

سیر مقاومت داروئی مالاریا در ایران طی سالهای ۱۳۸۰-۱۳۶۲

دکتر غلامحسین ادریسیان^{۱*}

چکیده :

یکی از مشکلات مهم کنترل مالاریا در دنیا مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین و بعضی دیگر از داروهای ضد مالاریا در اغلب مناطق اندمیک مالاریای فالسیپاروم است. در ایران در دو مطالعه انجام گرفته به روش *in-vivo* در مناطق مالاریا خیز جنوب کشور در سالهای ۵۵-۱۳۴۷ پلاسمودیوم فالسیپاروم در مقابل کلروکین حساس بوده است.

در مطالعاتی که طی سالهای ۸۰-۱۳۶۲ توسط واحد تک یاخته شناسی دانشکده بهداشت با همکاری کارکنان و مسؤولان مالاریای استانهای مالاریا خیز جنوب شرقی ایران انجام گرفته است و میزان حساسیت پلاسمودیوم فالسیپاروم به روش های *in-vivo* و *in-vitro* به کلروکین و چند داروی متداول ضد مالاریای دیگر تعیین شده است، آثار وجود سویه های مقاوم پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین در بررسیهای سال ۱۳۶۲ در ایرانشهر ظاهر شده و به تدریج میزان موارد مقاوم و سطح مقاومت در منطقه افزایش یافته است، بطوریکه در شهرستان ایرانشهر میزان مقاومت از ۵/۷٪ در سطح R_1 در سال ۱۳۶۲ به ۵۱/۲٪ در سطوح R_1 ، R_{11} و R_{111} رسیده است. در مطالعات انجام گرفته در شهرستان بندرعباس و در مواردی در شهرستان کهنوج، میزان مقاومت از ۳۲/۵٪ در سطوح R_1 ، R_{11} در سالهای ۶۶-۱۳۶۵ به ۶۴/۸٪ در سطوح R_1 ، R_{11} و R_{111} در سالهای ۷۵-۱۳۷۳ رسیده و تا سالهای ۸۰-۱۳۷۹ بین ۶۸٪ تا ۸۴٪ در نوسان بوده است.

در بررسی به روش *micro in vitro* با استفاده از کیت های استاندارد سازمان بهداشت جهانی، میزان مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین، آمودیاکین، سولفادوکین-پیریمتامین (فنسیدار) مفلوکین و کنین به ترتیب در ۲۸۱، ۷۲، ۳۹، ۴۴ و ۷۲ نمونه ۴/۳۳٪، ۱۵/۲٪، ۱۷/۹٪، ۲/۲٪ و صفر بوده است. در این بررسی پلاسمودیوم فالسیپاروم به کنین کاملاً حساس بود. در ۸۸ بیمار مبتلا به مالاریای فالسیپاروم که به روش *in-vivo* مقاوم به کلروکین بودند درمان با سولفادوکسین-پیریمتامین (فنسیدار) به تنهایی و یا همراه با آمودیاکین انجام گرفته است. ۱۳/۶٪ موارد انگل به فنسیدار هم در سطوح R_1 و R_{11} مقاوم بود. مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به مفلوکین را که به طور پراکنده در مواردی به روش *in-vitro* در مناطق مالاریا خیز دیده شده است، با توجه به این که این دارو در آن زمان هیچوقت در ایران مورد استفاده قرار نگرفته بود. می توان مقاومت ذاتی و یا موارد وارده و یا انتقال از وارده در نظر گرفت.

در این مطالعات که حساسیت پلاسمودیوم و یواکس به کلروکین به روش *in-vivo* تمدید شده ۲۸ روزه، جمعاً در ۸۲۷ بیمار از سال ۱۳۷۳ لغایت ۱۳۸۰ انجام گرفته است، در تمام موارد انگل به دارو حساس بوده و میانگین زمان پاک شدن خون از انگل ۲/۷۸ روز بوده است.

بررسی میزان حساسیت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین و بعضی دیگر از داروهای ضد مالاریا در بیمارانی انجام گرفته است که شخصاً و یا از طریق مراکز درمانی و آزمایشگاه های مالاریای مناطق مالاریا خیز، به آزمایشگاه های بررسی مقاومت داروئی مالاریا در ایستگاههای تحقیقات بهداشتی بندرعباس و ایرانشهر مراجعه کرده و یا معرفی شده اند. با این ترتیب عده ای از آنان قبلاً سابقه درمان با کلروکین داشته اند و احتمالاً پس از شکست درمان و ظهور مجدد بیماری تحت بررسی مقاومت داروئی قرار گرفته اند. تعدادی از موارد مالاریای فالسیپاروم که در مراکز دیگر به درمان با کلروکین جواب داده اند معرفی نشده و در نتایج این بررسیهای منظور نگردیده اند، با این ترتیب به احتمال قوی میزان مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین در کل بیماران مبتلا به مالاریای فالسیپاروم در مناطق تحت بررسی کمتر از ارقام به دست آمده در این مطالعات است.

سویه های مقاوم اولیه پلاسمودیوم فالسیپاروم به احتمال قوی توسط مهاجران و مسافران افغانستانی و پاکستانی به مناطق مالاریا خیز ایران وارد شده و انتشار آنها توسط آنوفل انجام گرفته است.

* (عهد دار مکاتبات).

۱. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت و انسیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران.

مقدمه:

مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین طی سالهای ۶۱-۱۹۶۰ در آمریکای لاتین از کلمبیا (Young M.D. and Moore D.V. 1961) و تقریباً هم زمان با آن در خاور دور از تایلند (Harinasuta T. et al. 1962) و در سال ۱۹۷۸ در آفریقا از کنیا (Kean B.K. 1979) گزارش شد.

