

鼠疟原虫引起血小板减少药物干预效果的观察

区德锦¹, 韦海艳², 邹春燕³, 崔立旺⁴, 黄亚铭²

摘要 :目的 了解退烧药、抗生素及激素对感染鼠疟原虫引起的血小板减少是否具有恢复的效果。方法 健康昆明小鼠腹腔接种感染伯氏鼠疟原虫,当感染鼠血小板明显低于正常值后,分别采用临床常用的大环内酯类、 β 内酰胺类和喹诺酮类抗生素、退烧药及激素类药物按照人体治疗量的 10 倍灌服或肌注方法给药 3d,每 12 h 采血 1 次做血小板计数观察。每 5 只小鼠为一个观察试验组,每种药物采用一组小鼠试验观察取平均数据,并设正常对照组。结果 正常鼠血小板平均计数为 $256 \times 10^9/L$ 。健康鼠感染鼠疟原虫后第 8d,各组感染鼠血小板计数平均降至 $90 \times 10^9/L$ 后,开始灌服各类抗生素和肌注氨基比林及地塞米松,除阿奇霉素观察组治疗 3d 后血小板计数平均恢复至 $201 \times 10^9/L$ 水平外,其它抗生素和退烧药及激素均对感染鼠疟原虫所引起的血小板明显减少恢复无影响。结论 除阿奇霉素外,复方氨基比林、阿莫西林、左氧氟沙星、地塞米松对鼠疟原虫感染小鼠血小板减少无明显效果。

关键词 :鼠疟原虫; 血小板计数; 抗生素; Mice

中图分类号 :R531.3 文献标识码 :A 文章编号 :1009-9727(2013)2-131-03

Drug intervention effects on thrombocytopenia due to *Plasmodium berghei* infection in mice. OU De-jin, WEI Hai-yan, ZOU Chu-yan et al. (Department of Laboratory, The Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510150, Guangdong P. R. China. Corresponding author: HUANG Ya-ming, Email: hym9992004@yahoo.com.cn)

Abstract Objective To analyze the common antipyretics, antibiotics and corticosteroids on thrombocytopenia due to *Plasmodium berghei* infection in mice. Methods Healthy Kunming mice were intraperitoneally inoculated with *Plasmodium berghei* and treated with β -lactams, quinolones, antipyretics and corticosteroids at dose of 10 times that of human dose for 3 days by irrigation or intramuscular injection when platelet count markedly below normal value. Then blood samples were obtained for every 12 hours and platelet count was recorded. Observation group consisted of five mice and each drug was tested in a group and with control group. Results The normal mice platelet count averaged for $256 \times 10^9/L$ and the platelet count dropped to an average count of $90 \times 10^9/L$ in each group 8 days after infection with *Plasmodium berghei*. The platelet count returned to $201 \times 10^9/L$ in azithromycin-treated group only 3 days after treated with various antibiotics and muscular injection of aminophenazone and dexamethasone and other antibiotics, antipyretic and corticosteroids showed no effect on thrombocytopenia recovery in mice infected with *Plasmodium berghei*. Conclusions Except azithromycin, aminophenazone, amoxicillin, levofloxacin and dexamethasone showed no effects on platelet recovery in mice infected with *Plasmodium berghei*.

Key words : *Plasmodium berghei*; Platelet count; Antibiotic

在猴疟原虫动物模型中的试验观察结果证实,当猴体感染疟原虫后,机体的血小板会出现明显的下降,当血小板下降后血小板的水平不随血内疟原虫密度的变化而明显变化,这可能与机体感染疟原虫后血小板在不同时期所表现的功能不一样有关,在使用抗疟药物后血小板在几天后恢复至正常值^[1]。但当机体感染疟原虫引起血小板下降后,未使用抗疟药之前,临床上常用的退烧药、抗生素和激素对疟原虫感染引起的血小板减少的恢复是否具有作用,目前国内外鲜见这方面的文献报道,为此,我们进行了该方面的研究,结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 鼠疟原虫虫种、实验动物、实验用药及给药途径 1)伯氏鼠疟原虫(*Plasmodium berghei*),昆明医学院引进,在广西区疾病预防控制中心原虫病科实验室液氮中长期保种;2)实验动物 体重约 25~30g 的健康昆明小鼠 35 只,其中 30 只作为试验鼠感染伯氏鼠疟原虫,5 只作为健康对照鼠。每 5 只作为一种药物试验组;3)实验用药及给药途径 (1)大环内酯类抗生素 阿奇霉素片(江西汇仁药业有限公司生产),每盒 6 片装,每片 0.25g。灌服; (2) β 内酰胺类抗生素:阿莫西林片(哈药集团制药总厂生产),每盒 12 片

