

図1 マラリア流行度と薬剤耐性熱帯熱マラリア原虫の分布

クロロキンに対する耐性が、1957年にコロンビアおよびタイから次々に報告された。現在までその耐性の報告がないのは、中国、中近東の一部だけである。またスルファドキシシン/ピリメサミン合剤に対する熱帯熱マラリアの耐性は、同薬剤の使用とほぼ同時の1967年から報告され、これもクロロキン耐性マラリアと同様に世界中に拡散した(中米にはまだ報告がない)。さらに、1977年から世界で使いだされたメフロキンは、わずか5年後の1982年に最初の耐性の報告があった。現在タイ、ミャンマー、カンボジアのメコン川流域国で高度の耐性が認められ、南米の一部でも報告されている。

(WHO センチネルサイトの報告による：文献1より改変して引用)

療が得られずに死亡する例が散見され、その致死率は3.3%と、他の先進国に比べて高い値を示していることが大きな問題である⁶⁾。

V 臨床像および診断・治療法

マラリアは、悪寒戦慄を伴う発熱(多くの例で40℃を超える)、貧血、全身倦怠感、頭痛、食欲不振などが初発症状として現れることが多い。発熱の周期性(三日熱・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)で、感染原虫種を推定できることがある。いずれにせよ、熱帯・亜熱帯を中心とするマラリア流行地からの帰国者・渡航者で発熱を主訴とする患者を診た場合には、まずマラリアを疑うことが重要である。また、熱帯熱マラリアは病状の進行が極めて速く、患者は時間単位で重症化して危機的状況に追い込まれてゆく。表1に重症マラリアの診断基準を示すが⁷⁾、

それぞれには対症的な集中治療が必要となる。

マラリア患者を重症化に陥らせず適切な治療に導くために最も大切なことは、いかに迅速かつ正確にマラリアと鑑別診断できるかである。マラリアの確定診断は、ギムザ染色を施した患者末梢血の薄層塗抹標本を顕微鏡で観察し、赤血球に感染したマラリア原虫を直接検出することによる。感染した原虫の形態から種を鑑別し、赤血球寄生率をもとめることが、治療方針に必要である。一方、患者末梢血中のマラリア原虫由来の特異的蛋白を、免疫学的な手法で迅速に検出できる簡易法が種々キット化されている。原虫特異蛋白に対するモノクローナル抗体が帯状に張り付けてある短冊状濾紙(ディップスティック)に、少量の末梢全血をしみ込ませると、陽性検体では抗体の位置に一致して紫色の線が現れる。本法は熟練した技術を必要とせず、1検体10分程度で検査が終了する。

(1461) 83

表1 重症マラリアの合併症

項目	定義
脳マラリア	錯乱, 譫妄, 昏迷, 感覚鈍麻, 昏睡, 痙攣, 精神神経症状を伴うもの
重症正球性貧血	ヘマトクリット < 15%, ヘモグロビン濃度 < 5 g/dL
腎不全	尿量 < 400 mL/24h, 血清クレアチニン濃度 \geq 3.0 mg/dL
肺水腫	呼吸状態, 胸部レ線像, 中心静脈圧などを総合的に判断
低血糖	血糖値 < 2.2 mmol/L (40 mg/dL) 未満
虚脱, ショック	低血圧 (5歳以下で収縮期血圧 < 50 mmHg 未満, 成人で < 70 mmHg)
凝固系の異常	高度血小板数の低下, DIC (播種性血管内凝固症候群), 眼底出血など
代謝性アシドーシス	動脈血 pH < 7.25, あるいは血清 HCO_3^- < 15 mmol/L
抗原虫血症	赤血球寄生率 \geq 4%
ヘモグロビン尿症	尿が暗赤色で顕微鏡的血尿を示さないときに疑う

上記いずれか1項目でも満たせば重症と診断される。

すなわち鋭敏性, 簡易性, 迅速性に優れ, 今後わが国におけるマラリア診断法として, その導入が強く望まれる。

わが国で輸入マラリア患者に投与することができる抗マラリア薬(薬価収載, 保険適用)は, ファンシダール[®] およびメフロキンに事実上限られる。標準的治療法として, 軽症の熱帯熱マラリア及び他の3種のマラリア(三日熱, 卵形, 四日熱)の場合に, 以下のいずれかの処方を用いる。

(1) スルファドキシシン/ピリメサミン合剤(ファンシダール[®]錠)

通常成人には3錠単回投与。

重大な副作用としてStevens-Johnson症候群が知られる。

(2) 塩酸メフロキン(メファキン「エスエス」錠275[®])

通常成人には体重に応じて, 30 kg以上45 kg未満は, 初回2錠, 6~8時間後に1錠。45 kg以上では, 初回2錠, 6~8時間後に2錠を処方する。

副作用として消化器症状(嘔気, 嘔吐)や平衡感覚障害などの頻度が高い。

(3) 三日熱マラリアおよび卵形マラリアでは, 肝内の休眠型原虫(ヒプロゾイト)を殺滅し再発を防止する根治療法として, primaquine[®]を追加しなくてはならない(30 mg/日, 14日間)。

上記標準的治療法をマラリア患者に施した後, 末梢血塗抹標本を必ず顕微鏡学的に経過観察し, 3日間寄生率が減る傾向が認められない場合(そ

れどころか寄生率が上昇する場合は) WHO基準「早期治療失敗例(early treatment failure: ETF)」(日本語訳が定着していない)と判定し, 早急にMalarone[®] (atovaquone 250 mg・proguanil hydrochloride 100 mg合剤)やRiamet[®] 別名Coartem[®] (artemether 20 mg・lumefantrine 120 mg合剤), キニーネ製剤(Quinimax[®])などの新規薬剤に切り替える。また, 治療開始後4~14日以内に原虫の再燃を見た場合は, 「遅延型治療失敗例(late treatment failure: LTF)」(こちらも日本語訳が定着していない)と判定し, やはり他の抗マラリア薬を処方する。

重度の脳性マラリアまたは極めて高度の原虫血症を示す場合には, アルテミシニン誘導体が第一選択薬となりうる。アルテミシニン誘導体は, 重症度に応じて剤形を選択することができる(静注薬, 筋注薬, 坐剤, 錠剤の順で即効性があるとの報告がある)。また, アルテミシニン誘導体は治療後の再燃率が高いことより, 原虫血症が改善後は, メフロキンを通常量追加する混合療法が一般的な治療法となる(Artemisinin-based combination therapy: ACT)⁸⁾。

上記(1), (2)以外の薬剤の入手法や治療の実際に関する相談などは, 厚生労働科学研究費補助金・創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業「熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究」班(<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/didai/orphan/index.html>)に

問い合わせる。

VI 旅行中の注意と予防法

流行地でのマラリア予防3原則は、①蚊に刺されないための工夫、すなわち防蚊対策、②抗マラリア薬を予防目的で服用すること、すなわち予防内服、③マラリアに罹ったと思われるときに、旅行者自らの判断で抗マラリア薬の治療量を服用すること、すなわちスタンバイ治療である。防蚊対策は徹底して行えば予防効果は高く、マラリア流行地に赴く全員が必ず実施すべきものと位置づけられる。薬物を用いる手段は、個々の旅行者におけるマラリア感染のリスク、および発症後の重症化あるいは死亡のリスク、さらには薬剤の副作用のリスクを総合的に判断して慎重に決定すべきである⁹⁾。

1. 防蚊対策

マラリアを媒介するハマダラカは、夕方から明け方の時間帯に活動し、屋内外で吸血する。旅行者は複数の防蚊対策を実施することで、マラリア感染の可能性を低下させることができる。以下に、防蚊対策のポイントを示す。①窓に網戸を張るなど、屋内への蚊の侵入を防ぐ。エアコン付きの部屋が望ましい。②長袖服・長ズボンなどを着用し、肌の露出を少なくする。③DEET (*N,N*-diethyl-*m*-toluamide)などの昆虫忌避剤を用いると、2時間程度の効果の持続が期待できる。④蚊取り線香や電気式蚊取り器などを使用する。⑤蚊帳を就寝時に使用する。ピレスロイド系薬剤に浸した蚊帳(impregnated bed-net)の忌避効果は高い。

2. 予防内服

日本で現在マラリア予防薬として認可されているのはメフロキンのみである。マラリアの感染リスクが高い地域に滞在する場合、欧米では予防内服を推奨することが多い。

1) 絶対的適応

マラリア流行地域に滞在し、下記a), b)の両者に該当する場合は、防蚊対策に加えて予防内服を行うことが強く勧められる。

a) 熱帯熱マラリアの高度流行地域に滞在する：通常はサハラ以南アフリカ、パプアニューギニア、ソロモン諸島、南米アマゾン川流域などが

この地域に該当する。

b) マラリア発症後に適切な医療対応が期待できない：この項目は、マラリア流行地に入ってから日本に帰国するまでの期間が7日未満の場合には該当しない。なぜなら、マラリアの潜伏期間は短くても7日で、それ以内に帰国するのであれば発症は日本国内となり、十分な医療対応が期待できるからである。