در سال ۱۹۸۴ یک مورد تأیید شده بالینی از پاکستان گزارش گردید (Robinson D.S. et al. 1984). در ایران در بررسیهایی که توسط دکتر منوچهری و همکاران در سالهای ۵۱-۱۳۴۶ در کازرون، بندرعباس و میناب و توسط دکتر سوروزو Suroso و همکاران در سال ۱۳۵۵ در شهرستان بندر عباس انجام گرفت و به ترتیب ۵۱ و ۴۵ بیمار مبتلا به مالاریای فالسیپاروم در دو بررسی فوق پس از درمان با کلروکین به روش in-vivo ۲۸ روزه تحت بررسی قرار گرفتند، تمام سویه های پلاسمودیوم فالسیپاروم آزمایش شده، به کلروکین حساس بودند و میانگین زمان پاک شدن خون از انگل به ترتیب ۱/۱ و ۲/۱ روز پس از درمان با کلروکین بود.

با توجه به شیوع مالاریا در استانهای جنوب شرقی کشور، مصرف زیاد کلروکین در این مناطق، توسعه کانون مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین از جنوب شرقی آسیا به طرف غرب، رفت و آمد ساکنان مرزی ایران و پاکستان و ورود مهاجران افغانستانی حامل انگل به ایران، واحد تک یاخته شناسی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی با همکاری اداره کل ریشه کنی مالاریا و مبارزه با بیماریهای واگیر، سازمانهای منطقه ای بهداشت، درمان و آموزش پزشکی استانهای سیستان و بلوچستان و هرمزگان، شبکه های بهداشت و درمان شهرستانهای ایران شهر، بندرعباس و میناب و در مواردی با حمایت سازمان بهداشت جهانی و بخش تحقیقات بیماریهای گرمسیری (WHO/TDR)، بررسی میزان حساسیت پلاسمودیوم فالسیپاروم را با استفاده از

تکنیک های استاندارد سازمان بهداشت جهانی به روشهای in-vivo (Payne D. 1982) و in-vitro (WHO 1990) ابتدا در ایستگاه تحقیقات بهداشتی ایرانشهر در سالهای ۱۳۶۲ و ۱۳۶۴ و سپس در ایستگاه تحقیقات بهداشتی بندرعباس در سالهای ۶۶-۱۳۶۵ انجام داد. مروری بر نتایج این بررسیها تا آخر سال ۱۳۸۰ در این مقاله ارائه می شود.

در بررسی مقدماتی که در سال ۱۳۶۲ در ایرانشهر انجام گرفت، با استفاده از روش in-vivo جمعاً ۵۲ بیمار مبتلا به مالاریای فالسیپاروم واجد شرایط پس از درمان با دوز استاندارد کلروکین (تجویز ۲۵ میلی گرم کلروکین باز به ازاء هر کیلوگرم از وزن بیمار طی سه روز) با تست استاندارد هفت روزه مورد بررسی قرار گرفتند. در ۳۵ بیمار که آزمایش میکروسکوپی مالاریا و شمارش انگل روزانه طی هفت روز به طور کامل انجام گرفت، میانگین زمان پاک شدن خون از انگل ۲/۱ روز بود و در دو مورد تعداد خیلی کم تروفوزوئیت جوان (رینگ فالسیپاروم) در روز هفتم در مقابل ۲۰۰۰ گلبول سفید در گسترش ضخیم رنگ شده خون مشاهده گردید. در یکی از این موارد انگل در تست in-vitro هم به کلروکین مقاوم بود. در بررسی میزان حساسیت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین به روش in-vitro که با استفاده از کیت های میکرو (micro) و ماکرو (macro) ساخته شده در واحد تک یاخته شناسی دانشکده بهداشت انجام گرفت، در تست میکرو این ویترو از ۴۲۶ نمونه خون تهیه شده از بیماران واجد شرایط ۸۴ مورد (۱۹/۷٪) و در تست ماکرو این ویترو از ۴۰ نمونه خون ۸ مورد (۲۰٪) انگل به طور مطلوب رشد کرد. از ۸۴ مورد رشد کرده در تست میکرو این ویترو ۳۲ مورد (۳۰/۱٪) رشد انگل در مقابل ۱/۱۴ تا ۳/۲ میکرومولکول گرم کلروکین در یک لیتر خون مشاهده شد و در تست ماکرو این ویترو از ۸ مورد رشد کرده، یک مورد (۵/۱۲٪) رشد انگل در مقابل ۱/۵ میکرومولکول کلروکین در

کلروکین در شهرستان ایرانشهر را ثابت کرد و نتایج بررسی انجام شده در سال ۱۳۶۲ را تأیید نمود.

در سالهای ۱۳۶۲ و ۱۳۶۴ میزان بروز سالیانه مالاریا (API) در شهرستان ایرانشهر به ترتیب ۶۷ و ۲۵/۷ در هزار نفر جمعیت بود و میزان درصد پلاسمودیوم فالسیپاروم در دو سال فوق حدود ۳۵٪ بود (Edrissian G.H. et al. 1987a).

ضمن بررسی میزان حساسیت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین در سال ۱۳۶۴ در شهرستان ایرانشهر، میزان حساسیت انگل نسبت به مفلوکین هم با استفاده از کیت های سازمان بهداشت جهانی به روش *micro in-vitro* انجام گرفت. از ۷۴ نمونه خون که به طور مطلوب در پلیت های مفلوکین رشد کرده بودند، در ۹ مورد (۱۲/۱٪) رشد انگل در غلظت های بالاتر از حد حساس یعنی ۱/۶ تا ۳/۲ میکرومولکول گرم مفلوکین در لیتر خون مشاهده گردید (Edrissian G.H. et al. 1987b).

