

DOI:10.13350/j.cjpb.220326

• “一带一路”专题研究 •

# 泰国恶性疟原虫药物抗性基因研究进展\*

周友华<sup>1</sup>, 吴艳琴<sup>1</sup>, 周红宁<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 昆明医科大学公共卫生学院, 云南昆明 650500; 2. 云南省虫媒传染病防控重点实验室, 云南省虫媒传染病防控关键技术创新团队, 云南省寄生虫病防治所, 云南普洱 665000)

**【摘要】** 泰国属恶性疟流行高发地区, 随着抗疟药物长期使用, 恶性疟原虫对氯喹、奎宁、甲氟喹、青蒿素等常见抗疟药物产生耐药性。本文对泰国恶性疟原虫药物抗性基因研究进展进行综述, 为该国消除疟疾有效对策及措施的制定提供参考。

**【关键词】** 恶性疟原虫; 药物抗性基因; 泰国; 综述

**【中图分类号】** R382.31

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2022)03-0367-05

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Mar;17(3):367-371.]

## Research progress on drug resistance genes of *Plasmodium falciparum* in Thailand

ZHOU You-hua<sup>1</sup>, WU Yan-qin<sup>1</sup>, ZHOU Hong-ning<sup>1,2</sup> (1. College of Public Health, Kunming Medical University, Kunming 650000, China; 2. Yunnan Provincial Key Laboratory of Vector-borne Diseases Control and Research & Yunnan Innovative Team of Key Techniques for Vector Borne Disease Control and Prevention (Developing) of Yunnan Institute of Parasitic Diseases)

**【Abstract】** Thailand is an area with the high prevalence of *Plasmodium falciparum*, and as antimalarial drugs had been widely used for a long time, such as chloroquine, quinine, mefloquine, artemisinin, resulting in the resistance of *P. falciparum* to above common antimalarial drugs. This paper reviewed the research progress of drug resistance genes of *P. falciparum* in Thailand, providing the reference for the formulation of effective strategies and measures to eliminate malaria in the country.

**【Key words】** *Plasmodium falciparum*; drug resistance gene; thailand; review

\*\*\* 疟疾是经携带疟原虫孢子的按蚊叮咬人类引起的虫媒传染病, 广泛流行于热带和亚热带地区, 在澜沧江-湄公河流域国家是重要的公共卫生问题之一<sup>[1-2]</sup>。泰国历史上属恶性疟高度流行区, 曾采用多种抗恶性疟药物进行传染源防治, 长时间不规范使用抗疟药容易导致耐药性的产生<sup>[3]</sup>。自 1950s 泰国首次发现氯喹(chloroquine, CQ) 耐药性恶性疟原虫感染病例以来, 至 2021 年已相继发现磺胺多辛-乙胺嘧啶(sulfadoxine-pyrimethamine, SP)、奎宁(quinine, QN)、甲氟喹(mefloquine, MQ)和青蒿素(artemisinin, ART)类等耐药性虫株感染病例, 给泰国的疟疾控制与消除带来了巨大挑战<sup>[4-7]</sup>。研究显示, 在泰国的恶性疟原虫临床虫株中先后检出了恶性疟原虫氯喹耐药性分子标记氯喹转运蛋白基因(*pfcr*)、多药耐药性分子标记多药耐药基因 1(*pfmdr1*)、青蒿素类耐药性分子标记 Kelch 螺旋体蛋白基因(K13)、磺胺多辛与乙胺嘧啶耐药性分子标记二氢叶酸还原酶基因(*pfdhfr*)二氢叶酸合成酶基因(*pfdhps*)等突变类型, 而这些突变已证实分别与恶性疟原虫对 CQ、SP、MQ、ART 等的耐药性有关<sup>[8-12]</sup>。本文对近年来泰国恶性疟原虫耐药基因监测研究情况进行综述, 以便为各国疟疾监测措施的制定提供参考和思路借鉴。

