

## 1346 ◆ 抗原虫薬・抗蠕虫薬

- 抗蠕虫薬のプラジカンテルは吸虫や条虫の駆虫薬として幅広く使用されるが、虫種により用法・用量が異なったり、適応外使用となることもあるので注意が必要
- 抗寄生虫薬には、妊婦や小児での安全性が確立されていないものも多い

### 適応外の使用

- わが国で対象疾患が保険適応となっていない例として、赤痢アメーバ症、ジアルジア症に対するチニダゾール、回虫症、鉤虫症、蟯虫症、旋毛虫症に対するメベンダゾール、条虫症に対するプラジカンテル、有鉤嚢虫症や幼虫移行症に対するアルベンダゾール、オンコセルカ症に対するイベルメクチンなどが挙げられる
- 前述の「治療薬の分類」で挙げた各種抗菌薬を抗寄生虫薬として使用する場合は、適応外使用となる

### 服薬指導

- 熱帯熱マラリアは命にかかわる危険のある病気です。指示どおりに薬を飲まなければなりません。もしも吐いてしまったときには、ただちに担当医師にご相談ください
- メトロニダゾールあるいはチニダゾール服用中にアルコール類を飲むと、気分不良となることがありますので、絶対に飲まないでください
- トキソプラズマ症の治療は長くかかることがあります。自己判断で服薬をやめることのないようにしてください

### Topics

- 熱帯熱マラリアの重症例の治療では、アーテミスニン誘導体である artesunate 注射剤はキニーネ注射剤に比べて、治療効果が優れていることが示された
- 赤痢アメーバ症の経口投与不能例や重症例において、メトロニダゾール注射剤の優れた効果が示された
- 2009年に厚生労働省はいわゆるドラッグラグ解消のための動きを開始した。そこで、当研究班は熱帯病・寄生虫症の薬剤として4件の要望を提出したが(抗マラリア薬1件、抗赤痢アメーバ薬3件の国内承認あるいは適応拡大)、同省に設置された検討会議にて4件すべてが採択され、その最初として、2012年2月1日から赤痢アメーバ症、ジアルジア症などに対してメトロニダゾール(従来の経口薬)が保険適応となった

(木村 幹男, 丸山 治彦)

■ **治療と薬理メカニズム** 寄生虫疾患の治療の基本は化学療法であり、大部分の寄生虫疾患には有効な治療薬が存在する。各治療薬の寄生虫に対する作用メカニズムは、寄生虫のライフサイクルと同様、実に多様であり、確実な寄生虫同定と治療薬の選択が欠かせない。また薬剤耐性の拡がりは、寄生虫感染症においても問題となっており、従来薬の使用では治療が望めない寄生虫疾患もあり、最新の指針に従い治療を進める必要がある。加えて抗寄生虫薬は国内未承認であったり、あるいは承認薬であっても寄生虫治療についての保険適用がない場合があり、使用にあたっては注意が必要である(最新の治療指針、また未承認薬の入手・使用については熱帯病治療薬研究班<sup>2)</sup>の情報参照)。

### 寄生虫疾患の特徴

寄生虫疾患は、先進国での症例数がかぎられることから、その臨床対応について十分な経験を積むことが困難であり、文献を頼りに手探りで診断・治療に臨むことになりがちである。時に死の転帰をとる危険な寄生虫疾患も含まれるため、寄生虫による病害が疑われる場合には、早急に専門家にコンサルトし、早期診断・治療につなげることが重要である。

【所 正 治】

### 参考資料

- 1) 感染症発生動向調査週報(IDWR)(国立感染症研究所感染症情報センター): <http://idsc.nih.go.jp/idwr/index.html>
- 2) 寄生虫薬物治療の手引き 改訂(2010年)第7.0.1版(「国内未承認薬の使用も含めた熱帯病・寄生虫症の最適診療体制の確立」に関する研究班(略称:熱帯病治療薬研究班)): <http://www.miyazaki-med.ac.jp/parasitology/orphan/index.html>

## 17 原虫感染症

### 1 マラリア

■ **定義・概念・生活史** マラリア(malaria)は原虫、アピコンプレックス門、住血胞子虫類(haemosporidia)プラスモジウム属(*Plasmodium* spp.)による感染症で、熱帯熱マラリア(*Plasmodium falciparum*)、三日熱マラリア(*Plasmodium vivax*)、四日熱マラリア(*Plasmodium malariae*)、卵形マラリア(*Plasmodium ovale*)、それに近年第五のヒトに感染するマラリアとして注目されているサルマラリア(*Plasmodium knowlesi*)がある。

ハマダラカ属(*Anopheles*)によって媒介される。蚊からスポロゾイトが注入されるとすぐに肝細胞に寄生する。そこで無性生殖により分裂体からメロゾイトと呼ばれる感染性のステージが血中に放出され赤血球に感染する。三日熱マラリアと卵形マラリアは肝細胞内に休眠型(hypnozoite)が形成され再発の原因となる。熱帯熱や四日熱ではこの休眠型はつくられず残存原虫が再び増殖する場合がある(再燃)。終宿主は蚊でありヒトでは無性生殖により赤血球内で分裂増殖する。赤血球内での発育状況によりまず輪状体(ring form, early trophozoite)、栄養体(amoebic form, late trophozoite)、分裂体(schizont)となり、赤血

球が破壊され分裂体を構成していたメロゾイト(merozoite)が放出され新しい赤血球に感染する。また生殖母体(gametocyte)と呼ばれる雌雄に分かれた原虫も観察される。これらが蚊によって吸血されると、蚊の体内で有性生殖を行いスポロゾイトが形成され感染の機会を待つこととなる。これら5種類のマラリアのうち熱帯熱マラリアは致死性であり、特にマラリア非流行地の免疫のない患者には注意を要する。

■ **疫学** 世界では熱帯、亜熱帯、一部温帯の100カ国以上で流行がみられる。以前は年間200万~300万人の死者が報告されていたが、世界保健機関(WHO)によるRoll Back Malaria(RBM)が功を奏し、2010年の報告では死者は約80万人と推定されている。マラリアの種類により分布は異なり、熱帯熱マラリアは主としてサハラ以南のアフリカに多いがアジア、オセアニア(特にパプアニューギニアなど)にも広く分布する。三日熱マラリアはアフリカではまれであり、主としてアジアや南米でみられる。このマラリアはかつてわが国においても彦根で流行していた時期があり、媒介蚊であるシナハマダラカ(*A. sinensis*)が存在する韓国-北朝鮮の非武装地帯では韓国兵の感染が報告されている。またコーカサス地方などにおいても流行がみられ、潜伏期が長いのが特徴である。四日熱マラリアはアフリカが主たる流行地である。卵形マラリアも同様にアフリカが中心ではあるが、アジアにおいても認められている。サルマラリアのヒト感染例は現在まで東南アジアから報告されており、宿主であるカニクイザル(*Macaca fascicularis*)、ブタオザル(*Macaca nemestrina*)の分布と一致している<sup>1)</sup>。

わが国においては2006~2010年までの報告数は日本人渡航者と外国人を含め226例であり、内訳はアフリカ127例で最も多く、次いでアジア58例、オセアニア23例であった。日本人渡航者における種類別、地域別罹患を最も重症な熱帯熱マラリアでみた場合、120例中100例がアフリカであり、とりわけ西アフリカが73例と最も多く注意を要する(表17-1-1)<sup>2)</sup>。以前死亡例は熱帯熱マラリアで年間6~10例報告されていたが、感染症法では原則診断時のみの報告であり把握できていないと考えられる。また海外における発症例も報告の対象ではないことを考慮する必要がある。

### ■ 病因・病態生理と分子メカニズム

**熱帯熱マラリア:**熱帯熱マラリアの病態生理は他のマラリアと異なる。熱帯熱マラリア原虫に寄生された赤血球表面にはpfEMP1などのリガンドが立ち上がり血管内皮細胞の細胞間接着分子1(ICAM-1)、トロンボスポニン、CD36などの受容体に結合する。また血管細胞接着分子(VCAM)に結合することで赤血球のロゼット形成をきたす。血管内皮に感染赤血球が付着し、そこに感染する。あるいは正常赤血球がさらに付着することが熱帯熱マラリアの病態生理である(sequestration)。これらが脳内で発生すると機械的な虚血状態を惹起し、それによる低酸素、低血糖、代謝障害が発生し脳マラリアとなる。また同様の機序が各臓器で進行することで肺水腫、腎不全、肝臓障害が発生する。また感染赤血球が脾臓などで破壊され貧血や黄疸、肝脾腫が出現する<sup>3)</sup>。

**その他のマラリア:**三日熱、四日熱、卵形マラリアは熱帯熱に比べ良性である。病態生理は感染赤血球が破壊される

表 17-1-1 熱帯熱マラリアの罹患地域

地域	地域(詳細)
アフリカ 100	西アフリカ 73 東アフリカ 21 中央アフリカ 4 北アフリカ 2
アジア 13	東南アジア 9 南アジア 3 東アジア 1
オセアニア	2(ババニューギニア)
2カ国以上 不明	2

n=120  
(文献2を改変)

ことによる貧血と脾腫、発熱である。熱帯熱マラリアのように sequestration をきたさず予後は比較的よい。四日熱マラリア感染による IgM-malaria antigen complex が糸球体基底膜に沈着し糸球体腎炎、ネフローゼ症候群、そして腎不全へと進行する例もみられる。

■ 臨床症状・検査成績 熱帯熱マラリアの臨床症状は immune, semi-immune, non-immune の状態によって異なる。

● immune の状態 患者がマラリアにしばしば罹患し免疫状態になっていることである。よって症状は軽く感冒様症状で回復することがある。流行地では原虫血症を示しながら症状を示さないものも見受けられる。

● semi-immune の状態 かつて流行地に居住し immune の状態であったものが長期間非流行地に居住するなどマラリアの曝露を受ける機会がなく免疫が落ちたもので、家族や友人を訪ねて(visiting friends and relatives: VFR)、マラリアに罹患すると中等度の症状を示す。

● non-immune の状態 いままでマラリアに罹患したことがなく、まったく免疫が確立していないものをさし、罹患すると非常に重篤な症状を呈し診断治療の遅れが不幸な転機をとるものである。

潜伏期は種によって異なるが熱帯熱マラリアでは9~14日である(表 17-1-2)。ここでは non-immune の状態における症状を記載する。発症初期はインフルエンザ様の症状、全身倦怠感、下痢などさまざまである。熱帯熱の発熱周期は24~48時間と一定していないことが多いが、その他のマラリアでは時間が経過するとその種特有の発熱周期となる。熱帯熱マラリアでは治療がなされず、数日間放置された場合には合併症を伴い重症化する。マラリアの合併症は、①脳マラリア、②肺水腫、③循環不全、④腎不全、⑤貧血、⑥低血糖、⑦肝障害、⑧DIC(播種性血管内凝固)

様血液凝固障害、⑨電解質異常とアシドーシスなどである。成人では黄疸を伴うこともあり、肝炎と誤診することもある。その他のマラリアでは溶血による貧血、脾腫、発熱が主症状である。

■ 診断 マラリアの診断は問診からはじまる。マラリア流行地への渡航の有無が非常に重要となる。三日熱マラリアの一部にみられる潜伏期の非常に長いものには注意が必要である。診断方法としては Giemsa 染色が必須である。Giemsa 染色はバッファーの pH を 7.2~7.4 で行ったほうが虫体の染まりがよい。そのほか時間を短縮して行うフィールド染色やアクリジンオレンジを用いた染色法もある。アクリジンオレンジ法は集団のスクリーニングに適しており、わが国では一般的に行われている Giemsa 染色がすすめられる。

抗原を検出するイムノクロマト法としてはマラリア原虫の pLDH(plasmodium lactose dehydrogenase)や HRP(histidine rich protein)、aldolase を検出するものがある(表 17-1-3)。これらのうち HRP を検出するものは感度が高く少数寄生でも検出することができる一方、治癒後も数カ月の間陽性となる欠点がある。pLDH を検出するものでは少数寄生では感度は落ちるものの治癒によりすみやかに陰性化するため治癒判定に用いることができる。ともにプロゾーン現象(原虫血症が多すぎる場合陰性に出る)がみられることがあるので Giemsa 染色は必須である。一方、既存のイムノクロマトキットはヒトマラリアを対象としているため、サルマラリアでは熱帯熱マラリアや三日熱マラリアと判定されるものがあるので注意が必要である(表 17-1-3の1)。現在マラリアのイムノクロマト法は体外診断薬としては認可されていないことに注意する。特殊な検査としてはポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法があり、マラリアの種類判別が難しい場合に専門機関に依頼することが可能である。