در سالهای ۶۶-۱۳۶۵ در استان هرمزگان میزان حساسیت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین در شهرستانهای بندرعباس و میناب مورد بررسی قرار گرفت. در مناطق تحت مطالعه، نسبت موارد پلاسمودیوم فالسیپاروم به پلاسمودیوم ویواکس در شهرستان بندرعباس ۱ به ۱۰ و در شهرستان میناب ۴ به ۱۰ بود. میزان بروز سالیانه مالاریا در هر هزار نفر جمعیت (API) در این شهرستانها به ترتیب ۳/۷ و ۱۶/۳ در سال ۱۳۶۵ و ۸/۷ و ۲۴/۷ در ۸ ماه اول سال ۱۳۶۶ بود.

در شهرستان بندرعباس در بررسی به روش *in-vivo* تعداد ۴۰ بیمار حداقل روزانه به مدت ۷ روز و در مواردی که امکان داشت در روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸ مورد آزمایش میکروسکوپی قرار گرفتند. میانگین زمان پاک شدن انگل در خون ۴/۳ روز بود و در ۱۳ مورد مقاومت در سطوح R_1 (۹ مورد) و R_{11} (۴ مورد) مشاهده شد. از ۴۰ بیمار تحت بررسی ۲۱ نفر (۱۵ نفر افغانستانی و ۶ نفر پاکستانی) خارجی بودند که در بین آنان ۸ مورد مقاومت در سطح R_1 و یک مورد مقاومت در سطح R_{11} مشاهده شد.

یک لیتر خون انجام گرفت. رشد مرحله رینگ انگل و تبدیل آن به شیزونت در مقابل مقادیر فوق از کلروکین در تست *In vivo* (خارج از بدن بیمار) وجود مقاومت انگل به دارو تلقی می گردد.

در ۲۳ مورد کیت های میکرو تهیه شده در واحد تک یاخته شناسی دانشکده بهداشت با کیت های استاندارد سازمان بهداشت جهانی مقایسه شد. در ۶ مورد (۲۶٪) انگل در هر دو کیت رشد کرده بود و نتایج مشابه بود. در یک مورد (۱۶/۶٪) انگل در هر دو کیت مقاومت نشان داد. در این مورد در تست *in-vivo* هم تعداد خیلی کم رینگ فالسیپاروم در خون بیمار تا روز هفتم مشاهده شد. از ۵۹ نمونه تست شده به روش میکرو این ویترو با استفاده از کیت استاندارد سازمان بهداشت جهانی، در ۹ مورد (۱۵/۲٪) انگل رشد کرده و در یک مورد (۱۱/۱٪) مقاومت انگل به دارو مشاهده شد.

به طور کلی در این بررسی مقدماتی در سال ۱۳۶۲ در شهرستان ایرانشهر مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین در تست *in-vivo* حداقل در سطح R_1 و در تست *in-vitro* در موارد بیشتری مشاهده گردید (Edrissian G.H. and Shahabi S. 1985).

در سال ۱۳۶۴ بررسی تعیین میزان حساسیت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین در شهرستان ایرانشهر مجدداً انجام گرفت و ۲۴ بیمار مبتلا به مالاریای فالسیپاروم واجد شرایط به روش *in-vivo* جمعاً به مدت ۱ تا ۴ هفته تحت بررسی قرار گرفتند. زمان پاک شدن خون از انگل به روش میکروسکوپی ۴/۳ روز بود و در دو مورد (۸/۳٪) مقاومت در سطح R_1 مشاهده گردید.

به روش *In-vitro* با استفاده از کیت های استاندارد سازمان بهداشت جهانی، در تست میکرو در ۵۷ نمونه خون که به طور مطلوب رشد کرده بود در ۱۱ مورد (۱۲/۶٪) و در تست ماکرو از ۲۸ نمونه خون رشد کرده در ۸ مورد (۲۸/۵٪) مقاومت به کلروکین مشاهده گردید.

بررسی اخیر وجود مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به

در شهرستان میناب به روش *in-vivo* تعداد ۲۵ بیمار مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین زمان پاک شدن خون از انگل ۲/۳ روز بود و مورد مقاومی دیده نشد.

در تست (micro *in-vitro*) از ۴۳ نمونه خون بیماران مبتلا به مالاریای فالسیپاروم واجد شرایط در شهرستان بندرعباس، در ۱۸ نمونه انگل به طور مطلوب رشد کرد و در ۸ مورد (۴۴/۴٪) رشد انگل در مقابل ۱/۱۴ تا ۶/۴ میکرومولکول گرم کلروکین در لیتر خون ادامه یافت و به این ترتیب مقاومت به دارو را نشان داد. از ۱۸ نمونه خون رشد کرده ۶ مورد مربوط به افراد غیر ایرانی بود که در ۴ مورد (۲ افغانستانی، ۲ پاکستانی) مقاومت انگل به دارو مشاهده شد.

در تست (macro *in-vitro*) از ۳۰ نمونه خون، در ۱۸ مورد که انگل به طور مطلوب رشد کرده بود در ۱۰ مورد (۵۵/۵٪) رشد انگل در مقابل ۱/۵۲ تا ۳ میکرومولکول گرم کلروکین در لیتر ادامه داشت و مقاومت نشان داد. از این موارد مقاوم ۶ مورد مربوط به افراد غیر ایرانی (اکثراً افغانستانی) بود.

در شهرستان میناب از ۳۴ نمونه خون تست شده به روش (macro *in-vitro*)، در ۱۵ مورد (۴۴/۱٪) رشد انگل به طور مطلوب انجام گرفت و در ۲ مورد (یک پسر بچه که به بندرعباس مسافرت کرده بود و یک نفر افغانستانی) مقاومت دیده شد.

از ۴۹ نمونه خون بیماران مبتلا به مالاریای فالسیپاروم در شهرستان میناب که به روش میکرواین ویترو تست شد، در ۱۴ مورد رشد انگل انجام گرفت که تمام موارد رشد کرده نسبت به کلروکین حساس بودند.

