

云南省恶性疟原虫对氯喹、氨酚喹、哌喹、甲氟喹、奎宁敏感性的体外测定*

杨恒林¹ 刘德全² 黄开国¹ 杨亚明¹ 杨品芳¹ 廖明铮³ 张春勇²

¹ 云南省疟疾防治研究所 思茅 665000

² 中国预防医学科学院寄生虫病研究所 上海 200025

³ 云南省瑞丽市卫生防疫站 瑞丽 678600

提 要 目的: 了解云南省恶性疟原虫对氯喹、氨酚喹、哌喹、甲氟喹及奎宁的敏感性。方法: 采用 Rieckmann 体外微量法测定采自云南省瑞丽 11 个县、市的恶性疟原虫对以上药物的敏感性。结果: 云南省南部、东南部及西部恶性疟原虫对氯喹抗性率分别为 96.7%、78.9% 及 95.7%, D_{50} 依次为 125 nmol/L、136 nmol/L、及 176 nmol/L; 对氨酚喹的抗性率分别为 100%、85.3% 及 88.9%, D_{50} 依次为 52 nmol/L、54 nmol/L 及 72 nmol/L; 对奎宁均为敏感, D_{50} 依次为 480 nmol/L、352 nmol/L 及 608 nmol/L。南部及东南部原虫对哌喹的抗性率分别为 68 及 88 nmol/L; 结论: 云南省恶性疟原虫对 4-氨基喹啉类药物普遍产生抗性, 其抗性程度来自滇西及其相连的缅甸感染的疟原虫明显高于滇东南; 对奎宁及甲氟喹敏感。氯喹、氨酚喹及哌喹目前已不适用于云南恶性疟的治疗。

关键词 恶性疟原虫 体外测定 氯喹 氨酚喹 哌喹 甲氟喹 奎宁

云南省是我国恶性疟的主要流行区, 目前恶性疟主要分布于中缅、中老及中越边境地区, 为了解恶性疟原虫对氯喹、氨酚喹、哌喹、甲氟喹及奎宁的敏感性, 开展了该项研究。

材料与方 法

监测点

在云南省西部选择与缅甸接壤的瑞丽市, 南部选择与老挝毗邻的勐腊县, 东南部选择与越南相连的个旧市蔓耗镇。对来自瑞丽、畹町、陇川、勐腊、景洪、江城、个旧、红河、元阳、金平和河口等 11 个县、市的恶性疟患者及在缅甸境内感染的流动人员恶性疟患者采样测定。

血样

选择单一感染恶性疟原虫, 无性体密度为 2 000 个/ μ l 血~ 80 000 个/ μ l 血, 2 wk 内未服用过氯喹、青蒿素类、奎宁及有抗疟作用的抗生素类药物, 3 wk 内未用过甲氟喹、哌喹、乙胺嘧啶/磺胺类及磺类药物, 尿中 4-氨基喹啉及磺胺测定阴性的现症病人, 肝素抗凝取静脉血。

测定板与培养基

氯喹测定板、氨酚喹测定板、甲氟喹测定板及奎宁测定板由 WHO 提供。哌喹板及部分氯喹板按以往介绍方法^[1,2]制备。培养基按刘德全等方法^[3]制备。

测定方法与结果判定

测定采用 WHO 推荐的 Rieckmann 体外微量法^[4], 对照井形成裂殖体 (3 个核) 率 20% 为测

定成功。以恶性疟原虫能在 8 pmol 氯喹井、4 pmol 氨酚喹井、64 pmol 甲氟喹井、256 pmol 奎宁井及 32 pmol 哌喹井中发育至裂殖体分别为对各药的抗性标准。

结 果

成功测定氯喹 91 例, 其中滇西 23 例、滇南 30 例、滇东南 38 例, 其抗性率、半数抑制量 (D_{50})、完全抑制量 (D_{95}) 及完全抑制各例原虫形成裂殖体的平均浓度 (CMC) 见表 1~ 3。滇西与滇南原虫的抗性率相似。抗性率为 96.8%, 明显高于滇东南的 78.9% ($P < 0.05$)。CMC 滇西及滇南分别为滇东南的 1.86 (840/452) 倍及 1.5 (680/452) 倍。 D_{50} 滇南与滇东南相似, 滇西为滇东南的 1.3 (176/136) 倍, D_{95} 为 1.5 (830/544) 倍。抗氯喹恶性疟原虫对哌喹及氨酚喹的交叉抗性率分别为 96.7% (29/30)。