### 1 恶性疟原虫氯喹抗药转运蛋白基因(*Plasmodium falciparum* chloroquine resistance transporter gene, *pfcr*)

*pfcr* 基因位于恶性疟原虫第 7 号染色体上, 基因全长约 3.1 kb, 含有 13 个外显子、且富含 polyA/polyT 序列, 转运蛋白

的个别氨基酸变异可促进消化液泡内的氯喹向外转移, 导致红细胞内氯喹含量降低, 红细胞内的 CQ 难以维持有效浓度杀灭恶性疟原虫<sup>[13-14]</sup>。研究显示, 常见的 *Pfcr* 基因突变主要发生在第 72、74、75、76、220、271、326、356、371 等氨基酸密码子上, 其中, 第 72、74、75、76 号氨基酸密码子突变引起的 C72S、M74I、N75E、K76T 氨基酸变异被证实与 CQ 耐药性密切相关, 尤其是 K76T 与 CQ 耐药性产生密切相关, 因此具有作为 CQ 抗性主要分子标记的作用<sup>[15-18]</sup>。此外, H97Y、F145I 和 G353V 氨基酸的变异可能与 ART、哌喹(PIP)耐药性产生有关<sup>[19]</sup>。

1990-1996 年, Labbé 等<sup>[20]</sup>对泰柬边境地区的 CQ 耐药性分子标记 *pfcr* 基因的调查中发现, K76T 变异的检出率达到 87.5%(25/25)。2002-2004 年, Rungsirunrat 等<sup>[21]</sup>在泰缅、泰柬、泰马和泰老等边境地区的病例虫株中检出 K76T 的变异率分别为 100%(66/66)、100%(26/26)、100%(10/10)和 87.5%(7/8)。2003-2005 年, Setthaudom 等<sup>[22]</sup>在泰柬和泰缅边境地区的病例虫株中再次检出了 97.8%(87/89)的 K76T 变异率。

\* **【基金项目】** 云南省重点研发计划项目(No. 202103AQ100001); 澜湄合作专项基金项目(No. 2020399)。

\*\* **【通讯作者】** 周红宁, E-mail: zhouhn66@163.com

**【作者简介】** 周友华(1996-), 男, 四川凉山人, 在读硕士研究生, 主要从事虫媒传染病防治研究。  
E-mail: zyh2550131716@163.com

在泰缅边境地区, Phompradit 等<sup>[23-24]</sup> 分别于 2006-2009 年及 2013 年进行了恶性疟原虫体外药物敏感试验, 发现 K76T 突变率分别为 99.2% (128/129) 和 100% (48/48)。1988-2016 年, Thita 等<sup>[25]</sup> 在泰国抵柬地区的尖竹汶府和达叻府的调查只检出 1.9% (2/104) 临床虫株为 *pfcr* 野生型, 但 K76T 的变异占比从 1988-2008 年的 96% (48/50) 上升到 2009-2016 年的 100% (54/54)。1989-2014 年, Mahotorn 等<sup>[26]</sup> 在泰柬和泰缅边境地区进行了 CQ 敏感性调查, 结果显示恶性疟原虫 K76T 基因突变率均为 100% (117/117)。2013-2015 年, Boonyalai 等<sup>[27]</sup> 检测泰柬边境地区 *pfcr* 基因 72-76 位点突变率为 100% (112/112), 同时首次发现了 *pfcr* F145I 氨基酸变异 (突变率为 16.9%, 19/112), 提示该地区不仅 CQ 耐药性较高, 而且对 PIP 也产生了耐药性。上述监测结果表明沿泰国周边国家的边境地区存在密集的恶性疟原虫 CQ 耐药性虫株。

不仅如此, 泰国境内的氯喹耐药性分子标记 (*pfcr* 基因) 监测结果也不容乐观。2009 年, Mungthin 等<sup>[28]</sup> 对泰国南部地区的恶性疟原虫种群调查发现, 100% (558/558) 的临床分离株呈 K76T 变异。值得注意的是, 2015-2018 年 Van 等<sup>[29]</sup> 在泰国东北部采用双氢青蒿素派喹 (DHA-PIP) (4mg/kg-18mg/kg) 治疗恶性疟患者, 发现含有 *pfcr* 基因 H97Y、F145I、G353V 氨基酸之一变异者, 至第 42d 的治疗失败率均超过 55%, 提示该地区恶性疟原虫种群 *pfcr* 基因突变可能不利于 DHA-PIP 复方敏感性的维持。

