

文章编号: 1000-7423(2008)-05-0349-04

【论著】

## 青蒿琥酯阻断恶性疟传播的研究

陈沛泉<sup>1\*</sup>, 徐颖<sup>1,2</sup>, 陈东<sup>3</sup>, 何坤荣<sup>1</sup>, 欧凤珍<sup>1</sup>, 符崇威<sup>1</sup>, 符林春<sup>1</sup>, 李国桥<sup>1</sup>

**【摘要】** 目的 观察青蒿琥酯(ATS)对恶性疟原虫配子体的作用。方法 31 例外周血含恶性疟原虫无性体和配子体的志愿者分为 ATS 组(15 例)、奎宁(QN)组(10 例)和安慰剂组(6 例)。ATS 组于第 0、6 和 24 h 口服青蒿琥酯片各 200 mg, 第 3~6 天 100 mg/d; QN 组口服硫酸奎宁片, 每天 3 次, 500 mg/次, 连服 7 d; 安慰剂组口服复合维生素 B 片, 每天 3 次, 2 片/次, 连服 7 d。每例患者每天检查外周血恶性疟原虫配子体密度, 并于服药后第 1、7、14、21 和 28 天抽取静脉血人工感染大劣按蚊, 检测其感染恶性疟原虫孢子情况。结果 服药后 ATS 组恶性疟原虫配子体相对密度迅速下降, 第 7、14 和 21 天分别为(12.5±3.3)%、(1.2±0.4)%和(0.3±0.1)%, 转阴时间为(22.0±1.4) d; QN 组第 7、14 和 21 天恶性疟原虫配子体相对密度分别为(173.9±47.0)%、(112.5±45.4)%和(32.5±17.8)%, 转阴时间为(32.5±2.1) d, 两组间转阴时间差异有统计学意义(t=4.731, P<0.01); 安慰剂组住院后恶性疟原虫配子体相对密度有所下降。患者血液人工感染大劣按蚊试验显示, 服药第 14 天, ATS 组、QN 组和安慰剂组的孢子阳性率分别为 0、35.0%和 48.7%。孢子相对感染强度, ATS 组第 7 和 14 天分别为 18.2%和 0; QN 组第 7、14 和 21 天分别为 142.0%、98.6%和 20.3%。安慰剂组第 1、7、14、21 和 28 天孢子感染强度较稳定, 均为 100% (6/6)。结论 口服 ATS 6 d 总量 1 000 mg 对阻断恶性疟传播有良好的作用。

**【关键词】** 青蒿琥酯; 恶性疟原虫; 大劣按蚊

中图分类号: R531.32 文献标识码: A

## Artesunate in Interrupting the Transmission of Plasmodium falciparum

CHEN Pei-quan<sup>1\*</sup>, XU Ying<sup>1,2</sup>, CHEN Dong<sup>3</sup>, HE Kun-rong<sup>1</sup>, OU Feng-zhen<sup>1</sup>,  
FU Chong-wei<sup>1</sup>, FU Lin-chun<sup>1</sup>, LI Guo-qiao<sup>1</sup>

(1 Tropical Medicine Institute, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

2 The Third People's Hospital of Hainan Province, Sanya 572000, China; 3 Tianan Hospital of

Dongfang City, Dongfang 572627, China)