成功测定哌喹 65 例, 其中滇南 28 例、滇东南 37 例, 抗性率、 D_{50} 、 D_{95} 及 CMC 见表 2~ 3。滇南恶性疟原虫的抗性率明显高于滇东南 ($P < 0.05$), D_{50} 、 D_{95} 及 CMC 分别是滇东南的 1.4 (320/228) 倍、1.5 (2 426/1 536) 及 1.8 (1 998/1 102) 倍。

甲氟喹测定结果见表 2~ 3。奎宁测定结果见表 1~ 3。恶性疟原虫对这两种药物均敏感, 各地的 D_{50} 、 D_{95} 及 CMC 基本相似。

* 联合国计划开发署/世界银行/世界卫生组织热带病研究培训特别规划处 (WHO/TDR) 及卫生部青年科学基金资助项目

表1 云南省西部中缅边境地区恶性疟原虫对氯喹、氨酚喹及奎宁敏感性测定结果

Table 1 Sensitivity of *P. falciparum* from China-Myanmar border in west Yunnan to chloroquine, amodiaquine and quinine in vitro

药物 Drug	测定例数 No. cases tested	抗性率 (%) Resistance rate	CMC* (nmol/L)	D ₅₀ (nmol/L)	D ₉₅ (nmol/L)
氯喹 Chloroquine	23	95.7	840	176	830
氨酚喹 Amodiaquine	9	88.9	320	72	512
奎宁 Quinine	9	0	2 022	608	2 560

* 完全抑制裂殖体形成的平均浓度

Mean concentration for complete inhibition of schizont formation

表2 云南省南部中老边境地区恶性疟原虫对氯喹、氨酚喹、哌喹、甲氟喹及奎宁敏感性测定结果

Table 2 Sensitivity of *P. falciparum* from China-Laos border in south Yunnan to chloroquine, amodiaquine, piperazine, mefloquine and quinine in vitro

药物 Drug	测定例数 No. cases tested	抗性率 (%) Resistance rate%	CMC* (nmol/L)	D ₅₀ (nmol/L)	D ₉₅ (nmol/L)
氯喹 Chloroquine	30	96.7	672	125	652
氨酚喹 Amodiaquine	30	100.0	306	52	292
哌喹 Piperazine	28	96.4	1 988	320	2 426
甲氟喹 Mefloquine	21	0	88	68	160
奎宁 Quinine	30	0	1 896	480	1 536

* 完全抑制裂殖体形成的平均浓度

Mean concentration for complete inhibition of schizont formation

表3 云南省东南部区恶性疟原虫对氯喹、氨酚喹、哌喹、甲氟喹及奎宁敏感性体外测定结果

Table 3 Sensitivity of *P. falciparum* from southeast Yunnan to chloroquine, amodiaquine, piperazine, mefloquine and quinine in vitro

药物 Drug	测定例数 No. cases tested	抗性率 (%) Resistance rate (%)	CMC* (nmol/L)	D ₅₀ (nmol/L)	D ₉₅ (nmol/L)
氯喹 Chloroquine	38	78.9	452	136	544
氨酚喹 Amodiaquine	34	85.3	210	64	384
哌喹 Piperazine	37	72.9	1 102	228	1 536
奎宁 Quinine	33	0	1 482	352	1 536
甲氟喹 Mefloquine	18	0	218	88	288

* 完全抑制裂殖体形成的平均浓度

Mean concentration for complete inhibition of schizont formation

讨 论

本研究测定结果表明云南省恶性疟原虫对氯喹、氨酚喹及哌喹均产生了抗性，其抗性程度为滇西部明显高于滇东南部。这与滇东南部70年代中及80年代末恶性疟流行较轻及药物压力较小有关。结果亦证实云南省疟原虫对甲氟喹及奎宁敏感。提示氯喹、氨酚喹、哌喹目前已不适用于云南省恶性疟的治疗，而甲氟喹及奎宁仍可用于当地恶性疟的治疗。