در بررسی حساسیت پلاسمودیوم فالسیپاروم به مفلوکین در بیماران مالاریایی در شهرستانهای بندرعباس و میناب در تست (macro *in-vitro*) در ۱۵ مورد انگل در پلیت مفلوکین بطور مطلوب رشد کرد و در ۵ مورد از موارد رشد کرده، رشد انگل در مقابل ۱/۱۴ تا ۳/۲ میکرومولکول گرم کلروکین در لیتر خون ادامه یافت و مقاومت نشان داد. از این

۵ مورد سه مورد در بندرعباس و ۲ مورد در میناب دیده شد. یکی از موارد مقاوم به مفلوکین یک افغانستانی ۴۰ ساله بود (Edrissian G.H. et al. 1989a).

در سالهای ۷۲-۱۳۶۹ وضعیت مقاومت دارویی پلاسمودیوم فالسیپاروم در مناطق مالاریا خیز جنوب شرقی ایران در بیماران مالاریایی که به آزمایشگاه های مقاومت دارویی مالاریا در مراکز آموزشی و تحقیقات بهداشتی شهرستانهای بندرعباس و ایرانشهر مراجعه می کردند مورد بررسی قرار گرفت.

در تست *in-vivo* جمعاً ۸۰۸ بیمار مبتلا به مالاریای فالسیپاروم واجد شرایط تا روز بیست و هشتم پس از شروع درمان استاندارد با کلروکین تحت بررسی قرار گرفتند.

۵۹۳ مورد (۷۴/۴٪) به کلروکین در سطوح R_1 (۴۵/۵٪)، R_{11} (۱۶/۷٪) و R_{111} (۱۱/۲٪) مقاوم بودند. در ۱۲۵ مورد (۱۵/۴٪) که پی گیری بیمار بعد از هفته اول میسر نبود انگل به کلروکین حساس (S) و یا مقاوم در سطح R_1 (S or R_1) در نظر گرفته شد.

در ۹۰ بیمار (۱۱/۲٪) انگل به کلروکین حساس بود. از موارد مقاوم به کلروکین ۸۸ بیمار که با سولفادوکین - پیریمتامین (فنسیدار) تحت درمان قرار گرفته بودند، در تست تمدید شده (۲۸ روزه) در ۱۲ مورد (۱۳/۶٪) مقاومت به فنیسیدار در سطوح R_1 (۶/۸٪) و R_{11} (۶/۸٪) مشاهده گردید.

از موارد فوق ۲۶ بیمار که برای درمان آنان از آمودیاکین (جمعاً ۲۵ mg/kg در طی سه روز) و فنیسیدار به مقدار دو سوم دوز استاندارد (۲ قرص در افراد بالغ در یک نوبت) استفاده شد، در ۶ مورد (۲۳/۰٪) مقاومت در سطوح R_1 (۳ مورد) و R_{11} (۳ مورد) مشاهده گردید. در ۶۳ مورد که فقط از فنیسیدار برای درمان موارد فالسیپاروم مقاوم به کلروکین با دوز استاندارد (۳ قرص در افراد بالغ) استفاده شد، در ۶ مورد (۹/۶٪) مقاومت در سطوح R_1 (۳ مورد) و R_{11} (۳ مورد) مشاهده گردید. از ۱۲ مورد فالسیپاروم مقاوم به

فنیسیدار ۶ مورد از استان هرمزگان ، چهار مورد از استان سیستان - بلوچستان ، یک مورد از استان کرمان و یک مورد بیمار پاکستانی بود (Edrissian G.H. et al. 1993). بررسی میزان حساسیت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین ، آمودیآکین ، سولفادوکین پیریمتامین ، مفلوکین و کنین به روش *micro in-vitro* با استفاده از کیت های استاندارد سازمان بهداشت جهانی، در ۱۰۱۱ نمونه خون تهیه شده از بیماران مبتلا به مالاریای فالسیپاروم واجد شرایط انجام گرفت. در ۵۰۸ (۵۰/۲٪) نمونه خون که انگل به طور مطلوب رشد کرده بود، مقاومت به کلروکین در ۲۸۱ نمونه ، آمودیآکین در ۷۲ نمونه ، سولفادوکین - پیریمتامین در ۳۹ نمونه و مفلوکین در ۴۴ نمونه به ترتیب در ۳۳/۴٪ ، ۱۵/۲٪ ، ۱۷/۹٪ و ۲/۲٪ دیده شد. پلاسمودیوم فالسیپاروم به کنین در ۷۲ نمونه تست شده که انگل به طور مطلوب رشد کرده بود کاملاً حساس بود.

در سالهای ۷۵-۱۳۷۳ تعداد ۴۹۳ بیمار مبتلا به مالاریای فالسیپاروم واجد شرایط با استفاده از تست *in-vivo* تمدید شده ۲۸ روزه، در مناطق مالاریا خیز جنوب شرقی ایران مورد بررسی قرار گرفته است. از این موارد ۲۹۷ مورد (۶۰/۲٪) به کلروکین در سطوح R_1 (۴۶/۹٪) ، R_{11} (۱۰/۵٪) و R_{111} (۲/۸٪) مقاوم بودند (Edrissian G.H. et al. 1996, 1999).

در سالهای ۷۸-۱۳۷۶ میزان مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین در مناطق مالاریا خیز استان هرمزگان و شهرستان کهنوج از استان کرمان به روش *in-vivo* ۲۸ روزه مورد بررسی قرار گرفت. از ۷۶ بیمار ۶۳ مورد که تا روز بیست و هشتم مورد آزمایش قرار گرفتند ۴۰ مورد (۶۳/۵٪) در سطوح R_1 و R_{11} مقاوم بودند. در ۱۳ مورد که یک هفته تحت بررسی بودند انگل حساس (S) یا مقاوم در سطح R_1 (R_1 or S) در نظر گرفته شد. در صد موارد مقاوم در مهاجران افغانستانی بطور معنی داری بالاتر (۸۶/۳٪) از ساکنین ایرانی (۵۱/۲٪) بود (Edrissian G.H. et al.