Giemsa 染色による診断は基本的には血液をスライドグラスに1滴落とした厚層部分とストリッヒを引いた薄層部分を染色する。厚層部分でマラリアの有無を確認し、薄層部分で種類の鑑別を行う。しかしながら一般検査室では薄層標本で観察する機会が多い。形態的には感染している赤血球が腫大している場合には三日熱マラリアを疑う。熱帯熱マラリアは複数感染やクロマチドットが2個観察されることがある。熱帯熱マラリアは一般的に末梢血にはリングステージのみが観察され、その他のマラリアではさまざまなステージがみられる。しかし熱帯熱マラリアであっても脾臓を摘出した患者の場合や非常に多くの原虫が寄生している場合には、末梢血中に後期栄養型(late trophozo-

表 17-1-2 ヒトマラリアの鑑別点

	熱帯熱	三日熱	四日熱	卵形
潜伏期	9~14(12)日	12~17(15)日	18~40(28)日	16~18(17)日
発熱周期	24, 36, 48 時間	6~12 カ月	72 時間	48 時間
感染赤血球	すべて	48 時間	成熟赤血球	網状赤血球
分裂体中のメロソイト数	すべて	網状赤血球	成熟赤血球	網状赤血球
再発	8~32	12~24	6~12	4~16
再燃	なし	あり	なし	あり
薬剤耐性	あり	なし	あり	なし
	あり	クロロキン耐性	なし	なし
	広範に分布	(ニューギニア)		

表 17-1-3 各種診断キットの検出抗原

診断キット	検出抗原	判定
1 OptiMAL-IT	Pf pLDH/pan pLDH	Pf/non-Pf
2 Entebe MC	Pf HRP-II/Pv pLDH	Pf/Pv
3 SD, Ag	Pf pLDH/pan pLDH	Pf/non-Pf
4 SD, Ag Pf/Pan	Pf HRP-II/pan pLDH	Pf/non-Pf
5 Pan-R MC	Pf specific antigen/ pan malaria antigen	Pf/non-Pf
6 BinaxNow	Pf HRP-II/pan pAldolase	Pf/non-Pf

Pf: 熱帯熱マラリア原虫, Pv: 三日熱マラリア原虫  
(文献5を引用)

ite)がみられることもある(図 17-1-1)。

【治療と薬理メカニズム】マラリアの治療はすべてのマラリアで共通するが、薬剤耐性が問題となっている熱帯熱マラリアでは他と異なり、合併症の有無で治療法を選択する必要がある。メフロキンを除いてわが国では認可されていないものが多く、合併症を有する場合の治療には「国内未承認薬の使用も含めた熱帯病・寄生虫症の最適な診療体制の確立」に関する研究班から薬剤を入手して使用する必要がある(<http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/parasitology/orphan/index.html>)。よって以下に紹介する治療法は一般的には不可能である。しかし前述した研究班より緊急に薬剤を入手し使用することは可能である。クロロキンに感受性がある熱帯熱を含む5種のマラリアでは成人でクロロキン塩基 600 mg を2日間投与し、3日目に300 mg を投与する(合計 1,500 mg)。小児では10 mg 塩基/kg を2日間投与し、3日目に5 mg 塩基/kg 投与する。休眠型となる三日熱マラリア、卵形マラリアではプリマキンによる追加治療を要する。投与量は成人で15~30 mg 塩基/日を4~17日あるいは45 mg/週を8週間継続する。妊婦とG6PD(グルコース-6-リン酸脱水素酵素)欠損症には禁忌である。小児では1日量0.25 mg/kg を4~17日投与あるいは0.75 mg/kg/週を8週間投与する。クロロキン耐性熱帯熱マラリア、あるいは種が不明で合併症がなく経口摂取が可能な場合、以下の治療法がある。

- ① メフロキン: 成人15~25 mg 塩基/kg を2回投与する(6~8時間あける)。わが国では15 mg 塩基/kg を初回投与し(体重50 kg で3錠)、6~8時間後に10 mg 塩基/kg(同2錠)を投与する機会が多い(メファキン<sup>®</sup>: 275 mg 錠, 塩基250 mg)。小児25 mg 塩基/kg を2回投与(6~8時間あける)<sup>4)</sup>。
- ② マラロン(Malarone<sup>®</sup>: プログアニル100 mg + アトバコン250 mg): 成人4錠1回/日を3日間投与する。小児11~20 kg では1錠, 21~30 kg では2錠, 31~40 kg では3錠を1日1回3日間投与する。
- ③ リアメットあるいはコアーテム(アーテメーター20 mg + ルメファントリン120 mg): 成人1回4錠を1日2回(計8錠/日)3日間投与する。小児では15 kg 未満には1錠, 15~25 kg 未満では2錠, 25~35 kg 未満では3錠を1日2回3日間投与する。

合併症を伴った重症マラリアでは注射薬あるいは座薬による治療が中心となる。ともに研究班からの入手となる。

◆ キニーネ(グルコン酸キニーネ〈Quinimax<sup>®</sup>〉): loading dose(初回投与量)16.6 mg/kg を5%ブドウ糖液あるいは生理食塩水500 mL で4時間かけて点滴静注。開始後

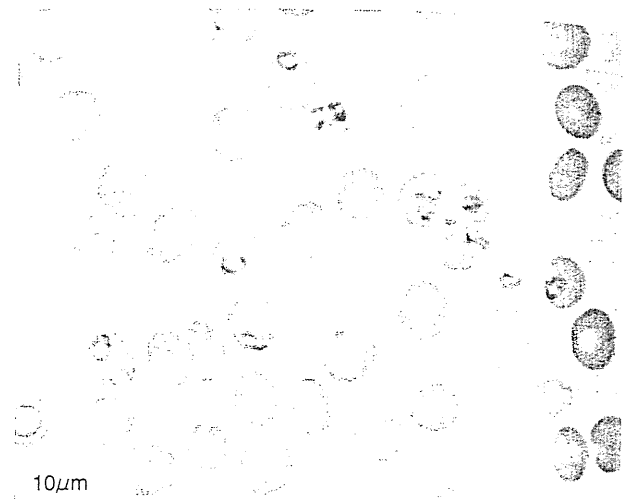


図 17-1-1 熱帯熱マラリア原虫  
複数感染やクロマチンドットが2個みられる

8~12時間ごとに8.3 mg/kg を4時間かけて点滴静注。併用薬としてクリンダマイシン1,200 mg/日を4回に分けて点滴静注する。またアーテスネート座薬(Plasmodotrim<sup>®</sup> 200 mg)を併用することも可能である<sup>4)</sup>。キニーネで治療を行う場合には低血糖、QT延長などの不整脈に注意し、モニタリングを頻回に行う必要がある。経口摂取が可能となればメフロキンなどの経口の抗マラリア薬にスイッチする。熱帯熱マラリアの重症例では脳症やDIC様の所見を示すがステロイドとヘパリンは禁忌とされている。抗マラリア薬投与後48時間で原虫数は減少するが、24時間では増殖がみられることがある。また急激な溶血による貧血や腎不全にも注意を要する。腎不全では透析が必要となる場合もある。

● 経過・予後 熱帯熱マラリア以外のマラリアでは経過も予後も良好であるが、熱帯熱マラリアでは診断、治療の遅れで重症化し死亡する場合もある。早期の診断、治療がなされれば後遺症を残さず完治する。最近敗血症のマーカーとして注目されているプロカルシトニンの治療前の値が25 ng/mL以上で予後が悪いとの報告もある<sup>5)</sup>。合併症で脳症、肺水腫、腎不全がある場合には予後は悪い。

● 予防 予防法は大きく分けて防蚊対策、抗マラリア薬の予防内服、適切な医療機関を受診できない特殊事情にある場合にマラリアと自己判断し抗マラリア薬を自分で服用するスタンバイ治療があるが、スタンバイ治療は議論の分かれるところでありここでは言及しない。

防蚊対策 マラリアを媒介するハマダラカは夕方から朝にかけて活動するため夜間の外出は控えること、宿泊施設は上の階でエアコンディショナーがあること、DEETなどの昆虫忌避剤を使用すること、殺虫剤に浸した蚊帳を使用することである(詳細についてはマラリア

予防専門家会議編「日本の旅行者のためのマラリア予防ガイドライン」(2005年)参照)。

予防内服 わが国ではメフロキン、ドキシサイクリンのみが入手可能である。研究班の保管するマラロンなどの薬剤は治療用であり予防内服には提供できない。メフロキンの予防内服は250 mg 塩基を毎週1回服用する。小児では5 mg 塩基/kg とする。体重が15 kg 以下には投与しない。またメフロキンは心伝導障害を引き起こすこ

とがある。さらにめまいなどの神経症状も出現するためパイロットやスキューバダイビングを行う場合には注意を要する。タイ-カンボジア、タイ-ミャンマー国境などメフロキン耐性の熱帯熱マラリアの流行地ではドキシサイクリン 100 mg 1錠を毎日服用する。予防内服は流行地に入る1~2週間前から開始し、帰国後4~6週間継続する必要がある。予防内服の効果は100%ではないということに留意する。熱帯熱マラリアを見逃さない、重症化させないために発熱疾患ではマラリアを鑑別疾患の一つとして認識し、必ず海外渡航歴の聴取を行うと同時に通常からしかるべき医療機関を把握しておき、緊急の場合には早期転送を行う体制を整えておく必要がある。

【春木 宏介】

## 参考文献

- 1) Kawai S et al: Cross-reactivity in rapid diagnostic tests between human malaria and zoonotic simian malaria parasite *Plasmodium knowlesi* infections. *Parasitology International* 58:300-302, 2009
- 2) マラリア 2006~2009年(国立感染症研究所感染症情報センター): <http://idsc.nih.gov/disease/malaria/2010week38.html>
- 3) Warrell DA: Clinical features of malaria. *Essential Malariology*, 4th edition, Warrell DA et al eds, p191-205, A Hodder Arnold Publication, 2002
- 4) 三浦聡之: マラリア, 寄生虫薬物治療の手引き 改訂(2010年)第7.0.1版, 「国内未承認薬の使用も含めた熱帯病・寄生虫症の最適な診療体制の確立」研究班編, p1-6, 2010
- 5) Chiwakata CB et al: Procalcitonin as a parameter of disease severity and risk of mortality in patients with *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis* 183:1161-1164, 2001

## 2 トキソプラズマ感染症

■ 定義・概念 トキソプラズマ感染症は, *Toxoplasma gondii* の感染による人獣共通感染症の一つである。病型は先天性と後天性トキソプラズマ感染症に分けられ, 先天性は妊婦のトキソプラズマ初感染により経胎盤的に胎児に感染して生じる。後天性は妊婦, 免疫能が正常な子供・成人における急性感染と免疫不全者における再燃に分けられる。トキソプラズマ感染症妊婦や先天性トキソプラズマ症については他稿に譲り, ここでは主に健康者と免疫不全者におけるトキソプラズマ感染症について概説する。

■ 疫学 トキソプラズマの生活環とヒトへの感染経路を図17-2-1に示した。このうち食肉を介した感染がヒトへの主な経路と考えられるため, 国や食習慣によってヒトのトキソプラズマ感染率(抗体陽性率)は異なる。たとえば米国や英国では感染率は16~40%, 中南米やヨーロッパ大陸では50~80%と推定されている。わが国では一般健康者の抗体保有率が10~15%と報告されている。最近, 米国のケースコントロール研究でトキソプラズマ感染症の新たな危険因子として牡蠣, 蛤, ムール貝の生食が報告された<sup>1)</sup>。これらの海産物を餌とするラッコのトキソプラズマ感染がすでに報告されており, ネコの糞便とともに排出されたオーシストが河川から海へ流入し, 海産物を汚染しているためと推測されている<sup>1)</sup>。同様のことがわが国で起こっているとすれば, 海産物を好む日本人にもトキソプラズマ感染の新たなリスクになりうると考えられ興味深い。