## 2 恶性疟原虫多药物耐药基因 1 (*P. falciparum* multidrug resistance transporter gene 1, *pfmdr1*)

*pfmdr1* 基因位于恶性疟原虫第 5 号染色体上, 全长约 4.3 kb, 编码恶性疟原虫消化泡膜上的 P-糖蛋白同系物 1 (P-glyco-protein homologue 1, Pgh-1)<sup>[30-31]</sup>。研究发现, *pfmdr1* 突变不仅可导致恶性疟原虫对 CQ 产生耐药性, 而且 *pfmdr1* 基因的突变拷贝数 (CNV) 差异还与是否表现为 MQ 和 ATS 耐药性密切相关<sup>[12]</sup>。*pfmdr1* 基因常见的氨基酸变异主要发生在 86、184、1034、1042、1246 等氨基酸密码子上, 其中已证实第 86 号氨基酸由天冬酰胺 N 变异为酪氨酸 Y (N86Y), 与恶性疟原虫产生对 MQ 和 QN 的耐药性相关<sup>[32]</sup>。此外, 以往研究还揭示 *pfmdr1* 基因的 Y184F、S1034C、N1042D、D1246Y 等氨基酸变异分别与恶性疟原虫对 CQ、QN、MQ 和 ART 产生耐药性有关<sup>[33]</sup>。

1995-1997 年, Price 等<sup>[34]</sup> 在泰国的泰缅边境地区监测发现, *pfmdr1* 基因呈 N86Y 氨基酸变异与 MQ 耐药性产生负相关, 与 CQ 耐药性产生正相关, 但 *pfmdr1* 基因 CNV 数量增加则呈现出与 MQ 和 ATS 耐药性产生的正相关关系。2002-2004 年, Rungsahirunrat 等<sup>[21]</sup> 在泰缅、泰柬、泰马和泰老等边境地区的恶性疟原虫种群观察发现, N86Y 的变异检出率占 20% (22/109), 且再次发现 N86Y 变异与 MQ 的耐药性产生呈负相关关系 ( $r = -0.58, P < 0.01$ ), 提示 *pfmdr1* 基因 86 号氨基酸呈 N/Y 变异对恶性疟原虫产生 MQ 耐药性具有保护作用。2003-2005 年, Setthadom 等<sup>[22]</sup> 在泰柬和泰缅边境地区的恶性疟原虫种群中检出了与 CQ 耐药性相关的 *pfmdr1* 基因 Y184F 变异, 且检出高达 40.4% (36/89), 提示该地区的恶性疟原虫种群受 CQ 筛选压力影响多重基因的突变已积重难返。2003-2008 年, 泰柬和泰缅边境地区的恶性疟原虫种群的 *pfmdr1* 基

因 N86Y、Y184F、N1042D 变异率分别为 17.6% (15/85)、61.4% (53/85)、20% (17/85)<sup>[35]</sup>, 且 Y184F 的变异检出率较 2004 年上升 21 个百分点<sup>[22]</sup>, 提示泰柬和泰缅边境地区的恶性疟原虫被抗疟药筛选的作用持续存在, 耐药性虫株的积累进一步加重。2006-2009 年, Phompradit 等<sup>[23]</sup> 在泰缅边境地区恶性疟原虫种群检测中亦发现, *pfmdr1* 基因 CNV 数 > 1 的恶性疟原虫占比 51.2% (63/123), S1034C 的变异率为 15.8% (14/57), 再次证实该地区的恶性疟原虫存在多重药物 (ATS、MQ 和 QN) 耐药性的可能。2009 年, Mungthin 等<sup>[28]</sup> 在泰国南部进行了 *pfmdr1* 基因多态性调查, 结果显示 N86Y 和 Y184F 突变率分别为 89.2% (498/558) 和 10.4% (58/558), 提示该地区恶性疟原虫可能对 QN 和 MQ 较敏感, 并发现 N86Y 突变主要发生在泰国南部海拔较低区域, Y184F 主要发生在泰国南部海拔较高区域。

