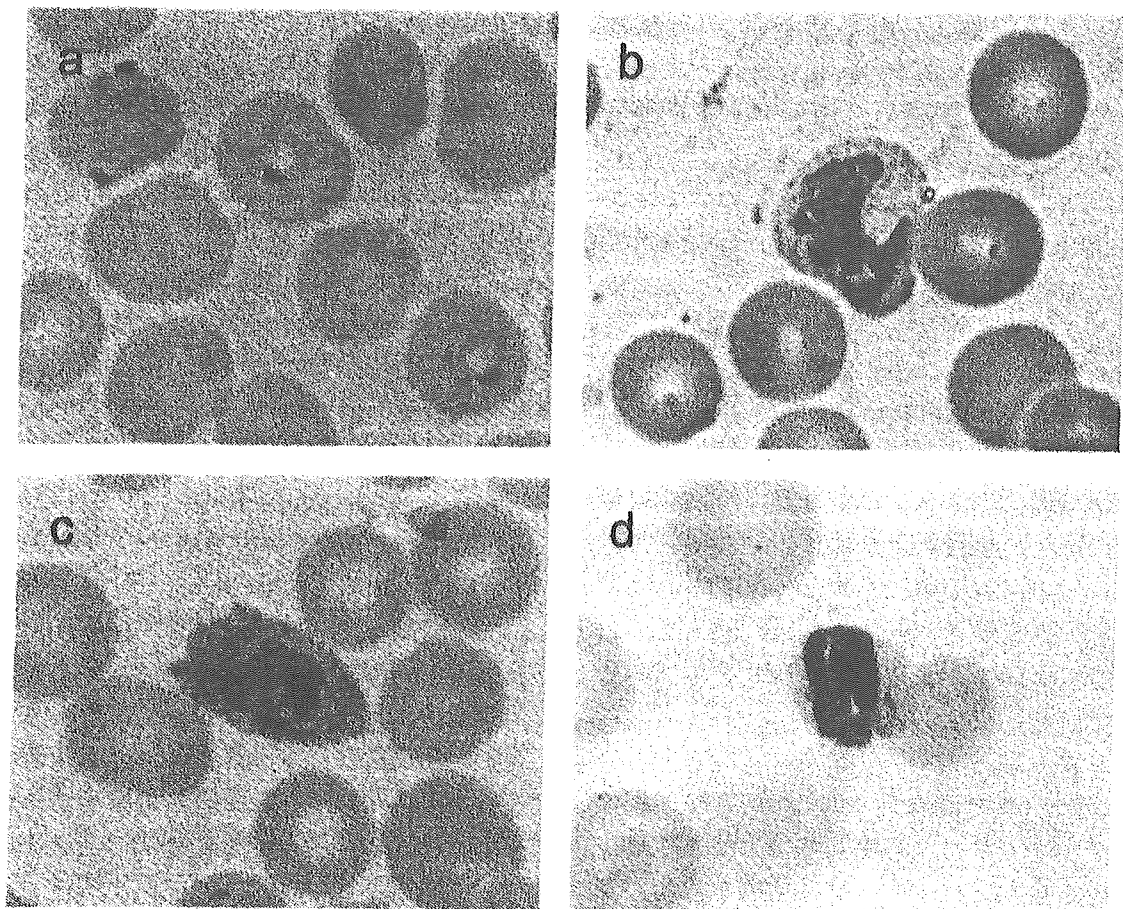


図1 血液薄層塗抹標本のギムザ染色による 4 種のマラリア原虫の顕微鏡像

- a. 熱帯熱マラリア原虫の輪状体。1 個の赤血球に複数個の原虫感染が見られ、一部の原虫は赤血球周辺部に位置し、クロマチンは複数個が横に癒合している。
- b. 三日熱マラリア原虫の栄養体。感染赤血球は大きくて Schüffner 斑点を有し、原虫はアメーバ様形態を示す。
- c. 卵形マラリア原虫の栄養体。感染赤血球は大きくて棘を有し、Schüffner 斑点も多数見られる。
- d. 四日熱マラリア原虫の栄養体。感染赤血球は小さく、中央に帯状体が位置する。