■ 病因・病態生理と分子メカニズム オーシストやシ

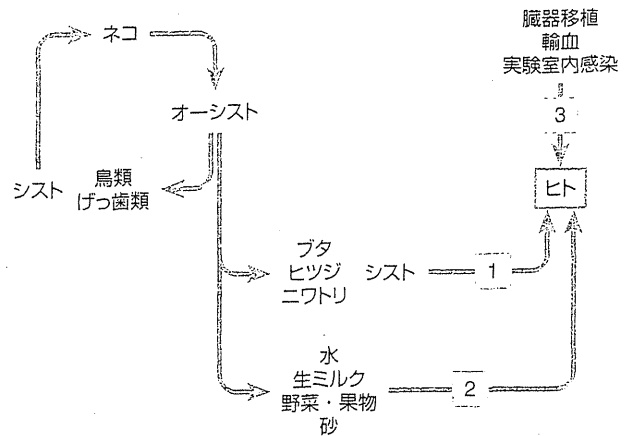


図17-2-1 トキソプラズマの生活環とヒトへの感染経路

自然界では終宿主のネコと中間宿主の鳥類・げっ歯類の間で生活環が維持されている。感染性を持つ *Toxoplasma gondii* のステージはオーシストとシストである。ネコの腸管上皮で形成されたオーシストは糞便中に排泄され, 中間宿主が経口的に摂取すると神経組織や筋肉内にシストが形成され, 次の終宿主への感染の機会を待つ。ヒトへの感染経路は, ① 中間宿主内のシストの摂取, ② オーシストで汚染された環境(砂, 食品)を介して, ③ 医療行為や実験室内感染の3つがある。

ストを経口的に摂取すると, 内部のスポロゾイトや緩増虫体が脱嚢し腸管壁に侵入する。そこで急増虫体に変化し, 血行性またはリンパ行性に全身に播種する。トキソプラズマの分布には臓器親和性があり, 脳・眼・骨格筋・心臓・肺で増殖して炎症を起こすと症候性となる。ただし急性感染の大多数は無症候性で経過し, 症候性は約10~20%である。その後, 宿主の免疫応答により増殖が抑えられ, 緩増虫体を含むシストを形成して長く潜伏感染する。局所でのトキソプラズマ増殖抑制は, 原虫を認識した抗原提示細胞から産生されるインターロイキン12(IL-12)によって, ナチュラルキラー(NK)T細胞, CD4陽性(CD4<sup>+</sup>)細胞, CD8<sup>+</sup>細胞が活性化され, それらの細胞が産生するインターフェロン $\gamma$ (INF $\gamma$ )とINF $\gamma$ が誘導するSTAT-1(signal transducers and activators of transcription-1)依存性の抗寄生虫作用が知られている<sup>2)</sup>。たとえばAIDS(後天性免疫不全症候群)患者ではCD4<sup>+</sup>細胞数の減少だけでなく, CD8<sup>+</sup>細胞・NK細胞活性やINF $\gamma$ 産生低下などの免疫異常も生じており, 高頻度にトキソプラズマの再燃が起こる理由と考えられている<sup>3)</sup>。

### ■ 臨床症状・検査成績

#### 急性トキソプラズマ感染症

潜伏期は1~2週間である。大多数は無症候性であるが, 約10~20%に発熱, 頭痛, 全身倦怠感, リンパ節腫脹, 時に筋肉痛や消化器症状が出現する。血液検査所見ではリンパ球増加や異型リンパ球の出現, 肝酵素の上昇がみられる。EB(Epstein-Barr(エプスタイン-バー))ウイルス感染, サイトメガロウイルス感染, HIV(ヒト免疫不全ウイルス)感染(=伝染性単核球症様症状)との鑑別を要する。AIDS患者がトキソプラズマの急性感染を起こした場合, 急性呼吸促進症候群(ARDS)や敗血症性ショックのような循環動態異常を主体とする病態を起こす。免疫能が正常であっても, まれにこのような重篤な病態を起こすことがある。

#### 免疫不全者のトキソプラズマ感染症

トキソプラズマIgG(免疫グロブリンG)抗体陽性のHIV

## 第2章 抗体検査の現況－各論

# 10節 感染症の抗原・抗体検査

## 6 寄生虫感染症

### 1 はじめに

寄生虫疾患は途上国を中心として世界に広く分布している。寄生虫は分類上、蠕虫、原虫、外部寄生虫に分類される。そのうち蠕虫は線虫、吸虫、条虫に分けられる。基本的に寄生虫症の診断は寄生虫そのものを形態学的に証明することである。人体に寄生するこれらの中で消化管に寄生するものは遠心沈殿法や浮遊法といった糞便検査で虫卵を検出すること、あるいは虫体そのものを見つけることで比較的容易に診断される。しかしながら消化管以外、すなわち臓器に寄生するものは、病理学的に診断するか抗原・抗体を検出することで診断される場合が多い。しかしながら抗原・抗体検出による診断はあくまで補助診断であり、最終的には形態学的にあるいはPCR等の遺伝子学的検査で診断をつけることが望ましい。ここでは総論としての寄生虫疾患における抗原・抗体検査に言及し、各論では我が国において市販されていて入手可能であるイムノクロマト法、とくに緊急を要する熱帯熱マラリアを中心に記述する。

### 2 蠕虫における抗原・抗体検査

蠕虫感染症では消化管外寄生虫症、すなわち visceral larva migrans (VLM) や皮膚爬行症など糞便中に虫卵が検出されないものが対象となる。疾患としては線虫では犬猫回虫症、広東住血線虫症、肝蛭症、顎口虫症、旋毛虫症などであるが虫卵の検出ができない場合の住血吸虫にも用いられる。臨床的にはイムノクロマトなどの簡易キットは発売されておらず、株式会社エスアールエルによるスクリーニングとその後陽性検体に対する宮崎大学でのELISAによる診断が行われている。特殊な疾患については各大学などの研究機関に依頼するということが以外に現在のところ抗原、抗体検査は難しい。

### 3 原虫における抗原・抗体検査

原虫も蠕虫と同様その寄生部位によって検査方法が異なる。消化管寄生の場合、原虫あるいはその嚢子を顕微鏡的に確認する。一方、消化管以外に寄生する原虫についてはやはり抗原抗体検査、病理検査が診断の中心となる。原虫における抗原・抗体検査として数多くのイムノクロマトキットが市販されている。しかしながら我が国において体外診断薬として認可され、保険適応のあるものはない。また一般的に原虫の抗原抗体検査は検査会社では行われておらず、大学等の研究機関で研究目的に行われているのみである。

### 4 各原虫疾患におけるイムノクロマト検査

#### 4.1 マラリア

マラリアは原虫 *Plasmodium* 属による感染症で熱帯、亜熱帯、一部温帯の100カ国以上で流行がみられる。以前は年間200～300万人の死者が報告されていたがWHOによるRoll Back Malaria (RBM) が功を奏し2010年の報告では死者は約80万人と推定されている。我が国においては輸入感染症として年間約60例が報告されている<sup>1)</sup>。熱マラリアの種類は熱帯熱マラリア (*P. falciparum*)、三日熱マラリア (*P. vivax*)、四日熱マラリア (*P. malariae*)、卵形マラリア (*P. ovale*) がいままでよく知られてきた。近年になって東南アジアで保存されていた標本から第五のヒトに感染するマラリアとして注目されるようになったサルマラリア (*P. knowlesi*) がある<sup>2)</sup>。熱帯熱マラリアは非免疫状態にある日本人にとっては診断治療の遅れが致命的になる可能性が高く、注意が必要である。

マラリアの分布は種によって異なる。熱帯熱マラリアは主としてサハラ以南のアフリカに多いが、ア

表1 各種診断キットの検出抗原<sup>2)</sup>

診断キット	検出抗原	判定
1) OptiMAL-IT	Pf pLDH/pan pLDH	Pf/non-Pf
2) Entebe MC	Pf HRP-II/Pv pLDH	Pf/non-Pf
3) SD, Ag	Pf pLDH/pan pLDH	Pf/Pv
4) SD, Ag Pf/Pan	Pf HRP-II/pan pLDH	Pf/non-Pf
5) Pan-R MC	Pf specific antigen/pan malaria antigen	Pf/non-Pf
6) BinaxNow	Pf HRP-II/pan pAldolase	Pf/non-Pf

Pf: 熱帯熱マラリア原虫 Pv: 三日熱マラリア原虫 non-Pf: 熱帯熱マラリア以外

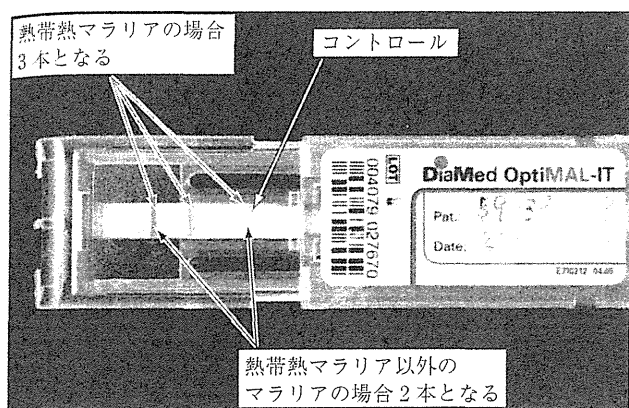


図1 イムノクロマトの判定例

ジア、オセアニア(とくにパプアニューギニア等)にも広く分布する。三日熱マラリアはアフリカでは稀で、アジアや南米で見られる。四日熱マラリアはアフリカが主たる流行地である。卵形マラリアも同様にアフリカが中心ではあるがアジアにおいても報告されている。サルマリアのヒト感染例は現在まで東南アジアから報告されている。

マラリアの終宿主はハマダラカ(*Anopheles* 属)である。

我が国においては2006年から2010年までの報告数は日本人渡航者と外国人を含め226例であり、内訳はアフリカ127例で最も多く、ついでアジア58例、オセアニア23例であった。日本人渡航者における種類別、地域別罹患を最も重症な熱帯熱マラリアでみた場合、120例中100例がアフリカであり、とりわけ西アフリカが73例と最も多く注意を要する。以前に死亡例は熱帯熱マラリアで年間6~10例報告されていたが、感染症法では原則として診断時のみの報告であり把握できていない<sup>1)</sup>。

マラリアの診断は問診から始まる。マラリア流行地への渡航の有無が非常に重要となる。中には三日熱マラリアの一部にみられる潜伏期の非常に長いも

のにも注意が必要である。診断方法としてはギムザ染色が必須である。ギムザ染色はバッファのpHを7.2~7.4で行った方が虫体の染まりが良い。そのほか時間を短縮して行うフィールド染色やアクリジンオレンジを用いた染色法もある。アクリジンオレンジ法は集団のスクリーニングに適しているが、我が国では一般的に行われているギムザ染色が勧められる。しかしながら技師の熟練が必要であり、この意味においてマラリア抗原を検出するイムノクロマトキットは非常に重要な意味をもつ。抗原を検出するイムノクロマト法(rapid diagnostic tests; RDTs)としては熱帯熱マラリア原虫のpLDH(plasmodium lactose dehydrogenase)やHRP(histidine rich protein), Aldrase等を検出するものがある(表1)。

これらのうちHRPを検出するものは感度が高く少数寄生でも検出することができる一方、治癒後も数ヶ月の間陽性となる欠点がある。pLDHを検出するものでは少数寄生では感度は落ちるものの治癒により速やかに陰性化するため治癒判定に用いることができる。ともにプロゾーン現象(原虫血症が多すぎる場合陰性に出る)がみられることがあるのでギムザ染色は必須である。熱帯熱マラリア以外のマラリアについてはpan pAldolase等のさまざまな抗原を判定するようになっている。判定は図1に示すように多くのキットでコントロール、熱帯熱マラリア以外のマラリア抗原、熱帯熱マラリア抗原の3本線で行う。コントロールが出ない場合は無効となる。熱帯熱マラリア以外の場合には2本線となるが熱帯熱マラリアの場合3本線となる。ただし3本線が認められた場合には熱帯熱マラリアと他のマラリアの混合感染は否定できないため、ギムザ染色あるいはPCRでの確認が必要となる。

マラリアの場合、致死性である熱帯熱マラリアの鑑別が最重要課題であり、熱帯熱か否かの判定が最

表2 各種診断キットによる人獣共通感染性サル・マラリアの判定結果

診断キット	<i>P. knowlesi</i>	<i>P. cynomolgi</i>	<i>P. inui</i>
1) OptiMAL-IT	Pf	non-Pf	non-Pf
2) Entebe MC	Pv	Pv	Pv
3) SD, Ag	non-Pf	non-Pf	non-Pf
4) SD, Ag Pf/Pan	non-Pf	non-Pf	non-Pf
5) Pan-R MC	non-Pf	non-Pf	weak Pf
6) BinaxNow	non-Pf	non-Pf	non-Pf