2) 相対的適応

上記の2項目の両者を満たさなければ、防蚊対策を中心に感染予防のアドバイスをする。それでも旅行者の希望が強く、予防内服を選択する場合は、マラリアのリスクと予防内服による副作用のリスクを勘案した上で実施すべきである。

3) マラリア予防薬の用法・用量・副作用

メフロキンを1週間に1錠(250 mg)を同じ曜日に経口投与する。流行地に入る1~2週間前に開始するが、過去に服用歴がない場合には、2~3週間前から開始することが勧められる。また、流行地を離れてからも4週間投与する必要がある。投与期間は、わが国での薬剤添付文書では12週間を原則としている。副作用として悪心・嘔吐など胃腸症状の頻度が高く、精神神経系副作用も見られることがある。めまい、平衡感覚障害、うつ、急性精神病、痙攣など、軽度から重度の症状までが報告されている。服用者の20%以上が何らかの副作用を訴えと言われるが、その殆どは不眠、悪夢などの軽度なものである。

その他、予防薬としてchloroquine, proguanil, doxycycline, Malarone[®]などの適用が考えられるが、用法・用量は成書にあたること。

4) 診療にあたっての留意事項

マラリア予防に関する指導・処方などの医療行為は健康保険の適用外であり、自費診療で実施しなければならないが、特に医師は相談者に服用法ならびに副作用の可能性について十分に説明し、最終的には相談者の同意を得てから処方箋を発行する。

3. スタンバイ治療

スタンバイ治療とは、マラリアを疑わせる発熱があり、迅速に医療機関を受診できない場合に、緊急避難的に抗マラリア薬を投与する方法である。わが国では予防内服は法律的に確立した医療

特集◎ 海外旅行と感染症

行為であるが、スタンバイ治療はその点不明確である。具体的には以下の条件で行う。

① マラリア流行地に入ってから7日以上が経過している。

② マラリアを疑わせる 38℃ 以上の発熱がある。

③ 24 時間以内に医療機関を受診するのが不可能である。

本法はあくまでも緊急避難的な処置であり、医療機関を受診に取って代わるものではない。また、発熱の原因がマラリア以外の疾患の可能性もあり、また、マラリアであったとしても、スタンバイ治療で服用した薬剤が無効のこともありうる。スタンバイ治療後も可及的速やかに医療機関を受診しなければならない。わが国でスタンバイ治療の対象となる薬剤は、メフロキン、スルファドキシシン/ピリメサミン合剤、キニーネ経口薬の3種類である。

VII 今後の課題と展望

わが国の渡航者のマラリア感染管理という課題は、熱帯医学、寄生虫学、国際保健医療学、そして旅行医学の学際的学問領域の専門家が、つとにその重要性を指摘し、具体的な研究・診療活動を続けてきた。特に2001年には、それらの研究の成果もあって、メフロキンによる治療と予防内服目的の投与が国内で承認され、同薬の適切な処方に関して特別な注意が必要となってきた。そこで、厚生労働科学研究費新興・再興感染症研究事業「マラリアの感染予防および治療に関する研究 (H15-新興-22)」(主任研究者：狩野繁之)等で、その研究班員を中心とした「マラリア予防専門家会議」を特別に編成し、わが国の「マラリア予防ガイドライン」を上梓することができた⁹⁾。ガイドライン作成の目的は、わが国の一般臨床医によるマラリア予防の円滑な実施が行えるための指針を示すこと、特に化学的予防法(予防内服、スタンバイ治療)が行えるようにすることである。目標としては、① 日本からの旅行者のマラリア感染を予防し、不慮の感染による重症化や死亡を回避すること、② 不必要な化学的予防による副作用の発生を防ぐこと、を掲げた。

一方、わが国からのマラリア流行地への渡航者

に、現地でのマラリア感染予防に関して適切なトラベルアドヴァイスができる医療の充実が求められている。筆者が併任する「国立国際医療センター渡航者健康管理室」には、現在旅行医学の専門分野の情報を結集して、有用な情報提供や予防内服薬の処方、さらには万一感染した場合の診断・治療に関して、十分な医療の提供が行えるような体制が整備されている。わが国へのマラリアの輸入が増えてゆく見通しの中で、今後医療従事者のみならず渡航者自身のマラリア感染への関心を高めてゆく必要がある。

文 献

- 1) Shlagenthauf P: Travelers' malaria, some historic perspectives. "Travelers' malaria" Shlagenthauf P ed. BC Decker Inc, London, 2001, p1-13
- 2) Escalante AA, Ayala FJ: Phylogeny of the malarial genus *Plasmodium* derived from the rRNA gene sequences. Proc Natl Acad Sci USA 91: 11373-11377, 1994
- 3) WHO and UNICEF: Global malaria situation. "World Malaria Report 2005" WHO, Geneva, 2005, p5-17
- 4) Singhasivanon P, et al.: Antimalarial drug efficacy and resistance; Mekong malaria II. Southeast Asian J Trop Med Pub Health 34 (supplement 4): 71-87, 2003
- 5) Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Prevention of relapses of *P. vivax* and *P. ovale*: terminal prophylaxis with primaquine. "Health Information for International Travel 2003-2004" Arguin PM, et al. ed. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, 2003, p109-110
- 6) 木村幹男, 狩野繁之: 輸入マラリアの現状と治療・予防. 感染症 34: 29-39, 2004
- 7) WHO, Communicable Disease Cluster: Severe falciparum malaria. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 94 (supplement 1): 1-90, 2000
- 8) WHO: Antimalarial drug combination therapy-report of a WHO Technical Consultation (WHO/CDS/RBM/2001.35), RBM/WHO, Geneva, 2001
- 9) マラリア予防専門家会議: マラリア予防. "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. フリープレス, 東京, 2005, p19-34

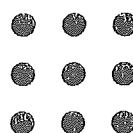
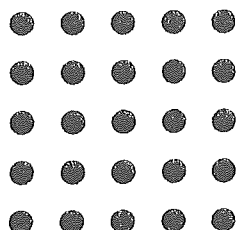
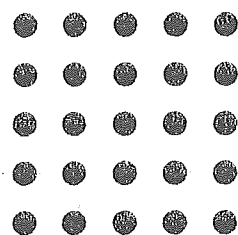
症例に学ぶ

EBM指向

輸血検査・治療

Evidence-based Medicine Oriented Case Studies in Transfusion Medicine

●編集代表 大戸 齊
●編集 金光 靖
佐藤進一郎
東谷 孝徳
藤井 康彦
安田 広康



医歯薬出版株式会社

輸血後発熱が認められ，その後急速に傾眠傾向，意識消失をきたした症例

症例 70 歳代，女性

千葉県船橋市在住の日本人。海外渡航歴なし。麻薬，覚醒剤等の常用歴なし。

既往歴

- 6年10カ月前：A型肝炎，血小板減少症（8万/ μ l）。
- 3年前：鼻出血が止まらず入院（1カ月間），血小板数4.7万/ μ l。
- 2年前：腰痛で入院（1カ月間），血小板数6.6万/ μ l。
- 2カ月前：腰痛のため再度入院（1カ月間）。

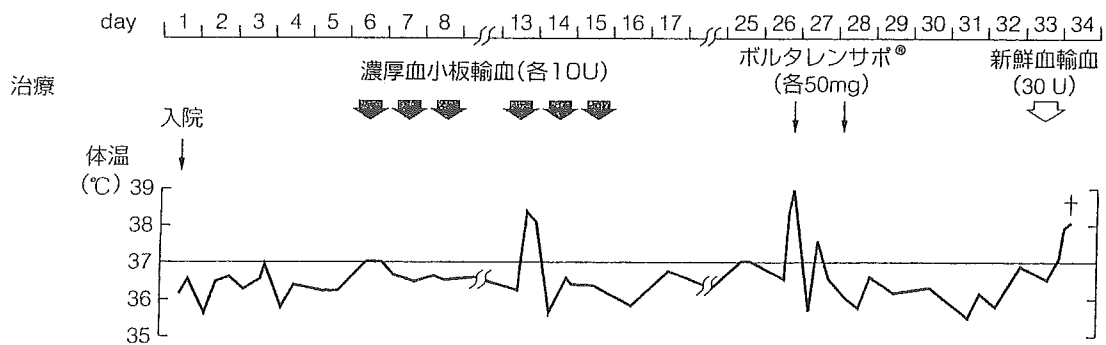
現病歴と現症

腰痛の悪化を主訴として入院した。単純X線写真で第3腰椎に圧迫骨折像が認められ，骨粗鬆症と診断された。また，右上肢手拳大皮下出血，白血球数の減少（3,000/ μ l），血小板数の減少（5.8万/ μ l）が認められた。

経過（図1）

血小板減少症の治療のため，day 6, 7, 8, 13, 14, 15に10単位ずつ合計60単位濃厚血小板輸血を行ったが，改善は認められなかった。

day 26，突然の悪寒戦慄，発汗を伴う39℃の発熱を示した。ボルタレンサポ® 50mgを投与し，いったん解熱した。day 27，悪寒を伴う37.6℃の発熱が再度出現し，翌朝ボルタレンサポ® 50mgで解熱した。day 31の19時，顔色優れず，21時より