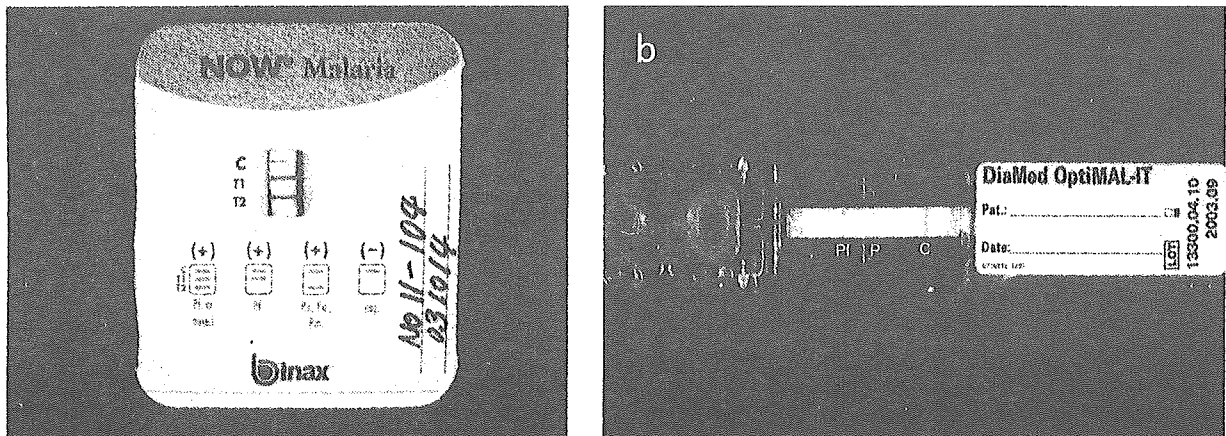


図2 マラリア原虫抗原検出キット

- a. Histidine-rich protein 2/アルドラーゼを検出する Now® Malaria (Binax 社)。C, T1, T2 の3本のバンドが出ており、熱帯熱マラリア原虫と判定される。
- b. マラリア原虫 LDH (pLDH)を検出する OptiMAL-IT (DiaMed 社)。C, P, Pf の3本のバンドが出ており、熱帯熱マラリア原虫と判定される。

検出系で90%以上であり、前者の方がやや優れている。原虫数が減るとともに陽性率が低くなるが、稀には20,000/μlの原虫数でありながら、HRP2検出系が偽陰性のこともある。HRP2抗原は治療後も1~2週間、ときには4週間程度陽性が続くことがあり、最近に熱帯熱マラリアに罹患した場合には判定に注意が必要である。また、治療効果の判定には適さない。

三日熱マラリアについてはHRP2検出系での感度はやや低い。また、卵形マラリア、四日熱マラリアについては、両者のキットにおいて感度は50%に満たない<sup>6)</sup>。このように基本的には、両者ともに熱帯熱マラリアの診断に適しているが、pLDH検出系では三日熱マラリアの診断にも有用である。

#### D. PCR法

研究室レベルで種々のPCR法が開発されており、ターゲットとする塩基配列、検体処理法、最終判定方法などにおいて様々である。わが国では岡山大・綿矢と湧永製薬・山根らが18S rRNA遺伝子をターゲットとし、原虫種特異的PCR-MPH法を開発したが、PCR後の反応はマイクロタイタープレート上で行うので簡便である。筆者の木村はこれを用い、診断や治療経過の判定に役立ててきた<sup>7)</sup>。また、著者の狩野は

同じプライマーを用いて、リアルタイムPCR法による原虫種特異的検出法を開発した<sup>8)</sup>。

## V. 治療

本稿では治療に関する概略のみを述べ、詳細については他書の記載<sup>9)</sup>にゆずる。

### A. 抗マラリア薬療法

三日熱、卵形、四日熱マラリアの急性期治療での第一選択薬はクロロキンである。しかし、クロロキン耐性三日熱マラリアも出現しており、熱帯熱マラリアに用いる抗マラリア薬を使用することもある。

三日熱マラリア、卵形マラリアの再発予防、すなわち根治療法として唯一使用可能なものはプリマキンである。しかし、世界各地でプリマキン低感受性の三日熱マラリアがみられることから、プリマキン1日量の増量、投与期間の延長など、総投与量の増量が行われつつある。

合併症のない熱帯熱マラリアでは、薬剤耐性のためにクロロキン、スルファドキシシン/ピリメタミン合剤は殆ど使われない。メフロキンは、タイ・ミャンマーあるいはタイ・カンボジアの国境などでの感染を除けば、今でも効果は期待できる。キニーネ経口薬は単独でなくドキシサイクリンとの併用が主流である。最近ではアト

