

# 云南恶性疟抗氯喹株地理分布调查报告

云南省疟疾防治研究所 车立刚 陈文才 杨恒林 黄开国

一九七三年福建首先报道恶性疟对氯喹产生抗性。同年,云南孟定地区恶性疟对氯喹产生抗性也获证实<sup>[1]</sup>。以后陆续报告了保山<sup>[2]</sup>、孟连县腊垒<sup>[3]</sup>等地有抗氯喹恶性疟存在。1981~83年,我们采用世界卫生组织推荐的体外微量法和临床观察法(四周法),开展调查工作。以期查清云南抗氯喹恶性疟原虫的地域分布及其抗性程度,为进一步研究抗氯喹恶性疟的防治对策作基础。现将调查结果报告如下:

## 调查区域

云南恶性疟疾的主要流行区,分布在元江河谷以西,北纬25°以南,元江、澜沧江、南汀河、龙川江、大盈江等河流在下游形成的具有热带和亚热带气候的河谷或平坝区,以及元江河谷以东,北纬23°以南的低海拔的河谷或平坝区。即西起盈江县经保山、昌宁、景东、新平、元阳、屏边、麻栗坡至富宁一线以南的地区。我们在此区域的东西南北方向分别选点,它们的地理位置是:瑞丽县城关北纬24°1′东经97°56′;耿马县孟定,北纬23°33′东经99°5′;新平县漠沙,北纬23°51′东经101°44′;勐腊县勐仑,北纬21°56′东经101°15′;富宁县者桑,北纬23°45′东经106°15′。

## 调查方法

一、病例选择:单一感染恶性疟原虫的现症病人,14天内未服用过4-氨基喹啉类及其他具有抗疟作用的药物,疟原虫无性体密度在500个以上/立方毫米血,经浊度法测定尿中无氯喹的病例为观察对象。

### 二、观察方法:

体外微量法:

涂氯喹板:中国预防医学中心寄生虫病研究所提供。每板4行,每行10孔,各孔氯喹剂量分别为0、1、2、4、5.7、8、16、32、64、0微微克分子。

培养基:用西德产RPMI1640培养粉,国产Hepes粉,谷氨酰胺,碳酸氢钠,兔血清配成完全培养液(方法略)。

测定:取病人血2ml,玻璃珠摇荡去纤维,取虫血0.2ml,加入盛有完全培养液1.8ml的小瓶内,混匀后按每孔50微升量移入测定板各孔中,加盖后轻轻震荡,使氯喹溶解。放入蜡烛缸中,点燃蜡烛,待火焰将灭时关闭活塞,37°C恒温培养24~48小时。取去各孔上清液,取血涂片,吉氏染色,镜检。计数每孔200个无性体中的裂殖体数。以对照孔的裂殖体数为100%计算各药孔的裂殖体率,将裂殖体率用直线回归法计算半数有效量(指药孔氯喹含量)。

结果判定:对照孔裂殖体率低于10%为培养失败。4微微克分子以下药孔原虫生长被抑制为敏感。4微微克分子药孔原虫发育良好,5.7微微克分子药孔原虫生长被抑制为疗效满意。在5.7微微克分子药孔及更高浓度药孔原虫能发育至裂殖体期为抗性。

临床观察法(体内法):

氯喹:上海第11制药厂生产的氯喹片,批号71016,以及思茅制药厂添加糖衣后的氯喹片。按成人总量1,500毫克(基质)给药,第1、2天各顿服600毫克(基质),第3天顿服300毫克。儿童递减。

观察:送药看服,服药后尿氯喹阳性为服药佐证。服药后逐日血检一次,直到第7天。以后于第14天、21天、28天各随访血检一次。厚血膜100个视野未发现疟原虫无性体为阴性。

结果判定:

