

メラネシア東部の島嶼マラリア対策 2) 熱帯熱マラリア及び三日熱マラリア薬剤耐性の 島民における年齢群別発現

金子 明¹⁾ GEORGE K. TALEO²⁾ 白川千尋³⁾

(掲載決定: 平成6年12月26日)

要 約

1988年から1991年にかけてメラネシア東部に位置するバヌアツの計11島, 33集落で一般住民を対象にマラリア浸淫度調査 (malarionometric survey) を行った。総計11,590名の血液を調べた結果, 原虫陽性率 (PR) は13.5%であった。陽性の内訳は熱帯熱マラリア (Pf) 679例, 三日熱マラリア (Pv) 847例, 四日熱マラリア (Pm) 15例, PfとPvの混合感染18例で, Pf生殖母体はPfのうち165例にみられた。年齢群別のPRをみると, Pf, Pvとも0才群から1-2才群にかけて急激な立ち上がりが見られた。その後, Pvは3-4才で15.9%と最高になった後, 加齢と共に急激に減少した。Pfでは加齢による変化は緩徐であり1-19才では5.6%-8.6%の間を推移した。その結果PvとPfの種優位性は10-11才で逆転していた。Pf生殖母体は全年齢群にみられたがそのPRは1-14才の群では15才以上よりも高かった。血中原虫濃度が $12,800/\mu\text{l}$ 以上の症例は子供に多く, 特に2才以下の群ではPvによるものが多くみられた。上記陽性例に対して薬剤耐性試験を行った。*in vitro*ではPfのchloroquineに対する反応を55例で調べ9例が耐性を, 17例が境界域を示しEC50, EC90, EC99 (各々50%, 90%, 99%分裂体形成阻止する薬剤濃度) は各々0.248, 0.930, 2.732pmol/ μl 血液であった。mefloquineに対しては25例中耐性例はなく, quinineに対しては36例中1例のみが耐性を示した。*in vivo*におけるPfのchloroquine投与後 (成人量として600mg 3日間: CHL) の反応は153例で観察し耐性例はR3:2例, R2:5例, R1:36例であった。R3/R2の発現率は0-4才では15.2%で5才以上の1.7%より有意に高く ($p<0.01$), またR1発現率も前者は51.9%で後者の21.2%より有意に高かった ($p<0.01$)。Fansidar (成人量としてpyrimethamine 75mg+sulfadoxine 1,500mg 1回投与: PYR/SDX) 投与後では172例中R3はなくR2:2例, R1:4例であった。なおこのPfのPYR/SDX治療後の追跡調査中, 14才以下の24例にPvが出現し, その出現率は0-4才で33.3%と高かった。またCHL治療後では1例のみであった。更にPvのCHL投与後の反応を102例で観察した結果, 1例のみがR2耐性であった。PYR/SDX投与後では58例中R3:2例, R2:6例, R1:3例で発現率に年齢群別の差はなかった。

以上, マラリア浸淫地住民の化学療法においては, 成長に伴う感染免疫の発達が薬剤耐性の発現に抑制的に作用する。従って原虫の薬剤耐性と共に宿主側の年齢群別PRを考慮する必要があると考えられた。

Key words: drug resistance, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, malaria, chemotherapy, Vanuatu

緒 言

マラリアは, 現在もなお熱帯地方の諸国を中心とする保健衛生上の重要且つ深刻な問題であり, 世界人口の40%がマラリア感染の危険のある地域に生活し, 年間1億人が発症し, 小児を中心に約100万人が死亡している。

¹⁾ 弘前大学医学部寄生虫学教室

²⁾ Malaria Section, Department of Health, Vanuatu

³⁾ 総合研究大学院大学文化科学研究科 (国立民族学博物館)

流行国においては生産性を損ない、その社会経済的發展を妨げる大きな要因となっている (WHO Malaria Unit, 1993)。

1992年10月、オランダ・アムステルダムにおいて Ministerial Conference on Malaria が WHO の主催で開催され Global Malaria Control Strategy が採択された。本決議においては基本的戦略として第一にマラリア死を防ぐための早期診断治療、第二に実情に即した選択的かつ維持可能な対策法の企画実施が挙げられている (WHO, 1993)。第一の点からはマラリア原虫の特に熱帯熱マラリアの薬剤耐性が重要な問題であり、マラリア発症の多い僻地における診断治療体制の確立が課題である。第二の点からは殺虫剤浸漬蚊帳の配布が現在注目を集めており、更に化学療法剤の集団投与による対策が挙げられるが、その有効な実施法は確立していない (Oaks *et al.*, 1991)。

熱帯熱マラリアの chloroquine 耐性株の出現は1950年代後半に最初に南米で疑われ、1959年にタイで確認された (WHO, 1984)。その後、耐性は世界に拡散して行き現在では西アフリカの一部を除いて熱帯熱マラリアの分布するほぼすべての地域で報告されている (Peters, 1987)。現在タイでは熱帯熱マラリアの多剤耐性が大きな問題となっており (Pinichpongse *et al.*, 1982; Nosten *et al.*, 1991; Fontanet *et al.*, 1993)、また最近パプアニューギニアより三日熱マラリアの chloroquine 耐性が報告され (Rieckmann *et al.*, 1989)、薬剤耐性問題は多様性を帯びてきている。

マラリア流行地住民における抗マラリア剤の効果の発現はその感染免疫のレベルの影響を受ける (Peters, 1987)。従ってフィールドにおける薬剤耐性試験ではその試験の対象がいかなるマラリア有病率を持つ集団かを明らかにしておく必要がある。フィールドにおける薬剤耐性試験としては、*in vitro* テスト及び *in vivo* テストがあり (Rieckmann, 1984)、前者は生物学的な原虫の薬剤に対する感受性を、後者は宿主の感染免疫の影響下における原虫血症の薬剤投与に対する反応をみることになる。

アジア太平洋のマラリア帯はユーラシア大陸南部よりインドシナ半島を経て島嶼部に入り、インドネシア、パプアニューギニアと展開し、メラネシア東部のバヌアツに至り終わる。今回、調査フィールドとしたバヌアツはかつてニューヘブリデスと呼ばれ、太平洋におけるマラリア浸淫性分布の南東の限界であるとともに、chloroquine 耐性熱帯熱マラリア分布の限界ともなっている。当地では媒介蚊として、*Anopheles farauti* が見出され (Ree *et al.*, 1991; Maffi, 1989)、主として熱帯熱マラリア (*Plasmodium falciparum*: Pf)、三日熱マラリア (*P. vivax*: Pv)、希に四日熱マラリア

(*P. malariae*: Pm) の症例をみる (金子, 1989)。当地における Pf の chloroquine 耐性は1981年に13例の *in vitro* テストにより報告されたのが最初であるが (松島, 私信)、その後詳細な調査は行われていなかった。このような状況を背景に、筆者らは1987年9月から1994年5月まで当地におけるマラリア対策プロジェクトに参画した。この間1988年から1991年にかけて部分的免疫 (semi-immunity) を持つと目される集団より血液検査で選んだ症例に対して、薬剤耐性試験を実施し、結果を年齢群別に検討した。