バコン/プログアニル合剤，アーテメター/ルメファントリン合剤の評価が高まっているが，前者についてはすでに耐性例が報告されている<sup>10)</sup>。後者はアーテミシニン(チンハオス)系薬のアーテメターの急速な殺原虫効果により，早期に解熱，原虫消失がみられる。

重症マラリアでは通常，注射薬が選択される。以前からキニーネ注射薬が用いられており，重症度が高く，禁忌でない場合には初回投与のみ倍量 (loading dose) を用いることもある。耐性度が高いと予想される場合には，ドキシサイクリンなどを併用する。経口服用が可能になったらキニーネ経口薬に変更するか，あるいは最終投与終了から 12 時間以上空けてメフロキンの投与を行う。アーテミシニン系薬としてはアーテメターあるいはアーテエター(ともに筋注)，アーテスネート(静注，筋注)などが用いられるが，それらの単独短期間投与では再燃を生じやすいので，一般にメフロキンなどが併用される。アーテミシニン系薬は従来，アジア地域で使われてきたが，欧米先進国でも使用が増えつつある。また，流行地では重症マラリアの治療におけるアーテミシニン系薬坐剤の効果が示されており<sup>11)</sup>，注射薬が使用不可能な場合など，少なくとも初期対応薬としての価値が期待される。

#### B. 重症マラリアの支持療法

重症マラリアでは適切な抗マラリア薬療法以外に，病態に応じた支持療法として，水・電解質の管理，肺水腫/ARDS での呼吸管理，急性腎不全での血液透析，場合により交換輸血などが必要となる<sup>12)</sup>。代謝性アシドーシスでは重炭酸ナトリウムの大量投与が行われるが，効果がみられないことも多い。脳症でのステロイド薬，DIC 様出血傾向でのヘパリンは禁忌とされている。

#### C. 抗マラリア薬の入手

国内で承認されているマラリア治療薬は塩酸(あるいは硫酸)キニーネ経口薬，スルファドキシシン/ピリメタミン合剤，メフロキンの 3 種類のみである。しかし，「熱帯病治療薬研究班(略称)」(<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/didai/orphan/index.html>)が国内未承認のクロロキン，プリマキン，アトバコン/プログアニル合剤，アーテメター/ルメファントリン合剤，キニーネ注射薬，アーテスネートの経口剤と坐剤などを導入し，国内での使用を可能としている<sup>13)</sup>。

## VI. 予 防

マラリアの予防については主に「旅行医学」の分野で扱われている。本稿ではその詳細は述べないが，流行地を訪れる人すべてが行うべき防蚊対策と，オプションとしての予防内服およびスタンバイ治療がある。後 2 者は薬物を使用するので，十分なリスク・ベネフィット分析が必要である。欧米先進国では従来，予防内服に重点をおいてきたが，最近ヨーロッパでは，特にリスクが低い場合などにスタンバイ治療を勧める傾向にある<sup>14)</sup>。わが国では最近，著者らが関与してマラリア予防ガイドラインを策定した<sup>15)</sup>，広く利用されることが望まれる。

### おわりに

通常の医療機関ではマラリア患者を診ることは滅多になく，注意や関心を持ち続けるのは容易でないが，最低限，熱帯熱マラリアでは非常に短期間で重症化・死亡に至る危険があることを理解し，必要に応じて迅速に専門家に相談することを希望するものである。

本稿の内容は一部，厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)(H15-新興-22)の研究成果を含む。

### 文 献

- 1) Kochar DK, Saxena V, Singh N, Kochar SK, Kumar SV, Das A. *Plasmodium vivax* malaria. Emerg Infect Dis 2005; 11: 132-4.
- 2) Miller LH, Baruch DI, Marsh K, Doumbo OK. The pathogenic basis of malaria. Nature 2002; 415: 673-9.
- 3) World Health Organization, Division of Control of Tropical Diseases. Severe and complicated malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg 1990; 84(supple 2): 1-65.