WBC (μ l)	3,000	2,800	3,500	3,000	17,300	20,400
RBC ($\times 10^4/\mu$ l)	364	364	374	368	223	233
Hb (g/dl)	12.2	12.2	12.6	12.4	7.2	7.6
Ht (%)	36.1	35.9	36.4	35.6	22.1	22.9
Plt ($\times 10^4/\mu$ l)	5.8	5.8	4.7	4.1	2.7	2.1

マラリア原虫赤血球寄生率 (%)	0	(day 19) 0	0.06	5.5	1.9
抗熱帯熱マラリア原虫抗体価			< 1:4	1:256	1:256
抗三日熱マラリア原虫抗体価			< 1:4	1:16	1:4

図1 患者経過

酸素吸入を開始した。day 32, 食欲低下, 傾眠傾向, 悪寒を訴えるも平熱。ところが day 33 の 6 時, 朦朧状態となり尿閉に陥った。10 時, 眼球運動が停止したが, 呼嚕には反応した。中脳における出血を疑い, 脳 CT スキャンを行うが異常を認めなかった。血糖値 14 mg/dl, インスリン値 3.3 μ U/ml を示し, 低血糖による脳機能低下を疑いブドウ糖を投与するも効果が認められなかった。22 時 15 分, 37.1 $^{\circ}$ C の発熱, 顔面に痙攣が認められ, 意識は消失に至った。23 時, 顔色悪く, 貧血も高度になり, 新鮮血 3 単位を輸血した。day 34 の 6 時, 体温 38.1 $^{\circ}$ C。意識消失状態。徐々に血圧, 呼吸数, 脈拍数が低下し, 8 時, 心停止をきたして死亡した。

エビデンス への 道しるべ

輸血後に一過性の発熱をみることは临床上よく経験される。これを輸血による医原病性感染症の発熱や, 患者の基礎疾患による発熱などと鑑別することが重要である。以下の 3 つの場合に分けて考察するとよい。

- ①患者状態をよく観察し, 原因検索 (感染症, 悪性腫瘍, 膠原病など) を優先する。
- ②一般細菌 (とくに MRSA, 緑膿菌, 腸内細菌), ウイルス, 抗酸菌, 真菌, 寄生虫などの感染症を, 一般検査や特異的検査を参考に鑑別する。感染症の関与が強く疑われる場合では, 原因病原体が絞り込めなくても, 広域抗菌薬や多剤併用療法で治療を開始する場合がある。治療効果が逆に病原体の鑑別に参考となる場合もある。
- ③ HIV 関連の発熱は, 原因特定に注意を要する。感染症の頻度が高いが, 悪性リンパ腫, 薬剤熱などが重要となる。感染症の原因病原体も HIV/AIDS 患者では特異的になり, 臨床症状も非定型的になりやすいので, 特段の注意が必要である。

本症例の場合には, まずマラリアの感染様式を整理しておくことが, 原因解明へのキーポイントとなる (表 1)。それぞれの感染ルートの可能性の有無を, 患者への問診などによりまず確認することが重要である。

表 1 マラリアの感染様式

1) 土着マラリア (indigenous malaria)	マラリア流行地で, 感染蚊の吸血で唾液腺から原虫 (スポロゾイト) が血中に刺入されて感染し, 現地で発症する例
2) 導入マラリア (introduced malaria)	流行地以外で, 感染蚊の吸血で感染する例
①空港マラリア (airport malaria)	感染蚊が飛行機などによって流行地から運ばれてきて, 非流行国の国際空港などで吸血を受けて感染する例
②旅行鞆マラリア (baggage malaria)	さらに旅行者のカバンの中などに感染蚊が潜み, 流行地をはるかに離れた地域に運ばれた蚊で感染する例
3) 輸入マラリア (imported malaria)	流行地で蚊の吸血により感染し, 潜伏期間内に非流行地域に移動した後に発症する例 (わが国のマラリア患者のほとんどはこのパターンである)
4) 誘発マラリア (induced malaria)	原則として蚊の吸血以外で感染する例
①医原病性マラリア (iatrogenic malaria)	病院内で検査・治療などの医療行為に伴って, 他のマラリア患者の検体から, 無性生殖期の原虫が感染する例
a) 移植マラリア (transplanted malaria)	臓器移植 (肝臓など) や輸血で, マラリア患者から直接感染する例
・輸血マラリア (transfused malaria)	供血者の赤血球に寄生したマラリア原虫が, 直接受血者に輸注されて感染する例
b) 院内感染マラリア (nosocomial malaria)	院内針刺し事故などで, 患者血液で感染する例
②実験室マラリア (laboratory malaria)	マラリア原虫を取り扱う研究室などで, 誤って感染蚊に刺されたり, 感染血液から直接感染する例

下線は日本語訳が定着していない

1. 検査法

ヒトに感染する4種のマラリア（熱帯熱マラリア，三日熱マラリア，四日熱マラリア，卵形マラリア）のうち，熱帯熱マラリアは病状の進行がきわめて速く，時間単位で患者は危機的状況に追い込まれていくので，迅速かつ適切な診断技術が求められる。血液塗抹標本の顕微鏡検査がスタンダードであるが，さまざまな補助診断法も有用である。

1) 顕微鏡検査法

マラリアの確定診断は，ギムザ染色を施した患者末梢血の薄層塗抹標本を顕微鏡で観察し，赤血球に感染したマラリア原虫を検出することによる。その形態的特徴によって，4種のマラリアを鑑別することができる。

2) 迅速診断法（ディップスティック法）

患者末梢血中のマラリア原虫由来の特異的蛋白を，免疫学的な手法を応用して検出できるさまざまな簡易法がキット化されている。原虫特異蛋白に対するモノクローナル抗体が帯状に張り付けてある短冊状濾紙（ディップスティック）に，少量の末梢全血をしみ込ませる。陽性検体はモノクローナル抗体に一致して紫色の線が認められる。本法は熟練した技術を必要とせず，1検体10分程度で検査が終了する。その鋭敏性，特異性，再現性，簡易性のうへで，今後わが国でも診断法としての有用性が高まるものと考えられるが，現在はまだ検査法として認可されていない。

3) 原虫の核酸検出法

マラリア患者末梢血中の原虫由来の核酸を検出することで，顕微鏡検査にまさる鋭敏性，特異性をもった検査法が開発されている。polymerase chain reaction (PCR)法の応用による診断法では，ヒトに感染する4種の原虫にそれぞれ特異的なDNA配列を増幅することで，種の鑑別診断が可能となる。

4) フローサイトメトリーによる原虫検出法

感染赤血球を溶血させ，原虫の核を蛍光色素ヨウ化プロピジウム（PI：propidium iodide）で染色した後フローサイトメーターで解析する方法が開発過程にある。一般検査室で大量に処理することができるので（1検体およそ30秒ほど），今後輸血製剤のスクリーニングなどで有用性を発揮できると考えられている。

5) 抗体検出法

間接蛍光抗体法が，マラリアの血清学的診断法としては信頼度の高い標準法として用いられている。マラリア患者は，発症後数日から治癒後およそ1年にわたりマラリア原虫抗原に対する一定量の抗体を血清中に保つが，本法はこの原虫特異抗体の検出を目的とする。臨床的にはマラリアを疑うけれども顕微鏡検査で原虫が確認できない場合や，マラリア流行地での発熱の原因を帰国後確定したい場合などできわめて有用である。

2. 本症例の血液検査所見

1) 顕微鏡検査

day 33 の血液薄層塗抹標本像を図 2 に、マラリア原虫赤血球寄生率の推移を図 1 に示した。熱帯熱マラリア原虫の寄生率は患者の死亡前に急激に上昇していた。

2) 抗体検査

間接蛍光抗体法による血清中のマラリア抗体価の推移を図 1 に示した。day 33 になって熱帯熱マラリア原虫に特異的な抗体が高く検出された。

3) 血液検査

経時的な血液細胞学的検査所見を図 1 に示した。また、入院初期 (day 4)、初回発熱時 (day 27)、死亡直前 (day 34) のおもな血液生化学的所見を表 2 に示した。貧血、血小板減少、肝機能障害、腎機能障害など、マラリア合併症候が顕著である。なお、day 26 に血液の一般細菌培養を行ったが、陰性の結果を得た。

図 2 血液薄層塗抹標本像

表 2 本症例のおもな血液生化学的所見

探血日	day 4	day 27	day 34
TP (g/dl)	7.0	7.1	4.0
ALB (g/dl)	3.4	3.5	2.2
TTT (U)	8.7	8.5	7.9
ZTT (U)	22.9	23.3	12.0
T - Bil (mg/dl)	0.7	1.2	11.0
D - Bil (mg/dl)	0.2	0.4	5.8
AST (IU)	69	81	7,710
ALT (IU)	75	57	1,425
LD (IU)	531	553	15,105
ALP (K - U)	17.2	14.3	36.5
γ - GTP (IU)	35	31	14
LAP (IU)	73	79	91
ChE (IU)	197	232	138
UN (mg/dl)	7.7	29.5	83.4
Creatinin (mg/dl)	0.8	1.3	4.7
Na (mEq/l)	135	138	145
K (mEq/l)	3.5	3.3	6.8
Cl (mEq/l)	102	102	95
Ca (mg/dl)	8.6	8.1	6.4
T - cho (mg/dl)	172	149	50
TG (mg/dl)	84	130	110