対象並びに方法

1. 対象地域

バヌアツはメラネシアの南東に位置し、太平洋上に浮かぶ大小80余の島からなる。首都ポートビラは南緯17度42分、東経168度17分に位置する。1991年の中間期人口は150,600人であった。

集団血液調査は1988年から1991年にかけて北部のバンククス群島 (人口6,300人) 及びサント島 (27,000人)、東部のマエラ島 (2,500人) 及びペンテコスト島 (11,800人)、中北部のマラクラ島 (20,300人)、アンブルム島 (7,400人)、中南部のエピ島 (3,900人)、トンゴア島 (3,900人) 及びエファテ島 (33,500人)、南部のタナ島 (20,900人) 及びアネイチウム島 (700人) の計11島の33集落において行った。これらはすべてマラリア浸淫地と考えられる地域内にあった。

なお本調査はバヌアツ政府衛生局の疾病対策委員会 (Disease Control Committee) の承認を経て実施された。

2. 集団血液検査

各島の代表的村落において全住民あるいは小学校学童を対象とし、マラリアの血液検査を行った。採血は被験者の指頭から行い、一枚のスライドガラス上に厚層塗抹標本と薄層塗抹標本を作成し、乾燥後、薄層のみをメタノール固定し、pH7.2のリン酸緩衝液で希釈した10%ギームザ染色液にて10分間染色した。鏡検は筆者らが光学顕微鏡で10×100倍にて行った。陽性スライドについては種の判定の後、白血球200個に対して原虫数を計数し、それより算出した正常白血球数8,000/ μ lに対する原虫数をもって原虫濃度 (parasite density, PD) とした。その際、熱帯熱マラリア原虫については栄養型と生殖母体を区別して数えた。なお検査に際しては貧血、脾腫、栄養状態などの全身状態にも配慮した。薬剤耐性試験はこの集団血液調査で見出した原虫陽性例より選んだ症例に対して行った。見出した陽性例で薬剤耐性試験を行わなかった症例に対しては抗マラリア剤により治療した。

3. マラリア原虫の薬剤耐性試験

上記の集団血液調査で検出した原虫陽性者より選んだ症例に対して薬剤耐性試験を行った。その症例選択の基準は、①過去2週間の間に抗マラリア剤を服用していない事、これは問診によって確かめた、②採血、追跡調査等の検査の要件に対して協力的であること、③臨床的に全身状態が試験実施上問題無いことであった。最後の点は *in vivo* テストでは重要であり、WHO (1984) は原虫濃度10,000/ μ l以上の症例は除外するように勧奨して原則的にそれに従った。

選択した熱帯熱マラリア症例に対し *in vitro* マイクロテスト及び *in vivo* テストを、三日熱マラリアに対しては前者は確立されておらず後者のみを行った。

a) *in vitro* マイクロテスト: Rieckmann *et al.* (1978) の方法により、実施に際しては WHO (1987) のテストキットを使用した。即ち、選択した Pf 症例よりヘパリン化した毛細管で100 μ l を指頭から採血し、直ちに予め0.9ml の培養液を分注しておいた滅菌遠心管に移し、通常現地の保健所等のフィールド基地に運んだ。同日中にこの希釈血を、薬剤が濃度勾配をもってマウントされている12×8穴のマイクロプレートに50 μ l 分注し、そのプレートを candle jar にセットした後、WHO のバッテリー駆動の Mark II 培養器にて37°C で30-40時間培養した。実際の培養時間は原虫の発育状況によった。培養後、各穴から上清を除去した後、厚層塗抹標本を作りギームザ染色を施した。鏡検に際しては各薬剤濃度における赤血球型原虫200個に対する分裂体の数を計数し、分裂体の形成が完全に阻止されている最小薬剤濃度をもって最小阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) とした。

b) *in vivo* テスト: 実施に際しては WHO (1984) の方法を基にそれを改変して行った。standard test については Rieckmann (1990) の簡便化した方法を取り入れた。即ち、選んだ症例に対して Day 0 の採血を行った後、検者自身によって確実に薬剤を投与し、その後 Day 2, Day 7 と採血した (standard test)。Day 2 における原虫濃度が Day 0 の25%以上の症例は R3と判定し第2選択薬を投与した。25%未満の症例はその後 Day 7 に採血し栄養型が残っていれば R2と判定し第2選択薬を投与した。栄養型が消滅していた症例は R1/S として、更に可能な限り Day 14, 21, 28と追跡し採血した (extended test)。この追跡調査において栄養型が再燃したものは R1と判定し第2選択薬を投与した。再燃しなかったものは感受性(S)とした。Rieckmann (1990) は上記の standard test における R3, R2, R1/S をそれぞれ良好 (good), 部分的 (partial), 及び不十分 (poor) な反応と呼んでいる。なお、これらの追跡調査はすべて著者らが被検者の村落に出かけて実施した。テ

ストの進行に当たっては臨床的及び寄生虫学的に患者の状態に留意し、悪化が認められたときは直ちにテストを中止し、適切な処置を取った。本調査で投与した薬剤はすべて WHO の勧告に基づきバヌアツ政府の定めた「マラリア治療指針」に従い、過去10年間バヌアツにおいて使用されてきたものであり、その間重篤な副作用の報告はなかったが、なおかつその出現には十分に留意した。

4. 統計学的方法

各群の結果の比較は、 χ^2 検定ないしは Fisher の直接確率計算法を用いて行った。

結 果

1. 年齢群別マラリア有病率

集団血液検査を年齢群別に集計した結果を Table 1 に示した。総計11,590名を調べ、血液原虫陽性者は1,559名であり、原虫陽性率 (parasite rate, PR) は13.5%であった。陽性者の内訳は熱帯熱マラリア (Pf) 679例、三日熱マラリア (Pv) 847例、四日熱マラリア (Pm) 15例、及び Pf と Pv の混合感染が18例であった。なお Pf 生殖母体は Pf のうち165例にみられた。

年齢群別原虫種別の PR は、Pf, Pv とも0才群から1-2才群にかけて急激な立ち上がりが見られた。その後、Pv は3-4才で15.9%と最高になった後、加齢と共に急激に減少し11才以降では5%以下、20才以降では1.5%以下となった。Pf では加齢による変化は緩徐であり、1-19才まで5.6%-8.6%の間を推移した後、20-29才で1.8%と最低となり、その後再び上昇の傾向が見られた。その結果 Pv と Pf の種優位性は10-11才で逆転した。Pf 生殖母体は全年齢群では1.4%にみられた。その PR は0才群では0.5%だったが、1-14才の群では1.8%でこれは15才以上の群の0.4%よりも有意に高かった ($p < 0.001$, χ^2 検定)。

血中原虫濃度の高さは重症マラリアの指標となると考えられ、Table 1 の陽性例の内、原虫濃度が Bruce-Chwatt の原虫濃度指数 (WHO, 1984) 9以上、即ち血中原虫数12,800/ μ l以上の症例の1,000検査当たりの年齢群別出現数を Fig. 1 に示した。高原虫濃度例は10才以下の子供に多くみられた。3才以上では高原虫濃度例は Pf によるものの方が多かったが、2才以下では Pv によるものがより多くみられた。