敏感(S): 开始服药后 7 天内疟原虫无性体连续转阴 2 天以上, 至第 28 天无原虫再现。

I 级抗性(RI): 开始服药 7 天内原虫无性体连续转阴 2 天, 28 天内原虫无性体再现。

II 级抗性(RII): 首剂服药后 48 小时, 疟原虫无性体较服药前下降 75% 以上, 7 天内原虫无性体不转阴。

III 级抗性(RIII): 开始服药后 48 小时, 疟原虫无性体与服药前相比, 下降不到 75% 或反而上升。

### 调查结果

五个调查点中, 者桑点未发现恶性疟病例。孟定点仅做了体外测定。漠沙、瑞丽、勐仑点均进行体内外测定, 瑞丽点曾收治缅甸国边民 10 例, 测得抗性结果。

一、临床观察法: 滇中地区的漠沙观察 37 例全属敏感, 勐仑、瑞丽、缅甸边民的抗性率在 96% 以上(表 1)。

二、体外微量测定结果: 漠沙点体外微量法测得恶性疟对氯喹的抗性率 52.2%, 其余点的抗性率为 85.7%~100%(表 2)。各调查点测得的不同氯喹浓度药孔的裂殖体率及半数有效量(药孔氯喹含量); 以漠沙为最低, 缅甸边民

表 1 云南恶性疟对氯喹敏感性临床观察结果 1981~83

地点	例数	抗性分级				抗性例数	抗性率 %
		S	RI	RII	RIII		
漠沙	37	37	0	0	0	0	0
勐仑	50	2	24	7	17	48	96.0
瑞丽	18	0	8	1	9	18	100.0
缅甸	10	0	2	4	4	10	100.0

最高, 其次为孟定(表 3)。

三、体外测定与临床观察结果: 皆成功的共有 69 例。临床观察判定有抗性的疟原虫, 体外测定时也显示抗性, III 级抗性的疟原虫在 32 微微克分子孔仍能生长发育的占 88.8%(16/18)。临床观察为敏感的 23 例中, 有 12 例在体外测定

表 2 云南恶性疟原虫对氯喹敏感性本外测定结果 1981~83 年

地区	例数	敏感	疗效满意	抗性	抗性率 %	95% 可信限
漠沙	23	10	1	12	52.2	52.2 ± 20.4
孟定	7	0	1	6	85.7	85.7 ± 25.9
勐仑	39	1	0	38	97.4	97.4 ± 4.9
瑞丽	13	0	0	13	100.0	
缅甸	6	0	0	6	100.0	

时显示有抗性。但未发现临床观察有抗性而体外测定敏感的现象(表 4)。

四、临床观察或体外测定测得的抗性率:

表 3 云南恶性疟原虫在氯喹孔中的裂殖体率及半数有效量 1981~83 年

地区	例数	不同氯喹剂量孔中的裂殖体率 (%)										ED <sub>50</sub> *
		0	1	2	4	5.7	8	16	32			
漠沙	23	100	78.5	59.9	36.0	19.3	20.0	9.3	4.3		2.55	
勐仑	39	100	84.7	80.6	73.6	63.1	55.5	37.1	17.8		8.54	
孟定	7	100	94.7	80.4	77.6	58.0	55.6	44.0	23.0		10.35	
瑞丽	13	100	88.6	83.6	78.5	70.3	49.8	28.3	3.9		6.9	
缅甸	6	100	94.7	93.1	87.0	83.7	65.7	50.9	22.3		15.29	

\*药孔含氯喹量(微微克分子/孔)

在年龄分布上经卡方检验无显著差异(表 5)。

五、观察对象来源: 此次接受观察的对象绝大多数都是当地居民在当地感染者。仅在瑞丽查到 4 例外来易感者, 体内体外测定都显示有抗性, 与当地 6 例居民结果相同。

六、几个调查点测得的抗性结果: 抗氯喹恶性疟原虫株已遍布云南省内恶性疟的主要流行区: 昔马、瑞丽、畹町、孟定、腊垒、勐仑、杨柳区、漠沙等地。

表 4 云南恶性疟原虫对氯喹敏感性体内、外观察结果 1981~83年

体内观察 级别	例数	体外测定各药孔中疟原虫生长被抑制例数								
		1	2	4	5,7	8	16	32	64	未抑制
S	23	2	1	7	1	1	6	1	3	1
R I	21	0	0	0	0	1	2	9	6	3
R II	7	0	0	0	0	1	0	2	3	1
R III	18	0	0	0	0	0	0	2	7	9
合计	69	2	1	7	1	3	8	14	19	14