Pf: 熱帯熱マラリア原虫 Pv: 三日熱マラリア原虫

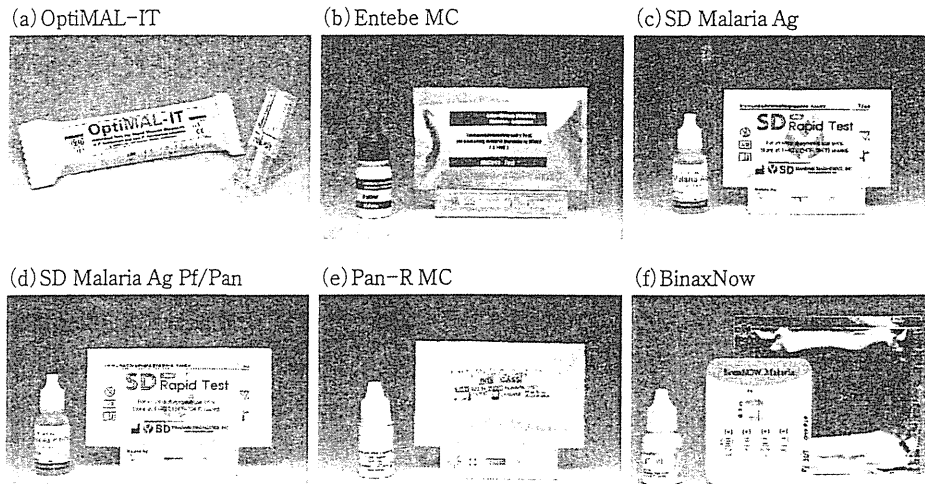


図2 各種マラリア迅速診断キット

優先となる。WHOによるRDTsの評価が進んでおり、検出感度はHRPタイプの方が優れている。擬陽性例や判定不能を示すキットも報告されておりRDTsの選択には注意を要する<sup>3)</sup>。一方、既存のRDTsはヒトマラリアを対象としているため、サルマラリアでは熱帯熱マラリアや三日熱マラリアと判定されるものがあるので注意が必要である(表2)。この反応はサルマラリアとヒトマラリアに用いられているエピトープが共通しているためと考えられる。これらRDTsについては現在まで筆者が全国の施設に配布しているキット(図2)では感度、特異度ともに100%である( $n=51$ )。診断にはギムザ染色が必須であるがイムノクロマトを用いた簡易診断キットが海外では広く用いられている。しかし我が国においてのマラリア簡易診断キットは体外診断薬として認可されておらず使用に制限があるのが実情である。あくまで研究用試薬であり、これを用いての診断は問題となる。もし使用する場合はあくまで

スクリーニングとして用いる。体外診断薬としての認可を急ぐ必要がある。

#### 4.2 リーシュマニア

Leishmaniasisは新旧大陸に分布し、全世界に数千万の患者が存在すると考えられている。旧大陸では*Phlebotomus*属、新大陸では*Lutzomyia*属のサシチョウバエによって媒介される。輸血で感染することも知られており、その抗原・抗体検査は米国などでは行われている。病型は内臓型(visceral)、皮膚粘膜型(muco-cutaneous)、皮膚型(cutaneous)に分類され、原虫の種によって異なる。

リーシュマニアは人獣共通感染症であり、げっ歯類などの野生動物がreservoir hostであり、そのコントロールは難しい。病型としての内臓型は感染後、発熱、悪寒、全身倦怠感で発症しリンパ節腫大や肝脾腫大が起こる。その後慢性期に移行しIgGやIgMの無効産生が起こり、免疫状態が悪化し感染





図3 リーシュマニア診断薬

等により死亡する。皮膚粘膜型は主として南米で見られ、鼻咽頭に病変がみられ軟部組織に対して破壊的である。皮膚型は潰瘍を呈するものや皮膚結核に類似した症状を示す。

リーシュマニアの診断は皮膚粘膜型や皮膚型では病変部からの病原体検出が主であり抗体検査の意義は少ない。また NNN (Novy-MacNeal-Nicolle) 培地での培養も行われる。リーシュマニアに対する抗体検査としては vircell 社から LEISHMANIA IFA IgG (100tests) や LEISHMANIA IFA SLIDE が、InBios 社からは Kalazar Detect™ for Visceral Leishmaniasis (図3) が輸入されている。また同社からは ELISA キットである Kalazar Detect™ ELISA for Visceral Leishmaniasis も販売されている。よってリーシュマニアにおける抗体検査の意義は内臓型リーシュマニアにおいて有用と考えられる。皮膚リーシュマニア用キット (Leishmania ELISA IgG&IgM, Vircell) も輸入可能である。

#### 4.3 クルーズ トリパノソーマ

*Trypanosoma cruzi* による感染症で、別名シャーガス病とも呼ばれる。他のトリパノソーマ症にはアフリカ型のいわゆる嗜眠病 (*Trypanosoma brucei*, *rhodesiense*, *Trypanosoma brucei*, *gambiense*) がある。シャーガス病はカメムシに似たサシガメ (triatomine bug) によって媒介され慢性的な経過をとる。中南米に約 200 万人の患者が存在すると考えられている。感染母胎からの垂直感染や輸血による感染が問

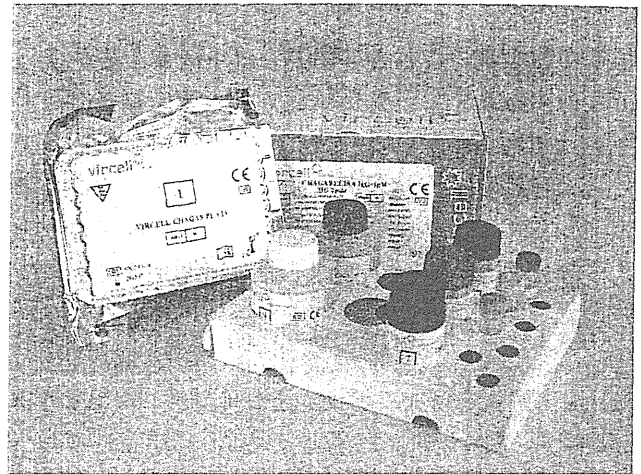


図4 トリパノソーマ症診断薬

題視されている。我が国においても中南米の出身者において散発がみられる。

急性期の症状は感染後1週間から数ヶ月間持続し、多くは自然に症状が消失する。主な症状は片側性眼瞼腫大(ロマーニャ徴候)や壊死性潰瘍である(感染部位による)。また発熱やびまん性のリンパ節腫大もみられる。ときに急性心筋炎を発症する場合もある。慢性期に移行すると無症状の時期が数年間続く。感染者の約10%が慢性期の症状を呈し心血管病変(伝導傷害、心不全、血栓症)や消化器病変(巨大食道、巨大結腸)を認め、突然死することもある。シャーガス病の診断は寄生虫学的には急性期では血液、リンパ液等のギムザ染色で虫体を検出する、あるいは組織から無鞭毛期の虫体を確認することである。一方、無感染のサシガメを用いた感染実験(xenodiagnosis)やPCRの感度も高いとされている。免疫学的には粗抗原を用いた補体結合反応や凝集反応、間接蛍光抗体法なども用いられる。一部ハンセン病、リーシュマニア症と交差反応を示すため注意が必要となる。輸入キットとしては抗体を検出する Chagas Detect™ PLUS (InBios) や Trypanosoma Detect™ for Chagas Disease (InBios)、CHAGAS ELISA IgG + IgM (vircell) (図4) が輸入可能である。

## 5 まとめ

寄生虫疾患は我が国では稀な疾患であり、その検査の多くは研究機関でなされているのが現状である。しかしながら熱帯熱マラリアのように緊急性を要する疾患や、輸血検査に関して、将来必要となる

であろうリーシュマニアやシャーガス病といった疾患も存在する。これらの簡易キットは輸入可能ではあるが、あくまで研究用試薬であり臨床に直接用いるには問題点が多い。今後これら試薬の体外診断薬としての認可、保険収載が強く望まれる。なおここに紹介したキットは株式会社東京未来スタイルから入手可能である(<http://www.tokyofuturestyle.com/>)。

【引用・参考文献】

1) 国立感染症研究所感染症情報センター：マラリア

2006-2009年(2010年6月1日現在)<http://idsc.nih.go.jp/disease/malaria/2010week38.html>(アクセス：2011年3月7日)。

- 2) S. Kawai et al. : Cross-reactivity in rapid diagnostic tests between human malaria and zoonotic simian malaria parasite *Plasmodium knowlesi* infections, *Parasitol. Int.*, **58**, 300-302(2009).
- 3) WHO, Malaria Rapid Diagnostic Test Performance : Results of WHO product testing of malaria RDTs : Round 1(2008).

<春木 宏介>

## エキノкокクス症 (包虫症)

echinococcosis (hydatid disease)

石川裕司 石川内科・理事長 (北海道)

### 病態と診断

#### ① 病態

エキノкокクス症 (多包虫症, 単包虫症) を引き起こす多包条虫, 単包条虫の終宿主はキツネやイヌなどイヌ科動物で, ヒトは中間宿主に当たる。多包虫症は北半球で流行し, わが国では累計約 600 例, 年間 20 例前後の報告をみるが, ほとんどすべて北海道に居住・旅行歴がある。本州で患者やイヌの成虫寄生が報告され, 感染拡大が懸念される。

単包虫症は世界の牧畜地域で流行し, 数年に 1 例の国内報告はすべて輸入症例である。終宿主の便に混じって排泄された虫卵が経口感染し, 孵化した六鉤幼虫は, 腸壁から血流やリンパ流を経て臓器に達する。

多包虫症の最好発臓器は肝臓 (>97%) で, 肝内の幼虫病巣は浸潤性に増大し, 肺・脳・骨などへ転移することもある。潜伏期は 10 年以上と長い。未治療のまま進行すると肝腫大, 黄疸, 腹水など癌と同様の症状が出現し, 数年から十数年で死に至る。

#### ② 診断

多包虫症の臨床診断は, ①北海道との関連, ②画像診断 (内部不均一な腫瘤性病変に石灰化), ③血清診断による。遺伝子組換え Em 18 抗原を用いたイムプロット法 (旭川医科大学寄生虫学講座) は診断精度がほぼ 100% で, 疑診例には必須の血清診断である。病理学的検査, 遺伝子検査により診断が確定する。

単包虫症の最好発臓器は肝臓 (80%) で, 大きな嚢胞性病巣を形成し, 画像診断で「蜂の巣状」所見を呈するのが特徴的である。血清診断は, 遺伝子組換え Antigen B 抗原を用いたイムプロット法が推奨される。上記抗原を用いた多包虫症, 単包虫症迅速診断キット (製造, アドテック社 <http://www.adtec-inc.co.jp>) が正確で実地臨床での簡便性にも優れている。

### 治療方針

根治切除ができれば治癒するが, 肝内多発や転移合併例では難しい。単包虫症では, 胆管交通のない症例に PAIR (puncture, aspiration, injection, reaspiration) も推奨されている。エスカゾールによる化学療法が根治手術困難例に適用される。肝・肺の多包虫症には有効であるが, 骨病変は難治との

報告がある。本剤に幼虫殺滅効果はなく治療判定も難しいため, 長期継続が必要となる。

#### ③ 処方例

エスカゾール錠 (200 mg) 3 錠 分 3 食事とともに服用 28 日間連続服用し, 14 日間休薬を繰り返す

## 住血吸虫症

schistosomiasis

大前比呂思 国立感染症研究所・寄生動物部第三室長 (東京)

### 病態と診断

#### ① 病態

住血吸虫は, 世界的には感染者 2 億人とされる。中南米 (マンソン住血吸虫), アフリカの大部分と中近東の一部 (マンソン住血吸虫, ビルハルツ住血吸虫), 中国・フィリピン・インドネシア (日本住血吸虫), ラオス・カンボジア (メコン住血吸虫) など, 広範囲に分布するが, 淡水性巻貝から幼虫 (セルカリア) が経皮感染するので, 流行国でも媒介貝生息地以外では感染の機会はない。1977 年以降, 国内での新感染例の報告はないが, 海外旅行の増加・多様化や, 海外の有病地からの入国者の増加により, 輸入感染症として注意する必要がある。