2001).

در سالهای ۸۰-۱۳۷۹ در شهرستانهای بندرعباس و کهنوج جمعاً ۱۰۰ بیمار مبتلا به مالاریای فالسیپاروم به روش *in-vivo* مورد بررسی قرار گرفتند. ۶۸ مورد از آنان مقاوم در سطوح R_1 (۶۲ مورد) و R_{11} (۶ مورد) بودند. در سال ۱۳۸۰ از ۴۲ بیمار مراجعه کننده به آزمایشگاه مالاریای مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی بندرعباس ۳۰ مورد افغانستانی و ۱۲ مورد ایرانی بودند میزان مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین در ایرانیها ۶۶/۶٪ و در افغانستانیها ۸۶/۶٪ بود.

نتایج تعیین میزان مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین با استفاده از روشهای *in-vivo* و *in-vitro* در مناطق مالاریا خیز جنوب شرقی ایران ، تعداد موارد مالاریا در هر هزار نفر از جمعیت (API) و در صد موارد فالسیپاروم (PF%) در طی سالهای ۸۰-۱۳۶۲ در جدول شماره ۱ خلاصه شده است.

بررسی میزان حساسیت پلاسمودیوم ویواکس به کلروکین در سال ۱۳۷۳ در استانهای سیستان و بلوچستان و هرمزگان شروع شد و پایش آن در استان هرمزگان تا آخر سال ۱۳۸۰ ادامه داشته است.

جمعاً ۸۲۷ بیمار واجد شرایط مبتلا به مالاریای ویواکس پس از درمان با دوز استاندارد کلروکین با تست *in-vivo* تمدید شده ۲۸ روزه تحت بررسی قرار گرفتند. زمان پاک شدن انگل در خون بیماران درمان شده از ۱ تا ۶ روز متغیر بود و میانگین این زمان در تمام نمونه های آزمایش شده ۸۷/۲ (۲/۹۵-۱/۹۵) روز بوده است (جدول شماره ۲).

بحث :

با وجود پیشرفتهای قابل ملاحظه ای که طی سالها در کنترل مالاریا حاصل شده است، این بیماری هنوز یک مسأله جدی بهداشتی در دنیا است و حدود صد کشور یا منطقه جهان جزو مناطق مالاریا خیز محسوب می شوند. در ایران هم

با وجود کاهش تدریجی مناطق مالاریا خیز و موارد مالاریا، این بیماری یکی از مسائل مهم بهداشتی در جنوب شرقی کشور است (Sadrizadeh B.1999). انتقال مالاریای فالسیپاروم (مالاریای سه یک بدخیم) در اکثر مناطق مالاریا خیز دنیا از جمله ایران صورت می گیرد. مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین و بعضی دیگر از داروهای ضد مالاریای موجود که در اغلب مناطق اندمیک مالاریای فالسیپاروم گزارش می شود و پیوسته دامنه انتشار و سطح مقاومت آن افزایش می یابد، یکی از مسائل مهم کنترل مالاریا در دنیا بوده و سبب مشکلاتی در تدابیر درمانی و معالجه بیماران مالاریائی شده است (WHO 2000).

در ایران در دو مورد بررسی میزان حساسیت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین که به روش *in-vivo* در سالهای ۵۱-۱۳۴۶ (منوچهری و همکاران ۱۳۵۲) و سال ۱۳۵۵ (Suroso A.N. et al. 1978) انجام گرفته، انگل به دارو حساس بوده است. در بررسی مقدماتی که در سال ۱۳۶۲ در شهرستان ایرانشهر بعمل آمد شواهدی دال بر وجود سویه های مقاوم پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین در چند مورد دیده شد (Edrissian G.H. and Shahabi S. 1985) و در سالهای بعد مقاومت بیشتری به روشهای *In-vitro* و *In-vivo* از همین شهرستان گزارش گردید (Edrissian G.H. et al. 1987a, 1989b, 1996, 1999).

همزمان با گزارش اولیه وجود مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین در ایران، یک مورد مقاومت از پاکستان در سال ۱۹۸۴ توسط رابینسون و همکاران گزارش شد. از سال ۱۹۸۵ وجود مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO 1987a) در ایران و پاکستان اعلام گردید. مطالعات انجام شده در شهرستان بندرعباس از سال ۱۳۶۵ لغایت ۱۳۸۰ وجود سویه های مقاوم پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین و افزایش تدریجی میزان مقاومت و سطح مقاومت را نشان می دهد (Edrissian G.H. et al. 1987a, 1989a,

. 1996b, 1999).

در شهرستان میناب در بررسی انجام شده در سالهای ۶۶-۱۳۶۵ مقاومتی دیده نشد (Edrissian G.H. et al. 1989a).

یکی از عوامل اپیدمیولوژیک که در انتشار سویه های مقاوم پلاسمودیوم فالسیپاروم نقش مهمی دارد، مهاجرت افراد غیر مصون و نیمه مصون حامل سویه های مقاوم، از کانونهای مقاومت به مناطقی است که انتقال مالاریا توسط پشه آنوفل صورت می گیرد. سویه های مقاوم انگل مالاریا دارای این برتری بیولوژیک هستند که انتقال آنها توسط پشه آنوفل بهتر از سویه های حساس انجام می گیرد (WHO 1987b). در آبان ماه سال ۱۹۶۳ پنج بیمار مبتلا به مالاریای فالسیپاروم وارد شده از هندوستان (دو نفر) ، افغانستان (دو نفر مهاجر که از طریق پاکستان به ایران آمده بودند) و یک نفر مسافر بنگلادشی، در واحد تک یاخته شناسی دانشکده بهداشت مورد بررسی قرار گرفتند در تمام آنان مقاومت انگل به کلروکین در سطح R_1 وجود داشت (Edrissian G.H. et al. 1986). در مطالعات اولیه بررسی میزان حساسیت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین در مناطق مالاریا خیز ایران، موارد مقاوم اغلب وارده و بیشتر در بین مهاجران افغانستانی بودند که طبق اظهار خود این بیماران اغلب در پاکستان مبتلا به مالاریا شده بودند.