表 5 云南抗氯喹恶性疟原虫在年龄上的分布 1981~83年

年龄	例数	体内法		体外法	
		抗性例数	抗性率(%)	抗性例数	抗性率(%)
1~	8	6	75.0	6	75.0
7~	14	7	50.0	11	78.5
15~	7	2	28.6	6	85.7
16~	40	30	75.0	35	87.5
合计	69	45	65.2	58	84.1

$\chi^2 = 7.6$   $P > 0.05$   $\chi^2 = 1.17$   $P > 0.05$

### 讨 论

一、临床观察法与体外微量测定法检查恶性疟对氯喹的敏感性。在高抗性地区两法检出的抗性率相近，如勐仑、瑞丽。在低抗性地区，则体外法检测出的抗性率高于临床观察法，如漠沙。从临床观察和体外测定皆成功的99例中还可以看到，临床观察的Ⅲ级抗性原虫体外测定时，32微微克分子/孔以下的氯喹浓度不能抑制其发育。临床观察为敏感的原虫，体外测定时有半数显示具有抗性，抑制原虫生长的氯喹浓度高低不一，变化较大。然而未发现临床观察有抗性而体外测定敏感的情况。说明体外测定法比临床观察法灵敏可靠。

二、根据本调查及既往调查材料，云南主要的恶性疟疾流行区都有抗氯喹恶性疟的分布。西起盈江沿边境区到勐腊一线为云南抗氯喹恶性疟分布的中心地带，抗性程度很高，如瑞丽、孟定、勐仑等，抗性率85.7%以上，半

数有效量在6.9微微克分子/孔以上，1974年在盈江县昔马及畹町镇调查<sup>[4]</sup>，Ⅱ、Ⅲ级抗性占50%（一周法），1973年耿马孟定<sup>[1]</sup>调查结果，Ⅱ、Ⅲ级抗性占68.1%（49/72）；滇中地区为抗氯喹恶性疟分布的边缘地带，抗性程度低，如漠沙临床观察全敏感，体外测定抗性率52.2%，氯喹半数有效量2.5微微克分子/孔；边境与滇中之间的地区，可认为是抗氯喹恶性疟分布的外围地带，它的抗性程度介于边境区与滇中区之间，如保山县1975年调查<sup>[2]</sup>抗性率54.5%（30/55），Ⅱ、Ⅲ级抗性占9%（5/55），抗性程度低于1974年调查的昔马、畹町（中心地带），高于1982年调查的漠沙（边缘地带）。

这样的地理分布，是因为边境地区原属超高度疟区，疟疾流行季节长，常年用药，国家对边境区给予医药照顾，用药量很大，恶性疟原虫长期受到药物的压力。另外，边境区所毗邻的缅甸、老挝等国属于抗氯喹恶性疟流行区，如本次调查中10例患恶性疟疾的缅甸边民2例属Ⅰ级抗性，4例属Ⅱ级抗性，4例属Ⅲ级抗性，半数有效量高达15.29微微克分子/孔。边民来往频繁，互相传播。

三、云南省内自1973年证实耿马县孟定恶性疟对氯喹产生抗性以来，迄今10年，抗性程度有明显增长。以孟定为例10年前用体内一周法观察<sup>[5]</sup>Ⅱ级抗性占65.28%（47/72），Ⅲ级抗性占2.78%（2/72）。10年来当地没有停止使用氯喹，采用氯喹伍用其他抗疟药治疗恶性疟疾，1982年曾用氯喹单方治疗6例恶性疟总量1,500毫克（基质），三日分服，服完疗程后有2例体温不退，症状不减，原虫无明显减少，治疗无效<sup>[5]</sup>，即6例中有2例为Ⅲ级抗性。本次体外测定7例恶性疟，无1例对氯喹敏感，半数有效量10.35微微克分子/孔。