本研究首次证实滇东南地区的恶性疟原虫对氯喹已普遍产生了抗性。这可能是近年来恶性疟发病急剧上升的原因。该药一直用作当地防治疟疾的主要药物，广泛用于群众性预防服药和假定性治疗，抗性的产生可能与此有关。对此有关部门应予高度重视。

本研究发现80%以上恶性疟原虫对哌喹及氨酚

喹产生抗性，且发现95%以上抗氯喹恶性疟原虫对这2种药物有交叉抗性。氨酚喹在云南省尚未使用，抗性的产生与抗氯喹恶性疟原虫对该药有交叉抗性有关。云南省近30年来一直使用奎宁治疗疟疾，但本次测定78例恶性原虫对该药均敏感，提示抗氯喹恶性疟原虫对奎宁无交叉抗性。当地尚未使用甲氟喹，本次测定滇南及滇东南39例恶性疟原虫对该药敏感，但也有5例恶性疟原虫接近抗性水平。本测定结果为以后开展对该药监测提供了基线数据。

参 考 文 献

- 1 杨恒林, 杨品芳, 刘德全, 等. 云南北部恶性疟原虫对氯喹、咯萘啶、青蒿琥酯、哌喹敏感性体外测定. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志1992; 10:198
- 2 刘德全, 任道性, 刘瑞君, 等. 抗氯喹恶性疟原虫体外微量测定冰冻干燥培养基的制备及涂氯喹板的改进. 寄生虫学与寄生虫病杂志1983; 1:44
- 3 刘德全, 任道性, 刘瑞君, 等. 一种便于现场测定恶性疟原虫抗药性的培养基. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志1989; 7:112
- 4 Rieckmann KH, Sax LJ, Campbell GH. Drug Sensitivity of

ASSAY OF SENSITIVITY OF PLASMODIUM FALCIPARUM TO CHLOROQUINE, AMODIAQUINE, PIPERAQUINE, MEFLOQUINE AND QUININE IN YUNNAN PROVINCE*

YANG Henglin¹, LU Dequan², HUANG Kaiguo¹, YANG Yam ing¹,
YANG Pinfang¹, LIAO Mingzheng³, ZHANG Chunyong²

1 Yunnan Institute of Malaria Control, Sino 665000

2 Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine, Shanghai 200025

3 Ruili City Sanitation and Antiepidemic Station, Ruili 679600

ABSTRACT

AM: To determine the sensitivity of *P. falciparum* to chloroquine, amodiaquine, piperazine, mefloquine and quinine in Yunnan Province of China in 1992~1995. **METHODS:** Rieckmann's *in vitro* microtechnique was used. The sensitivity of *P. falciparum* was tested to the above-mentioned antimalarials. **RESULTS:** The resistance rates of isolates of *P. falciparum* from the south, southeast and the west part of Yunnan to chloroquine and amodiaquine were 96.7% (29/30), 78.9% (30/38), 95.7% (22/23) and 100% (30/30), 85.3% (29/34), 8/9, respectively, with their corresponding D_{50} of 125 nmol/L, 136 nmol/L and 176 nmol/L, and 52 nmol/L, 64 nmol/L and 72 nmol/L, respectively. All the isolates were sensitive to quinine and their D_{50} were 480 nmol/L, 352 nmol/L, 608 nmol/L, respectively. The resistance rates of *P. falciparum* from the south part and southeast part of Yunnan to piperazine were 96.4% (27/29), 72.9% (27/37), respectively, their D_{50} were 320 nmol/L and 228 nmol/L; all the cases were sensitive to mefloquine, their D_{50} were 68 nmol/L and 88 nmol/L. **CONCLUSION:** *P. falciparum* generally produces resistance to chloroquine, amodiaquine and piperazine in Yunnan Province; the degree of resistance to chloroquine of *P. falciparum* from the west part of Yunnan were higher than the *P. falciparum* from the southeast part of Yunnan; all the isolates were sensitive to mefloquine and quinine in this region.

Key words: *Plasmodium falciparum*, *in vitro*, microtechnique, chloroquine, amodiaquine, piperazine, mefloquine, quinine

* Supported by UNDP/World Bank/WHO Special Program for Research and Training in Tropical Diseases and the Science Foundation for Youth, Ministry of Health, China