**【Abstract】** Objective To observe the effect of artesunate (ATS) on the infectivity of Plasmodium falciparum gametocytes (PFG). Methods 31 volunteers with falciparum malaria and gametocytemia were randomly divided into 3 groups: artesunate (ATS) group (15 cases), quinine (QN) group (10 cases) and placebo group (6 cases). Each case in ATS group received 6-day course of oral artesunate (200 mg at 0, 6 and 24 hours then 100 mg daily for 4 days). Cases in QN group each received 21-dose course of quinine sulfate (500 mg/time) over seven days. Cases in placebo group took 2 tablets of vitamin B composites, three times per day for seven days. Peripheral PFG were counted daily in all cases until the clearance of PFG. Mosquitoes (Anopheles dirus) were fed with venous blood of patients on the 1st, 7th, 14th, 21st and 28th day, respectively. Results All cases in placebo group were PFG positive at the whole course by blood smear examinations. The PFG relative density in ATS group were (12.5±3.3)%, (1.2±0.4)%, (0.3±0.1)% on 7th, 14th, 21st day respectively, and the mean PFG clearance time was(22.0±1.4)d. The PFG relative density in QN group were (173.9±47.0)%, (112.5±45.4)%, (32.5±17.8)% at 7th, 14th, 21st day respectively, and the mean clearance time of PFG was (32.5±2.1) d (t=4.731, P<0.01). PFG remained positive on the 28th day in placebo group. The infectivity test to mosquitoes showed on 14th day the positive rate in ATS group, QN group and placebo group were 0, 35.0% and 48.7% respectively. In ATS group, the sporozoite rate of anopheline mosquitoes were 14.8% and 0 at 7th, 14th day, while in QN group, 142.0%, 98.6% and 20.3% at 7th, 14th, 21st day respectively. In placebo group, the infection rate of sporozoites remained stable. Conclusion Oral administration of artesunate with a total dosage of 1 000 mg in 6 days inhibits the infectivity of PFG.

基金项目: 联合国计划开发署/世界银行/世界卫生组织热带病研究与培训特别规划处 (No. 970024); 国家中医药管理局科研基金 (No. 00-01LP14)

作者单位: 1 广州中医药大学热带医学研究所, 广州 510405; 2 海南省第三人民医院, 三亚 572000; 3 海南省东方市天安卫生院, 东方 572627

\* 通讯作者, E-mail: pqchen@21cn.com

【Key words】 Artesunate; Plasmodium falciparum; Anopheles dirus

Supported by UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (No. 970024); A grant from the State Administration of Traditional Chinese Medicine of China (No. 00-01LP14)

\* Corresponding author, E-mail: pqchen@21cn.com

青蒿琥酯 (artesunate, ATS) 为青蒿素的衍生物, 是治疗抗药性恶性疟和重症疟疾的较好药物之一<sup>[1-4]</sup>, 在疟疾流行区广泛应用<sup>[2]</sup>, 健康人对青蒿琥酯耐受性良好<sup>[5, 6]</sup>, 对恶性疟原虫配子体 (Plasmodium falciparum gametocyte, PFG) 有抑制作用<sup>[7-10]</sup>。为进一步探索青蒿琥酯在恶性疟流行病学上的作用, 于 1999-2002 年在海南省东方市天安卫生院广州中医药大学疟疾研究基地 (以下简称天安基地) 进行临床试验, 观察青蒿琥酯 (6 d 总量 1 000 mg 方案) 对恶性疟原虫配子体感染性的影响。

## 实验对象与方法

### 1 观察对象

选择恶性疟患者或带虫者为观察对象, 必须符合以下条件: 厚血膜镜检查见恶性疟原虫无性体和配子体, 镜检前 2 周或发病后未服过任何抗疟药, 体检无严重器质性疾病、无并发症, 育龄妇女妊娠试验阴性, 本人自愿或监护人同意。

### 2 治疗药物

青蒿琥酯 (50 mg/片, 批号为 990701) 由广西桂林制药厂提供, 硫酸奎宁 (250 mg/片, 批号 20171192) 为越南河内 MEKOPHAB 药厂产品, 安慰剂为复合维生素 B (批号为 991002、011102) 由广州市桥制药厂生产, 每片含维生素 B<sub>1</sub> 3 mg、维生素 B<sub>2</sub> 1.5 mg、烟酰胺 10 mg、维生素 B<sub>6</sub> 0.2 mg 和右旋泛酸钙 1 mg。