門脈系血管に寄生した住血吸虫の産卵で, 虫卵塞栓や結節が形成され, さまざまな病変を起こす。主に, 下部泌尿生殖器 (ビルハルツ住血吸虫) あるいは肝, 消化管 (そのほかの住血吸虫) が障害される。ビルハルツ住血吸虫では, 膀胱での炎症継続が癌に発展する。ほかの住血吸虫症での慢性症状は, 肝臓内の肉芽腫形成や線維化による門脈-大循環シャントによって起こる。

#### ② 診断

虫卵検査で陽性となれば確定診断に至るが, 陰性でも, 免疫血清検査を併せて行うのが望ましい。肝胆道系酵素や肝線維化マーカーは, 個々の感染例で病態や治療効果を評価するうえで有用だが, 特異性には乏しく, 軽症例では異常を示さない。超音波検査などの画像検査では, 住血吸虫症に特有な病変がみつかることもあり, 日本住血吸虫症での網目状パターンといわれる肝線維化は特徴的である。

### 治療方針

プラジカンテル (ピルトリシド) は, 住血吸虫症治療薬として WHO 基本薬剤リストに記載され, 国内での保険適用はないが第 1 選択となる。

#### ③ 処方例

ピルトリシド錠 (600 mg) 50-60 mg/kg 分 2

## ④ 保外

小児には安全とされるが, 動物実験では高濃度投与で流産率が高まるなど, 妊婦への安全性は確立されていない。

海外の流行地では40 mg/kgでの1回投与が治療の基本だが, その用量では駆虫できない例も, アフリカを中心に報告がある。プラジカンテルの成虫への作用はよく知られるが, 成熟卵に対し生体内で孵化を促す働きもある。ELISA法などで虫卵抗原に対し高い抗体価を示す例は, 糞便検査が陰性でも治療対象となると考えてよい。また, 未熟卵の成熟を待ち, 初回投与後2-3週間で同量を再投与する方法もある。国内の旧有病地で画像検査などで偶然みつかるとは, 成虫は死滅し虫卵も石灰化しており, 治療適応はないと考えられる。

## その他の吸虫症 (肺吸虫症, 肝吸虫症, 横川吸虫症, 肝蛭症)

paragonimiasis, clonorchiasis/opisthorchiasis, metagonimiasis, fascioliasis

平山謙二 長崎大学教授・熱帯医学研究所免疫遺伝学

### I 肺吸虫症

#### ① 病態

ウエステルマン肺吸虫と宮崎肺吸虫がヒトに感染する。いずれも人獣共通感染症である。終宿主である哺乳類から排出された虫卵は第1中間宿主の淡水産巻貝を経由し, 第2中間宿主のサワガニやモクズガニなどの淡水産甲殻類の体内で感染型のメタセルカリアとなり, これを経口摂取すると感染する。イノシシはカニを好んで食べるが好適宿主ではないためメタセルカリアはそのまま筋肉内に留まっている。これを生食して感染することもある(ウエステルマン肺吸虫)。

#### ② 診断

感染から呼吸器症状出現(咳嗽, 痰, 血痰, 胸痛)まで約1か月かかる。胸部画像所見としては胸水や気胸, 肺実質の結節影(ウエステルマン肺吸虫症)がみられることがある。

他の肺疾患との鑑別には, 好酸球増多症や病歴を参考に疑わしければ虫卵の検出や免疫血清診断を行う。

#### ③ 治療法

いずれの肺吸虫にもプラジカンテル(ビルトリシド)が有効であるが, 添付文書の記載よりも多めに投与する必要がある。

#### ④ 処方例

ビルトリシド錠 75 mg/kg 分3 3日間 (保外)  
用量

副作用はほとんどないが, 妊娠3か月未満の妊婦には投与しない。

### II 肝吸虫症

#### ① 病態と診断

肝吸虫およびタイ肝吸虫がヒトの肝内胆管に寄生する。前者は東アジア, 後者はインドシナのココン流域に患者が多い。哺乳類の排出する虫卵は淡水産の巻貝を経てコイ科の淡水魚で感染型幼虫となり, 生食により経口感染する。

少数寄生の場合無症状であるが, 多数の場合胆管が閉塞し胆管炎, 肝機能障害, 肝硬変を引き起こすことがある。診断には糞便, 胆汁中の虫卵検出を行う。

#### ② 治療法

プラジカンテルが有効である。

#### ④ 処方例

ビルトリシド錠 40 mg/kg 分2 2日間

### III 横川吸虫症

#### ① 病態と診断

感染型幼虫をもったアユ, シラウオなどの生食により感染し, 1週間で成虫となり小腸粘膜に寄生する。普通無症状だが多数寄生すると下痢や腹痛を起こす。診断は糞便中の虫卵検査(集卵法)による。

#### ② 治療法

虫卵検査陽性であれば無症状でも薬物治療を行う。

#### ④ 処方例

ビルトリシド錠 40 mg/kg 分2 1日

### IV 肝蛭症

#### ① 病態と診断

ウシ, ヒツジ, ヤギなどの肝臓や胆管内に寄生する大型の吸虫(1×3 cmほど)だがヒトにも感染する。家畜の糞便中の虫卵は淡水産の巻貝でセルカリアとなり遊出して水草や牧草に付着し感染型幼虫となる。

ヒトではセリ, ミヨウガなどにより経口感染し, 急性胆嚢炎や胆石症と類似の症状(発熱, 上腹部痛)のほか著明な好酸球増多症を引き起こす。診断は糞便検査による虫卵の検出に免疫血清診断を併用する。

#### ② 治療法

ビルトリシドの駆虫効果は低いので, 最近では



ELSEVIER

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

## Parasitology International

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/parint](http://www.elsevier.com/locate/parint)

## Efficacy and safety of atovaquone–proguanil in treating imported malaria in Japan: The second report from the research group

Mikio Kimura <sup>a,\*</sup>, Michiko Koga <sup>b</sup>, Tadashi Kikuchi <sup>b</sup>, Toshiyuki Miura <sup>b,1</sup>, Haruhiko Maruyama <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Department of Internal Medicine, Shin-Yamanote Hospital, Japan Anti-Tuberculosis Association, Tokyo, Japan

<sup>b</sup> Division of Infectious Diseases, Advanced Clinical Research Center, Institute of Medical Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan

<sup>c</sup> Department of Infectious Diseases, Division of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Miyazaki, Miyazaki, Japan

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 14 January 2012

Received in revised form 20 February 2012

Accepted 20 March 2012

Available online 29 March 2012

## Keywords:

Malaria

Atovaquone–proguanil

Antimalarial drug

The Research Group on Chemotherapy of

Tropical Diseases

## ABSTRACT

Malaria remains an important health risk among travelers to tropical/subtropical regions. However, in Japan, only 2 antimalarials are licensed for clinical use – oral quinine and mefloquine. The Research Group on Chemotherapy of Tropical Diseases introduced atovaquone–proguanil in 1999, and reported on its excellent antimalarial efficacy and safety for treating non-immune patients with uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria (20 adult and 3 pediatric cases) in 2006. In the present study, additional cases of malaria were analyzed to confirm the efficacy and safety of this antimalarial drug. Fourteen adult and 2 pediatric cases of *P. falciparum* malaria and 13 adult cases and 1 pediatric case of *P. vivax/ovale* malaria were successfully treated with atovaquone–proguanil, including 3 *P. falciparum* cases in which the antecedent treatment failed. Two patients with *P. vivax* malaria were treated twice due to primaquine treatment failure as opposed to atovaquone–proguanil treatment failure. Except for 1 patient with *P. falciparum* malaria who developed a moderate liver function disturbance, no significant adverse effects were observed. Despite the intrinsic limitations of this study, which was not a formal clinical trial, the data showed that atovaquone–proguanil was an effective and well-tolerated therapeutic option; licensure of this drug in Japan could greatly contribute to individually appropriate treatment options.

© 2012 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Malaria is one of the most important, potentially fatal, health problems among travelers from industrialized countries who visit regions with endemic malaria, affecting approximately 10,000 European and North American travelers annually [1]. A study of imported malaria in selected European countries and the United States revealed case fatality rates of 0%–3.6%, averaging 1.6%, for *Plasmodium falciparum* malaria [2]. Treatment is becoming increasingly difficult due to the widespread drug resistance of *P. falciparum*, and the occasional drug resistance of *P. vivax*. Atovaquone–proguanil (Malarone, GlaxoSmithKline) is a fixed-dose combination of 250 mg of atovaquone and 100 mg of proguanil hydrochloride that was originally developed for treating drug-resistant *P. falciparum* malaria. Since its investigational use in endemic areas, such as Africa and Southeast Asia in the 1990s, this agent has been used extensively for prophylaxis and treatment of malaria among

travelers. To date, this agent has been well tolerated and highly effective, with only occasionally reported cases of treatment failure.

In Japan, oral quinine and mefloquine are the only licensed anti-malarial drugs, raising concerns that patients may follow an unfavorable clinical course if they do not tolerate these drugs or their illness responds poorly. The Research Group on Chemotherapy of Tropical Diseases, Japan, of which the authors are principal members, advocates the use of medicines that are not nationally licensed for tropical and parasitic diseases [3,4]. This system is indispensable for the appropriate treatment of Japanese patients who contract exotic diseases for which formal compassionate drug use protocols are not available [5]. Atovaquone–proguanil, which is one of those medicines, was imported in 1999, and our experience with this antimalarial drug was reported in 2006. Atovaquone–proguanil was found to be efficacious and safe when used in non-immune patients with uncomplicated *P. falciparum* malaria [4]. Here, we report on additional cases of malaria treated with atovaquone–proguanil, including those due to *P. vivax/ovale* infection.

### 2. Patients and methods

#### 2.1. The research group and the use of medicines

The Research Group on Chemotherapy of Tropical Diseases was established in 1980 and is currently funded by the Ministry of Health,

\* Corresponding author at: Department of Internal Medicine, Shin-Yamanote Hospital, Japan Anti-Tuberculosis Association, Suwa-cho 3-6-1, Higashi-Murayama, Tokyo 189-0021, Japan. Tel.: +81 42 391 1425; fax: +81 42 391 5760.

E-mail address: [kimumiki@abox3.so-net.ne.jp](mailto:kimumiki@abox3.so-net.ne.jp) (M. Kimura).

<sup>1</sup> Present address: Department of Medical Affairs, ViiV Healthcare K.K. Sendagaya 4-6-15, Shibuya-ku, Tokyo 151-8566, Japan.

Labour and Welfare in Japan. The group has introduced nationally unlicensed medicines such as those against amebiasis, leishmaniasis, trypanosomiasis, fasciolosis, and cryptosporidiosis. In addition to atovaquone–proguanil (purchased from John Bell & Croyden Ltd., London, UK), the group has also introduced other antimalarial drugs, including chloroquine, artemether–lumefantrine, primaquine, injectable quinine, and rectal artesunate [3]. The quality of these medicines was examined at the National Institute of Health Sciences, Tokyo, especially upon their first introduction. Some antimalarials are readily available at 25 registered medical facilities distributed throughout the country. This enables the appropriate treatment of patients, without significant delay, in any area of the country. Other medicines are provided, upon request, to those registered facilities from a central storage facility at the Institute of Medical Science, University of Tokyo, Tokyo.

Members of the registered medical facilities have obtained approval for participating in this program from the research ethics committee of each facility. The use of these unlicensed drugs at the registered facilities is allowed only after obtaining the patient's informed consent that clearly states that the drugs are not licensed in Japan. In exceptional cases, when a patient cannot be referred to one of the registered facilities, e.g., due to disease severity, drugs have been used outside of the registered medical facilities on a humanitarian basis. Following treatment, the physicians-in-charge complete the patient records that were formulated by the research group. Since August 2009, those unlicensed medicines have been used in accordance with the Ethics Guidelines for Clinical Research, Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan (July 31, 2008). Clinical research insurance is made available to cover unexpected health damages that may occur with the use of those medicines.

## 2.2. Patients and analysis

Cases were excluded if they were enrolled in our previous study [4]. Analyses were conducted using the patients' records; however, when necessary, direct contact with the physicians-in-charge was made in order to gain more detailed information. Each patient's physician was primarily responsible for the selection of the antimalarial (atovaquone–proguanil); in some cases, drug selection was aided by consultation with specialists in the aforementioned research group. Patients were excluded if they received other antimalarials at the same episode, as this could compromise evaluation of the test drug. An exception was made for the use of primaquine as a radical cure of *P. vivax/ovale* malaria.