どう考える？

マラリア

マラリアの診断においてもっとも重要なことは、発熱者が流行地帰りか否かをきくことである。その他、マラリアの感染様式（表1）にあるような機会が患者にあったか、一つ一つ確認してゆかなければならない。まず、本患者は海外渡航歴がなく、「輸入マラリア」ではありえない。また、千葉県船橋市に在住していたが、成田空港からの直線距離は40 kmであり、万一マラリア感染蚊が外国から運び込まれたとしても、その飛翔距離には入っていないと考えられ、「導入マラリア」の可能性は否定できる。最終的には、「誘発マラリア」の中の「輸血マラリア」の可能性が、現病歴から残ることとなる。

輸血マラリア

果たして本症例はきわめて不幸な転帰をたどったが、医師がその経過でマラリアを疑うには、あまりに非定型的な例であったと考えられる。死亡直前に至っては、傾眠傾向、眼球運動障害、意識消失などの精神神経症状を合併した脳性マラリアに陥ったと診断でき、本患者は、マラリアによる急速な多臓器重症合併症（WHO基準：文献2参照）により死亡したと考えられる。しかしながら、本患者にはマラリアの治療は施されなかった。day 33に検査室が作製した薄層塗抹標本中にマラリア原虫を検出するのが、翌早朝の死亡時より遅れたためである。さらに後になって、day 4, 19, 27の標本が保存されていることが判明し、それらを注意深く鏡検したところ、day 4, 19の標本には原虫が確認することができなかったが、day 27の標本には赤血球寄生率0.06%の熱帯熱マラリア原虫が検出された。標本中の原虫は形態的に定型的でなく、また感染率も低いことより、この標本からの虫体の検出は一般検査技師・医師に要求される能力をこえていると考えられた。一方、後日行った間接蛍光抗体法によるマラリア抗体検査で、day 33, 34の血清は抗熱帯熱マラリア原虫抗体価が1:256と高値を示し、血清学的にも熱帯熱マラリアとの診断が可能である。またday 27の血清は、抗体価は陰性であった。一般に原虫血症を示してから血清中の抗体価が上昇するまでには数日かかり、day 27は感染してまだ間もない時期であったと考察される。

熱帯熱マラリア

以上標本観察と抗体検査との所見により、本患者のマラリア感染の経過は、day 6以来一連にわたって行われた濃厚血小板輸血により、マラリア原虫が感染した赤血球が混入して本患者に輸注されたと考えるのがもっとも考えやすい。

結論は？

濃厚血小板輸血により感染したと考えられる熱帯熱マラリア

文 献

- 1) 狩野繁之, 他: 日本における輸血マラリア—血小板輸血により感染したと考えられる熱帯熱マラリア1症例を中心に—. 日熱医学会誌, 22: 193~198, 1994.
- 2) WHO: Severe falciparum malaria. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 94(supple): 1~31, 2000.

(狩野繁之・鈴木 守)



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

Parasitology International xx (2005) xxx – xxx

www.elsevier.com/locate/parint

Keys to success for a school-based malaria control program in primary schools in Thailand

Hironori Okabayashi^{a,b,*}, Pimpimon Thongthien^c, Pratap Singhasvanon^a, Jitra Waikagul^a,
Sornchai Looareesuwan^a, Masamine Jimba^d, Shigeyuki Kano^e, Somei Kojima^{a,f},
Tsutomu Takeuchi^g, Jun Kobayashi^{a,b}, Seiki Tateno^b

^a The Asian Centre of International Parasite Control, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Thailand

^b Expert Service Division, Bureau of International Cooperation, International Medical Center of Japan, Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan

^c Office of Basic Education Commission, Ministry of Education, Thailand

^d Department of International Community Health, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Japan

^e Research Institute, International Medical Center of Japan, Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan

^f Center for Medical Science, International University of Health and Welfare, Japan

^g Department of Tropical Medicine and Parasitology, Keio University School of Medicine, Japan

Received 7 September 2005; accepted 25 November 2005

Abstract

School-based malaria control has been recognized as a new approach for the control of this disease in the Greater Mekong Subregion since 2000. We evaluated a school-based malaria control program near the western border of Thailand using a before–after intervention study. The major intervention activities included teacher training with specialized malaria teaching materials and participatory learning methods. The target population was 17 school principals, 111 teachers and 852 schoolchildren of grade 3, 4, and 5 in 17 schools. After the intervention, the teachers taught about malaria more actively than before. The teachers who could design a lesson plan on malaria increased from 30.7% to 47.7% ($p=0.015$) and the teachers who had taught about malaria increased from 71.9% to 84.3% ($p=0.035$). As a result of the program, the schoolchildren changed their behavior positively towards malaria prevention with significant difference in 6 of 7 questions. For example, the schoolchildren ‘who always took care of mosquito bites’ increased from 42.7% to 62.1% ($p<0.001$) and the schoolchildren ‘who always reported their parents or teachers when they had fever’ increased from 36.0% to 56.0% ($p<0.001$). In conclusion, the keys to a successful intervention lie in good teaching materials and a participatory approach utilizing the well-established Thailand’s school health system. Beyond Thailand, school-based malaria control could be applied to other Greater Mekong Subregion countries with careful analysis of school health context in each country. © 2005 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: Malaria control; School health; Education; Schoolchildren; Thailand

1. Introduction

In many tropical countries, malaria control programs have used community-based approaches. For example, community members have received antimalarial treatment, indoor spraying with insecticides, insecticide-treated mosquito nets and health education through such programs [1,2]. These community-

based approaches are indeed essential for malaria control. However, we need other inexpensive but effective approaches to change the behaviors of people at risk of malaria to supplement these community-based approaches in tropical countries [3].

As for a possible approach to changing malaria-related high risk behaviors, health education programs were implemented for malaria control in schools beginning in the late 1980s and positive changes in knowledge and attitudes have been observed [4–6]. During the 1950s and 1960s, before such programs were developed, antimalarial drugs were distributed to schoolchildren resulting in reductions in parasite prevalence in some parts of Africa [7]. Moreover, a program in which

* Corresponding author. Expert Service Division, Bureau of International Cooperation, International Medical Center of Japan, Ministry of Health, Labour and Welfare, 1-21-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8655, Japan. Tel.: +81 3 3202 7181x2739; fax: +81 3 3205 7860.

E-mail address: h-okabayashi@it.imcj.go.jp (H. Okabayashi).

trained teachers to diagnose schoolchildren with malaria and treat them in primary schools was implemented in the 1990s in Tanzania, and resulted in reducing schoolchildren's absenteeism [8]. As more evidence has been reported about the influence of malaria on schoolchildren's absenteeism and cognitive performance [9,10], effective school-based approaches are anxiously awaited.

In 2000, Bundy et al. analyzed the contents of school-based malaria control programs from many perspectives [11]. Health education could promote disease prevention, because schoolchildren have come to recognize its environmental risks as well as the signs and symptoms of malaria. They have also learned to seek diagnosis and treatment. Schoolchildren could be agents for change and, indeed, it can be expected that malaria education through schools could help promote a community-wide understanding of malaria. However, the means by which the programs are introduced and implemented is not standardized; depending on the school health system of respective countries. Some programs have already included malaria education for schoolchildren as a part of community-based malaria control programs [3,12,13] and the programs were effective as a whole. However, the impact of malaria education for schoolchildren in the community has been difficult to discern from previous studies.

In this context, some organizations began implementing school-based malaria control programs around 2001 in the Greater Mekong Subregion. In Thailand, school-based malaria control programs were introduced in some limited border areas in 2001, as well. Kenan Institute Asia started "Border Action Malaria Control Program" in 25 primary schools in two provinces on the north-western border between Thailand and Myanmar in 2001. The Asian Centre of International Parasite Control (ACIPAC) also started a school-based malaria control program in one primary school in 2001 on the western border between Thailand and Myanmar. ACIPAC introduced the program to three other primary schools in the same district in 2002, and then to all the 24 primary schools in the same district in 2003. However, the effectiveness of such school-based malaria control programs, even on the schoolchildren themselves, have not yet been reported in the Greater Mekong Subregion.

The aim of this study was to evaluate ACIPAC's approach to the introduction of school-based malaria control and to describe the effectiveness of the program on schoolchildren in the target primary schools in Thailand.

2. Materials and methods

2.1. Study site

Suan Phung District, Ratchaburi Province is located on the western border between Thailand and Myanmar. Malaria is still endemic in this area. The Vector Borne Disease Control Unit 2 in Suan Phung District reported that the malaria incidence of the district was 58.2/1000 in 2001, whereas that of Thailand was 1.17/1000 in 2001 (Ministry of Public Health Thailand unpublished report 2004). The district

has 24 governmental primary schools; 22 belong to the Ministry of Education and 2 belong to the Border Patrol Police Bureau, the Ministry of Interior. We introduced the program to all of the 24 schools in the district and we selected 14 of 24 schools for this study. First, we excluded seven schools; two belonged to the Border Patrol Police; four had introduced a school-based malaria control program before this study; and one was a branch school. Second, we selected 14 from the remaining 17 schools; we randomly selected three from six which had more than 200 schoolchildren, then we selected all of the remaining eleven which had less than 200 schoolchildren.