2. *in vitro* における熱帯熱マラリアの耐性

Pf の chloroquine, mefloquine, 及び quinine に対する *in vitro* マイクロテストの結果を Table 2 に示した。chloroquine の MIC を見てみると、55例中9例 (16.4%) は16pmol/well以上の耐性を、17例 (30.9%)

Table 1 Age-specific malaria prevalence in Vanuatu 1988–1991: Results of the mass blood surveys in 33 areas of 11 islands

Age group (years)	No. of Examined	No. of Positive	Parasite rate (%)	Number of					Prevalence (%) of		
				Pf	Pv	Pm	Mix	Pf gam	Pf	Pv	Pf gam
0	379	41	10.8	15	26	0	0	2	4.0	6.9	0.5
1–2	840	189	22.5	57	127	2	3	17	7.1	15.5	2.0
3–4	996	232	23.3	74	156	0	2	20	7.6	15.9	2.0
5–6	1218	218	17.9	76	135	1	6	20	6.7	11.6	1.6
7–8	1495	292	19.5	124	162	2	4	34	8.6	11.1	2.3
9–10	1499	214	14.3	92	117	4	1	23	6.2	7.9	1.5
11–12	1304	148	11.4	85	56	5	2	22	6.7	4.5	1.7
13–14	844	77	9.1	47	30	0	0	15	5.6	3.6	1.8
15–19	805	60	7.5	45	14	1	0	5	5.6	1.7	0.6
20–29	820	27	3.3	15	12	0	0	1	1.8	1.5	0.1
30–49	824	30	3.6	25	5	0	0	4	3.0	0.6	0.5
50≤	566	31	5.5	24	7	0	0	2	4.2	1.2	0.4
Total	11590	1559	13.5	679	847	15	18	165	6.0	7.5	1.4

Abbreviations: Pf, *Plasmodium falciparum*; Pv, *Plasmodium vivax*; Pm, *Plasmodium malariae*; Mix, mixed infection; Pf gam, *Plasmodium falciparum* gametocyte

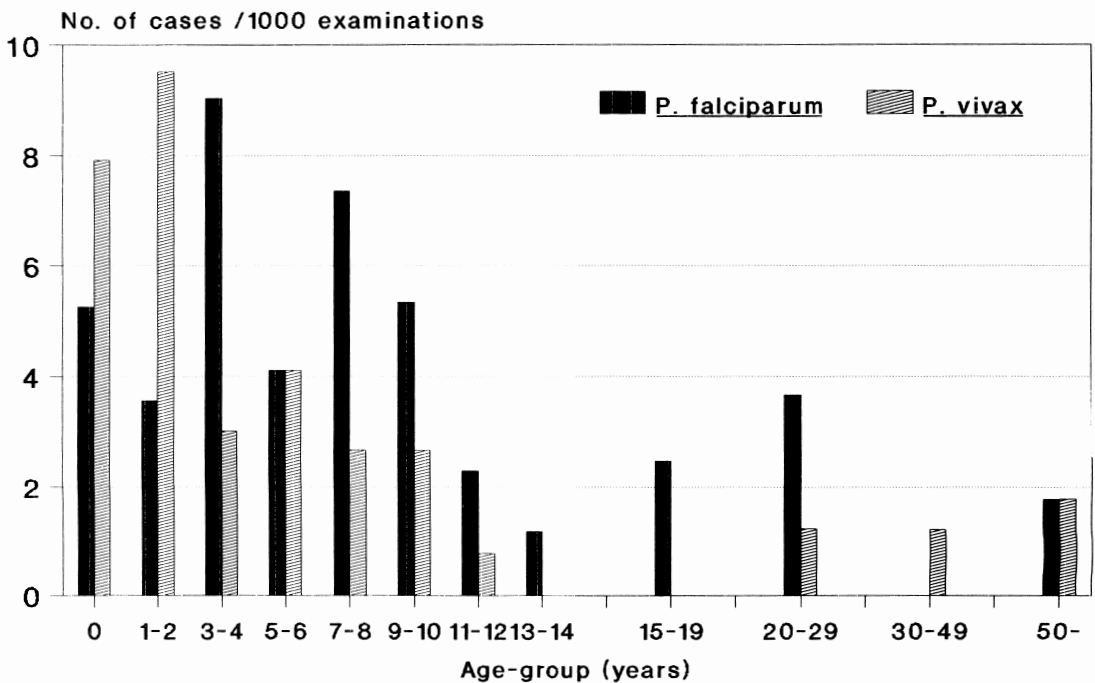


Fig. 1 Age-specific prevalence of high density parasitaemia *: Parasite count 12,800 or more per microlitre of blood. *From results of the mass blood surveys in 33 areas of 11 islands in Vanuatu 1988–1991.

Table 2 *In vitro* response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine, mefloquine & quinine in the micro-test in Vanuatu 1989–1990: Showing minimum inhibitory concentration (MIC)

(a) Chloroquine

No. of examined	Minimum Inhibitory Concentration (picomols per well)						
	1	2	4	8	16	32	64<
55 (100%)	4 (7.3%)	6 (10.9%)	19 (34.5%)	17 (30.9%)	7 (12.7%)	0 (0.0%)	2 (3.6%)

Indication of resistance: MIC \geq 16 picomols per well (WHO, 1987)

(b) Mefloquine

No. of examined	Minimum Inhibitory Concentration (picomols per well)						
	2	4	8	16	32	64	128
25 (100%)	14 (56.0%)	9 (36.0%)	1 (4.0%)	1 (4.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

Indication of resistance: MIC \geq 128 picomols per well (WHO, 1987)

(c) Quinine

No. of examined	Minimum Inhibitory Concentration (picomols per well)						
	4	8	16	32	64	128	256<
36 (100%)	0 (0.0%)	4 (11.1%)	14 (38.9%)	10 (27.8%)	5 (13.9%)	2 (5.6%)	1 (2.8%)

Indication of resistance: MIC $>$ 256 picomols per well (WHO, 1987)

は 8 pmol/well の境界域を示した。なおプロビット法による、分裂体形成を各々 50%, 90%, 99% 阻止する有効薬剤濃度 (effective concentration, EC) 即ち EC50, EC90, EC99 は、それぞれ血中濃度に換算すると 0.248, 0.930, 2,732 pmol/ μ l であった。

mefloquine に対しては 25 例中耐性を示したものはなかった。quinine に対しては 36 例中 1 例のみが耐性を示した。

3. *in vivo* における熱帯熱マラリアの耐性

Pf の chloroquine (成人量として 600mg 3 日間: CHL) および Fansidar (成人量として pyrimethamine 75mg + sulfadoxine 1,500mg 1 回投与: PYR/SDX) に対する *in vivo* テストの結果を Table 3 に示

す。

Pf の CHL に対する反応は 153 例において得られ、その内 2 例は R3 を、5 例は R2 を示し、残りは R1/S であり、R3/R2 の発現率は 4.6% であった。更に R1/S を示した例の内 131 例については extended test が行え、36 例 (27.5%) が R1 で残りが S であった。