با این ترتیب سویه های مقاوم، از کانون تایلند در جنوب شرقی آسیا (Harinasuta T. et al. 1962) به تدریج به طرف غرب انتشار پیدا کرده و طی حدود ۲۰ سال در سال ۱۳۶۲ به جنوب شرقی ایران (شهرستان ایرانشهر) رسیده است (Edrissian G.H. and Shababi S. 1985).

در شهرستان ایرانشهر میزان موارد مقاوم پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین طی سالهای ۷۲-۱۳۶۲ از ۵/۷٪ به ۶۵/۳٪ و در شهرستانهای بندرعباس و کهنوج طی سالهای ۸۰-۱۳۶۵ از ۳۲/۵٪ به ۶۸٪ رسیده و در هر دو شهرستان موارد مقاومت در سطوح R_{11} و R_{111} رو به افزایش بوده است.

در یک بررسی که اخیراً در افغانستان انجام گرفته است، از ۱۴۲ بیمار آزمایش شده به روش *In-vivo* ۲۸ روزه، در ۶۷٪ پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین مقاوم بوده و در ۱۱٪ موارد سطح مقاومت R_{111} و R_{11} بوده است (Rab M.A. et al. 2001).

بیمارانی که در ایران تحت بررسی قرار گرفته اند اغلب بیماران مبتلا به مالاریا بودند که از مراکز درمانی و آزمایشگاه های مناطق مالاریا خیز جهت بررسی مقاومت دارویی به آزمایشگاه های مالاریادر مراکز آموزش و تحقیقات بهداشتی شهرستانهای بندرعباس و ایرانشهر معرفی می شدند و عده ای از آنان قبلاً تحت درمان با کلروکین قرار گرفته بودند و احتمالاً بعد از ظهور مجدد مالاریا جهت بررسی بیشتر به آزمایشگاه های بررسی مقاومت دارویی معرفی شده اند. در این صورت نمی توان گفت میزان واقعی مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین در مناطق تحت بررسی حدود ۵۱ تا ۶۵ درصد در شهرستان ایرانشهر در سالهای ۷۵-۱۳۶۹ و حدود ۶۴ تا ۸۴ درصد در شهرستانهای بندرعباس و کهنوج در سالهای ۸۰-۱۳۶۹ بوده است. اگر امکان داشت در کل بیماران مبتلا به مالاریای فالسیپاروم در مناطق مالاریا خیز بررسی انجام گیرد به احتمال قوی در صد موارد مقاوم پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین خیلی کمتر از ارقام ذکر شده فوق می شد، چون تعدادی از موارد حساس فالسیپاروم به کلروکین توسط مسؤولان درمان مالاریا، تحت درمان قرار می گرفتند و به آزمایشگاه بررسی مقاومت دارویی معرفی نمی شدند.

بهتر است قبل از هر گونه تغییر در سیاست درمانی مالاریا در مناطق مالاریا خیز ایران، به میکروسکوپیست ها و تکنسین های آزمایشگاه های مناطق مالاریا خیز آموزش لازم جهت آزمایش موارد مالاریای فالسیپاروم به روش ساده *in-vivo* پیشنهاد شده توسط سازمان بهداشت جهانی آن را پیشنهاد کرده است (WHO 1984) داده شود تا تمام موارد مالاریای فالسیپاروم واجد شرایط را تحت بررسی قرار دهند.

در این صورت میزان واقعی مقاومت بالینی و پارازیتولوژی فالسیپاروم به کلروکین مشخص خواهد شد. براساس نتایج چنین بررسی طی یک الی دو سال می توان با توجه به شرایط وضع اپیدمیولوژیک مالاریا در منطقه، در مورد تدابیر درمانی مالاریا با نظر کارشناسان درمان مالاریا تصمیم مناسب اتخاذ کرد.

در این مطالعات در بیمارانی که پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین مقاوم بود و تحت درمان با سولفادوکسین - پیریمتامین (فنسیدار) به تنهایی و یا همراه با آمودیاکین قرار گرفتند، مواردی مقاومت به فنیسیدار مشاهده شد (Edrissian G.H. et al. 1993). لذا لازم است مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به فنیسیدار هم مورد توجه مسؤولان درمان مالاریا در مناطق مالاریا خیز ایران قرار گیرد.

در بررسی میزان حساسیت پلاسمودیوم فالسیپاروم به مفلوکین به روش *micro in-vitro* با استفاده از کیت های استاندارد سازمان بهداشت جهانی، مواردی از مقاومت در شهرستانهای ایرانشهر و بندرعباس مشاهده شده است (Edrissian G.H. et al. 1987, 1989a).

با توجه به این که در زمان بررسی در مناطق مالاریا خیز ایران از مفلوکین استفاده نشده بود، این مقاومت و یا تحمل پلاسمودیوم فالسیپاروم به مفلوکین را می توان وجود سویه های از انگل که دارای مقاومت ذاتی *innate resistance* هستند و یا سویه های وارده و انتقال از وارده دانست. در هر صورت اگر در مواردی لازم باشد از مفلوکین برای پیشگیری و یا درمان مالاریا استفاده شود احتمالاً مقاومت به این دارو بسرعت ایجاد شده و افزایش می یابد.