- 4) Zhou M, Liu Q, Wongsrichanalai C, et al. High prevalence of *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale* in malaria patients along the Thai-Myanmar border, as revealed by acridine orange staining and PCR-based diagnoses. *Trop Med Int Health* 1998; 3: 304-12.
- 5) 木村幹男, 大友弘士, 熊谷正広, 廣重由可. 旅行者によるマラリア診断キット使用の問題. *日本熱帯医学会雑誌* 2000; 28: 1-7.
- 6) Grobusch MP, Hänscheid T, Zoller T, Jelinek T, Burchard GD. Rapid immunochromatographic malarial antigen detection unreliable for detecting *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21: 818-20.
- 7) Kimura M, Miyake H, Kim H-S, et al. Species-specific PCR detection of malaria parasites by microtiter plate hybridization: clinical study with malaria patients. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2342-6.
- 8) Katakai Y, Singhasivanon P, Krudsood S, Looreesuwan S, Kano S. Application of real-time polymerase chain reaction (PCR) analysis for detection and discrimination of malaria parasite species in Thai patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004; 35 (supple 2): 10-4.
- 9) 木村幹男, 金 惠淑, 綿矢有佑. 話題の抗微生物薬をめぐって. 4 抗原虫薬. マラリア. *臨床と微生物* 2003; 30: 621-30.
- 10) Kuhn S, Gill MJ, Kain KC. Emergence of atovaquone-proguanil resistance during treatment of *Plasmodium falciparum* malaria acquired by a non-immune North American traveler to West Africa. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 72: 407-9.
- 11) Aceng JR, Byarugaba JS, Tumwine JK. Rectal artemether versus intravenous quinine for the treatment of cerebral malaria in children in Uganda: randomised clinical trial. *BMJ* 2005; 330: 334-6.
- 12) Pasvol G. Management of severe malaria: interventions and controversies. *Infect Dis Clin N Am* 2005; 19: 211-40.
- 13) 木村幹男, 中村哲也, 名和行文. 特集 国際化時代の感染症対策—海外渡航者の感染症. [診断・治療の実際] 研究班の薬剤保管体制と熱帯病・寄生虫薬物治療の動向. *クリニカル プラクティス* 2004; 23: 1050-3.
- 14) 日谷明裕, 木村幹男. マラリア予防におけるスタンバイ治療の位置づけ. *日本醫事新報* 2005; No. 4225: 26-31.
- 15) マラリア予防専門家会議. 日本の旅行者のためのマラリア予防ガイドライン(マラリア予防専門家会議編). 東京: フリープレス; 2005.

# マラリア予防における スタンバイ治療の位置づけ

総合健診センターヘルチエック

日 谷 明 裕

国立感染症研究所感染症情報センター

木 村 幹 男

## はじめに

マラリアは全世界で年間に三〇五億人が罹患し、一五〇〜二七〇万人の死亡者があると推定されている疾患であり、流行地では社会的・経済的損失として深刻な問題である。マラリアの中でも熱帯熱マラリアは短期間で重症化や死亡の危険があり、最も重要視されている。また、非流行地から流行地への旅行者の増加や、流行地から非流行地への移民などの増加に伴い、輸入マラリアの増加が問題となっているが、それらは世界全体で年間二〜五万例と推定されている。先進国で発病する場合でも、医療対応の遅れなどから重症化や死亡例の発生が問題となっており、

それらの国でも、熱帯熱マラリアは一〜二%の致死率を示している。

旅行者マラリアの対策は防蚊手段、すなわち蚊に刺されないための工夫が基本であるが、詳細については他書<sup>1)</sup>に譲る。さらに、リスクが高い場合には予防内服が勧められる<sup>2)</sup>。しかし一方では、マラリアのリスクの地理的違いがより明らかになり、予防内服による副作用も危惧されている。そのため、治療としての抗マラリア薬を携行し、マラリアが疑われて、しかも迅速に医療機関を受診できない時に服用する「スタンバイ治療」が注目を浴びている。

わが国では予防内服の認識も十分な段階であり<sup>3)</sup>、スタンバイ治療を扱うのは時期尚早のそしり

も免れないであろうが、「旅行医学」的見地で日本人旅行者をマラリアから守るために、将来的に医療従事者および旅行者におけるコンセンサスの確立を目指すものである。

## 一、予防内服のリスク ベネフィット分析

マラリアのリスクが高い場合（サハラ以南アフリカ等の滞在で、夜間の外出が避けられない場合など）の予防内服では、薬剤による副作用のリスクよりも、それにより罹患を防ぐベネフィットが上回る<sup>4)</sup>と考えられる。しかし、副作用は予防薬の種類により異なり、また服用者の条件により異なる。ヨーロッパで一九八五年より予防薬として導入され主流の座を占めてきたメフロキンについては精神神経系副作用が問題となっている<sup>5)</sup>が、危険因子として、うつ病・てんかんの既往、大酒、いわゆる“recreational drug”との併用、女性<sup>6)</sup>などが挙げられており、これらが除かれる状況では副作用のリスクは低下する。一方、予防効