これを年齢群別に見てみると、R3/R2 の発現率は 0–4 才の群では 15.2% で、5 才以上の群の 1.7% より有意に高かった ($p < 0.01$, Fisher の直接確率計算法)。又 R1 の発現率は前者では 51.9% で、後者の 21.2% よりも有意に高かった ($p < 0.01$, χ^2 検定)。

PYR/SDX に対しては全年齢群とも良好な反応を示しており、全体で 172 例中 R3 は無く、R2 は 2 例であった。更に extended test を実施した 126 例中 R1 は 4 例

Table 3 *In vivo* response of *Plasmodium falciparum* asexual parasites to chloroquine and pyrimethamine/sulfadoxine (Fansidar) by age in Vanuatu 1988–1991

(a) Chloroquine: 600mg base on Day 0, 1, and 2 as adult dose

Age group (years)	7-day test				Extended test				
	No. of examined	Response*			R3/R2 rate (%)	No. of examined R1/S	Response [†]		R1 rate (%)
R3		R2	R1/S	R1			S		
0–4	33	2	3	28	15.2% [‡]	27	14	13	51.9% [§]
5–9	53	0	1	52	1.9%	43	11	32	25.6%
10–14	44	0	0	44	0.0%	40	8	32	20.0%
≥15	23	0	1	22	4.3%	21	3	18	14.3%
Total	153	2	5	146	4.6%	131	36	95	27.5%

[‡]significant (p<0.01, Fisher's exact probability test), [§]significant (p<0.01, χ^2 test)

(b) Fansidar: pyrimethamine 75mg + sulfadoxine 1500mg on Day 0 as adult dose

Age group (years)	7-day test				Extended test				
	No. of examined	Response*			R3/R2 rate (%)	No. of examined R1/S	Response [†]		R1 rate (%)
R3		R2	R1/S	R1			S		
0–4	42	0	1	41	2.4%	34	1	33	2.9%
5–9	54	0	0	54	0.0%	34	2	32	5.9%
10–14	39	0	0	39	0.0%	27	0	27	0.0%
≥15	37	0	1	36	2.7%	31	1	30	3.2%
Total	172	0	2	170	1.2%	126	4	122	3.2%

* Responses of 7-day test:

R3 = Parasite density (PD) on Days 2 \geq 25% of Day 0
R2 = PD on Day 2 <25% of Day 0 & Positive on Day 7
R1/S = Negative on Day 7[†] Responses of extended test,when Negative on Day 7,
R1 = Positive on Day 14 or 21 or 28
S = Negative on Day 14 & 21 & 28

であった。

4. Fansidar 投与後の熱帯熱マラリア追跡調査中に出現した三日熱マラリア

Pf 治療後の28日間にわたる追跡調査中、血中への Pv の出現が観察された (Table 4)。これは PYR/SDX 治療後の172例中24例に (14.0%) にみられた。これを年齢群別に見ると0–4才では42例中33.3%, 5–14才では93例中10.8%にみられ、15才以上の37例にはみられなかった。CHL 治療後では153例中1例のみであった。また、これらの症例の多くは無症候であった。

5. *in vivo* における三日熱マラリアの耐性

Pf と同様に解析した Pv の CHL 及び PYR/SDX に対する *in vivo* での反応を Table 5 に示した。なお Table 1 に示した如く15才以上では Pv は希でありこの年齢群では両薬剤に対して各1例ずつしか症例選択できなかった。

CHL に対しては102例中1例のみが R2を示し、残りは R1/S であった。更に R1/S の内 extended test を行った51例中再燃を示した例は無かった。

PYR/SDX に対しては58例中2例が R3を、6例が R2を示し、R3/R2の発現率は13.8%であった。4才以下、5–9才、10–14才の年齢群でこの発現率に有意な差

Table 4 Appearance of *Plasmodium vivax* parasitaemia during 28-day follow-up to *P. falciparum* cases after treatment with chloroquine and Fansidar in Vanuatu 1988–1991

Treatment	Age-group (years)	No. of Examined	No. of Pv Appearance	Day of Pv appearance			
				7	14	21	28
Fansidar*	0–4	42	14 (33.3%)	1	5	6	2
	5–9	54	5 (9.3%)	0	3	1	1
	10–14	39	5 (12.8%)	0	2	1	2
	15≤	37	0 (0.0%)	0	0	0	0
	Total	172	24 (14.0%)	1	10	8	5
Chloroquine [†]	Total	153	1 (0.7%)	0	0	0	1

*Fansidar: pyrimethamine 75mg + sulfadoxine 1500mg on Day 0 as adult dose

[†]Chloroquine: 600mg base on Day 0, 1, and 2 as adult dose

Table 5 *In vivo* response of *Plasmodium vivax* asexual parasites to chloroquine and pyrimethamine/sulfadoxine (Fansidar) by age in Vanuatu 1988–1991

(a) Chloroquine: 600mg base on Day 0, 1, and 2 as adult dose

Age group (years)	7-day test					Extended test				
	No. of examined	Response*			R3/R2 rate (%)	No. of examined R1/S	Response*		R1 rate (%)	
		R3	R2	R1/S			R1	S		
0–4	32	0	1	31	3.1%	15	0	15	0.0%	
5–9	49	0	0	49	0.0%	22	0	22	0.0%	
10–14	20	0	0	20	0.0%	13	0	13	0.0%	
≥15	1	0	0	1	0.0%	1	0	1	0.0%	
Total	102	0	1	101	1.0%	51	0	51	0.0%	

(b) Fansidar: pyrimethamine 75mg + sulfadoxine 1500mg on Day 0 as adult dose

Age group (years)	7-day test					Extended test				
	No. of examined	Response*			R3/R2 rate (%)	No. of examined R1/S	Response*		R1 rate (%)	
		R3	R2	R1/S			R1	S		
0–4	26	0	3	23	11.5%	12	3	9	25.0%	
5–9	23	1	3	19	17.4%	4	0	4	0.0%	
10–14	8	1	0	7	12.5%	2	0	2	0.0%	
≥15	1	0	0	1	0.0%	1	0	1	0.0%	
Total	58	2	6	50	13.8%	19	3	16	15.8%	

*Responses: As showed in Table 3.

は無かった。更に extended test を行った19例中3例が R1を示した。この3例はすべて4才以下であった。

考 察

我々は前報(金子ら, 1994)において, 南太平洋のマラリア流行地帯の南東の辺縁に位置するバヌアツの疫学上の特徴として, マラリアの分布は一様ではなく, 島ごとに浸淫性は異なっており, 更にそれが年次的に変動すること, 熱帯熱マラリア患者数の季節的変動が顕著であること, 又数年の間隔で起こり, 熱帯熱マラリア症例の急激な増加によって認知されるマラリア流行の勃発を特徴として挙げた。政府衛生局の死因統計によると, バヌアツにおいてはマラリアは死因の内0-4才では第2位を, 全年齢では第3位を占める。