基金项目 国家自然科学基金项目(No.30660169)广西自然科学基金项目(No.0991013.08-42-01A)

作者单位 1.广州医学院第三附属医院检验科 广东 广州 510150; 2.广西壮族自治区疾病预防控制中心原虫病科 广西 南宁 530028; 3.广西医科大学基础医学院寄生虫教研室 广西 南宁 530021; 4.宾夕法尼亚州立大学昆虫学系,美国费拉德尔菲亚。

作者简介 区德锦(1984~),男,汉族,广东广州人,硕士,研究方向 疟疾的预防治疗。

* 通讯作者 Email: xudejin@126.com

装,每片 0.25g。灌服 (3) 喹诺酮类抗生素 左氧氟沙星片 (南风集团坦曲制药有限公司生产),每盒 12 片装,每片 0.1g。灌服 (4) 乙酰水杨酸类 复方氨基比林注射液 (哈药集团三精制药股份有限公司生产),每支 2ml。肌注 (5) 激素类 地塞米松磷酸钠注射液, (哈药集团三精制药股份有限公司生产),每支 1ml: 2mg。肌注。

1.2 方法

1.2.1 液氮保种鼠疟原虫的复苏 从液氮中取出装有鼠疟原虫全血冰冻管,在水浴箱经 37℃ 复温,腹腔转种给健康小鼠。

1.2.2 感染动物 冰冻复苏含鼠疟原虫全血后,分别感染 5 只健康小白鼠,待 5 只被感染鼠体内原虫达到高密度时,取血混合后,用 0.1% 的肝素抗凝,然后分别腹腔注射 30 只试验鼠各 0.2ml 感染血。并做血片进行原虫计数。

1.2.3 正常鼠及感染鼠疟原虫密度与血小板计数的关系 了解正常鼠及感染鼠原虫密度变化与血小板计数的自然关系变化规律,实验前随机分 5 只试验鼠和 5 只健康对照鼠均进行血小板计数。疟原虫感染试验鼠后,对每只鼠每天采血检查疟原虫,并计数原虫密度及血小板计数,每只健康鼠每天同步采血进行血小板计数。

1.2.4 血小板检测 每天从鼠尾部取血 20μL,加草酸铵稀释液 0.38mL,人工轻微震荡摇匀,静置 30min,取少量滴入血细胞计数板,静置 15min 后计数,2h 内完成,操作严格按照规程,人工血小板计数固定由 2 名血细胞计数熟练研究人员完成。

1.2.5 不同药物治疗对原虫密度和血小板计数的影响 当试验鼠感染疟原虫成功后,每天连续观察血小板计数下降并与对照组血小板计数比较明显减少时,25 只感染鼠随机被分为 5 个小组,每组 5 只,每组分别给予不同药物治疗。给药剂量均按动物与人给药剂量的常规换算方法制定,剂量分别为人用量的 10 倍。分别每天灌服阿奇霉素 1 次,每次 83mg/kg;每天灌服阿莫西林 1 次,每次 333mg/kg;每天灌服左氧氟沙星 1 次,每次 66mg/kg;每天肌内注射复方氨基比林 1 次,每次 0.3ml/kg;每天肌内注射地塞米松 1 次,每次 0.83mg/kg,各组药物连续给药 3d。给药后每 12h 一次采血检查疟原虫密度及血小板计数。

1.2.6 原虫密度计算 在薄血膜上,计数 100 个白细胞同时计数疟原虫数。原虫密度计算公式为:疟原虫密度(个/μL)=疟原虫数×6000÷100(6000 为每微升血中白细胞数,100 为计数的白细胞数)

2 结果

2.1 正常鼠血小板计数的观察 5 只健康对照鼠连续观察 12d,血小板计数平均在 225~255×10⁹/L 之间,平均为 240×10⁹/L。(见图 1)

2.2 试验鼠疟原虫密度与血小板计数之间的自然关系 5 只试验鼠感染疟原虫后第 2d 血内发现疟原虫,均为大滋养体。随后原虫密度逐渐增高,第 4d 平均原虫密度高达 309,529 个/μL,而血小板计数仍在正常水平 239×10⁹/L。随后原虫密度高低变化在 72,928~222,388 个/μL 之间波动,而血小板计数逐步下降,在原虫感染第 8d 时,血小板计数平均降至 90×10⁹/L。此后,血小板计数维持在 89~94×10⁹/L 之间,直到第 13d 感染鼠出现死亡(见图 1)。实验鼠感染鼠疟原虫后随机体疟原虫密度增加血小板计数与正常组小鼠血小板计数比较明显减少($P<0.05$),并维持到最后死亡。