### 3 蚊虫

大劣按蚊 (Anopheles dirus) 引自海南省疾病预防控制中心, 在天安基地养蚊室饲养繁殖, 温度 (26±1) °C, 相对湿度 (85±5) %。试验蚊龄为 (4±1) d。

### 4 分组及给药方案

参照以往试验<sup>[8-10]</sup>将观察对象分为青蒿琥酯 (ATS) 组和奎宁 (QN) 组住院观察。ATS 组 (15 例) 于第 0、6、24 h 口服青蒿琥酯片各 200 mg, 第 3~6 天为 100 mg/d; 儿童酌减, 6~10 岁服成人剂量的 1/2, 11~15 岁服成人剂量 3/4。QN 组 (10 例) 口服硫酸奎宁片, 每天 3 次, 500 mg/次, 连服 7 d。安慰剂组选择无性体原虫较少、无症状者 (6 例), 口服复合维生素 B 片,

每天 3 次, 2 片/次, 连服 7 d。密切关注安慰剂组患者, 稍感不适立即血检、测量体温等, 如疟原虫无性体 >3 000 个/μl 或体温 >38 °C, 即顿服磷酸氯喹 2 片 (250 mg/片) 或对症处理。观察期满给予标准疗程抗疟药 (青蒿琥酯片) 治疗。

### 5 疟原虫观察

ATS 组和 QN 组患者住院观察, 直至配子体连续 3 d 阴性; 安慰剂组带虫者住院观察 7 d, 第 8~28 天如自觉不适即回基地复查。服药第 1 天和服药后每天镜检厚、薄血膜 1 次, 记录恶性疟原虫无性体和配子体密度。以服药第 1 天配子体数为标准, 计算服药后配子体的相对密度 (配子体相对密度=试验当天配子体密度/试验第 1 天配子体密度×100%), 记录无性体和配子体的转阴时间。

### 6 蚊媒人工感染试验

每例患者于服药第 1、7、14、21 和 28 天抽取静脉血 2 ml, 肝素抗凝, 以体外饲血法人工感染大劣按蚊 (至少 50 只按蚊饱餐), 常规饲养 14~16 d, 解剖 20% 存活蚊, 观察大劣按蚊唾液腺孢子感染情况, 记录孢子阳性率。以该组服药第 1 天按蚊子孢子阳性率为感染强度, 计算该组服药后各天饲血按蚊子孢子相对感染强度 (子孢子感染强度=该组当天试验按蚊子孢子阳性率/该组第 1 天试验按蚊子孢子阳性率×100%)。

### 7 统计学分析

应用 SPSS 12.0 统计软件对有关数据进行分析处理。

## 结 果

### 1 治疗前病例情况

观察对象是天安基地附近乡镇的村民。ATS 组治疗 15 例, 年龄 6~63 岁, 其中男性 5 例, 女性 10 例; 无性体 280~60 393 个/μl, 配子体 64~2 007 个/μl (平均 535±153 个/μl)。QN 组治疗 10 例, 年龄 14~40 岁, 其中男性 7 例, 女性 3 例; 无性体 650~42 550 个/μl, 配子体 73~1 680 个/μl (平均 482±194 个/μl)。安慰剂组 6 例, 年龄 11~40 岁, 其中男性 5 例, 女性

1例;无性体 30~2 105 个/ $\mu\text{l}$ , 配子体 86~1 330 个/ $\mu\text{l}$  (平均  $386\pm 192$  个/ $\mu\text{l}$ )。3 组配子体密度差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

## 2 疗效分析

ATS 组 15 例无性体转阴时间为  $(42.7\pm 2.6)$  h。QN 组 9 例为  $(112.0\pm 8.9)$ h, 另 1 例服药后第 21 天离院, 第 24 天复查无性体已转阴, 具体转阴时间不确切, 故未作统计。两组间差异具有统计学意义 ( $t=7.442$ ,  $P<0.01$ )。安慰剂组有 2 例分别在服药后第 14 和 21