四、云南恶性疟疾流行区的恶性疟原虫对氯喹的敏感性日益降低，抗性虫株的分布已很普遍。探索抗氯喹恶性疟的防治对策，已是刻不容缓的现实问题。

## 摘 要

采用WHO推荐的体外微量测定法和临床观察法,调查云南恶性疟抗氯喹株地理分布,证实云南省西南边境一线,恶性疟对氯喹的抗性程度很高,抗性率在96.0%以上,Ⅱ、Ⅲ级抗性在半数以上,半数有效量在6.9微微克分子/孔以上;滇中地区抗性程度低,临床观察未发现抗性病例,体外测定半数有效量为2.55微微克分子/孔;边境与滇中地区之间的地带,抗性程度居于两地区之间。

## ABSTRACT

By means of Micro-determination in Vitro recommended by WHO and Clinical observation, an investigation of the geographical distribution of drug (Chloroquine)-resistant strains of *P. falciparum* in Yunnan Province was made. It was revealed that in the south-west of Yunnan boarder-line, the resistance of malignant malaria to Chloroquine therapy was very high, the incidence was higher than 96%, II & III degrees being hi-

gher than 50%. 50% effective dose over 6.9ngmol/hole; In the Central Area of Yunnan, the degree of drug resistance was low. No drug-fast clinical case was revealed. 50% Effective dose determined in vitro was found to be 2.55ng/hole. The median District between the boarder-line and that of Central Yunnan, the degree of drug Resistance being the median range of the above two levels.

## 参 考 文 献

- 1.昆明军区后勤部军事医学研究所:中华内科杂志,4:247,1978
- 2.昆明医学院附一附二院疟疾防治组:保山县杨柳公社新华大队恶性疟原虫抗氯喹的临床观察,1页,内部资料,1975
- 3.云南省疟疾防治研究所:云南寄生虫病防治研究资料选编,178页,1期1980年
- 4.昆明军事医学科学研究所:恶性疟原虫对氯喹的临床敏感性调查,内部资料,1982
- 5.杨恒林等:云南省疟疾防治研究所年报,39页,1983

(本调查承勐仑卫生院、漠沙卫生院,瑞丽县医院、孟定卫生院、孟定农场医院的大力支持。徐永言、刘国志、李蓝珍、李敏汉、甸自林、何学元、陈永明同志参加部分工作,在此一并致谢)

## 先天性疟疾一例报告

湖北省江陵县卫生防疫站 李柏廷 江 明

患者甘××、女、30天,本县纪南区董场乡鲁培村四组,1984年3月3日出生(系新法接生),属第三胎足月顺产,皮肤无产程损伤。体重3.5公斤。吮乳尚好,二便正常。无输血及注射史。

4月2日,患儿突然高烧,体温39.8°C,次日出现黄疸,脐周有脓性分泌物。经当地医生诊治、注射青霉素、庆大霉素后,臀部针孔出血不止,故到沙市一人民医院求治,血检发现间日疟原虫裂殖体,即转市传染病院治疗。

患儿五官端正,前囟无突起。全身皮肤及巩膜黄染明显,无出血点。表浅淋巴结不肿大。心肺无异常。腹平软,肝在右肋缘下2cm,脾1cm。脐部可见少许黄色分泌物。臀部注射部位青紫、硬肿。血常规检查:Hb5克%,RBC234万/mm<sup>3</sup>,网织红细胞计数

5.4%,WBC4300/mm<sup>3</sup>,DC:N48%,L52%。P、C7.3万/mm<sup>3</sup>。经磷酸氯喹(剂量不详)治疗三天退烧,黄疸未见好转出院。

4月30日访视,患儿血内仍可检出间日疟原虫大滋养体及配子体,疟疾间接荧光抗体试验亦为阳性(1:40)。

患儿母亲于1979年第一胎怀孕七个月时,曾患疟疾,间日发作一次,共发三场,经注射复方奎宁一针后,一直未再发疟疾,也未患其它发热性疾病。

一九八五年四月上、中、下旬,对其采血镜检疟原虫三次均为阴性,但疟疾间接荧光抗体试验阳性(1:20)。

(本项工作得到地区防疫站卞德轩主管医师及省医科院陈昌源技师大力协助,特致谢意)