

海南省乐东县恶性疟原虫对氯喹抗性的变化*

刘德全¹ 蔡贤铮² 任道性¹ 刘瑞君¹ 林世干² 曾林海² 唐 钊²

1 中国预防医学科学院寄生虫病研究所 上海 200025

2 海南省热带病防治研究所 海口 570203

摘要 目的: 监测海南省停用氯喹后抗氯喹恶性疟原虫对氯喹抗性的消长。方法: 选择恶性疟原虫对氯喹有高度抗性且恶性疟发病率较高的海南省乐东县为观察点, 采用WHO标准体外微量法和体内四周法, 间隔一定时间检测一次。结果: 停用氯喹18年, 体外法, 抗性率由1981年的97.9%下降至1997年的26.7% ($P < 0.001$), 完全抑制裂殖体形成的平均药浓度由 $10.46 \pm 7.14 \text{ pmol}/\mu\text{l}$ 血降至 $1.63 \pm 1.47 \text{ pmol}/\mu\text{l}$ 血 ($P < 0.001$); 体内法, 抗性率由1981年的84.2%降为1997年的18.4% ($P < 0.001$), R III占抗性病例的比例由53.1%降为14.3%。结论: 海南省停用氯喹后恶性疟原虫对氯喹逐渐恢复了敏感性。

关键词 恶性疟原虫 抗药性 敏感性 氯喹

由于海南省恶性疟原虫对氯喹普遍产生了抗性, 因此从1979年开始, 在全省范围内停止使用氯喹, 改用哌喹治疗恶性疟病人。为了解氯喹停止使用后恶性疟原虫对其抗性的消长情况, 以该省乐东县为观察点, 于1981~ 1997年, 每隔2~ 3年测定1次恶性疟原虫对氯喹的敏感性。

材料与方 法

体外微量法

按WHO标准体外微量法进行^[1], 所用涂氯喹板和培养基均由中国预防医学科学院寄生虫病研究所制备^[2,3], 经对比试验证明, 上述涂氯喹板的效果与WHO标准板完全一致, 培养基支持疟原虫生长发育的效力优于WHO推荐的培养基^[4]。当药浓度

$1.6 \text{ pmol}/\mu\text{l}$ 血尚不能完全抑制裂殖体形成者, 认为对氯喹有抗性, 反之则表示敏感。

体内四周法

按WHO推荐的四周法测定^[5], 所用磷酸氯喹

片为上海第十四药厂生产。病人住院7 d, 出院后每周随访并血检1次。

检测对象

多数为县医院门诊恶性疟患者, 年龄为5岁~ 61岁, 以当地黎族居民为主, 少数为近年自各省到海南的移民及民工。测定前2 w k内未服过抗疟药, 四环素、磺胺或砒类药物, 经Haskins法测定尿中氯喹阴性, 系单纯恶性疟原虫感染的现症病人, 血中无性体原虫密度为 $1\ 000 \sim 80\ 000/\text{mm}^3$ 。服药后48 h Haskins法测定尿中氯喹阳性^[6,7]。

测定时间

均在当年7~ 9月恶性疟流行高峰季节。

结 果

1 恶性疟原虫对氯喹抗性率的变化

用体外法先后共测定287例, 抗性率由1981年的97.7%下降至1997年为26.7% ($P < 0.001$), 按1981年为100, 下降了72.7% (表1)。体内四

表1 1981~ 1997年海南省恶性疟原虫对氯喹抗性的变化(体外试验)

Table 1 Changes in chloroquine-resistance of *Plasmodium falciparum* in Hainan, 1981~ 1997 (in vitro test)