年齢群別有病率の観察においては, 0才から1-2才の群にかけて原虫陽性率の急激な立ち上がりが見られ, 生誕直後から乳児期にかけて, 最初のマラリア感染を受けることを表している。0才における有病率は実際の媒介蚊による伝搬を反映しており, 三日熱マラリアが熱帯熱マラリアより優位であった。一般に現地の乳幼児は三日熱マラリアの肝臓型に対する根治療法を受けることなく成長するが, その結果三日熱マラリアの有病率は累積され1-4才で最高となった後, 何らかの免疫学的な機構により急激に減少していくと考えられる(Table 1)。また三日熱マラリアの患者数は, はっきりとした季節変動を示さないこと(金子ら, 1994)を併せて考えると, 三日熱マラリアの血液中への出現は, 伝搬よりも肝臓休眠体からの再発を反映していると思われる。現時点では休眠体の陽性率を調べる方法はないが, 現地の幼児においてはかなりの高率に達していると推測される。又子供の熱帯熱マラリアの Fansidar 治療後血中に出現してきた無症候性三日熱マラリアも肝臓からの再発と考えられる(Table 4)。

0-2才の群には原虫濃度が高い三日熱マラリアが多くみられた(Fig. 1)。一般に三日熱マラリアは熱帯熱マラリアに比し病原性は低いと考えられていて(WHO, 1990), 対策上熱帯熱マラリアの有病率のみが対象とされることが多い。このことは年長児及び成人においては妥当と思われるが, 現地の乳幼児においてもそれでのか疑問が残る。我々の観察では三日熱マラリア治療後, 貧血の改善, 体重の増加で示される著しい全身状態の向上がみられ, 高い乳幼児死亡率の背景に, これらの若年齢群における三日熱マラリアの高い有病率及び重症度がある可能性を示唆した(金子ら, 未発表データ)。

熱帯熱マラリアは休眠型をもたないため, その有病率は媒介蚊による伝搬を反映しており, このことは熱帯熱マラリア患者数の顕著な季節的変動にはっきりみられる(金子ら, 1994)。加齢による熱帯熱マラリア有病率の減

少は緩徐であり(Table 1), 成人においても感染免疫が成立しにくい事を示している。又このことはマラリア流行の勃発が数年の間隔で起こって来る事の下地となっていると思われる。

Itokawa *et al.* (1989) は北スマトラにおける観察で, 熱帯熱マラリア生殖母体の原虫濃度の高いものは幼少児に限られると報告し, これらの年齢層に選択的に投薬を行う対策法が示唆された(Matsuoka *et al.*, 1987)。我々のバヌアツにおける観察では, 熱帯熱マラリア生殖母体は15才以降で陽性率は減少するものの, 全年齢群に分布しており, 前報(金子ら, 1994)で述べた南部の島における集団投薬では全年齢群を対象にした。

我々は以上のようなマラリア有病率を背景とし, 部分的免疫を持つ現地住民における, マラリア原虫の薬剤耐性の発現について調査した。

熱帯熱マラリアの chloroquine に対する *in vitro* の反応は55例を調べ, 16.4%が耐性を示し, EC50は0.248 pmol/ μ lであった(Table 2)。この結果を WHO (1989) が集計している他のアジア太平洋のマラリア流行国のデータと比較してみる。インドネシアにおいては1986年80例中耐性率35.0%, EC50:0.51pmol/ μ l, タイでは1984年94例中耐性率89.9%, EC50:1.270pmol/ μ l, ベトナムでは1982年58例中耐性率81.0%, EC50:1.715pmol/ μ lであった。この様にインドシナ半島における熱帯熱マラリア chloroquine 耐性の状況は, 1980年代前半で既に1989/1990年のバヌアツよりもはるかに深刻であった。これに対して同じ島嶼国であるインドネシアの状況は, バヌアツに近いことは興味深い。なおインドネシアでは1981年から1986年まで毎年 *in vitro* の結果が報告されているが, この間結果に大きな変動はなかった。

in vivo の観察では, 全体として約30%の熱帯熱マラリア症例に chloroquine 耐性を見出したが, 主として R1耐性であった(Table 3)。 *in vivo* の結果は背景とするマラリア浸淫性の影響を受けるので地域間の比較は単純にはできないが, バヌアツと同じく南西太平洋のソロモンでは R1耐性が始まった段階である(石井, 1993)。これに対してインドシナ半島では, *in vivo* においても1980年代から多剤に対する R3/R2を主とした耐性が高率で報告されており(Pinichpongse *et al.*, 1982), 南西太平洋の島嶼国における状況とはっきりと異なる。

ただしバヌアツにおける *in vivo* の年齢群別の観察では, 5才未満の子どもにおいては R3/R2が15%, R1が52%と耐性の発現は高率かつ高度であった。5才未満では免疫発達が不十分であるが, 5才以上では成長に伴うある程度の感染免疫の成立が chloroquine 耐性の発現を隠蔽していると考えられた。 *in vitro* テストは宿主の免疫の影響を受けないと考えられるが, 16%が耐性, 31

%が境界域というパターンは5才以下の*in vivo*の結果に近似していた。Comer *et al.* (1968)はコロンビアにおいてchloroquine耐性の年齢群別差異について同様な報告しており、それによると18才以上の群では根治されたのに、18才以下では半分に再燃が起こった。マラリアの化学療法において、宿主側の免疫が薬剤の作用を増強することに関しては、動物実験でも (Golenser *et al.*, 1978; Lwin *et al.*, 1979), 人の症例における観察でも (Jeffery, 1956; Powell *et al.*, 1972; Jensen *et al.*, 1982) 報告がある。更に、これに責任のある因子は抗体 (IgG) ではなく (Jensen, 1983), 腫瘍壊死因子 (TNF) が関与している可能性が示唆されている (Haidaris *et al.*, 1983; Wozencraft *et al.*, 1984)。今回の我々の結果は、誕生から加齢にともなう感染免疫の発達と宿主における原虫の薬剤耐性の発現との間には、緊密な関係が存在する事を示唆した。

一般に、再感染を防ぐことが出来ないマラリア浸淫地の住民のマラリア化学療法では、R1耐性は容認されるという考え方があり (Peters, 1987)。しかしR3耐性は重症及び合併症を伴ったマラリアに進展する可能性を潜在しており、直ちに第2選択薬に切り替えるべきである (Rieckmann, 1990)。この観点から、chloroquine耐性熱帯熱マラリアのバヌアツの現地住民における真の問題点は、5才以下の若年層にあると言える。但し外国人およびマラリア伝搬がない首都ポートビラに住むバヌアツ人は、免疫が無いと目され、それらの人々にとっては若年層と同様に耐性は深刻な問題である。実際に外国人の症例では治療不応例が高率にみられること (Reeve, personal communication), ポートビラ在住のバヌアツ人がそれぞれの出身島に里帰りした時に重症マラリアに罹りchloroquineが効かないこと (金子, 未発表データ) が現地において報告されている。

バヌアツにおける Fansidar は、1980年代中頃から chloroquine 耐性熱帯熱マラリアに対する第2選択薬として使われていた。しかし我々の調査結果により、5才以下および免疫が無いと目される集団には第一選択薬として使用するよう政府の治療指針が1992年に改正された。今回の我々の *in vivo* における観察では熱帯熱マラリアの数%において Fansidar 治療後栄養型が残存したが (Table 3), 約10%の人では薬物代謝経路上の理由で Fansidar が効かないとの報告があり (Pinichpongse *et al.*, 1982), 現時点ではバヌアツの熱帯熱マラリアは Fansidar に対して良好に反応すると考えられた。しかし、血中半減期が100から200時間と長く (WHO, 1984), また生殖母体に対して効果のない Fansidar (Kaneko *et al.*, 1989) は、広く使われると短期間で耐性が成立することが報告されている。タイでは使用が開始された当初90%の現地住民に効果があった