Non-immune individuals were defined as those who lived in non-endemic countries for at least 1 year and who traveled to an endemic country and contracted malaria [6]. The effectiveness and adverse effects of the antimalarial were evaluated based on the physicians' descriptions, as well as by a review of the laboratory data shown in the patient records.

## 3. Results

### 3.1. Treatment of *P. falciparum* malaria

Patients who developed illness between 2003 and 2010 were enrolled (Table 1). Fourteen adult patients were treated, all of whom received 4 tablets, once daily for 3 successive days. Many of the patients were Japanese, most were non-immune, and all were infected while traveling to sub-Saharan African countries. Of those patients, 3 received atovaquone–proguanil after failure of an antecedent treatment, i.e., Case 4, after injectable quinine and mefloquine; Cases 6 and 14, after artemether–lumefantrine. Defervescence and malaria parasite clearance were confirmed in all or in almost all cases, respectively. Possible adverse effects were reported in 2 cases. One patient (Case 5) showed a liver function disturbance (aspartate aminotransferase (AST), 215 IU/L; alanine aminotransferase (ALT), 294 IU/L; total bilirubin (T-Bili), 2.0 mg/dL), leukopenia (2200/ $\mu$ L), and thrombocytopenia ( $48 \times 10^3$ / $\mu$ L), which worsened after start of the treatment and returned to normal within 4 weeks of treatment. The second patient (Case 11) developed a low-grade headache and diarrhea.

A seventeen-month-old girl (Case 15) developed *P. falciparum* malaria after visiting Guinea and was treated with 3/4 tablet, once daily for 3 days. Another 2-year-old girl (Case 16) developed *P. falciparum* malaria after visiting Uganda and was given 1 tablet, once daily for 3 days. Both of the children were cured without noticeable adverse effects.

### 3.2. Treatment of *P. vivax/ovale* malaria

Patients who developed illness between 2001 and 2008 were enrolled (Table 2). Thirteen adult patients, one of whom contracted *P. ovale* malaria, were treated with 4 tablets, once daily for 3 days; 2 patients were counted twice, as described below. Most of the cases were non-immune and many were foreign nationals who visited Papua New Guinea. The above 2 patients were counted twice due to demonstrated relapses of *P. vivax* malaria. One patient was infected

**Table 1**  
Atovaquone–proguanil treatment of *P. falciparum* malaria.

Case	Age/sex	Body weight (kg)	Nationality	Semi-immune	Country of disease acquisition	Treatment results				Remarks
						Parasite clearance	Effectiveness	Outcome	Adverse events	
1	47/M	ND <sup>a</sup>	Ghana	Unknown	Ghana	+	++	ND	–	VFRs <sup>b</sup>
2	30/F	52	Japan	–	Mozambique	+	++	Cure	–	
3	40/M	82	Japan	–	Liberia	+	+	Cure	–	
4	44/M	81	Japan	–	Tanzania	ND	+	ND	–	Failure of antecedent therapy
5	29/F	50	Japan	–	Ghana	+	+	Cure	+	Headache, nausea, liver function disturbance, leukopenia, thrombocytopenia
6	58/M	83	Japan	–	Sierra Leone	+	++	ND	–	Failure of antecedent therapy
7	26/F	48	Japan	–	Kenya	+	+	Cure	–	
8	33/M	64	Japan	–	Kenya	+	+	Cure	–	
9	29/F	ND	Japan	–	Ghana	+	++	ND	–	
10	33/M	ND	Ghana	–	Ghana	+	++	Cure	–	VFRs
11	54/M	73	Japan	–	Ghana	+	++	Cure	+	Slight headache, diarrhea
12	52/F	ND	Japan	–	Niger	+	+	Cure	–	
13	39/M	61	Ghana	+	Ghana	ND	+	Cure	–	
14	29/M	65	Japan	–	Uganda/Tanzania	+	++	Cure	–	Failure of antecedent therapy
15	01/F	8.8	ND	–	Guinea	+	+	Cure	–	3/4 tablet/day for 3 days
16	02/F	13	Japan	–	Uganda	+	++	Cure	–	1 tablet/day for 3 days, VFRs

<sup>a</sup> ND; not described.

<sup>b</sup> VFRs; visiting friends and relatives.

**Table 2**  
Atovaquone–proguanil treatment of *P. vivax/ovale* malaria.

Case	Age/sex	Body weight (kg)	Nationality	Semi-immune	Country of disease acquisition	Treatment results				Remarks
						Parasite clearance	Effectiveness	Outcome	Adverse events	
1	23/F	68	U.S.A. <sup>a</sup>	–	Thailand	ND <sup>b</sup>	++	Relapse	–	
2	23/F	68	U.S.A.	–	Thailand	+	++	Cure	–	Retreatment of Case 1
3	30/F	63	South Africa	Unknown	P.N.G. <sup>c</sup>	+	++	Cure	–	
4	62/M	61	Japan	–	P.N.G.	+	++	Cure	–	
5	22/F	66	U.S.A.	–	P.N.G.	+	+	Cure	–	
6	25/M	ND	U.K. <sup>d</sup>	–	P.N.G.	+	++	Relapse	–	
7	25/M	ND	U.K.	–	P.N.G.	+	++	Cure	–	Retreatment of Case 6
8	24/M	72	U.S.A.	–	P.N.G.	+	+	Cure	–	
9	26/M	72	U.K.	–	P.N.G.	+	+	Cure	–	
10	22/F	54	Japan	–	Honduras	+	++	Cure	–	
11	45/M	80	Madagascar	Unknown	Madagascar	+	++	Unknown	+	Slight skin itch
12	21/M	ND	Japan	–	Uganda	+	++	Cure	–	<i>P. ovale</i> malaria
13	24/M	66	Japan	–	Vanuatu	+	++	ND	–	
14	14/F	ND	Japan	–	P.N.G.	+	++	Cure	–	Adult dosage

All but Case 12 were due to *P. vivax* malaria.

<sup>a</sup> U.S.A.; the United States of America.

<sup>b</sup> ND; not described.

<sup>c</sup> P.N.G.; Papua New Guinea.

<sup>d</sup> U.K.; the United Kingdom.

in Thailand and initially received atovaquone–proguanil, followed by primaquine base 15 mg/day for 14 days, which led to defervescence (Case 1). However, because of a relapse occurring after 4 months, atovaquone–proguanil was administered again, followed by primaquine base 30 mg/day for 14 days, which resulted in complete cure (Case 2). A second patient was infected in Papua New Guinea and primaquine base 30 mg/day was given for 14 days, following acute-stage treatment with atovaquone–proguanil (Case 6). Due to a relapse that occurred after 3 months, atovaquone–proguanil was administered again, followed by the same daily dosage of primaquine for 28 days, leading to a complete cure (Case 7). Defervescence and malaria parasite clearance were confirmed in all or almost all cases, respectively. As a possible adverse effect, 1 patient reported a low-grade skin itch.

A 14-year-old girl (Case 14) contracted *P. vivax* malaria after visiting Papua New Guinea. She received the adult dosage of atovaquone–proguanil, followed by primaquine, and showed complete cure, without developing adverse effects.

#### 4. Discussion

This study was not conducted as a formal clinical trial and is, therefore, subject to some limitations. One limitation is the non-uniform evaluation of the effectiveness and adverse effects of the drug. Categorization of the therapeutic effectiveness and outcome, as well as the determination of possible adverse effects may have been assessed differently between physicians. In addition, post-treatment follow-up periods may have varied between patients; for example, foreign visitors to Japan may have been observed only for a short period of time prior to their return to their home country. However, it is also plausible that the physicians established close relationships with their patients due to the unique nature of this trial, with the result that most of the unusual events, such as recrudescence/relapse of malaria or delayed adverse effects, were reported even after the patient record was fulfilled and submitted. Thus, despite these limitations, the data contribute to the evaluation of the efficacy and safety of atovaquone–proguanil in malaria treatment in Japan.

In our previously reported study [4], the efficacy and safety of atovaquone–proguanil were compared to those of mefloquine in non-immune patients with uncomplicated *P. falciparum* malaria. In that study, all 20 patients were cured with atovaquone–proguanil compared to 49 cures out of 50 cases treated with mefloquine. The mean fever clearance time and parasite clearance time appeared to be longer in the atovaquone–proguanil group, but the differences were

not statistically significant. Adverse effects were significantly fewer in the atovaquone–proguanil group, with no patients reporting gastrointestinal or neuropsychiatric symptoms, such as dizziness and vivid dreams; these symptoms were occasionally reported by mefloquine recipients. The only reported adverse effect in the atovaquone–proguanil group was mild-to-moderate elevation of liver enzymes, which, however, seemed to be associated with the disease itself. In addition, 3 children with *P. falciparum* malaria (Ages: 1 year and 11 months, 4 years and 1 month, and 5 years and 8 months) were treated successfully and safely with reduced dosages of atovaquone–proguanil. The results of the current study reinforces the observation that atovaquone–proguanil is an effective and well-tolerated malaria treatment regimen in Japan.

Combining studies performed in the 1990s in malaria-endemic regions, such as Southeast Asia, Africa, and South America, atovaquone–proguanil has shown an overall cure rate of >98% for *P. falciparum* malaria [7]. The excellent efficacy of this agent against *P. falciparum* malaria was maintained when studied in Thailand during November 2004–December 2005 (97.8%) [8]. Regarding imported malaria, two studies in France that examined the drug's efficacy against *P. falciparum* malaria, one with 25 cases [6] and the other with 112 cases [9], confirmed the excellent efficacy and safety of atovaquone–proguanil. Another study in France reported the use of the agent in 72 patients with excellent tolerability, with only 1 treatment failure associated with digestive disorders [10]. A Danish study enrolled 50 *P. falciparum* malaria patients, most of whom seemed to be non-immune, and reported successful treatment in all patients and the absence of significant adverse effects [11]. A more recent French study also reported 48 pediatric patients with imported *P. falciparum* malaria who were treated successfully with atovaquone–proguanil [12]. The only reported adverse events were from 3 patients who discontinued the antimalarial because of vomiting. Thus, the available data support the safety and efficacy of atovaquone–proguanil for treating imported, uncomplicated *P. falciparum* cases. These data also provide a rationale for the recommended use of atovaquone–proguanil in malaria treatment guidelines in developed countries. In addition, due to the gradual increases in chloroquine resistance of *P. vivax*, a U.S. recommendation for treatment of malaria positioned this agent as the treatment of choice for the acute stage of *P. vivax* malaria acquired in Papua New Guinea or Indonesia [13].

Proguanil was postulated to exert anti-plasmodial activity after being metabolized to cycloguanil by CYP2C19 rather than in its native form. Because the CYP2C19-related poor metabolizers are more

frequent in East Asian populations, including Japanese [14], concern was raised that Japanese patients might not respond well to treatment with antimalarials containing proguanil. Although a phenotypic or genetic analysis was not conducted, the current study does not support that concern. Additionally, studies on African and Asian populations did not reveal any association between the poor metabolizers and breakthrough parasitemia or treatment failure associated with proguanil use [15].

The *P. falciparum* cytochrome *b* complex is thought to be the target of atovaquone, the major constituent of the combination drug. Since 2002, cases of genetically confirmed atovaquone–proguanil treatment failures have been reported for *P. falciparum*, each showing a modification of codon 268 (wild type, tyrosine) to serine, asparagine, or cysteine, which results in the inhibition of atovaquone binding to the complex, thus conferring resistance [16]. According to Rose et al. [17], most of the resistant parasites were found in cases contracted in sub-Saharan Africa, but cases acquired in other areas such as Comoros [18], South America [19], and the Indian subcontinent [20] were also reported. Other possible causes of treatment failure may include still unidentified mutations of the *Plasmodium* genes, impaired bioavailability of the drug, and heavier than normal patients [21]. Vigilance will necessarily be required to monitor the future occurrence of this drug-resistant form of malaria in travelers returning to Japan.