停药后时间 Time after drug cessation (year)	年份 Year	测定例数 No. cases assessed	抗性率(%) Resistance rate (%)	D ₅₀ (95% 可信限) D ₅₀ (95% confidence limit) (pmol/μl)	平均抑制浓度 Mean inhibition concentration (pmol/μl)	例数百分比 Percentage of cases	
						< 1.6 pmol/μl	> 6.4 pmol/μl
2	1981	48	97.7	1.267(1.008~ 1.446)	10.46 ± 7.14	4.2	83.3
3~ 4	1982~ 1983	45	91.1	0.812(0.423~ 1.447)	6.10 ± 5.11	18.2	62.2
7~ 10	1986~ 1989	77	80.5	0.467(0.297~ 0.856)	3.80 ± 2.95	48.1	37.6
12	1991	46	60.9	0.313(0.221~ 0.414)	3.02 ± 2.94	60.8	17.4
17	1996	26	30.8	0.242(0.016~ 0.482)	2.45 ± 2.03	69.2	7.7
18	1997	45	26.7	0.242(0.016~ 0.482)	1.63 ± 1.47	73.3	6.7

完全抑制裂殖体形成的平均浓度 Mean concentration for complete inhibition of schizont formation

完全抑制裂殖体形成例数占% Percentage of cases showing complete inhibition of schizont formation

周法测定128例, 抗性率由1981年84.2%降为1997年的18.4%, 下降了78.2% ($P < 0.001$) (表2),

* 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)资助项目

表2 1981~1997年海南省恶性疟原虫对氯喹抗性的变化(体内试验)

Table 2 Changes in chloroquine-resistance of *Plasmodium falciparum* in Hainan, 1981-1997 (in vivo test)

停药后时间 Time after drug cessation (year)	年份 Year	测定例数 No. cases assessed	抗性率(%) Resistance rate (%)	平均原虫消失时间(h) Mean time for clearance of asexual form (h)	各级抗性例数占%		
					Distribution of resistance degree (%)		
					R I	R II	R III
2	1981	38	84.2	72.0	40.6	6.3	53.1
3~4	1982~1983	32	84.4	74.2	59.3	25.9	14.8
12	1991	20	40.0	58.9	62.5	12.5	25.0
18	1997	38	18.4	50.7	57.1	28.6	14.3

显示停止使用氯喹后,恶性疟原虫对氯喹抗性率逐年下降。

2 恶性疟原虫对氯喹抗性程度的变化

体外法测得结果证明,完全抑制裂殖体形成的平均药浓度1981年为 $10.46 \pm 7.14 \text{ pmol}/\mu\text{l}$ 血,至1997年降为 $1.63 \pm 1.47 \text{ pmol}/\mu\text{l}$ 血,下降84.4% ($P < 0.001$)。原来多数病例需要高浓度($> 6.4 \text{ pmol}/\mu\text{l}$ 血)才能完全抑制裂殖体形成,随着停药时间的延长,逐渐变为多数病例在低浓度($< 1.6 \text{ pmol}/\mu\text{l}$ 血)即可完全抑制裂殖体形成。1981~1997年,前者由83.3%降至6.7%,下降92.0% ($P < 0.001$),后者由4.2%增加到73.3%,增加了94.3% ($P < 0.001$) (表1)。体内四周法结果表明,血内无性体原虫平均消失时间由1981年的72 h,至1997年缩短为50.7 h, R III占抗性病例比例,由1981年的53.1%,降为1997年的14.3% ($P < 0.001$) (表2)。显示停止使用氯喹后,恶性疟原虫对氯喹抗性程度逐渐降低。

3 恶性疟原虫对氯喹抗性率与抗性程度的变化

抗氯喹恶性疟原虫恢复对氯喹敏感性的过程,首先反映在对氯喹抗性程度的下降,停药后前10年内抗性程度下降的速度较快,当抗性程度降到一定的水平后,才反映到抗性率的下降。停药10年后抗性率下降的速度加快,但恶性疟原虫恢复对氯喹敏感性的速度较慢,停止使用氯喹18年,仍有约20%病例对氯喹有一定抗性。

讨 论

氯喹曾经是最有效的,且也是应用最广的杀疟原虫红内期的药物,其价格便宜,是控制疟疾的有力武器。自从1960年南美报告首例抗氯喹恶性疟病例后,抗氯喹恶性疟在全球迅速蔓延,目前几已遍及全球恶性疟流行^[8-11],使恶性疟的防治工作发生巨大困难。