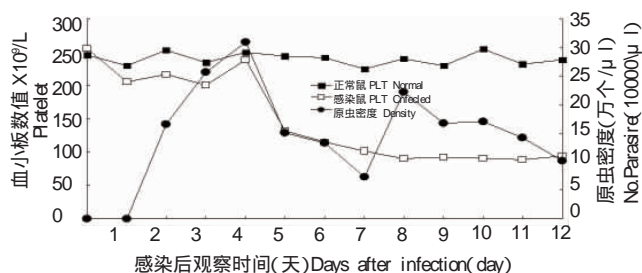


图 1 小鼠感染疟原虫后平均原虫密度和血小板计数变化

Figure 1 Average parasitemias density and platelet counts of healthy mice after infected with malaria

2.3 不同药物治疗对原虫密度与血小板计数的影响

2.3.1 阿奇霉素组 试验鼠感染后第 8d,血小板计数平均降至 89×10⁹/L,灌服阿奇霉素治疗 12h 后原虫密度有所下降,但血小板计数升高至 314×10⁹/L。随后原虫密度逐渐降低,72h 后原虫密度由给药前 147,080 个/μL 降至 41,232 个/μL,血小板计数恢复至 201×10⁹/L 左右,已基本恢复接近至正常组小鼠血小板计数水平(见图 2)。阿奇霉素对血小板数量的恢复产生了明显的作用。

2.3.2 阿莫西林组 灌服治疗 12~72h 内,原虫密度波动在 85,680~166,340 个/μL 之间无减少迹象,同时血小板计数仍维持在 81~104×10⁹/L 之间低于正常鼠对照血小板计数水平($P<0.05$)(见图 2),阿莫西林治疗对鼠疟感染引起的血小板减少恢复未见有作用。

2.3.3 左氧氟沙星组 灌服治疗后 12~72h 内原虫密度高低波动在 44,328~155,928 个/μL 之间,血小板计数仍维持在 88~100×10⁹/L 之间,低于正常鼠对

照血小板计数水平($P<0.05$)(见图 2)。左氧氟沙星治疗对鼠疟感染引起的血小板减少恢复未见有作用。

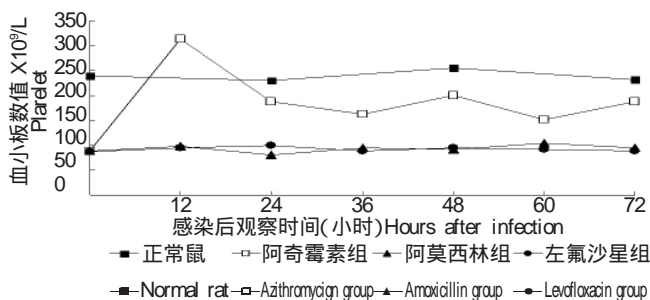


图 2 感染鼠灌服阿奇霉素、阿莫西林和左氧氟沙星治疗后平均血小板计数变化

Figure 2 Parasitemias density and platelet counts after infected mice treatment by azithromycin, amoxicillin and levofloxacin

2.3.4 复方氨基比林组 肌注治疗后 12~72h 内原虫密度波动在 79,680~159,480 个/ μ l 之间,血小板计数仍维持在 87~98 $\times 10^9$ /L 之间低于正常鼠对照血小板计数水平($P<0.05$)(见图 3)。复方氨基比林治疗对鼠疟感染引起的血小板减少恢复未见有作用。

2.3.5 地塞米松组 肌注治疗后 12~72h 内原虫密度波动在 74,400~174,627 个/ μ l 之间,血小板计数仍维持在 83~104 $\times 10^9$ /L 之间低于正常鼠对照血小板计数水平($P<0.05$)(见图 3)。地塞米松治疗对鼠疟感染引起的血小板减少恢复未见有作用。