が (Harinasuta *et al.*, 1967), 治癒率は1980年には55%と下降し (Pinichpongse *et al.*, 1982), さらに1982年には100%において効果がなかった (Johnson *et al.*, 1982) と報告された。この背景には無差別な Fansidar の使用があったと考えられ、バヌアツにおいても注意が必要である。

quinine 及び mefloquine は同じアミノアルコール類に属する抗マラリア剤で、交差耐性が想定される (WHO, 1990)。我々のバヌアツでの *in vitro* における観察では熱帯熱マラリアは mefloquine に対してはすべてが感受性を示し、quinine に対しては1例のみが耐性を示した (Table 2)。

quinine は長らく使われてきた抗マラリア剤だが、この血中半減期が10-12時間と非常に短い薬に対しては、耐性の報告が非常に少なかった。但しタイにおいては chloroquine 耐性熱帯熱マラリアが quinine に対しても耐性を示し始めている (Chongsuphajaisiddhi *et al.*, 1981)。タイでは1986年、*in vitro* で101例中3例が耐性を示した (WHO, 1989)。現在においても静注用 quinine は脳性マラリアに対する第一選択薬として非常に重要な地位を占めている。又経口用 quinine は chloroquine 耐性熱帯熱マラリアで Fansidar が効かなかった場合の第3選択薬として準備されている。但し根治には連続7日の投与が必要であり実用性において問題がある。

mefloquine はバヌアツにおいて未だに大規模に使用されていないが、熱帯熱マラリアの Fansidar 耐性が将来確立された場合それにとって代わる薬と考えられている。この半減期は15から33日と極めて長く、耐性がでやすいと考えられる。1984年から使用されているタイにおいては、1986年の *in vitro* では91例中耐性を示したものはなかったが (WHO, 1989), 1991年には *in vivo* で113例中59.1%に効果が無く、R3が20.9%含まれていた (Fontanet *et al.*, 1993)。更にタイ・ビルマ国境からも耐性の報告があり (Nosten *et al.*, 1991), mefloquine 耐性熱帯熱マラリアはインドシナ半島において既に深刻な問題となっていると思われる。

Peters (1987) は「chloroquine 耐性はこの四半世紀の間に益々身近な問題となってきたが、幸運な事にそれは熱帯熱マラリアにのみ起こることが知られている」と述べており、最近まで三日熱マラリアの耐性は報告がなかった。しかし、Rieckmann *et al.* (1989) はパプアニューギニアから帰還した兵士で chloroquine 予防内服を継続していたにも関わらず、三日熱マラリアを発病した2例を報告した。彼らの血漿 chloroquine 濃度は充分に高かった事が証明され、chloroquine 耐性三日熱マラリアと考えられた。これは今後注目すべき新たな問題である。我々の *in vivo* での観察では、耐性をしめ

したのは102例中1例のみであり、三日熱マラリアはchloroquineに対してほぼ感受性があると考えられた(Table 5)。

Fansidarは元来三日熱マラリアに対する作用が乏しく、このことは耐性の概念からは区別して考えられるべきであるが(Peters, 1987)、実際に三日熱マラリアのFansidarに対する反応を調べた報告は非常に少ない。Doberstyn *et al.* (1979)は、タイにおいてFansidarが使われ始めた地域では三日熱マラリアの発生率が急激に増加したこと、又ある程度感染免疫のある住民の三日熱マラリア6例において、Fansidarは効果が少なかったが、chloroquineは即効的に効いたと報告している。我々の三日熱マラリアのFansidarに対する反応の*in vivo*における観察では、58例中13.8%がR3/R2を示したが、この発現率に年齢群間で差がなかった(Table 5)。また熱帯熱マラリア経過観察中に、Fansidar投与後では14%に三日熱マラリアの出現があった。この出現率は若年者ほど高く、三日熱マラリアの有病率を反映しており、肝臓からの再発と思われた。この現象はchloroquine投与後では1例のみにしかみられなかった(Table 4)。これらのことは血中三日熱マラリア原虫はFansidarによって抑制されないことを示す。更にFansidarには肝からの三日熱マラリア再発を誘引する何らかの作用がある可能性が示唆されたが、今後の検討が必要である。

一般に保健施設の発達していないマラリア浸淫地においては、発熱患者に対して血液検査の結果を待たずに抗マラリア剤の投与が行われている。バヌアツの場合発熱患者の約30%が実際に血液原虫陽性である(Kaneko, 1994)。これは重症マラリアを防ぐ為の早期治療の観点から容認される方法と考えられるが、初期の臨床症状からは熱帯熱マラリアと三日熱マラリアを鑑別できないので、その際の治療は両方の原虫種に有効であるべきである。これまではchloroquineによってこれが可能であったが、耐性の出現に伴い熱帯熱に対してFansidar、三日熱に対してchloroquineと両者を併用して投薬する必要がでてきた。実際にバヌアツでも新しい治療指針では両剤併用が取り入れられており、無駄な投薬が明らかに増加すると考えられ、副作用の点からも、耐性株出現の点からも憂慮すべき事である。これに対する1つの解決策は、僻地においても血液検査による迅速診断をできるようにし、投薬はその結果に基づいて行うようにすることであり、技術的及び機構的な両面からこの問題に対するアプローチが望まれる。

今回の薬剤耐性試験の対象とした症例はすべて、村落における集団血液検査により選択した。これらの陽性例は、一般に全身状態は原虫血症にも関わらず良好であり、また検査以前の服薬歴がないことが多く、病院における

患者からの選択よりも適した方法であると考えられた。我々は*in vivo*テストと*in vitro*マイクロテストを併用して行った。前者は部分的免疫を持つ現地住民を対象とし、治療の現場における臨床的正否に関する実際的な情報が得られる。但し*in vivo*テストは長期にわたる追跡調査が必要である。また投薬を検者自身が確実に管理して行わないと信頼性を損なう。以前用いられていた尿中のchloroquine代謝産物を検出するDill-Glazko尿検査は、安定性がない事が明らかとなり(Verdier, 1985)、現在は使われていない。最近、感受性が高くフィールドに適応できそうな尿中血中のchloroquineを検出する方法(Churchill, 1989)が開発され、新たなマラリア診断法(Kawamoto and Billingsley, 1992; Wataya *et al.*, 1993)とともに、これらを応用したフィールドテストが今後の課題である。*in vitro*テストは、対象とした原虫株の持つ耐性に関する生物学的な性質を検出する。これは経時的地理的な結果の比較に有用であり、*in vivo*テストと併用して行うことが望ましい。現在のWHO(1987)の方法には培養液の準備、candle jar及び簡易培養器の運用、培養時間の調整、資料輸送の問題等、電力供給の無いフィールドで実施する上で技術的問題点が多い。又三日熱マラリアに対する*in vitro*テストは確立されておらず、これらの点に今後の技術的進展が望まれる。