果は薬剤の種類と地域の組み合わせに大きく関係し、薬剤耐性の進行<sup>7)</sup>により経時的にも変化する。このように、比較対象のリスクとベネフィットは両者ともに一定ではない。副作用の発生およびマラリアの罹患につき、単純にそれぞれの発生数で比較するか、あるいは重症化や死亡の例数で比較するかによって大きく異なる。広くは、副作用による影響をどう評価するか、どの程度のリスクを避けようと思うかなど、個人の考え方に関係する部分もある。結局のところ、リスクベネフィット分析の結果を万人が納得する形で示すのは容易ではない。

滞在期間が長くなると、それに伴いマラリア罹患率は高まるが、副作用の発生は、特にメフロキンの場合、服用開始初期に多く、滞在期間に比例して多くなるわけではないとされる<sup>8)</sup>。したがって、一定期間以上の滞在では予防内服によるベネフィットは副作用のリスクを上回ると考えられる。欧米では具体的に、サハラ以南アフリカに数日以上滞在する場合、メフ

※【用語】スタンバイ治療

本稿では「スタンバイ治療」で統一するが、英語では“self-treatment” “presumptive treatment” “standby treatment” “standby emergency treatment” “emergency standby treatment”等、多くの用語が使われている。

また、最近“standby emergency medication<sup>10)</sup>”という用語も使われるが、この治療が正式な治療でなく緊急避難的な抗マラリア薬の服用であることを考えると、本用語が最適と思われる。

表1 スタンバイ治療の条件

- 1) マラリア流行地に入ってから7日以上経過してマラリアを疑わせる発熱\* (37.5℃以上\*\*)を生じた場合には、直ちに医療機関を受診する必要がある。
- 2) 発熱を生じてから24時間以内に医療機関を受診が不可能であれば、マラリアのスタンバイ治療を開始する。
- 3) スタンバイ治療開始後も可及的速やかに医療機関を受診する。

\* ほとんどの場合、悪寒を伴う発熱である。

\*\* 38℃以上とすることもある。

スタンバイ治療後の予防内服の開始時期は、スタンバイ治療薬の初回服用より一週間経ってからとする。ただし、キニーネによるスタンバイ治療後にメフロキンの予防内服を行う場合は、キニーネの最終服用後一週間以降とする<sup>11)</sup>。

また、スタンバイ治療では予防内服薬と同じ薬剤を使うべきでない

ロキン予防内服のベネフィットは副作用のリスクを上回ると考える専門家が多数。しかし、東南アジア、中東、中米などの大部分ではマラリア、特に熱帯熱マラリア罹患の頻度が低いので、逆に副作用のリスクがベネフィットを上回ると考えられる。そのため、これらの地域への旅行者に対しては予防内服に代わり、スタンバイ治療が重要な選択肢として取り上げられることになった。

二、スタンバイ治療\*とは?

(1) 特殊性

一般人の間でも体調が悪い時に薬剤を携行していれば、医療機関の判断でなく自分の判断で服用す

ることはよく行われる。現代の旅行医学でも旅行者下痢症に対する自己治療は概ね認知されている。しかし、マラリアは旅行者下痢症とは異なり、治療が少しでも不適切であると重症化・死亡の危険がある。さらに、マラリア以外にも危険な発熱性疾患の可能性があり、マラリアにとられそれらの疾患の治療の開始が遅れると、こ

常に二者択一的なものとは限らない。予防内服を行っていてもマラリアに罹患する可能性があることから、予防内服のバックアップ手段としてのスタンバイ治療もある。欧米でスタンバイ治療を議論する時には、この場合のスタンバイ治療を前提としていることも多い。

(3) 実施の条件

マラリアの潜伏期間は通常、七日あるいはそれ以上である<sup>12)</sup>。したがって、それより短期間の旅行であれば帰国後に国内医療機関の受診が可能であり、スタンバイ治療の適応とはならない。現地でも迅速に医療機関を受診できる場合にも適応とはならない。