天无性体转阴, 其余 4 例均查见无性体, 该组患者常出现发热等症状。

ATS 组服药第 7、14 和 21 天的配子体相对密度分别为  $(12.5\pm 3.3)\%$ 、 $(1.2\pm 0.4)\%$ 和  $(0.3\pm 0.1)\%$ , 转阴时间为  $(22.0\pm 1.4)$  d。QN 组服药第 7、14 和 21 天的配子体相对密度分别为  $(173.9\pm 47.0)\%$ 、 $(112.5\pm 45.4)\%$ 和  $(32.5\pm 17.8)\%$ , 转阴时间  $(32.5\pm 2.1)$  d。ATS 组与 QN 组间转阴时间差异具有统计学意义 ( $t=4.371$ ,  $P<0.01$ )。安慰剂组住院后恶性疟原虫配子体相对密度有所下降(表 1)。

表 1 药物治疗后恶性疟原虫配子体相对密度变化  
Table 1 PFG relative density after treatment

天数 Day (d)	青蒿琥酯组 ATS group			奎宁组 QN group			安慰剂组 Placebo group		
	范围(个/ $\mu\text{l}$ ) Range	平均(个/ $\mu\text{l}$ ) Average	相对密度 Relative density(%)	范围(个/ $\mu\text{l}$ ) Range	平均(个/ $\mu\text{l}$ ) Average	相对密度 Relative density(%)	范围(个/ $\mu\text{l}$ ) Range	平均(个/ $\mu\text{l}$ ) Average	相对密度 Relative density(%)
1	64~2 007	535	100	73~1 680	482	100	86~1 330	386	100
7	2~287	51	12.5 $\pm$ 3.3*	42~1 760	439	173.9 $\pm$ 47.0	48~1 960	446	89.4 $\pm$ 21.2
14	0~9	4	1.2 $\pm$ 0.4	33~576	198	112.5 $\pm$ 45.4	47~1 566	326	69.5 $\pm$ 26.7
21	0~1	0	0.3 $\pm$ 0.1	3~380	82	32.5 $\pm$ 17.8	46~442	134	49.4 $\pm$ 19.3
28	$\Delta$	-	-	0~102	23	13.9 $\pm$ 12.6	46~291	145	61.6 $\pm$ 19.1

注:  $\Delta$  2 例厚血膜 200 个视野查见 1 个配子体, 其余为阴性; \* 与 QN 或安慰剂组比较,  $P<0.01$ 。

Note:  $\Delta$  One gametocyte was found in 200 fields at thick smears in 2 cases only, others negative; \* Compared with QN group or placebo group,  $P<0.01$ .

## 3 按蚊人工感染试验

患者服药第 1、7、14、21 和 28 天, 其静脉血人工感染大劣按蚊试验结果 (大劣按蚊唾液腺孢子阳性病例数/观察病例数) 显示, ATS 组分别为 15/15、9/15、0/15、0/15、0/15。QN 组分别为 10/10、10/10、10/10、3/10 和 0/5 (第 28 天 3 例 PFG 转阴, 2 例厚血膜 200 个视野仅查见 1 个 PFG 而未做蚊媒感染观察)。安慰剂组第 1、7、14、21 和 28 天孢子感染均为 6/6。

孢子相对感染强度, ATS 组服药第 7 和 14 天分别为 10.7% 和 0; QN 组服药第 7 天升至 142%, 第 14 天降为 98.6%, 第 21 天降为 20.3%; 而安慰剂组服药第 7 天升至 107.6%, 第 14、21 和 28 天分别降为 85.9%、55.2% 和 57.3% (表 2)。

## 讨 论

青蒿琥酯是治疗抗药性恶性疟的特效药之一, 2006 年被世界卫生组织定为重症疟疾救治的首选药物<sup>[2]</sup>。李国桥等<sup>[9]</sup>以 ATS 5 d 总量 600 mg 治疗恶性疟 (带配子体) 患者 15 例, 其中 9 例服药前可感染蚊媒的患者, 治疗第 14 天均不能感染; 6 例服药前不能感