以上、南太平洋のバヌアツにおいて部分的感染免疫を持つ現地住民を対象として薬剤耐性試験を行い、その結果について考察した。マラリア浸淫地住民の化学療法においては、成長に伴う感染免疫の発達薬剤耐性の発現に抑制的に関与する。従って原虫の薬剤耐性と併に、宿主側の年齢によって規定される有病率を考慮する必要がある。原虫の薬剤耐性問題は今後益々多様性を帯びていき、マラリア対策戦略上更に重要になっていくと考えられる。

謝 辞

御指導、御校閲を頂いた弘前大学医学部神谷晴夫教授、国立予防衛生研究所石井 明部長に深謝します。University of SydneyのProfessor K. H. Rieckmannからも有益な御助言を頂き感謝します。現地での調査実施に当たっては、世界保健機関西太平洋地域事務局長のMr J. Storey, Dr K. Palmer, Dr G. Cuboni及び故松島立雄先生からの御助言、また青年海外協力隊の青山文規氏、更にマラリア対策課のMr J. Yaviong, Mr M. Kalkau, Mr H. Toariu, Mr A. Mahoからの御協力を頂きあわせて感謝します。

この研究は世界保健機関のバヌアツマラリア対策プロジェクトの一環として行われ、日本政府からも援助を受けたので謝意を表します。

文 献

- 1) Chongsuphajaisiddhi, T., Sabchareon, A. and Attanah, P. (1981): *In vivo* and *in vitro* sensitivity of falciparum malaria to quinine in Thai children. *Ann. Trop. Paediatr.*, 1, 21-26.
- 2) Churchill, F.C. (1989): Field-adapted assays for chloroquine and its metabolites in urine and blood. *Parasitol. Today*, 5, 116-126.
- 3) Comer, R.D., Young, M.D., Porter, J.A.Jr, Gauld, J.R. and Merritt, W. (1968): Chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum* malaria on the Pacific coast of Colombia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 17, 795-799.
- 4) Doberstyn, E.B., Teerakiartkamjorn, C., Andre, R.G., Phintuyothin, P. and Noeypatimanondh, S. (1979): Treatment of vivax malaria with sulfadoxine-pyrimethamine and with pyrimethamine alone. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 73, 15-17.
- 5) Fontanet, A.L., Johnston, B.D., Walker, A.M., Rooney, W., Thimasarn, K., Sturchler, D., Macdonald, M., Hours, M., and Wirth, D.F. (1993): High prevalence of mefloquine-resistant falciparum malaria in eastern Thailand. *Bull. World Health Organ.*, 71, 377-383.
- 6) Golenser, J., Poels, L. G., Leeuwenberg, A. D.E.M., Verhave, J.P. and Meuwissen, J.H.E.Th. (1978): The influence of chloroquine on establishment of immunity against *P. berghei*. *J. Protozool.*, 25, 14B.
- 7) Haidaris, C.G., Haynes, J.D., Meltzer, M.S. and Allison, A.C. (1983): Serum containing tumor necrosis factor is cytotoxic for the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Infect. Immun.*, 42, 385-393.
- 8) Harinasuta, T., Viravan, C. and Reid, H.A. (1967): Sulphormethoxine in chloroquine-resistant falciparum malaria in Thailand. *Lancet*, May 27, 1117-1119.
- 9) 石井 明 (1993): ソロモン諸島のマラリアの疫学と対策について. *熱帯*, 26, 195-207.
- 10) Itokawa, H., Takai, R., Ishii, A., and Panjaitan, W. (1989): Age specific asexual parasite and gametocyte density in highly endemic malaria in North Sumatra, Indonesia. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.*, 17, 303-310.
- 11) Jeffery, G.M. (1956): Relapses with Chesson strain *Plasmodium vivax* following treatment with chloroquine. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 5, 1-11.
- 12) Jensen, J.B., Boland, M.T. and Akood, M. (1982): Induction of crisis forms in cultured *Plasmodium falciparum* with human immune serum from Sudan. *Science*, 216, 1230-1233.
- 13) Jensen, J.B., Boland, M.T., Allan, J.S., Carlin, J.M., Vande Waa, J.A., Divo, A.A. and Akood, M. (1983): Association between human serum-induced crisis forms in cultured *Plasmodium falciparum* and clinical immunity to malaria in Sudan. *Infect. Immun.*, 41, 1302-1311.
- 14) Johnson, D.E., Roendej, P. and Williams, R.G. (1982): Falciparum malaria acquired in the area of the Thai-Khmer border resistant to treatment with Fansidar. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 31, 907-912.
- 15) 金子 明 (1989): 南西太平洋バヌアツ共和国のマラリア対策に働いて. *熱帯*, 22, 100-106.
- 16) Kaneko, A., Kamei, K., Suzuki, T., Ishii, A., Siagian, R., and Panjaitan, W. (1989): Gametocytocidal effect of primaquine in a chemotherapeutic malaria control trial in North Sumatra, Indonesia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 20, 351-359.
- 17) 金子 明・Taleo, G.K.・Rieckmann, K.H. (1994): メラネシア東部の島嶼マラリア対策 1) 小島における9週間の集団投薬と殺虫剤浸漬蚊帳によるマラリア駆除. *寄生虫誌*, 43, 印刷中.
- 18) Kaneko, A. (1994): Assignment report on Malaria Control in Vanuatu to WHO Western Pacific Regional Office. WHO Report, in press.
- 19) Kawamoto, F. and Billingsley, P.F. (1992): Rapid diagnosis of malaria by fluorescence microscopy. *Parasitol. Today*, 8, 69-71.
- 20) Lwin, M., Targett, G.A.T. and Doenhoff, M.J. (1979): Chemotherapy of malaria (*Plasmodium chabaudi*) infections in immunosuppressed mice. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 73, 103.
- 21) Maffi, M. (1989): The mosquitoes (*Diptera, Culicidae*) of Vanuatu. A further contribution. *Riv. Parassitol.*, VI, 3-11.
- 22) Matsuoka, H., Ishii, A., and Panjaitan, W. (1987): Chemotherapeutic control trial of *Plasmodium falciparum* with a combination