1974年我国出现抗氯喹恶性疟以后,1979年~1984年经8省(区)协作调查结果表明,抗氯喹恶性疟在我国广泛分布,特别是恶性疟流行较严重的海南和云南两省尤其^[11]。国内外有些学者认为,对乙胺嘧啶等抗疟药产生抗性的疟原虫,当停止使用该药后,可以恢复其敏感性,但疟原虫对氯喹的抗性是恒

定的,氯喹抗性一旦建立,即使在没有药压的情况下,抗性也将稳定存在下去^[13,14],也就是说疟原虫一旦对氯喹产生抗性,从此氯喹便失去其抗疟价值,但实践表明并非如此。除作者观察的结果外,泰国、越南以及中西非洲的一些国家,如刚果、喀麦隆和加蓬等,停用氯喹数年后均出现抗性下降现象^[15-18]。

本文观察结果表明,恶性疟原虫对氯喹产生抗性后,如能及时停止使用氯喹,可使疟原虫逐渐恢复对氯喹的敏感性,但恢复的速度较慢。海南省自1979年开始在全省范围停止使用氯喹防治恶性疟,至1997年已停止使用氯喹18年,虽然抗性率与抗性程度已明显下降,但仍有约20%的恶性疟病例对氯喹有一定程度的抗性。至于对氯喹的敏感性是否能完全恢复或恢复到何种水平,有待继续监测。本文的结果提示,当恶性疟原虫对氯喹敏感性明显恢复后,氯喹仍有重新使用的可能,但怎样重新使用氯喹才能达到既有满意的治疗效果又不使疟原虫很快重新产生抗性,这是需要进一步研究解决的问题。这一问题的解决,不仅具有重要的理论意义,也将产生巨大的社会效益和经济效益,既节约抗疟经费,又减少恶性疟病人的治疗费用负担。本文结果还提示,在敏感性监测下有计划地交替使用抗疟药,也是一种延长抗疟药使用寿命的有效途径。

参 考 文 献

- Rieckmann KH, Sax LJ, Campbell GH, et al. Drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*. An *in vitro* microtechnique. *Lancet* 1978; 1(8054):22
- 刘德全,任道性,刘瑞君. 抗氯喹恶性疟原虫体外微量法测定用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
- 任道性,刘德全,刘瑞君,等. 试用体外微量法测定海南岛恶性疟原虫对氯喹的敏感性. *微生物学报* 1981; 21:510
- 刘德全,任道性,邱持平,等. 用两种培养基进行体外微量法测定恶性疟原虫对氯喹及甲氟喹敏感性的效果比较. *寄生虫学与寄生虫病杂志* 1986; 4:256
- WHO. *Tech Rep Ser* 1973; 529:30
- 刘德全,任道性,刘瑞君. 我国恶性疟原虫对氯喹敏感性的初步调查结果. *中华内科杂志* 1982; 21:643
- WHO. Management of uncomplicated the use of antimalarial drugs for the protection of travellers. WHO/MAL/96. 1995:1075
- Verdrager J. Epidemiology of emergence and spread of drug-resistant falciparum malaria in Southeast Asia. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth* 1986; 17:111