表 2 治疗前后大劣按蚊孢子感染情况  
Table 2 Infective rate in An. dirus before and after treatment

分组 Group	首次给药后天数 (d) Day of first time treatment				
	1	7	14	21	28
青蒿琥酯 ATS					
解剖蚊数 No. mosquitoes	154	212	268	-	-
孢子阳性率 Positive rate(%)	72.1	10.7*	0	-	-
感染强度 Intensity of infection(%)	100	18.2	0	-	-
奎宁 QN					
解剖蚊数 No. mosquitoes	71	68	68	84	77
孢子阳性率 Positive rate(%)	35.5	50.4	35.0	7.2	0
感染强度 Intensity of infection(%)	100	142.0	98.6	20.3	0
安慰剂 Placebo					
解剖蚊数 No. mosquitoes	44	42	50	66	58
孢子阳性率 Positive rate(%)	56.7	61.0	48.7	31.3	32.5
感染强度 Intensity of infection(%)	100	107.6	85.9	55.2	57.3

注: \* 与 QN 组或安慰剂组比较,  $P<0.01$ 。

Note: \* Compared with QN group or placebo group,  $P<0.01$ .

染蚊媒的病例, 治疗第 4、7 和 14 天均不能感染蚊媒, 表明 ATS 可缩短配子体的感染期, 中断新进入血液配子体的发育。Price 等<sup>[11]</sup>观察了众多青蒿素衍生物治愈的无并发症恶性疟患者, 发现其配子体携带率很低, 配子体血症期明显短于甲氟喹或 QN 治愈者, 提

示广泛使用青蒿素衍生物治疗恶性疟可防止其传播。Targett 等<sup>[12]</sup>观察冈比亚儿童治疗第 4 或 7 天配子体的感染性,认为伍用青蒿素衍生物可减少恶性疟传播。Sowunmi 等<sup>[13]</sup>单用青蒿琥酯或与阿莫地喹配伍治疗恶性疟,可通过加快无性体的清除速度和减少配子体的携带率而降低传播。Chotivanich 等<sup>[14]</sup>将恶性疟患者血液分离出的配子体分别与 QN、ATS 和伯氨喹共同培养 24 h 后人工感染大劣按蚊,10 d 后解剖蚊胃观察卵囊,发现 ATS 可阻止未成熟配子体发育并减少成熟配子体的传播。本研究通过比较 QN 组、安慰剂组与 ATS 组的治疗效果,进一步阐明 ATS 对配子体的抑制作用。ATS 组治疗第 7 天配子体相对密度为  $(12.5 \pm 3.3)\%$ ,按蚊唾液腺感染率为 18.2%;第 14 天配子体相对密度为  $(1.2 \pm 0.4)\%$ ,15 例全部失去感染性。QN 组治疗第 7 和 14 天配子体相对密度是 173.9% 和 112.5%,按蚊唾液腺孢子感染强度为 142.0% 和 98.6%,10 例全部感染蚊媒;第 28 天才全部无感染性。安慰剂组配子体相对密度虽有所下降,但其对蚊媒感染性无明显改变。可见 ATS 对配子体有明显的传播阻断作用。

Jeffery<sup>[15]</sup>曾报道不治疗或不正规治疗的恶性疟原虫配子体血症将持续几个月,长者达半年或 1 年以上,并可感染蚊媒。本研究安慰剂组 6 例患者治疗后配子体均可感染蚊媒,与 QN 组相比这些患者血液中配子体感染性更稳定、传染期更长,说明及早治疗是防治疟疾的较好对策。

总之,青蒿素类药物不仅可有效治疗疟疾,对于控制传染源从而遏制疟疾传播亦有积极意义。

#### 参 考 文 献

[1] Li GQ, Guo XB, Jin R, et al. Clinical studies on treatment of cerebral malaria with qinghaosu and its derivatives [J]. J Tradit Chin Med, 1982, 2(1): 125-130.  
 [2] Chang LL, Wang GX. Research development on anti-parasite activity of artesunate [J]. Parasit Infect Dis, 2007, 5(3): 164-166. (in Chinese)  
 (畅灵丽,王光西.青蒿琥酯抗寄生虫作用研究进展[J].寄生虫病与感染性疾病,2007,5(3):164-166.)