Generally, treatment with atovaquone–proguanil has been reportedly well-tolerated with fewer reported neuropsychiatric adverse events than those associated with mefloquine. Two reviews of antimalarial drugs' adverse effects mentioned occasional elevation of transaminases [22,23], which, however, often resolved within 4 weeks of atovaquone–proguanil treatment [22]. A systematic summary of studies with this drug indicated that liver function disturbance occurred in <5% of cases [24], while a study in Thailand showed elevation of ALT and AST in 16% and 13% of patients, respectively [25]. An anecdotal report has also been published on a traveler who was prescribed prophylactic atovaquone–proguanil and who developed an acute hepatitis-like illness, with increased levels of ALT (~700), AST (~200), and with T-Bili levels indicative of jaundice [26]. The liver function disturbance reported in one of the present *P. falciparum* cases, however, may not be totally ascribed to the drug's adverse effects, rather it may have been malaria-related. More data are needed regarding this hepatotoxicity issue, especially when focusing on Japanese patients.

In conclusion, atovaquone–proguanil has, again, been shown to be an effective and well-tolerated therapeutic regimen for *P. falciparum* and *P. vivax* malaria. The licensing of this product in Japan, where only 2 antimalarials are licensed, could greatly contribute to offering individually appropriate treatment options.

## 5. Conflict of interest

None.

## Acknowledgments

We thank all the members of the research group who provided the patients' treatment data. This study was supported in part by a research grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan (H22-Seisakusouyaku-Ippan-003).

## References

- [1] Nakato H, Vivancos R, Hunter PR. A systematic review and meta-analysis of the effectiveness and safety of atovaquone–proguanil (Malarone) for chemoprophylaxis against malaria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2007;60:929–36.

- [2] Muentener P, Schlagenhauf P, Steffen R. Imported malaria (1985–1995): trends and perspectives. *Bulletin of the World Health Organization* 1999;77:560–6.
- [3] Kimura M, Suzuki A, Matsumoto Y, Nakajima K, Wataya Y, Ohtomo H. Epidemiological and clinical aspects of malaria in Japan. *Journal of Travel Medicine* 2003;10:122–7.
- [4] Hitani A, Nakamura T, Ohtomo H, Nawa Y, Kimura M. Efficacy and safety of atovaquone–proguanil compared with mefloquine in the treatment of non-immune patients with uncomplicated *P. falciparum* malaria in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy* 2006;12:277–82.
- [5] Teraoka A, Tsutani K. Compassionate use of unapproved drugs – how can we fulfill Japanese patients' needs to access unapproved drugs? *Japanese Pharmacology and Therapeutics* 2010;38:109–50 (Article in Japanese).
- [6] Bouchaud O, Monlun E, Muanza K, Fontanet A, Scott T, Goetschel A, et al. Atovaquone plus proguanil versus halofantrine for the treatment of imported acute uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in non-immune adults: a randomized comparative trial. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2000;63:274–9.
- [7] Looareesuwan S, Chulay JD, Canfield CJ, Hutchinson DBA. Malarone™ (atovaquone and proguanil hydrochloride): a review of its clinical development for treatment of malaria. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1999;60:533–41.
- [8] Krudsood S, Patel SN, Tangpukdee N, Thanachartwet W, Leowattana W, Pornpininworakij K, et al. Efficacy of atovaquone–proguanil for treatment of acute multidrug-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Thailand. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2007;76:655–8.
- [9] Malvy D, Djossou F, Vatan R, Pistone T, Etienne G, Longy-Boursier M, et al. Experience with the combination atovaquone–proguanil in the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria—report of 112 cases. *Médecine Tropicale : Revue du Corps de Santé Colonial* 2002;62:229–31 (Article in French).
- [10] Vatan R, Pistone T, Millet P, Etienne G, Mercié P, Longy-Boursier M, et al. Retrospective analysis of 107 imported adult cases of malaria. Experience report of uncomplicated *falciparum* malaria treatment in adults with oral atovaquone–proguanil. *Presse Médicale* 2006;35:571–7 (Article in French).
- [11] Thybo S, Gjørup I, Ronn AM, Meyrowitsch D, Bygberg IC. Atovaquone–proguanil (Malarone): an effective treatment for uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in travelers from Denmark. *Journal of Travel Medicine* 2004;11:220–4.
- [12] Blondé R, Naudin J, Bigirimana Z, Holvoet L, Fenneteau O, Vitoux C, et al. Tolerance and efficacy of atovaquone–proguanil for the treatment of paediatric imported *Plasmodium falciparum* malaria in France: clinical practice in a university hospital in Paris. *Archives de Pédiatrie* 2008;15:245–52 (Article in French).
- [13] Griffith KS, Lewis LS, Mali S, Parise ME. Treatment of malaria in the United States: a systemic review. *JAMA* 2007;297:2264–77.
- [14] Man M, Farmen M, Dumaul C, Teng CH, Moser B, Irie S, et al. Genetic variation in metabolizing enzyme and transporter genes: comprehensive assessment in 3 major East Asian subpopulations with comparison to Caucasians and Africans. *Journal of Clinical Pharmacology* 2010;50:929–40.
- [15] Kerb R, Fux R, Mörike K, Kremsner PG, Gil JP, Gleiter CH, et al. Pharmacogenetics of antimalarial drugs: effect on metabolism and transport. *The Lancet Infectious Diseases* 2009;9:760–74.
- [16] Fivelman QL, Butcher GA, Adagu IS, Warhurst DC, Pasvol G. Malarone treatment failure and *in vitro* confirmation of resistance of *Plasmodium falciparum* isolate from Lagos, Nigeria. *Malaria Journal* 2002;1:1.
- [17] Rose GW, Suh KN, Kain KC, Le Saux N, McCarthy AE. Atovaquone–proguanil resistance in imported *falciparum* malaria in a young child. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2008;27:567–9.
- [18] Savini H, Bogreau H, Bertaux L, Bouchiba H, Kraemer P, Parzy D, et al. First case of emergence of atovaquone–proguanil resistance in *Plasmodium falciparum* during treatment in a traveler in Comoros. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2008;52:2283–4.
- [19] Legrand E, Demar M, Volney B, Ekala M-T, Quinternet M, Bouchier C, et al. First case of emergence of atovaquone resistance in *Plasmodium falciparum* during second-line atovaquone–proguanil treatment in South America. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2007;51:2280–1.
- [20] Perry TL, Pandey P, Grant JM, Kain KC. Severe atovaquone-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in a Canadian traveller returned from the Indian subcontinent. *Open Medicine* 2009;3:10–6.
- [21] Durand R, Prendki V, Cailhol J, Hubert V, Ralaimazava P, Massias L, et al. *Plasmodium falciparum* malaria and atovaquone–proguanil treatment failure. *Emerging Infectious Diseases* 2008;14:320–2.
- [22] Taylor WRJ, White NJ. Antimalarial drug toxicity: a review. *Drug Safety* 2004;27:25–61.
- [23] AlKadi HO. Antimalarial drug toxicity: a review. *Chemotherapy* 2007;53:385–91.
- [24] Marra F, Salzman JR, Ensom MHH. Atovaquone–proguanil for prophylaxis and treatment of malaria. *The Annals of Pharmacotherapy* 2003;37:1266–75.
- [25] Looareesuwan S, Wilairatana P, Chalermarut K, Rattanaong Y, Canfield CJ, Hutchinson DBA. Efficacy and safety of atovaquone/proguanil compared with mefloquine for treatment of acute *Plasmodium falciparum* malaria in Thailand. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1999;60:526–32.
- [26] Grieshaber M, Lämml J, Marcus L. Acute hepatitis and atovaquone/proguanil. *Journal of Travel Medicine* 2005;12:289–90.



## 形態学的な診断が困難であった卵形マラリアの1例

日谷明裕\*1 大槻和花\*2 高谷 周\*3  
覚 雅子\*4 春木宏介\*5

### A Case of *Plasmodium Ovale* Malaria

#### —Morphological Diagnostic Difficulty and Utility of Rapid Diagnostic Tests—

Akihiro HITANI, MD\*1, Waka OTSUKI\*2, Shu TAKAYA, MD, PhD\*3,  
Masako TO, MD, PhD\*4 and Kosuke HARUKI, MD, \*5

A 46-year-old Japanese man was referred to our travel clinic because of high fever for the past 7 days. He worked as an engineer for a month in Zambia and returned to Japan 2 days ago. He had a high-grade fever of 40.5°C. Examination of the palpebral conjunctiva showed no evidence of anemia. Liver and spleen were not palpable. Blood sample was collected at the time of the febrile paroxysm. Malaria parasites were detected by examination of Giemsa-stained thin blood films. The dominant feature of parasite was early trophozoite with a low parasitemia (0.0469%, 1,857.6/ $\mu$ L). The James' stippling was absent. Schizonts and gametocytes were scarce. As ring morphology was quite variable, identification of species might not be possible. Identification of species is more difficult than usual, on the grounds that: 1) the blood sample contains rare early trophozoites, 2) the level of parasitemia is low, and 3) it is quite possible for parasites to be transformed due to the inappropriate treatment. Finally, the diagnosis was confirmed by nested PCR.

Examination of Giemsa-stained blood films is the "gold standard" for detection and identification of organisms. However, in non-endemic countries, trained laboratory personnel are scarce and the most may be inexperienced in malaria diagnosis. It is recommended that personnel continue to gain experience by participating in external quality assurance schemes, and that routine laboratories utilize rapid diagnostic tests (RDTs) concurrently. The availability of simple and accurate RDTs could aid the diagnosis in no-endemic countries. 【Case Report】

[Rinsho Byori 61 : 32~37, 2013]

Corresponding author: Akihiro HITANI, MD, Department of Clinical Laboratory, Dokkyo Medical University Koshigaya Hospital, Koshigaya 343-8555, Japan. E-mail: hitani@dokkyo.med.ac.jp

【Key Words】 *Plasmodium ovale* malaria (卵形マラリア), early trophozoite (早期栄養体), rapid diagnostic test (迅速診断キット)

受付 2012 年 8 月 6 日・受理 2013 年 1 月 21 日

\*1,4,5 獨協医科大学越谷病院臨床検査部 (〒343-8555 越谷市南越谷 2-1-50)

\*2 聖隷横浜病院薬剤課, \*3 同 救急科 (〒240-8521 横浜市保土ヶ谷区岩井町 215)

\*5 Dr. Med. Sci, M. Trop. Med. (Liverpool)

マラリアは致死的にもなりうる重要な感染症であるため帰国者の診療時に早急な診断確定が必須である。しかし一般医療機関の医師、臨床検査技師にとっては診断が非常に困難である。標準的な診断法は光学顕微鏡を用いたギムザ染色による。我が国では症例数が少なく臨床検査技師の大多数は日常の業務でマラリア原虫に遭遇することがほとんどなく原虫の形態に熟知することができない。顕微鏡による診断法を補助するものとして迅速診断キット(以下、RDTと略)と、ある程度時間を費やすPCRによる遺伝子検査があるが両者とも保険適応はなく普及していない。一般的にRDTの有用性は明らかであるが我が国で認可された検査法ではないので、これを用いて診断を確定することはできない<sup>1)</sup>。

今回、我々は形態学的に診断に苦慮した卵形マラリアの一例を経験した。その理由として幼若な栄養体が多数を占めたこと、低い原虫血症、現地における不完全な治療の可能性などが考えられた。診断確定の補助としてRDTを使用し迅速に治療を開始することができた。RDTの有用性について考察したので報告する。

## I. 症例(46歳男性)

主 訴：発熱，悪寒戦慄

既 往：腎癌にて左腎摘出(35歳)

職 業：医療機器エンジニア

現病歴：2011年5月4日より31日までザンビア東部のチピタに国際医療協力の専門家として滞在中。滞在中、深夜以降に屋内で蚊に刺された。28日より発熱あり、30日に現地の医療機関を受診しマラリアの検査を行ったが陰性であった。6月3日に聖隷横浜病院トラベルクリニックを受診し末梢血の薄層塗抹標本にてマラリア原虫を認めた(Fig. 1)。ほとんどの原虫が幼若な栄養体であり、赤血球の感染率は0.0469%、感染赤血球は正常赤血球よりやや大きく卵形で鋸歯状縁を認めた。また斑点は認められなかった。30分程の観察の後、ようやく分裂体と雄性生殖母体をわずかに観察した。渡航地域が東アフリカである事と原虫の形態から卵形マラリアを最も疑い入院となった。