جدول شماره ۱ - سیر مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین در مناطق مالاریا خیز جنوب شرقی ایران در سالهای ۸۰-۱۳۶۲

IN-VITRO-TEST			IN-VIVO TEST						%Pf	API	سال	شهرستان
درصد مقاوم	تعداد مقاوم	تعداد آزمایش شده	%R ₁₁₁	%R ₁₁	%R ₁	درصد مقاوم %R	تعداد مقاوم R	تعداد آزمایش شده				
۳۴/۳	۳۴	۹۹	-	-	۵/۷	۵/۷	۲	۳۵	۳۵/۱	۶۷	۱۳۶۲	ایرانشهر
۱۲/۶	۱۱	۸۷	-	-	۸/۳	۸/۳	۲	۲۴	۳۵	۲۵/۷	۱۳۶۴	ایرانشهر
۲۵/۴	۴۳	۱۶۹	۷/۲	۱۱/۵	۴۶/۶	۶۵/۳	۱۶۴	۲۵۱	۴۷/۳	۲۶/۹	۱۳۶۹-۷۲	ایرانشهر
-	-	-	۱/۲	۷/۳	۴۲/۷	۵۱/۲	۸۵	۱۶۶	۳۷/۹	۲۱/۳	۱۳۷۳-۷۵	ایرانشهر
۴۴/۴	۸	۱۸	-	۱۰	۲۲/۵	۳۲/۵	۱۳	۴۰	۸/۵	۶/۲	۱۳۶۵-۶۶	بندرعباس
-	-	۱۴	-	-	-	-	-	۲۵	۲۸/۵	۲۰/۵	۱۳۶۵-۶۶	میناب
۴۵/۵	۵۱	۱۱۲	۱۳	۱۹/۱	۴۴/۹	۷۷	۴۲۹	۵۵۷	۳۲	۱۹/۶	۱۳۶۹-۷۲	بندرعباس و کهنوج
-	-	-	۳/۷	۱۲/۲	۴۸/۹	۶۴/۸	۲۱۲	۳۲۷	۱۵/۵	۷/۷	۱۳۷۳-۷۵	بندرعباس و کهنوج
۲۵	۱	۴	-	۲۱/۸	۶۲/۵	۸۴/۳	۲۷	۳۲	۱/۵	۴	۱۳۷۶-۷۸	بندرعباس
-	-	-	-	۱۲/۹	۳۹	۴۱/۹	۱۳	۳۱	۲۷/۹	۱۷/۲	۱۳۷۶-۷۸	کهنوج
۱۶/۶	۱	۶	-	۶	۶۲	۶۸	۶۸	۱۰۰	۵/۳	۳/۴	۱۳۷۹-۸۰	بندرعباس و کهنوج

API: تعداد موارد سالیانه موارد مالاریا در هر هزار نفر جمعیت

%Pf: درصد موارد پلاسمودیوم فالسیپاروم

جدول ۲ - میزان حساسیت پلاسمودیوم ویواکس به کلروکین در مناطق مالاریا خیز جنوب شرقی ایران در سالهای ۱۳۸۰-۱۳۷۴

شهرستان	سال	تعداد آزمایش شده	MPCT	دامنه تغییرات (روز)
ایرانشهر	۱۳۷۴	۹۵	۱/۹۵	۱-۴
بندرعباس	۱۳۷۴	۱۰۱	۲/۷۲	۱-۵
بندرعباس	۱۳۷۵	۹۸	۲/۹۱	۱-۶
بندرعباس	۱۳۷۶-۷۸	۳۲۳	۲/۹۱	۱-۵
بندرعباس	۱۳۷۹-۸۰	۲۱۲	۲/۹۵	۱-۵
جمع	۱۳۷۴-۸۰	۸۲۷	۲/۷۸	۱-۶

MPCT: میانگین زمان پاک شدن خون از انگل بر حسب روز

منابع :

- Edrissian Gh.H., Afshar A., Sayedzadeh A. Mohsseni Gh. And Satvat M.T. (1993) Assessment of the response *in vivo* and *in vitro* of *Plasmodium falciparum* to sulfadoxine/pyrimethamine in the malarious areas of Iran. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. **96**:237-240.
- Edrissian Gh.H., Nateghpoor M. and Afshar A. (1996) Status of drug-resistant falciparum malaria in the south-eastern part of Iran. WHO/MAL/96.1076.
- Edrissian Gh.H., Nateghpoor M., Afshar A. and Mohsseni Gh. (1999) Monitoring the response of *plasmodium falciparum* and *P.vivax* to antimalarial drugs in the malarious areas insouth-east Iran. *Archives of Iranian Medicine*. **2**:61-66.
- Edrissian Gh.H., Nateghpoor M., Afshar A. and Mohsseni Gh. (2001) *In vivo* monitoring of the response of *falciparum* and *vivax Plasmodia* to chloroquine in Bandar-Abbas and Kahnoudj. south-east Iran.1997-1999. *Medical Journal of the Iranian Hospital*. **3**: 30-33.
- Harinasuta T., Migasena S. and Bunnag D. (1962). Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* in Thailand. Proceedings of the First UNESCO Regional Symposium on Scientific Knowledge of Tropical Parasdites. Singapore;148.
- Kean B.K. (1979) Chloroquine resistant falciparum from Africa. *Journal of the American Association*. **241**:395.
- Payne D. (1982) Practical aspect of the *in vivo* testing for sensitivity of human *Plasmodium spp* to antimalarials, Geneva. World Health Organization, MAP/82/998).
- Rab M.A., Freeman T.W., Durrani N. and De Poerck D. (2001) Resistance of *Plasmodium falciparum* malaria to chloroquine is widespread in Afghanistan. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. **95**:41-46.
- منوچهری، عبدالوهاب. معتبر، منصور. آل محمد، ابوالحسن (۱۳۵۲) بررسی میزان حساسیت پلاسمودیم فالسیپارم نسبت به کلروکین در مناطق جنوبی ایران. مجله بهداشت ایران ، سال دوم ، شماره ۲ صفحات ۹۷ تا ۱۰۲.
- Edrissian Gh.H. and Shahabi S. (1985) Preliminary study of the response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine in Sistan-Baluchestan province of Iran. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*.**79**:563-564.
- Edrissian Gh.H., Shahabi S., Pishva E. Hajseyed-Javadi J., Khaleghian B., Ghorbani M., Emadi A.M., Afshar A. and Saghari H. (1986) Imported cases of chloroquine- resistant falciparum malaria in Iran. *Bulletin de la Societe Pathologie Exotique*. **79**:217-221.
- Edrissian Gh.H., Afshar A., Kanani A. Satvat M.T. and Ghorbani M. (1987a) Resistance of *Plasmodium falciparum* to chloroquine in south-eastern Iran. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*.
- Edrissian Gh.H., Ghorbani M. Afshar A., Kanani A. and Satvat M.T. (1987b) *In vitro* response of *Plasmodium falciparum* to mefloquine in south-eastern Iran. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **81**: 164-165.
- Edrissian Gh.H., Afshar A., Kanani A., Satvat M.T., Mohsseni Gh., Nasserri Nejad D., Emadi A.M. and Ghorbani M. (1989a) The response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine and mefloquine in Bandar-Abbas and Minab areas, Hormozgan province, southern Iran. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. **92**:75-79.
- Edrissian Gh.H. (1989b) Status of the response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine and mefloquine in Iran. *Tropical and Geographical Medicine*. **41**: 297-313.