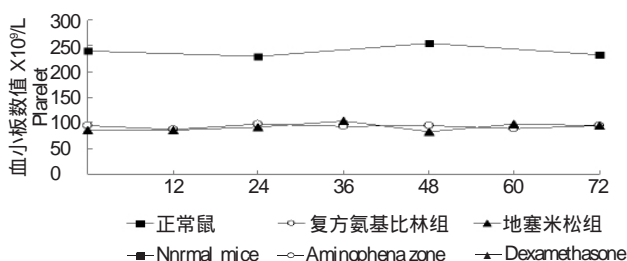


图 3 感染鼠肌注复方氨基比林和地塞米松治疗后平均血小板计数变化

Figure 3 Parasitemias density and platelet counts after infected mice treatment by Aminophenazone and dexamethasone

3 讨论

国内外的研究表明,在猴疟动物模型实验中证明当机体受到孢子攻击后,在血液内出现疟原虫之前机体的血小板即开始下降,当血液中发现疟原虫后血小板数值已经明显低于正常值,并且不随血内疟原虫密度高低变化而改变^[1-3],在对恶性疟及间日疟患者观察中同样发现有这种现象^[4-5]。因此,通过流行病学史和临床症状及血小板明显下降数值初步判断疟疾患者比观察疟疾患者白细胞计数相对下降所受的影响因素较少。随着血常规自动检测仪在国内县乡

级医疗机构的普及,给临床工作者提供了方便的辅助诊断依据。目前疟疾在我国多数的省份得到了有效的控制而且并不是一种常见的传染病,临床医师及检验科医师已不常见疟疾患者,往往在疟疾患者诊断不明确期间会使用各种抗生素、退烧药和激素类药物,了解这类药物对由于感染疟原虫引起的血小板明显减少的作用,将有助于临床医师对患者诊断的正确判断。目前的研究证明,一般的疟疾患者引起的血小板明显减少只要采用抗疟药物治疗,不论是青蒿素类还是奎宁类药物均能使明显下降的血小板在短期内恢复至正常值^[4]。国内外的研究显示,阿奇霉素对疟疾具有治疗和预防作用,其特点是远期效果更佳^[6],在鼠疟原虫引起的血小板明显减少的试验中,所使用的 3 种抗生素和退烧药及激素中,仅有阿奇霉素具有使血小板恢复的作用,这与在间日型猴疟动物模型中所观察的结果基本一致,而且在停药后其作用仍可持续^[1]。

参考文献:

- [1] Ou DJ, Wei HY, Zou CY et al. Dynamic changes of platelets during Plasmodium cynomolgi infection and after drug treatments in rhesus monkeys[J]. Chin Infect Dis 2011, 29(1): 18-20.
(区德锦, 韦海艳, 邹春燕, 等. 间日型猴疟血小板动态变化及药物干预观察[J]. 中华传染病杂志 2011, 29(1): 18-20.)
- [2] OU DJ, ZOU CY, Hang YM. Malaria patients thrombocytopenia and explore mechanism[J]. Chin J Infect Dis 2012, 30(6): 63-66.
(区德锦, 邹春燕, 黄亚铭. 疟疾患者血小板减少及其机制探讨[J]. 中华传染病杂志 2012, 30(6): 63-66.)
- [3] Shaikh QH, Ahmad SM, Abbasi A et al. Thrombocytopenia in malaria[J]. Coll Physicians Surg Pak 2009, 19(11): 708-710.
- [4] Jadhav UM, Patkar VS, Kadam NN. Thrombocytopenia in malaria—correlation with type and severity of malaria[J]. Assoc Physicians India 2004, 52: 615-618.
- [5] Taylor WR, Widjaja H, Basri H et al. Changes in the total leukocyte and platelet counts in Papuan and non Papuan adults from northeast Papua infected with acute Plasmodium vivax or uncomplicated Plasmodium falciparum malaria. Malar J 2008, 18: 7: 259.
- [6] Lin KM, Mao W, Wei HY et al. Forward curative effect of artesunate combined azithromycin treatment two cases of falciparum malaria[J]. Chin Infect Dis 2009, 27(8): 499-500.
(林康明, 毛玮, 韦海艳, 等. 青蒿琥酯联合阿奇霉素治疗二例恶性疟的远期疗效[J]. 中华传染病杂志 2009, 27(8): 499-500.)
- [7] He Y, Huang YM. The application of azithromycin a macrolides antibiotics in prevention and treatment of malaria[J]. J Pathogen Biol 2008, 3(5): 394-399.
(贺颖, 黄亚铭. 大环内酯类抗生素—阿奇霉素在疟疾预防和治疗中的应用[J]. 中国病原生物学杂志 2008, 3(5): 394-399.)

收稿日期 2012-12-09 编辑 崔宜庆