身体所見(入院時)：体温40.3°C、顔面の軽度浮腫あり、肝脾は触れず。

画像所見(入院時)：腹部超音波検査では肝腫大なく脾腫を認めた(Spleen index: 21.9)。入院時検査所

Table 1 Laboratory study at admission

WBC	3,870/ $\mu$ L
neutrophil	77.5 %
RBC	$396 \times 10^4$ / $\mu$ L
Hb	13.5 g/dL
Ht	37.1 %
Plt	$3.3 \times 10^4$ / $\mu$ L
CRP	3.1 mg/dL
Parasite density	1,857.6/ $\mu$ L
Parasitemia percentage	0.0469 %
AST	29 IU/L
ALT	31 IU/L
$\gamma$ -GTP	16 IU/L
ALP	163 IU/L
LDH	333 IU/L
BUN	15.2 mg/dL
Cre	1.39 mg/dL
Urinary protein	1+
Occult hematuria test	Negative

見をTable 1に示す。

経 過：メフロキン275mg錠を3錠、2錠、1錠と8時間おきに内服し症状は改善した。ヒト感染性マラリア原虫4種鑑別nested PCRを依頼し卵形マラリア原虫の単純感染と診断した。PCT<sub>10</sub>(治療開始後に原虫数が初期値の10%に低下するまでの時間)は60時間、FCT(治療開始後に37.5°C未満に解熱するまでの時間)は6時間であった。根治療法に先立ち赤血球内のG6PD(glucose-6-phosphate dehydrogenase)の活性測定を依頼し正常の活性であると確認した。プリマキンは熱帯病治療薬研究班(略称)より供与を受け、使用に関しては聖隷横浜病院倫理委員会に承認された。プリマキン塩基15mg/日を14日間投与し合併症は認められなかった。

## II. 考 察

我々が苦慮した理由として、以下四つの理由が考えられる。まず幼若な栄養体が多数を占めたことが挙げられる。分裂体の破裂とともに多数のメロゾイトが放出され新たな赤血球に感染する<sup>2)</sup>が、熱発作は分裂体の破裂に一致する(Fig. 2)。*Plasmodium vivax*(以下、Pvと略)、*Plasmodium ovale*(以下、Poと略)、*Plasmodium malariae*(以下、Pmと略)ではほとんどの場合、種々の発達段階が同時に観察されるが、採血の時期により一定の段階の形態が優勢となる<sup>2)</sup>。すなわち悪寒戦慄の時期には分裂体が最も多

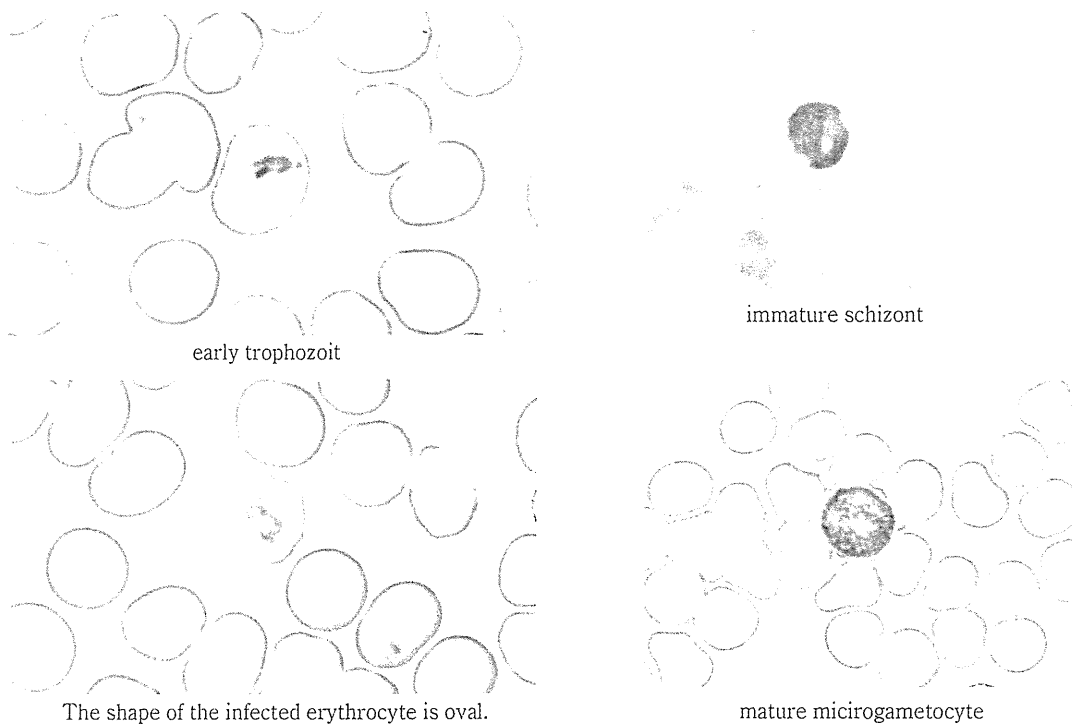


Figure 1 Photomicrographs of *Plasmodium ovale* in this case (×1,000)

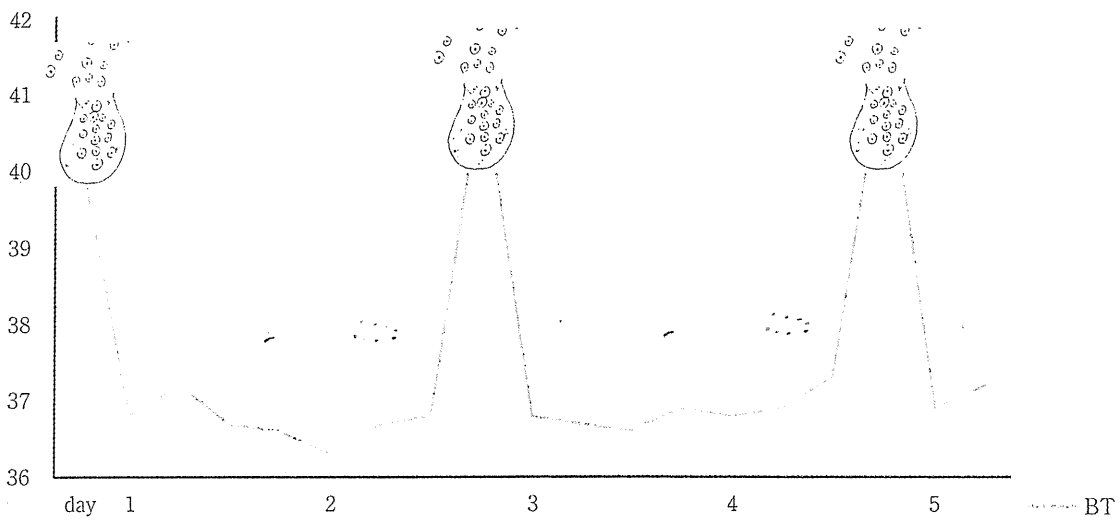


Figure 2 Life cycles of *P. ovale* and malaria paroxysms.

Within erythrocytes, merozoites develop from ring forms into trophozoites and then into schizonts over 48 hours (*P. ovale*). The classic malaria paroxysm lasts several hours, can occur with a regular periodicity coinciding with the synchronous rupture of blood schizonts.

(\*This drawing is truly original and illustrated by the first author.)

く観察される。本症例は熱発作の直後に採血を行っており、このため観察しうる形態のほとんどが幼若な栄養体であったと考えられる。Fig. 3 はそれぞれ原虫の発育段階を特色がわかるように筆者がスケッチしたものである。幼若な早期栄養体は種の区別

がむずかしいことがわかる。さらに *Po* の栄養体には James' stippling (Schüffner 様斑点) があるとの先入観が強く、その考えが診断に至る過程を難しくした。

次に低い原虫血症が挙げられる。low parasitaemia の定義は薄層塗抹標本にて 0.5% 未満の感染率と定

義され<sup>3)</sup>、本症例では0.0469%であり、この基準を満たしていた。受診時の標本の観察にかけた時間は30分程度であり、帰国後診療の多忙な外来の合間にこれ以上の時間は費やせなかった。以下に、原虫血症が低い場合の診断の困難さについて記載された教科書の一部を引用する。少数の幼若な栄養体のみを含む標本では種の同定は不可能と推測される。リング状の形態は変異に富み、*Plasmodium falciparum* (以下、Pfと略)の早期栄養体はPmの早期帯状体またはPvの早期アメーバ体によく似ていることがあり、リング状の形態だけを基にPfを除外しないことが大切である<sup>4)</sup>。

三番目の理由として現地の医療機関にて投薬を受けていることが挙げられる。本人に確かめたところ、現地の医師は「解熱鎮痛薬」と話したそうだが、抗マラリア薬を100%服用していないと断言できなかった。医療教育を受けていない人が通訳をした場合、意図的ではなく医師の話す言葉の意味を変えるかも知れないからである<sup>5)</sup>。たとえばスワヒリ語のhomaは「発熱」と「マラリア」という二つの意味があり間違えやすい。このため不完全な治療により原虫の形態が変化している可能性も考慮せねばならなかった。

最後の理由として、ザンビア滞在の前にベナン、ソロモン諸島などマラリア流行地へ頻繁な滞在があった。したがって混合感染の可能性も考慮しなければならなかった。混合感染は実際より低く見積もられているがサハラ砂漠以南のアフリカではPfの感染はしばしばPoまたはPmと同時に起こる<sup>6)</sup>。

最終的に、分裂体と雄性生殖母体をわずかに観察した事と患者の滞在地域よりPoあるいはPmによる感染を推測したが上述の四つの理由により確定はできなかった。Pfとの混合感染を完全に否定できなかったため受診時に塩酸メフロキンの投与を開始し、同時に補助診断法としてRDTを使用した。さらにnested PCRの検査を依頼しPoの単純感染と診断した。

マラリア診断の遅れは、まず問診により医師が疾患を思い浮かべないことが挙げられる。次に診断のgold standardはギムザ染色によって濃塗標本と薄層塗抹標本を作製し観察することに尽きるが、いかに犀利な感覚であっても熟練しなければ原虫を検出し種の鑑別を行うことは難しい。初診でどの程度の診断の間違ひがあるかについて文献的に調べると、少し古い引用ではあるが、1979年から1993年の間にカリフォルニア州ロサンゼルス市のER(救命救急

外来)を受診した20例の熱帯熱マラリア患者で初期に診断確定されER内で抗マラリア薬の投与ができたものは4例であったという報告がある<sup>7)</sup>。また、1992年の英国における267例のマラリア患者を対象とした調査では、4つの種のなかでも特に卵形マラリアの診断がむずかしく、17例の卵形マラリア患者のうち最初の検査室で正確に診断できたのは5例ほどであった<sup>8)</sup>。

診断確定するまでの時間を調査した我が国の報告では、国立国際医療研究センターを2005～2010年に受診した輸入マラリア50例を対象とした調査<sup>9)</sup>において、同施設を最初に受診した者の診断確定までの平均日数は2.8±1.2日であった。一方、他院を受診後に同院を受診した者の日数は4.9±2.5日であり診断の遅れが認められた。

マラリア非流行地にて、診断の間違ひ・遅れを改善するためには、①医師、技師へ生涯教育を行う、②専門家へ早急に相談できるシステムを利用する、③補助診断法を活用する、などが挙げられる。WHOにおいても光学顕微鏡と臨床診断の限界を克服するために簡単で費用効果の高いマラリア検査の必要性が強調されている(WHO 1996)。

補助診断法においてはマラリア抗原を検出するキットは多種類あり入手可能であるが、研究用試薬の範疇に入り、我が国では法的にこれを用いて診断することはできない<sup>1)</sup>。キットに用いられる原虫特異蛋白としては、①Pf原虫(栄養体および早期生殖母体)に存在する可溶性蛋白 histidine-rich protein 2 (HRP-2)、② plasmodium lactate dehydrogenase (pLDH) (これには血中のPf原虫に特異的なもの、Pv原虫に特異的なもの、Pf以外の3種の原虫に共通なものがある。)、③4種の原虫が共通して保有するaldolaseの三つが挙げられる。これらが組み合わされたいくつかのキットが販売されている。

本症例では上述の①と②に対するモノクローナル抗体を用いたSD BioLine Malaria Antigen P.f/Pan<sup>®</sup> (STANDARD DIAGNOSTICS社)、Entebe Malaria Cassette<sup>®</sup> (Laboratorium Hepatika社)を使用した。前者はHRP-2と4種の原虫すべてに共通するpLDHを検出しPfとその他の原虫との鑑別が可能である。後者はHRP-2とPvに特異的なpLDHを検出することが可能でPfとPvの鑑別が可能である。

Fig. 4のごとくSDキットにおいてMalaria Antigen P.f/Panの4種の原虫すべてのpLDHを検出する