WHO(1987b) The epidemiology of drug resistance of malaria parasites.

Memorandum from a WHO Meeting. Bulletin of the World Health Organization. **65**: 797-816.

WHO (1990) *in vitro* micro test for the assessment of the response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine, mefloquine, quinine, sulfadoxine-pyrimethamine and amodiaquine. Geneva. World Health Organization, MAP/87/2.

WHO (2000) Current global malaria Situation. WHO Expert Committee on Malaria. Technical Report Series. **892**: 3-6.

Young M.D. and Moore D.V. (1961) Chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. **10**: 317-320.

Robinson D.S., Hadley Brawn M., Ejele O.A. and Robinson P.S. (1984) Chloroquine-resistant malaria in Pakistan. *Lancet* *ii*. 987.

Sadrizadeh B. (1999) Malaria in the world, in the Eastern Mediterranean Region and in Iran. *Archives of Iranian Medicine*. **2**: 202-209.

Suroso T., Hamidi A.N. and Manuchehri A. V. (1978) The activity of chloroquine against *Plasmodium falciparum* in Bandar-Abbas, southern Iran. *Bulletin de la Societe Pathologie Exotique*. **71**:164-171.

WHO (1984) Antimalarial drug policies, WHO/MAL/84.1070.

WHO (1987a) World malaria situation 1985. World Health Statistics, Quarterly, **40**:142-170.

REVIEW ARTICLE:
THE TREND OF MALARIA DRUG RESISTANCE IN IRAN
DURING 1983-2001

Edrissian Gh.H.*²Pharm Pharmsi D.

One of the main problems in malaria control is the resistance of *Plasmodium falciparum* to chloroquine and some other antimalarial drugs. This resistance is now quite common in most regions where falciparum malaria is endemic.

Between 1968 and 1976, two in-vivo studies were carried out in endemic areas in the south of Iran and they showed *P. falciparum* to be chloroquine-sensitive.

In 1983, the Department of Protozoology in the School of Public Health undertook in vivo and in vitro studies on the response of *P. falciparum* to chloroquine and other antimalarials. In the Iran-Shahr region a few cases of in vivo resistance to chloroquine were found in 1983, and the rate of resistance was 5.7% at RI level. Between 1994 and 1996, resistance in this region gradually increased to 51.2% at RI, RII and RIII.

In Bandar-Abbas and Kahnoudj areas, prevalence of chloroquine-resistant *P. falciparum* infection was 32.5% at RI and RII from 1986 to 1987; it increased to 64.8% at RI, RII and RIII levels from 1994 to 1996 and then altered between 68% and 84% at RI and RII levels in the 1997-2001 period.

88 chloroquine-resistant patients were treated with standard doses of sulfadoxine-pyrimethamine (Fansidar) alone or in combination with amodiaquine and then examined with 28-day in-vivo tests. In 13.6% of them resistance was observed at RI and RII levels.

In micro in-vitro tests, using WHO standard kits, the rates of resistance of *P. falciparum* to chloroquine, amodiaquine, sulfadoxine-pyrimethamine, mefloquine and quinine were 33.4%, 15.2%, 17.9%, 2.2% and 0.0% in 281, 72, 39, 44 and 72 cases respectively.

As mefloquine has never been used in the studied areas, the sporadic cases of in-vitro mefloquine resistance may be considered as cases of innate and/or imported resistance.

Primary resistant cases were seen mostly among Afghan and Pakistani immigrants/passengers. Hence these individuals are likely to have introduced chloroquine-resistant malaria into this country.

The in vivo response of *Plasmodium vivax* to chloroquine was also studied in 827 patients was also studied in the endemic areas of the South-East between 1995 and 2001. The mean parasite clearance time (MPCT) was 2.78 and no resistant cases were found.

Most cases in these studies had been referred by the local Malaria Control Laboratories to the research facilities at Health Training and Research Centers in Bandar-Abbas and Iran-Shahr. Some had received chloroquine, and those with a good

(* Author to whom all correspondence should be addressed.)

1. Dept. of Parasitology School of Public Health and Institute of Public Health
Research, Tehran University
of Medical Sciences.

response had not been referred. Therefore, the high rates of chloroquine resistance found in these studies probably do not reflect overall resistance rates at population level. To determine true resistance levels in these areas, all eligible patients must undergo WHO's simplified in-vivo tests performed by trained malaria microscopists or laboratory technicians.

Key words: *Malaria, Drug resistance, Iran*