2.2. Survey method

We performed a before–after intervention study. The study was conducted from November 2003 to August 2004. After taking the baseline survey, we introduced a school-based malaria control program to the target schools in November 2003. The post survey was conducted nine months after introducing the program in August 2004.

Quantitative techniques were used for the pre- and post-surveys. The survey questionnaires were designed for 14 school principals, 111 teachers and 852 schoolchildren of grade 3, 4, 5, respectively. Of these, 14 school principals, 93 teachers and 631 schoolchildren joined the study.

The questionnaire for the school principals included questions about the context of malaria education in the school. The questionnaire for the teachers included 20 questions on their knowledge of malaria and self-evaluation of their teaching skills and teaching activities on malaria education. The questionnaire for the schoolchildren included ten questions on their knowledge of malaria, and seven on the practice malaria prevention. The questions about teachers' and schoolchildren's knowledge of malaria covered material that the Thai Ministry of Education regarded as necessary for teachers to teach about malaria and as necessary for schoolchildren to know about the disease, respectively. They regarded 70% or above correct answers as passing. The school principals and teachers filled out their questionnaires by themselves. The teachers distributed the schoolchild questionnaires to the schoolchildren who filled them out by themselves. For the post-survey, some parts of the questionnaires for the school principals and the teachers were modified. Some specific questions for the pre-survey were deleted and some specific questions for the post-survey were added, but the questions designed to compare before and after the intervention were not changed. The questionnaire for the schoolchildren was the same before and after the intervention.

This study was approved by ACIPAC's project management committee, which consists of 13 Thai and 4 Japanese representatives. For data collection, we informed the participants that we would maintain their confidentiality and anonymity. We also told them that their participation was voluntary, and that if they wished to withdraw from the study, they could leave at any point without any obligation. We then verbally obtained their consent to participate in the study.

Data were entered in the computer using SPSS (version 11.0). Statistical analysis was performed using the McNemar test.

3. The intervention

For the intervention, we provided each school with teaching manuals and schoolchildren's textbooks and held teacher training. Planning and implementation of malaria education was carried out by each school independently.

3.1. Malaria teaching materials and training

We developed a teaching manual for teachers and a textbook for schoolchildren, and held a 3-day teacher training. The teaching manual first explains basic facts about malaria. It also explains how teachers should teach about malaria to the schoolchildren. The manual includes lesson plans by grades; methods to integrate malaria education with other subjects; and examples of activities and examinations. The schoolchildren's textbook explains facts about malaria in simple language with cartoons. The basic facts about malaria cover its causes, symptoms, treatment and prevention methods.

The training was held using these materials. The school principals and one to five teachers from each school participated in the training. The number of the teachers varied according to the size of each school. After the training, the teaching manuals were distributed to all the teachers and the textbooks were distributed to all the schoolchildren of all the 17 schools.

3.2. Activities of malaria education in primary schools

After the distribution of the training and teaching manual, different schedules of malaria education were carried out at each school. Their activities are categorized as follows. 1) Lectures on the facts about malaria, 2) integration of malaria education with other subjects, such as writing essays about malaria in Thai classes, drawing pictures and singing songs about malaria in art classes, 3) outdoor activities, such as mosquito surveys, destroying breeding sites of mosquitoes, interviewing community members about malaria, 4) sending messages about malaria prevention from schoolchildren to community members by having the children produce information, education, communication (IEC) materials and bring them to their homes, issuing newsletters and posting billboards in the communities, 5) holding community events for malaria prevention by involving the parents and community members.

3.3. Expenses

It cost about US\$2600 to develop, print and deliver the teaching materials. Four hundred manuals and 7000 textbooks were provided. It cost about US\$2200 to hold the three-day teacher training. Twenty school principals and 53 teachers participated in the training. The total cost was about US\$4800;

which came to 80 cents per schoolchild. This covered not only the 17 schools in the survey but also the other 7 schools in the district. All the expenses for the activities of malaria education in primary schools were covered by schools' own recurrent budget.

4. Results

4.1. Changes in malaria education at the school level

Before introducing the malaria education program, all the schools had considered malaria to be an important issue and all had some activities for malaria prevention. However, of 14 schools, only 3 schools had their own malaria curriculum and 7 schools recorded the number of schoolchildren who contracted malaria, which was based on reports by schoolchildren or parents. In 5 schools, the teachers had discussed malaria prevention with parents but the other 9 schools had never done it. All the 14 school principals answered that the teachers occasionally told the schoolchildren to be careful not to contract malaria, however, many of them did not do any further teaching about malaria. Four schools had both teaching materials for teachers and learning materials for schoolchildren. Three schools had only teaching materials or learning materials. Seven schools had neither teaching materials nor learning materials. However, those materials were not designed for malaria education in primary schools; they were brochures for the general community distributed by hospitals or health centers.

After introducing the malaria education program, we identified several improvements. First, the teachers of 12 schools discussed malaria education and the teachers of 8 schools made their own malaria curriculum. Second, 13 of 14 schools recorded the number of schoolchildren who contracted malaria and discussed malaria prevention with parents (Table 1). Third, all the school principals answered that no teachers opposed teaching malaria in their schools, nor did any of the parents.

As a result, all the schools implemented a malaria education program in all the grades, although the activities varied school by school. In 8 schools, the teachers made their own curricula. In the other 6 schools, however, the teachers used the sample curriculum in our teaching manual to teach malaria. All the schools implemented lectures that taught malaria facts and integrated of malaria education with other subjects. Eleven schools implemented outdoor activities and twelve schools sent malaria prevention messages to community members through

Table 1
Changes in malaria education at the school level ($n=14$) (Before: November 2003; After: August 2004)

Activity	Before	After
Discuss malaria education among teachers	— ^a	12
Have own curriculum of malaria education	3	8
Record the number of schoolchildren who contracted malaria	7	13
Discuss malaria prevention with parents	5	13

^a No data.

Table 2
Changes in malaria education at the teacher level ($n=93$)^a (Before: November 2003; After: August 2004)

	Before	After	<i>p</i> value
	No. (%)	No. (%)	
<i>Teachers' ability</i>			
Have enough knowledge to teach about malaria ($n=91$) ^b	45 (49.5)	45 (49.5)	1.000
Can design a lesson plan on malaria ($n=88$) ^b	27 (30.7)	42 (47.7)	0.015
<i>Teaching activity</i>			
Have taught about malaria ($n=89$) ^c	64 (71.9)	75 (84.3)	0.035
Have integrated malaria education with other subjects ($n=87$) ^c	50 (57.5)	77 (88.5)	<0.001
Have sent messages for malaria prevention to the community through schoolchildren ($n=90$) ^c	24 (26.7)	49 (54.4)	<0.001

^a Those who answered invalidly were excluded from respective questions.

^b Those who answered 'yes' from 'yes', 'a little', 'little' and 'no'.

^c Those who answered 'often' or 'sometimes' from 'often', 'sometimes', 'little' and 'never'.

schoolchildren. Three schools held community events, involving parents and community members, to appeal for malaria prevention.

4.2. Changes in malaria education at the teacher level

Before introducing the malaria education program, 45 (49.5%) teachers responded that they had enough knowledge to teach about malaria. Seventy-two (79.1%) teachers answered correctly more than 70% of the questions on knowledge of malaria. After the intervention, 82 (90.1%) teachers answered correctly more than 70% of the questions. No significant difference was found in the number of teachers who answered more than 70% of the questions correctly before and after the intervention. Statistically, there was also no significant difference in the teachers' self-evaluations of their own knowledge of malaria before and after the intervention.

Before introducing the malaria education program, 25 (28.1%) teachers had taught little or nothing about malaria, although all of them considered malaria to be an important issue in their schools. Main reasons for not teaching malaria were 'not enough knowledge' (10 teachers), 'no time' (8 teachers), 'no techniques to teach about malaria (7 teachers)', 'no curriculum' (5 teachers) and 'no materials' (4 teachers). Sixty-four (71.9%) teachers answered that they had taught about malaria often or sometimes; but only 24 (26.7%) teachers had sent messages to the community through schoolchildren.

After introducing the malaria education program, the numbers of the teachers 'who could design a lesson plan on malaria', the teachers 'who had taught about malaria', the teachers 'who had integrated malaria education with other subjects' and the teachers 'who had sent messages to the community through schoolchildren' increased with significant statistical differences. (Table 2).

4.3. Changes of schoolchildren's knowledge and behaviors

Before introducing the malaria education program, 469 (75.0%) of the schoolchildren 'had heard about malaria often or sometimes', but 156 (25.0%) of the schoolchildren answered that 'had not heard about malaria' or 'I do not know'. After introducing the malaria education program, the schoolchildren who 'had heard about malaria often or sometimes' increased to 595 (95.2%) and the schoolchildren who answered 'had not heard about malaria' or 'I do not know' decreased to 30 (4.8%). A statistically significant difference was detected before and after the intervention. However, the test scores fell even after the malaria education was implemented. Whereas 465 (73.7%) of the schoolchildren answered more than 7 of the 10 questions correctly before the intervention, 357 (56.6%) of the schoolchildren answered correctly more than 7 of the 10 after the intervention.