- of chloroquine and primaquine on selective age group in a coastal village of North Sumatra, Indonesia. *Jpn. J. Trop. Med. Hyg.*, 15, 257-268.
- 23) Nosten, F., Kuile, F.T., Chongsuphaisiddhi, T., Luxemburger, C., Webster, H.K., Edstein, M., Phaipun, L., Thew, K.L., and White, N.J. (1991): Mefloquine-resistant falciparum malaria on the Thai-Burmese Border. *Lancet*, May 11, 1140-1143.
 - 24) Oaks, S.C.II., Mitchell, V.S., Pearson, G.W., and Carpenter C.C.J., Editors (1991): *Malaria, Obstacles and Opportunities*, A report of the Committee for the Study on Malaria Prevention and Control, Status Review and Alternative Strategies, Division of International Health, Institute of Medicine, National Academy Press, Washington, D.C., 309pp.
 - 25) Peters, W. (1987): *Chemotherapy and drug resistance in malaria*, Second Edition, Academic Press, London, 1100pp.
 - 26) Pinichpongse, S., Doberstyn, E.B., Cullen, J.R., Yisunsri, L., Thongsombun, Y., and Thimasarn, K. (1982): An evaluation of five regimens for the outpatient therapy of falciparum malaria in Thailand 1980-81. *Bull. World Health Organ.*, 60, 907-912.
 - 27) Powell, R.D., McNamara, J.V. and Rieckmann, K.H. (1972): Clinical aspects of acquisition of immunity to falciparum malaria. *J. Parasitol.*, 39 (Suppl.), 51-66.
 - 28) Ree, H.I., Mape, J., and Yaviong, J. (1991): Studies on *Anopheles farauti* in the Republic of Vanuatu. *Yonsei Rep. Trop. Med.*, 22, 43-54.
 - 29) Rieckmann, K.H., Sax, L.J., Campbell, G.H., and Mrema, J.E. (1978): Drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*, an *in vitro* microtechnique. *Lancet*, January 7, 22-23.
 - 30) Rieckmann, K.H. (1984): Evaluation of drug resistance in man. In *Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol.68/I. Peters, W. and Richards, W.H.G., eds., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokyo, 447-460.
 - 31) Rieckmann, K.H., Davis, D.R., and Hutton, D.C. (1989): *Plasmodium vivax* resistance to chloroquine? *Lancet*, November 18, 1183-1184.
 - 32) Rieckmann, K.H. (1990): Monitoring the response of malaria infections to treatment. *Bull. World Health Organ.*, 68, 759-760.
 - 33) Verdier, F., Ramanamirija, J.A., Pussard, E., Clavier, F., Biaud, J.M., Coulanges, P. and Bras, J.L. (1985): Unreliability of Dill-Glazgo test in detecting chloroquine in urine. *Lancet*, June 1, 1282-1283.
 - 34) Wataya, Y., Arai, M., Kubochi, F., Mizukoshi, C., Kakutani, T., Ohta, N. and Ishii, A. (1993): DNA diagnosis of falciparum malaria using a double PCR technique: a field trial in the Solomon Islands. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 58, 165-168.
 - 35) WHO (1984): *Advances in malaria chemotherapy*, Report of a WHO Scientific Group, WHO Technical Report Series 711. World Health Organization, Geneva, 218pp.
 - 36) WHO (1987): *In vitro* micro-test (Mark II) for the assessment of the response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine, mefloquine, quinine, sulfadoxine / pyrimethamine and amodiaquine, Instructions for use of the *in vitro* micro-test kit (Mark II) and for completing the record form, MAP/87.2 (Corr. 1 incl.) , WHO Report, World Health Organization, Geneva, 21pp.
 - 37) WHO (1989): *Global monitoring of the susceptibility of malaria parasites to drugs*, Seventh Report, CTD/90.3, WHO Report, World Health Organization, Geneva, 44pp.
 - 38) WHO (1990): *Practical chemotherapy of malaria*. Report of a WHO Scientific Group, WHO Technical Report Series No. 805, World Health Organization, Geneva, 141pp.
 - 39) WHO (1993) : *A global strategy for malaria control*, World Health Organization, Geneva, 30pp.
 - 40) WHO Malaria Unit (1993) : *Global malaria control*. *Bull. World Health Organ.*, 71, 281-284.
 - 41) Wozencraft, A.O., Dockrell, H.M., Taverne, J., Targett, G.A.T. and Playfair, J.H.L. (1984): Killing of human malaria parasites by macrophage secretory products. *Infect. Immun.*, 43, 664-669.

Abstract

ISLAND MALARIA CONTROL IN EASTERN MELANESIA:
2) AGE-SPECIFIC MANIFESTATION IN ISLANDERS OF DRUG RESISTANCE IN
PLASMODIUM FALCIPARUM AND *PLASMODIUM VIVAX*

AKIRA KANEKO¹⁾, GEORGE K. TALEO²⁾ AND CHIHIRO SHIRAKAWA³⁾

¹⁾Department of Parasitology, Hirosaki University School of Medicine, Aomori 036, Japan

²⁾Malaria Section, Department of Health, Vanuatu

³⁾School of Cultural Studies, the Graduate University for Advanced Studies

Vanuatu is located at the southeast perimeter of the malarious band extending from Southeast Asia to eastern Melanesia. From 1988 to 1991 we conducted mass blood surveys in 33 areas of 11 islands in Vanuatu. We examined a total of 11,590 islanders with overall parasite rate (PR) 13.5%. The positive cases consisted of 679 *Plasmodium falciparum* (Pf), 847 *P. vivax* (Pv), 15 *P. malariae* (Pm), and 18 mixed infections. 165 of Pf cases had gametocytes. We analysed age-specific PRs. PR sharply increased from 0 to 1–2 years for both Pf and Pv. For Pv, PR was the highest (15.9%) in subjects aged 3–4 years, and then dramatically decreased by age. For Pf, PR stayed in the range of 5.6–8.6% between age 1 and 19 years. As a result, a reversal of the Pf/Pv ratio was found at 10–11 years. Pf gametocytes were detected in all age groups but its PR was higher in subjects aged 1–14 years than in those more than 15 years. High parasite density cases (>12,800 parasites/μl of blood) were mainly observed in children. In those cases Pv was predominant in subjects aged less than 2 years.

For selected positive cases of the above surveys, we carried out drug resistance tests using the modified WHO methods. *In vitro* response of Pf to chloroquine was observed in 55 cases with 9 resistance and 17 borderline cases; EC50, EC90 and EC99 (the drug concentrations producing 50%, 90%, or 99% inhibition of schizont maturation, respectively) was 0.248, 0.930 and 2.732 pmol/μl of blood. That to mefloquine was observed in 25 cases with no resistance and that to quinine in 36 cases with one resistance case. *In vivo* response of Pf to chloroquine (600mg base on Day 0, 1 and 2 as adult dose: CHL) was observed in 153 cases with 2 R3, 5 R2 and 36 R1. The appearance rate of R2/R3 in subjects aged 0–4 years (15.2%) was significantly higher than that in more than 5 years (1.7%): $p < 0.01$. The appearance rate of R1 in the former (51.9%) was also significantly higher than that in the latter (21.2%): $p < 0.01$. *In vivo* response of Pf to Fansidar (pyrimethamine 75mg + sulfadoxine 1,500mg on Day 0 as adult dose: PYR/SDX) was observed in 172 cases with no R3, 5 R2 and 4 R1. During the follow-up to these Pf cases, Pv parasitaemia appeared in 24 cases after PYR/SDX administration, but in only 1 case after CHL. The appearance rate of Pv after PYR/SDX was the highest (33.3%) in subjects aged 0–4 years and 0.0% in those more than 15 years. *In vivo* response of Pv to CHL was observed in 102 cases with only one R2. That to PYR/SDX was observed in 58 cases with 2 R3, 6 R2 and 3 R1 without significant differences between age-groups.

In the chemotherapy of residents in malaria-endemic areas, the formation of premunition by age suppresses the clinical manifestation of drug resistance, therefore it is necessary to consider not only the drug resistance in the parasites but also the disease prevalence by age in the hosts.