近年来的研究结果显示, 泰国 *pfmdr1* CNV 仍处于较高水平。2009-2010 年和 2013 年, Muhamad 等<sup>[36]</sup> 和 Phompradit 等<sup>[24]</sup> 分别在泰缅边境地区进行了恶性疟原虫体外药物敏感试验, 结果显示 *pfmdr1* CNV > 1 的恶性疟原虫占比从 2009-2010 年的 38.1% (64/168) 上升到 2013 年的 91.7% (44/48), 提示该地区恶性疟原虫可能对 ATS 和 MQ 的耐药性进一步上升。2003-2013 年, Phyto 等<sup>[37]</sup> 在泰柬边境地区进行了 MQ-ATS 敏感性调查, *pfmdr1* CNV > 1 的恶性疟原虫比例从 2003 年的 32.4% 上升到 2013 年的 64.7%, 患者治愈率从 2003 年的 100% 下降到 2013 年 81.1%, 提示 *pfmdr1* CNV 增加可能会降低恶性疟原虫对 MQ-ATS 的敏感性。2013-2015 年, Boonyalai 等<sup>[27]</sup> 在泰柬边境地区进行了恶性疟原虫耐药基因监测, Y184F 突变率为 97.3% (109/112), 提示该地区恶性疟原虫可能对 CQ 敏感性较低。2012-2017 年, Khammanee 等<sup>[38]</sup> 在泰国南部开展了恶性疟原虫 *pfmdr1* 基因突变监测, 结果显示 N86Y 突变率为 29.7% (38/128), 较 Mungthin 等<sup>[28]</sup> 2009 年调查的泰国南部 N86Y 突变率低, 说明南部恶性疟原虫对 QN 和 MQ 敏感性可能降低。1998-2016 年, Thita 等<sup>[25]</sup> 对泰柬边境地区的尖竹汶府和达叻府抗疟药物敏感性调查显示, N86Y 突变率从 2009 年之前的 6.8% (7/103) 下降到 2009-2016 年的 0% (0/50), 而 Y184F 突变率从 2009 年之前的 84% (42/50) 上升到 2009-2016 年的 94.3% (50/53), 提示该地区恶性疟原虫对 CQ、MQ、QN 敏感性低。上述研究结果揭示, 泰国恶性疟原虫 N86Y 突变率不断下降, 而 Y184F 突变率和 CNV 不断升高, 恶性疟原虫对 CQ、QN、MQ、ART 等耐药性不断增强, 特别是在泰国边境地区尤为明显。

## 3 恶性疟原虫 Kelch 螺旋体蛋白基因 (K13)

K13 基因位于恶性疟原虫第 13 号染色体, 含有 1 个外显子, N-末端为恶性疟原虫特异且高度保守的区域, C-末端为 6 个典型的 Kelch 螺旋结构, 该基因编码 Kelch 螺旋体蛋白 (Kelch13-propeller, K13)<sup>[39]</sup>。目前已证实 K13 基因突变可能会降低恶性疟原虫对 ART 的敏感性, 可以作为 ART 耐药性的分子标记, 且发现 K13 基因编码蛋白至少有 14 个氨基酸变异 (C580Y、N458Y、M476I、Y493H、R561H、R539T、I543T、F446I、P547L、G436S、G538V、S621F、R575K、E556D), 其中 C580Y、R539T、Y493H、I543T 等 4 氨基酸变异与 ART 耐药性