In 6 of 7 questions, their behaviors changed markedly, with significant statistical differences. Before introducing the malaria education program, 509 (81.8%) of the schoolchildren had always slept in mosquito nets; but the number of the schoolchildren who always took care of mosquito bites were 265 (42.7%). After introducing the malaria education program, the schoolchildren who always took care of mosquito bites increased to 385 (62.1%). The schoolchildren who always tried to go in mosquito nets as soon as possible after dinner increased from 95 (15.3%) to 121 (19.5%), but no significant difference was detected in this question. The schoolchildren who often or sometimes talked about malaria with their family, the schoolchildren who always told their family to sleep in mosquito nets when they did not do so, the schoolchildren who always reported their parents or teachers when they had fever, and the schoolchildren who always went to receive a blood examination when they suspected that they had contracted malaria also increased after the intervention (Table 3).

Table 3
Changes of schoolchildren's behaviors ($n=631$)^a (Before: November 2003; After: August 2004)

Practice	Before	After	<i>p</i> value
	No. (%)	No. (%)	
Sleep in mosquito nets ($n=622$) ^b	509 (81.8)	538 (86.5)	0.014
Take care of mosquito bites ($n=620$) ^b	265 (42.7)	385 (62.1)	<0.001
Try to go in mosquito nets as soon as possible after dinner to avoid mosquito bites ($n=621$) ^b	95 (15.3)	121 (19.5)	0.051
Tell family to sleep in a mosquito net	242 (39.1)	352 (56.9)	<0.001
Tell parents or teachers soon when feverish ($n=623$) ^b	224 (36.0)	349 (56.0)	<0.001
Go to receive a blood examination when I suspected that I had contracted malaria ($n=623$) ^b	172 (27.6)	336 (53.9)	<0.001
Talk about malaria with family ($n=615$) ^f	358 (58.2)	481 (78.2)	<0.001

^a Those who answered invalidly were excluded from respective questions.

^b Those who answered 'always' from 'always', 'sometimes', 'no' and 'I do not know'.

^c Those who answered 'often' or 'sometimes' from 'often', 'sometimes', 'no' and 'I do not know'.

5. Discussion

This study revealed that our school-based malaria control program was effective in changing schoolchildren's behavior with regards to malaria prevention in Thailand. Our results suggest that the keys to successful intervention lie in teacher training, with specialized malaria teaching materials, participatory learning methods, and the well-established school health system in Thailand.

First, the school principals took action to improve malaria education soon after the training and distribution of the teaching materials, and the teachers quickly started to teach about malaria. Before the training, the teachers had acknowledged the importance of malaria and had enough knowledge to teach about the disease. By training them on how they should use their knowledge to teach about malaria using the teaching materials, the teachers' attitudes towards tackling malaria in their schools were markedly improved.

After the schools actively implemented malaria education, we observed positive changes in schoolchildren's behavior towards malaria prevention. Such positive results were seen as we encouraged the teachers to use various participatory learning methods, including child-to-child approaches. The importance of these types of approaches, has been recognized. Some studies reported effectiveness of health education using child-to-child approaches [14–16]. For malaria control, it was reported that participatory learning methods were effective in changing behaviors [5].

However, schoolchildren's knowledge about malaria fell even though they came to hear about malaria more often. This might be due to a problem with the teachers' assisting the schoolchildren with the answers to the pre-survey. In the pre-survey, some teachers seemed to have led schoolchildren to the same answers when they filled out knowledge part of the questionnaire. This was suspected because almost all the answers were the same on this portion of the questionnaire in certain schools. However, this problem was not seen in the practice part of the questionnaire or in the post-survey.

As a product of schoolchildren's active participation for the program, the schoolchildren started to play important roles as messengers for malaria prevention. The teachers sent malaria prevention messages to the community through the schoolchildren by issuing newsletters or posting billboards with IEC materials made by the children themselves. The schoolchildren also reached the community through outdoor activities. The schools held community events involving parents and community members appealing for malaria prevention. These activities match the concept of WHO's health promoting school [17], which states that school health is not only for health of the schoolchildren but also health of the community. In our program, the schools indeed have involved the community in the malaria control program.

Education and collaboration with the community are important components in the struggle against malaria [13]. To achieve better results from community-based malaria control programs, improvement in the knowledge and behaviors of community members is essential. Although the

schoolchildren sent malaria-related messages to their community in this program and it could be expected to bring some impact on community members, we did not survey its effect. Some previous studies have included malaria education of schoolchildren as a part of community-based malaria control program [3,12,13]. They also concluded that schoolchildren could be channels to the community but clear-cut evidence has not yet been shown in this kind of study. Further study is necessary to reveal the impact of malaria education through schools on community members.

Another challenge is how to scale-up this program to the other endemic areas of Thailand. We utilized Thailand's well-established school health system [18] and introduced the program by showing how the schools should integrate the new activities into the existing activities with the provided teaching materials. The schools accepted the program and regarded it as one of their Health Promoting School Project activities. Phinney et al. proposed that school health programs should be integrated into the curricula [19] since programs that are not based on the curricula might increase teachers' work load. It might be possible to scale-up this program to the other malaria endemic areas by utilizing the existing school health system, as long as the control program can be integrated into the curricula.

When it comes to scaling-up this effort, cost is a consideration. Our program could be an inexpensive model in Thailand. We left the planning and implementation of malaria education to each school, and simply supervised their activities. Despite such limited support from us, the schools actively implemented the malaria education program. Schoolchildren's positive behavioral changes in malaria prevention were also seen, even though the contents of their activities varied in each school. The schools started to take malaria education as one of their regular activities and implemented it with no additional budget. Thus, by utilizing Thailand's school health system, once the program is introduced, no additional budget would be required to implement malaria education itself. For expenses to introduce the program, the printing cost of the teaching materials could be reduced if the materials would be used in wider area. The training cost could also be reduced if the training for malaria education were combined with the on-going school health-related training programs.

In conclusion, our school-based malaria control program was found appropriate in Thailand. The program was effective in changing teachers' and schoolchildren's behavior, and could be effective in the wider community, although further studies are needed to confirm this. School-based malaria control could be applied to other Greater Mekong Subregion countries, as well. However, we need to be careful about the context of school health in each country, as it may be different from that in Thailand.

Acknowledgements

This study was conducted as part of activities of Asian Centre of International Parasite Control (ACIPAC) Project, which is a technical cooperation project between Japan and

Thailand supported by Japan International Cooperation Agency (JICA). We would like to express our sincere thanks to the staff of Department of Tropical Hygiene, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University and the officers of Office of Educational Service Area 1, Ratchaburi Province for their assistance in running the training and arranging the surveys. We are also grateful to Dr. Chavez, Department of Tropical Hygiene, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, for his advice on data analysis. Finally we would like to express our sincere thanks to all the teachers, students, parents and community members for their cooperation in the implementation of the program.

References

- [1] Alilio MS, Bygbjerg IC, Breman JG. Are multilateral malaria research and control programs the most successful? Lessons from the past 100 years in Africa. *Am J Trop Med Hyg* 2004;71(2 Suppl):268–78.
- [2] Shiff C. Integrated approach to malaria control. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:278–93.
- [3] Marsh VM, Mutemi W, Some ES, Haaland A, Snow RW. Evaluating the community education programme of an insecticide-treated bed net trial on the Kenyan coast. *Health Policy Plan* 1996;11:280–91.
- [4] Ekeh HE, Adeniyi JD. Health education strategies for tropical disease control in school children. *J Trop Med Hyg* 1988;91:55–9.
- [5] Ogutu RO, Oloo AJ, Ekissa WS, Genga IO, Mulaya N, Githure JJ. The effect of participatory school health programme on the control of malaria. *East Afr Med J* 1992;69:298–302.
- [6] Bhati PG, Kant R, Srivastava HC, Malaviya VS, Pujara PK. Role of health education in school-children with particular reference to malaria. *Indian J Malariol* 1995;32:93–8.
- [7] Laing ABG. The impact of malaria chemoprophylaxis in Africa with special reference to Madagascar, Cameroon, and Senegal. *Bull WHO* 1984;62:42–8.
- [8] Magnussen P, Ndawi B, Sheshe AK, Byskov J, Mbwana K. Malaria diagnosis and treatment administered by teachers in primary schools in Tanzania. *Trop Med Int Health* 2001;6:273–9.
- [9] Fernando D, De Silva D, Wickremasinghe R. Short-term impact of an acute attack of malaria on the cognitive performance of schoolchildren living in a malaria-endemic area of Sri Lanka. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2003;97:633–9.
- [10] Fernando SD, Gunawardena DM, Bandara MR, De Silva D, Carter R, Mendis KN, et al. The impact of repeated malaria attacks on the school performance of children. *Am J Trop Med Hyg* 2003;69:582–8.
- [11] Bundy DA, Lwin S, Osika JS, McLaughlin J, Pannenberg CO. What should schools do about malaria? *Parasitol Today* 2000;16:181–2.
- [12] Zighelboim A. Malaria control in a nutshell: palmira ventosilla. *IDRC Rep* 1995;22:21.
- [13] Rojas W, Botero S, Garcia HI. An integrated malaria control program with community participation on the Pacific Coast of Colombia. *Cad Saude Publica* 2001;17 Suppl:103–13.
- [14] Mohapatra SC, Sankar H, Mohapatra P. CHILD-to-child: the programme in survival and development of children. *Indian J Matern Child Health* 1993;4(4):118–21.
- [15] Singh T. Health education: concepts and strategies. *J Indian Med Assoc* 1996;94:112–4.
- [16] Onyango-Ouma W, Aagaard-Hansen J, Jensen BB. Changing concepts of health and illness among children of primary school age in Western Kenya. *Health Educ Res* 2004;19:326–39.
- [17] World Health Organization Regional Office for South-East Asia. A guide for establishing health promoting schools. New Delhi, India: World Health Organization Regional Office for South-East Asia. Total pages: 46.
- [18] Praphasri Jongsuksuntigul, Pimpimon Thongthien, Hironori Okabayashi, Jimba M. School health for parasite control in Thailand: a review and current model activities. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* [in press].
- [19] Phinney R, Evans J. From child to child: children as communicators. *Dev Commun Rep* 1993;78:7–9.