[3] Checkley AM, Whitty CJ. Artesunate, artemether or quinine in severe *Plasmodium falciparum* malaria [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2007, 5(2): 199-204.  
 [4] Dondorp A, Nosten F, Stepniewska K, et al. Artesunate versus quinine for treatment of severe falciparum malaria: a randomised trial [J]. Lancet, 2005, 366(9487): 717-725.  
 [5] Zhang JC, Guo XB, Qian BS, et al. Tolerance and adverse effects of artesunate tablet in healthy volunteers [J]. New Drug Clin Remed, 1992, 11(2): 70-72. (in Chinese)  
 (张俊才,郭兴伯,钱本顺,等.健康人对青蒿琥酯片的耐受性和不良反应[J].新药与临床,1992,11(2):70-72.)  
 [6] Bunnag D, Viravan C, Looareesuwan S, et al. Clinical trial of artesunate and artemether on multidrug resistant falciparum malaria in Thailand. A preliminary report [J]. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth, 1991, 22(3): 380-385.  
 [7] Kumar N, Zheng H. Stage-specific gametocytocidal effect of the antimalarial drug qinghaosu on *Plasmodium falciparum* [J]. Parasitol Res, 1990, 76(3): 214-218.  
 [8] Chen PQ, Li GQ, Jian HX, et al. Influence of artesunate on infectivity of gametocytes of *Plasmodium falciparum* [J]. Trad Chin Drug Res Clin Pharmacol, 1993, 4(3): 40-42. (in Chinese)  
 (陈沛泉,李国桥,简华香,等.青蒿琥酯对恶性疟原虫配子体感染性影响的观察[J].中药新药与临床药理,1993,4(3):40-42.)  
 [9] Li GQ, Chen PQ, Li GQN, et al. Effect of artesunate on the infectivity of *Plasmodium falciparum* gametocytes (PFG) and a randomized comparative study with quinine [C]. XIVth International Congress for Tropical Medicine and Malaria, Nagasaki, Japan. 1996: 211.  
 [10] Jian HX, Chen PQ, Fu LC, et al. Effect of artesunate on *Plasmodium falciparum* gametocytes at early stage [J]. J Guangzhou Univer TCM, 1998, 15(1): 31-34. (in Chinese)  
 (简华香,陈沛泉,符林春,等.青蒿琥酯对恶性疟原虫早期配子体的作用[J].广州中医药大学学报,1998,15(1):31-34.)  
 [11] Price NR, Nosten F, Luxemburger C, et al. Effects of artemisinin derivatives on malaria transmissibility [J]. Lancet, 1996, 347(9016): 1654-1658.  
 [12] Targett G, Drakcleg C, Jawara M, et al. Artesunate reduces but does not prevent post-treatment transmission of *Plasmodium falciparum* to *Anopheles gambiae* [J]. J Infect Dis, 2001, 183(8): 1254-1259.  
 [13] Sowunmi A, Balogun T, Gbotosho GO, et al. Activities of amodiaquine, artesunate, and artesunate-amodiaquine against asexual- and sexual-stage parasites in falciparum malaria in children [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(5): 1694-1699.  
 [14] Chotivanich K, Sattabongkot J, Udomsangpetch R, et al. Transmission-blocking activities of quinine, primaquine, and artesunate [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(6): 1927-1930.  
 [15] Jeffery GM. Infectivity to mosquitoes of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* under various conditions [J]. Am J Trop Med Hyg, 1960, 9(3): 315-320.

(收稿日期:2008-04-23 编辑:杨频)