相关<sup>[40-42]</sup>。

2007年, Talundzic等<sup>[43]</sup>在泰柬和泰缅边境地区开展了恶性疟原虫耐药性监测, K13基因突变率为12%(50/417), 其中以C580Y突变为主(52%, 26/50), 提示恶性疟原虫可能对ART敏感性降低。2011-2013年, Boullé等<sup>[44]</sup>对泰缅边境地区DHA敏感性调查结果显示, K13基因突变率为70%(23/33), 且K13基因野生型与突变型恶性疟原虫清除时间(PCHL)中位数分别为4.3和7.2 h( $P < 0.05$ , 提示K13基因突变可能会降低疟原虫对DHA敏感性。2012-2016年, Kobasa等对泰国K13基因突变地理分布调查发现, Y493H和R539T突变主要分布在泰国东部的泰柬边境, P574L突变分布在泰国西部, R561H突变分布在泰国西北部, 而C580Y突变较为常见, 呈全国性分布<sup>[45]</sup>。2014年, Imwong等<sup>[46]</sup>对泰国东北部乌汶府恶性疟暴发疫情的调查发现, K13基因突变率为93%(82/88), 其中以C580Y为主(79.2%, 65/82)。1988-2016年, Thita等<sup>[25]</sup>对泰柬边境地区尖竹汶府和达叻府抗疟药物敏感性监测发现, K13突变率从1988-2008年的18.4%(9/49)上升到2009-2016年的84.6%(44/52)( $P < 0.05$ , 提示2009年以来恶性疟原虫对ART抗性进一步增强。2012-2017年, Khammanee等<sup>[38]</sup>在泰国南部开展了恶性疟原虫K13监测, 结果显示K13突变率为14.1%(18/128), 其中以C580Y突变为主(83.3%, 15/18)。2015-2018年, Van等<sup>[29]</sup>在泰国东北部采用双氢青蒿素哌喹(DHA-PIP)(4mg/kg-18mg/kg)治疗恶性疟, 第42d的治愈率仅为10.5%(2/19), 且K13基因突变率为100%(18/18)。上述研究结果提示, 泰国恶性疟原虫K13基因突变率有增加趋势, 且以C580Y为主, 建议泰国相关部门进一步加强恶性疟原虫对ART耐药性监测。

#### 4 其他抗疟药的耐药性分子标记基因

恶性疟原虫二氢叶酸还原酶基因(*Plasmodium falciparum* dihydrofolate reductase, *pf dhfr*)位于恶性疟原虫第4号染色体, 主要编码二氢叶酸还原酶(Dihydrofolate reductase, *dhfr*); 恶性疟原虫二氢蝶酸合成酶基因(*Plasmodium falciparum* Dihydropteroate synthase, *pf dhps*)位于恶性疟原虫第8号染色体, 主要编码二氢蝶酸合成酶(Dihydropteroate synthase, *dhps*)<sup>[47]</sup>。研究发现, *pf dhfr*和*pf dhps*基因突变会降低恶性疟原虫对乙胺嘧啶和磺胺多辛的亲合力, 导致SP阻止恶性疟原虫合成叶酸的作用降低<sup>[48]</sup>。目前已证实恶性疟原虫*pf dhfr*基因的S108N、N51I、C59R、I164L等氨基酸变异和*pf dhps*基因的S436A、A437G、K540E、A581G和A613S等氨基酸变异与SP耐药性产生有关, 其中S108N和A437G变异已作为恶性疟原虫的乙胺嘧啶和磺胺多辛耐药性分子标记用于监测<sup>[49-50]</sup>。1995-1996年, Biswas等<sup>[51]</sup>对泰国SP耐药性严重的西北部达府、北碧府、东北部廊开府和中部北榄府SP分子标记的调查发现, *pf dhfr*基因的S108N、N51I、C59R、I164L变异率分别为94%(47/50)、36%(18/50)、46%(23/50)、24%(12/50), *pf dhps*基因的S436A、A437G、A581G、A613S变异率分别为26%(13/50)、30%(15/50)、38%(19/50)、50%(25/50), 提示SP耐药的分子标记在该地区均存在较广泛的突变类型。2008-2016年, Sugaram等<sup>[52]</sup>在泰缅、泰马、泰柬边境地区检出的*pf dhfr*基因S108N、N51I、C59R、I164L变异率分别为100%(233/233)、97.4%(227/233)、100%(233/233)、67.4%