1. 微生物検査

1) 顕微鏡検査

(4) マラリアなど原虫の検査



こばやし せい き いまい えい こ はやかわ えり
 小林 正規*1・今井 栄子*1・早川 枝李*1
 たけうち つとむ
 竹内 勤*2

原虫検査の基礎

顕微鏡による原虫検査は生鮮標本や染色標本に見いだされた原虫の形態的特徴を基に、種の鑑別を行うことを基礎としている。顕微鏡検査で迅速診断が可能なヒト寄生の原虫としては、血液寄生のマラリア原虫類などの孢子虫類、トリパノソーマ類や腸管寄生のアメーバ類、鞭毛虫類、繊毛虫(大腸バランチジウム)、眼の角膜炎の原因となるアカントアメーバそして泌尿器寄生の腔トリコモナスなどがある。そのうち、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律(2004年改定)」により保健所に届出が必要な原虫としてはマラリア(四類感染症)、赤痢アメーバ症、ジアルジア症、クリプトスポリジウム症(五類感染症)がある。

試料の取り扱い

1. 血液寄生原虫

1) マラリア原虫

ヒトを固有宿主とするマラリア原虫には悪性で致死率が高い熱帯熱マラリア原虫(*Plasmodium falciparum*)をはじめ、三日熱マラリア原虫(*P. vivax*)、四日熱マラリア原虫(*P. malariae*)、卵形マラリア原虫(*P. ovale*)の4種が知られている。

種の同定は、基本的にギムザ染色(Giemsa stain)した4種のマラリア原虫の形態的特徴の違いを鑑別することで行われる。血液塗抹標本作製には耳朶血などの新鮮血が適する。静脈採血する場合は、染色への影響の少ない抗凝固剤[エチレンジアミン四酢酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)1 mg/ml]を用いる。採血後は速やかに薄層塗抹標本作製する。少数のマラリア原虫検出を目的とする厚層塗抹法もあるが、溶血操



図1 ローデシアトリパノソーマ
 ギムザ染色。アフリカのボツワナ共和国から帰国した女性の血液から分離された。

作後の原虫の鑑別には経験を要し、一般には薄層塗抹標本を多数視野観察するほうが間違いは少ない。

原虫の迅速検出法としては、蛍光色素(アクリジンオレンジ)で核酸染色する方法がある。採血は熱発作(悪寒期, 灼熱期, 発汗期)の時期に合わせて行うと原虫検出率が高い(発作の5~6時間後が発育した原虫が多く、種の鑑別に適すといわれる)。血液の一部を凍結保存しておくとも抗原検出法や遺伝子診断法の検査材料となる。

2) アフリカ・トリパノソーマ

吸血性のツェツェバエにより媒介されるアフリカ睡眠病の病原体[ガンビアトリパノソーマ(*Trypanosoma gambiense*)、ローデシアトリパノソーマ(*T. rhodesiense*)]でツェツェバエの生息域に流行がみられる。急性期に血液、脳脊髄液などから虫体が検出される。ギムザ染色した塗抹標本で同定できる(図1)。

2. 腸管寄生原虫

1) アメーバ類

ヒト腸管寄生の主なアメーバ種は病原性の赤痢

*1 慶應義塾大学医学部熱帯医学・寄生虫学教室 ☎160-8582 東京都新宿区信濃町35 *2 同教室・教授

アメーバ(*Entamoeba histolytica*), 形態的特徴が赤痢アメーバに酷似する非病原性の *E. dispar*, とハルトマンアメーバ(*E. hartmanni*) (小形種), そして, 大腸アメーバ(*E. coli*), ヨードアメーバ(*Iodamoeba buetschlii*), 小形アメーバ(*Endolimax nana*)の6種がある。栄養型検出には, 新鮮材料(便, 排膿液など)を検鏡する。検査までに1晩以上を要す場合は, 材料の一部をホルマリンやMF(merthiolate formalin, マーシオレイトホルマリン)液, 可能であればコーン染色(Cohn stain)基本液などで固定し, 残りは便の発酵に伴う発熱や腐敗による嚢子の変性を防ぐため冷蔵保存する。新鮮材料を一部凍結保存しておく。抗原検出法や遺伝子診断法などの検査材料となる。

2) ランブル鞭毛虫(*Giardia lamblia*, synonym: *G. intestinalis*, *G. duodenalis*) (鞭毛虫類)

便材料の保存はアメーバ類の保存法に準じる。胆汁や十二指腸液の場合は栄養型検出のため, ただちに検鏡と標本作製を行う。

3) クリプトスポリジウム, イソスポーラ, サイクロスポーラ (孢子虫類)

クリプトスポリジウム症の場合は感染力のある成熟オーシストが便に排出されるため, 便の扱いには十分注意し, 使用した器具も消毒(熱消毒)する。戦争イソスポーラ, サイクロスポーラの場合は1個の融合体(zygote)を有す未熟なオーシスト(oocyst)が便に排出される。外界で発育し感染力のあるスポロゾイトを包蔵する成熟オーシストとなる。便は冷蔵保存する。

3. 自由生活性アメーバ類

1) アカントアメーバ

コンタクトレンズ装着者で角膜に小さな傷があると増殖し, 角膜炎を起こす。角膜の擦過物を検鏡および培養法で検出する。眼科領域では直接染色法として, パーカーインク KOH 法(パーカーインク1に10~20%KOH水溶液9の混合液を標本に滴下し検鏡)が汎用される。青染する嚢子(cyst)は容易に識別でき, 嚢子壁(二重膜)も明瞭となる。

4. 泌尿器寄生原虫類

1) 腔トリコモナス

女性の場合は腔帯下, 男性では尿道分泌物や前

立腺分泌液を直接検鏡し, 鞭毛運動する栄養型を検出する。培養法を併用すると検出率が高くなる。

測定法の概略とポイント

1. マラリア原虫

1) ギムザ染色法(Giemsa stain)

(1)塗抹, 乾燥, メタノール固定(2~5分間)。
(2)3%ギムザ染色液/リン酸緩衝液(0.02 mol/l, pH 7.2)で40~45分間染色。緊急の場合10%ギムザ染色液で8~10分間染色する方法もある。

ギムザ染色液は, 弱アルカリ性で赤血球の色調が青みを帯びるため, 感染赤血球に出現する赤色のシュフナー斑点(Schueffner dot)やマウエルの斑点(Mauer dot)の識別を容易にする。水洗, 乾燥, 鏡検。

(3)対物油浸レンズ(100倍)で観察。赤血球内マラリア原虫は核(クロマチン核)が赤く, 細胞質は青く染まる。まず, これら二つの染色性を併せもつマラリア原虫と単染する斑点を有す未熟な赤血球や血小板などを識別し, 次に確認されたマラリア原虫の種の鑑別を行う。簡単なマラリア種の鑑別点を表1に, ギムザ染色した熱帯熱マラリア原虫を図2に示す。

2) アクリジンオレンジ染色法

調製したアクリジンオレンジ液[アクリジンオレンジ(5 mg), グリセリン(2.5 g), 10 mmol/lリン酸緩衝液 pH 7.2~7.5(47.5 ml)]をメタノール固定した薄層塗抹部位に滴下し, カバーガラスを載せる。蛍光顕微鏡(B励起光)で検鏡する。

淡黄緑色の血球内でマラリア原虫の細胞質は橙色に, 核は黄色の蛍光を示す。有核の白血球は同じ色調の強い蛍光を示す。キット化されたQBC(Quantitative Buffy Coat System[®], Becton Dickinson)も市販されている。

3) 抗原検出法

わが国では現在, NOW[®] MALARIA, Binax, Inc., USA/Unipath Ltd., OptiMal-IT, DiaMed AG., Switzerlandなどが実際に用いられている。凍結保存血も用いることができ, 15分間程度で熱帯熱マラリア原虫とそれ以外の種との鑑別診断が可能である。