- 9 Björkman A, Phillips-Hpward PA. The epidemiology of drug-resistant malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1990; 84:177
- 10 WHO. The epidemiology of drug resistance of malaria parasites: memorandum from a WHO meeting. *Bull WHO* 1987; 65:797
- 11 刘德全, 邱持平, 刘瑞君, 等. 我国抗氯喹恶性疟的抗性程度及其地理分布. *寄生虫学与寄生虫病杂志* 1986; 4:81
- 12 Foley M, Tilley L. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance. *Int J Parasitol* 1997; 27:231
- 13 Le Bras J, Debrun P, Ricour A, et al. *Plasmodium falciparum*: drug sensitivity *in vitro* of isolates before and after adaptation to continuous culture. *Exp Parasitol* 1983; 56:9
- 14 刘德全, 蔡贤铮, 任道性, 等. 停用氯喹12年抗氯喹恶性疟原虫对氯喹抗性的变化. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志* 1992; 10:241
- 15 Liu Dequan, Liu Ruijun, Ren Daoxing, et al. Changes in the resistance of *Plasmodium falciparum* to chloroquine in Hainan, China. *Bull WHO* 1995; 73:483
- 16 Brasseur P, Kouamouo J, Moyou-Somo R, et al. Multi-drug resistant falciparum malaria in Cameroon in 1987 to 1988. I. Stable figures of prevalence of chloroquine and quinine-resistant isolates in the original foci. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 46:1
- 17 Came B, Gay F, Changdier J, et al. Unexpected trend in chemosensitivity of *Plasmodium falciparum* in Brazzaville, Congo. *Lancet* 1991; 338:582
- 18 Gueret D, Migot F, Ringwald P, et al. Stability of *Plasmodium falciparum* resistance to chloroquine between 1987 & 1989 at Mounana, Gabon. *Bull WHO* 1992; 70:621

1998年9月3日收稿 1998年11月23日修回

(编辑: 任燕芬)

CHANGES IN CHLOROQUINE RESISTANCE OF PLASMODIUM FALCIPARUM IN HAINAN PROVINCE*

LIU Dequan¹, CAIXianzheng², REN Daoxing¹, LIU Ruijun¹,
LIN Shigan², ZENGLin Hai², TANG Xian²

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

2 Hainan Provincial Institute of Tropical Diseases, Haikou 570203

ABSTRACT

AM: To observe the variation in resistance of *Plasmodium falciparum* after the cessation of chloroquine medication. **METHODS:** WHO standard *in vitro* micro test and *in vivo* test were used. **RESULTS:** *In vitro* test showed that the rate of chloroquine-resistant *P. falciparum* dropped from 97.9% in 1981 to 26.7% in 1997 ($P < 0.001$). The mean concentration of chloroquine for complete inhibition of schizont formation declined from 10.46 ± 7.14 pmol/ μ l blood in 1981 to 1.63 ± 1.47 pmol/ μ l blood in 1997 ($P < 0.001$). *In vivo* test showed that the rate of chloroquine-resistant *P. falciparum* decreased from 84.2% in 1981 to 18.4% in 1997 ($P < 0.001$). The proportion of R III cases to the total resistant cases dropped from 53.1% in 1981 to 14.3% in 1997. **CONCLUSION:** A tendency of progressive decline of resistance of the parasite was revealed after the cessation of chloroquine medication.

Key words: *Plasmodium falciparum*, resistance, sensitivity, chloroquine

* Supported by UNDP/World Bank/WHO Special Program for Research and Training in Tropical Diseases

胃镜病理切片证实钩虫病一例

同济医科大学寄生虫学教研室 武汉 430030
牛安欧 方正明

患者女性, 56岁, 河南光山农民。因胃不适作胃镜检查, 见球粘膜呈点状糜烂, 十二指肠降部有一白色线状物附着, 呈蠕虫状, 周围有血液渗出。取出该物。初步印象为十二指肠球部钩虫病。将取出的标本送病理室检查。肉眼观为长约0.8 cm的细丝状物, 10%福尔马林固定后呈灰白色, 作常规病理切片, 并送本室镜检。光学显微镜下, 见标本为矢状切面, 虫体前端呈开口状, 开口处体壁外层为角质层, 前端具由腺细胞构成的腺体结构数个, 由此可判断开口处为钩虫口囊部位, 腺体结构分别为钩虫的头腺、咽腺。在虫体壁见无数细小

似绒毛状物, 据此可判断其为体壁上的细小横脊排列成的环形横纹。综上所述可以证实该虫体为钩虫。粪检钩虫卵(+)。最后诊断为十二指肠球部钩虫病。

钩虫病为常见病, 胃肠镜检查常能见到钩虫寄生。本例诊断即在胃镜下发现, 建议今后对胃镜取出物疑为寄生虫时, 应直接作寄生虫学形态检查, 可简化诊断过程。

1998年6月8日收稿 1998年12月14日修回

(编辑: 庄兆农)