また、スタンバイ治療実施後も可及的速やかに医療機関を受診す

ることが条件となる。それは、マラリアでない可能性もあり、仮にマラリアであるとしても薬剤耐性の問題<sup>13)</sup>から抗マラリア薬の変更の必要性もありうるからである。このような条件につき、WHO<sup>14)</sup>および英国<sup>15)</sup>のガイドラインなどが示している項目を基にして、治療の条件を表1にまとめた。

(4) 技術的問題

事前に薬剤などで解熱させておくと、抗マラリア薬の嘔吐は起こりにくい。原則的には、服用30分以内に嘔吐した場合には再度全量を服用し、30〜60分で嘔吐した場合には半量を追加する<sup>16)</sup>。嘔吐と下痢がある場合には吸収が低下し、治療が不成功に終わることもある。

表2 予防内服とスタンバイ治療の違い

予防法	長所	短所
予防内服	<ul style="list-style-type: none"> <li>毎日あるいは毎週1回の服用で、間違いが起きにくい</li> <li>マラリアの発症を抑える(失敗しても後の治療に期待できる)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>副作用のリスクがベネフィットを上回る場合もある</li> <li>にせの安心感を持ちやすい</li> </ul>
スタンバイ治療	<ul style="list-style-type: none"> <li>ベネフィットが副作用のリスクを上回ると考えられる</li> <li>旅行者の自己責任、すなわち早期診断・治療の必要性を自覚させる</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>服用方法が複雑で、間違いが起きやすい</li> <li>嘔吐した場合、解熱しない場合の対処法が難しい</li> <li>マラリア以外の疾患である場合、それが悪化する可能性がある</li> <li>マラリアの発症を抑えない(失敗すると後の手段は限られる)</li> <li>国によっては法的問題</li> </ul>

い<sup>31)</sup>。理由は、薬剤の毒性が増強し、しかも無効である可能性が高いからである。

(5) 法的な問題

欧米先進国でも添付文書にスタンバイ治療は記載されていない<sup>32)</sup>。このことから、スタンバイ治療の

処方では法的にリスクを伴う可能性が危惧される。一方で、迅速に医療機関を受診できない場合に、マラリアにより重症化・死亡するのを防ぐ重要な手段としても考えるべきである<sup>33)</sup>。医療従事者が自らの法的リスクのみに配慮し旅行者の健康を損なうことにな

細については高度に専門的なものであり、スタンバイ治療の処方熟練した医療従事者のみが行うべきものとする。

三、スタンバイ治療の適応

(1) 予防内服なしの場合

マラリアのリスクが高い場合には予防内服が基本であり、予防内服なしでのスタンバイ治療を勧めるのは、一般にはリスクが低い場合である<sup>34)</sup>。

と題ではなからうか。わが国での法的な扱いについて、厚生労働省の担当部署に問い合わせたところ、①医師が診察をして、当該者に対する当該薬剤の使用が医学的に問題ないことを確認し、②どのような状況で服用すべきか、逆にどのような状況では服用すべきでないかを説明し、③服用手順や服用量、服用の際の留意点、発生しうる副作用などを十分に説明すれば医師法上の問題はな

いと考え、との回答であった。しかし、それぞれの詳細については、①医師が診察をして、当該者に対する当該薬剤の使用が医学的に問題ないことを確認し、②どのような状況で服用すべきか、逆にどのような状況では服用すべきでないかを説明し、③服用手順や服用量、服用の際の留意点、発生しうる副作用などを十分に説明すれば医師法上の問題はな

(2) 予防内服のバックアップの場合

薬剤耐性のために予防効果が低いと予想される場合、副作用、旅行スタイル、本人の性格などから予防内服のコンプライアンスが不良と予想される場合など<sup>35)</sup>では、バックアップとしてのスタンバイ治療も考慮すべきである。

四、予防内服との違い

予防内服とスタンバイ治療の違いを理解することが必要であり、それぞれの長所と短所を表2にまとめた。個々の旅行者においてそれぞれの長所が生かされるかどうか、短所が克服されるかどうか、必要な注意事項が守られるかどうかの十分な検討が必要である。

表2に示すスタンバイ治療の短所についても十分に理解する必要があり、副作用も一般に予防内服よりも高頻度である(例えばメフロキンの場合、六〇倍<sup>36)</sup>)。

五、スタンバイ治療の実態

スタンバイ治療は実際に多く行