表1 簡単なマラリア原虫の鑑別表

マラリア原虫種	熱帯熱マラリア	三日熱マラリア	卵形マラリア	四日熱マラリア
被感染赤血球	膨大しない。赤色で大小不整のマウエルの斑点を見る。	膨大する。シュフナーの斑点(赤紅色の小斑)を見る。	分裂期にやや膨大。卵形、鋸歯状縁を呈す。シュフナーの斑点が全発育期に出現。	膨大しない。わずかに暗色を帯びる。不整形で薄い赤色のチーマンの斑点を稀に見る。
幼弱な栄養型(輪状体期)	小さく、2個以上の感染も普通で、2個のクロマチンを有し、血球邊緣部に付着するものが多い。	通常1個のクロマチン(赤)と大きな輪状の細胞質(青)(輪状体)を見る。重複感染は少ない。	輪状の拡がりは小さい。重複感染は稀。	輪状の拡がりは小さい。重複感染は稀。
後期栄養型	一般に、末梢血では成長した輪状体(大輪状体)まで見られる。	大きくアメーバ状を呈す。小桿状のマラリア色素を見る。	虫体は小さく、円形(卵形)のものが多く、アメーバ状を呈しない。粗大なマラリア色素を見る。	虫体は小さく、細胞質はしばしば帯状を呈す(帯状体)。粗大なマラリア色素を見る。
成熟分裂体	小さい。重症例で出現することがあるが、末梢血には稀。1つの塊状のマラリア色素を見る。(メロゾイト数:12~26)	大きい。メロゾイトも大きく、中心に集合するマラリア色素を見る。(メロゾイト数:8~24)	三日熱マラリアより小さく、マラリア色素もくすんでいる。(メロゾイト数:6~12)	メロゾイトは大きく特徴的な菊花状を呈し、中心に集合するマラリア色素を見る。(メロゾイト数:6~12)
雌雄生殖母体	雌:半月状(半月体)をなし、全体は濃青色を呈す。マラリア色素はクロマチン核を覆うように位置する。雄:両端は鈍円で雌に比べ短く、しばしば淡紅色に染まる。マラリア色素は中央に散在する。	雌:血球の全体近くを占め、偏在するクロマチン核は濃赤色に染まり、散在する粗大なマラリア色素を見る。雄:大きさは雌に近似するが、淡紅色の核は中央に位置し、細胞質は中央から遠ざかるにつれ青みを増す。	三日熱マラリアに似るが小さい。	三日熱マラリアに似るが小さく、シュフナーの斑点を欠く。

2. 腸管寄生原虫

1) 直接塗抹法

楊枝で採った少量の新鮮便と生理食塩水(1滴)とをスライドガラス上で混和しカバーガラスをかけて検鏡する。

下痢、軟便や粘血便ではアメーバやランブル鞭毛虫などの栄養型の特徴的な運動を見ることができる。嚢子やオーシストはその大きさ、形、色調、内容物、壁の厚さや屈光性などの特徴から鑑別を行う。アメーバや鞭毛虫類の嚢子はヨード-ヨードカリ染色を併せて行う。

ヨード-ヨードカリ液の組成と作製法は次のとおりである。ヨウ素1g, ヨウ化カリウム2g, 蒸留水50ml。ヨウ素とヨウ化カリをよく混和後、蒸留水を加えただちに振盪攪拌する。

嚢子は核の数やその性状と類染色質体やヨード胞などの特徴から種の同定を行う。核や類染色質

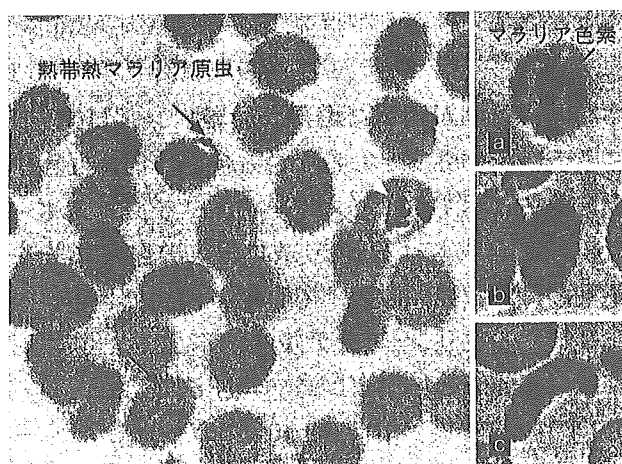


図2 熱帯熱マラリア患者(重症例)の血液塗抹標本ギムザ染色。矢印(青):血球邊緣部に付着する2個のクロマチン核を持つ小さなリングフォーム。矢印(赤):成長し大きくなったリングフォーム。矢印(黄):多重感染(三つの栄養型が見られる)。a:同じ症例の標本に見られた幼若シゾン。b(雄性生殖母体), c(雌性生殖母体):他の症例の治療後の患者血液標本に見られた。

表2 簡単な腸管寄生原虫類嚢子およびオーシストの鑑別表

アメーバ類(嚢子)	通常の形, 大きさ(径)	核数とカリオソームの性状	類染色質体	ヨード胞の性状
赤痢アメーバ <i>E. dispar</i>	正円(球)形(10~15 μm)	4 中心に位置し小点状	棍棒状	拡散し辺縁不明瞭
ハルトマンアメーバ <i>Entamoeba polecki</i>	正円(球)形(10 μm 未満) 正円(球)形(12~14 μm)	4 中心に位置し小点状 1 分散する大小の塊状	棍棒状 小桿状 小桿状(多数が分散)	拡散し辺縁不明瞭 ヨード胞に加え封入体を見る
大腸アメーバ	正円・楕円形(15~20 μm)	8 外心に位置し小点状	裂片状(稀に見る)	辺縁明瞭・大(幼若嚢子)
小形アメーバ ヨードアメーバ	正円・楕円形(10 μm 未満) 楕円・不整形(6~15 μm)	4 大, 球状 1 大, 複数の顆粒伴う	見られない 見られない	辺縁明瞭(幼若嚢子) 辺縁明瞭・大きさ多様
鞭毛虫類(嚢子)	通常の形, 大きさ(径)	核数とカリオソームの性状	特徴(識別点)	備考
ランブル鞭毛虫	卵形(8~12×6~10 μm)	4 中心に位置し小点状	特徴的な三日月状の曲刺	ヨード染色し, 特徴的な細胞内オルガネラを識別する
メニール鞭毛虫	洋梨形(7~9×4.5~6 μm)	1 外心に位置し小点状	大きな細胞口と鞭毛を見る	
繊毛虫類(嚢子)	通常の形, 大きさ(径)	核数と性状	特徴(識別点)	備考
大腸バラランチジウム	正円(球)形(50~65 μm)	2 大核と小核を有す	腎形の大核, 大きな収縮胞	嚢子の数は少ない
孢子虫類(オーシスト)	通常の形, 大きさ(径)	未成熟オーシスト(内容)	成熟オーシスト(内容)	備考
クリプトスポリジウム	短楕円形(5×4.5 μm)	成熟オーシストを排出	4個のスポロゾイトと残体	オーシスト壁は一般に他の原虫嚢子壁より薄い。未熟オーシストは浮遊法で集め, 清浄な水を加えシャーレで4~6日間程度培養(25~27°C)すると発育する。
戦争イソスポーラ	長楕円形(12×30 μm)	1個の融合体を包蔵	2個のスポロシスト内に4個のスポロゾイトと残体を包蔵	
人イソスポーラ	スポロシスト(10×15 μm) (オーシスト壁失われる)	単一あるいは対の成熟スポロシストを排出	スポロシスト内に4個のスポロゾイトと残体を包蔵	
サイクロスポーラ	正円(球)形(8~10 μm)	1個の融合体を包蔵	2個のスポロシスト内に4個のスポロゾイトと残体を包蔵	

体などの識別が困難な場合、油浸レンズ(100倍)による識別が必要となる場合も多い。簡単な鑑別点を表2に示す。イソスポーラ、サイクロスポーラのオーシストはU励起光で青色の自家蛍光を示すため、蛍光顕微鏡下で容易に検出できる。

2) ホルマリン-エーテル法

原虫類嚢子の検出率が高い集卵法である。

(1)試験管(15 ml)に約10 mlの生理食塩水を加え、これに割り箸などで採った大豆大の糞便を入れよく攪拌する。

(2)漏斗にガーゼを1, 2枚敷き遠沈管(10 ml)に濾過する。

(3)1,500 rpmで5分間遠沈し、上清を捨て、6~7 mlの10%ホルマリンを加え攪拌し15分以上固定する。

(4)ジエチルエーテルを2~3 ml加え、密栓し指で押さえ強く振盪攪拌する。栓を取り1,500 rpmで5分間遠沈する。エーテル層の糞便質を楊枝で管壁から切り放し上清を捨てる。付着する糞便質は綿棒で拭い取る。

(5)沈渣を直接、あるいはヨード-ヨードカリ染色し検鏡する。

3) ショ糖浮遊法

クリプトスポリジウムのオーシスト検出に用いられる。

簡易迅速ショ糖浮遊法は次のように行う。

シーターのショ糖液(Sheather's sucrose solution)[ショ糖(スクロース)100 g, 蒸留水64 ml, 液状フェノール1 ml(比重約1.3)]をスライドガラス上に取り、ショ糖液の1/3程度の下痢便を加