(157/233), *pf dhps*基因的A/S436F、A437G、K540E/N、A581G、A613S/T变异率分别为4.3%(10/233)、100%(233/233)、77.3%(180/233)、58.8%(137/233)、1.7%(4/233), 提示泰国边境沿线地区的恶性疟原虫SP耐药性危害重于境内地区。

研究还发现, *pf mpr1*基因的H191Y、S437A、I876V和F1390I氨基酸变异均与恶性疟原虫产生CQ、MQ耐药性有关, H785N变异与PPQ耐药性产生有关, H191Y、S437A和F1390I变异与QN耐药性产生有关, I876V变异与DHA-PPQ耐药性产生有关, F1390I变异与ATS和苯苄醇耐药性产生有关<sup>[53-56]</sup>。Phompradit等<sup>[23-24]</sup>对泰缅边境地区恶性疟原虫体外敏感试验发现, 2006-2009年检出的*pf mpr1*基因H191Y、S437A、I876V、F1390I变异占比分别为86.9%(113/130)、89.1%(115/129)、74.6%(97/130)、26.2%(34/130), 2013年检出的占比分别为87.5%(42/48)、93.8%(45/48)、81.3%(39/48)、39.6%(19/48), 提示该地区的恶性疟原虫种群对CQ、MQ、QN、ATS等多种抗疟药存在耐药性的危害未予缓解。

#### 5 展望

泰国采用分子标记监测方法基本做到了对该国分布的恶性疟原虫临床虫株耐药性现状的掌握; 当地虫株对氯喹等常见疟疾药物的耐药性严重, 而且对青蒿素及其衍生物也逐渐产生耐药性。为该国及时调整国家药物政策提供了实践依据。

致谢: 本综述得到云南省寄生虫病防治所董莹教授的悉心指导和修改, 特予感谢。

#### 【参考文献】

- [1] Garcia LS. Malaria[J]. Clin Lab Med, 2010, 30(1): 93-129.
- [2] Chhim S, Piola P, Housen T, et al. Malaria in Cambodia: A retrospective analysis of a changing epidemiology 2006-2019[J]. nt J Environ Res Public Health, 2021, 18(4): 1960.
- [3] Sudathip P, Kitchakarn S, Shah JA, et al. A foci cohort analysis to monitor successful and persistent foci under Thailand's Malaria Elimination Strategy[J]. Malar J, 2021, 20(1): 118.
- [4] Fairhurst RM, Dondorp AM. Artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria[J]. Microbiol Spectr, 2016, 4(3): 10.
- [5] Harinasuta T, Suntharasamai P, Viravan C. Chloroquine-resistant falciparum malaria in Thailand[J]. Lancet, 1965, 2(7414): 657-660.
- [6] Phyto AP, Nkhoma S, Stepniewska K, et al. Emergence of artemisinin-resistant malaria on the western border of Thailand: a longitudinal study[J]. Lancet, 2012, 379(9830): 1960-1966.
- [7] Noedl H, Se Y, Schaefer K, et al. Evidence of artemisinin-resistant malaria in western Cambodia[J]. N Engl J Med, 2008, 359(24): 2619-2620.
- [8] Iwagami M, Tangpukdee N, Wilairatana P, et al. Pfcrt genotypes and related microsatellite DNA polymorphisms on *Plasmodium falciparum* differed among populations in the Greater Mekong Subregion[J]. Parasitol Int, 2018, 67(6): 816-823.
- [9] Chaisatit C, Sai-Ngam P, Thaloengsok S, et al. Molecular detection of mutations in the propeller domain of Kelch 13 and pfmdr1 copy number variation in *Plasmodium falciparum* isolates from Thailand Collected from 2002 to 2007 [J]. Am J Trop Med Hyg, 2021, 105(4): 1093-1096.

- [10] Phompradit P, Chaijaroenkul W, Muhamad P, et al. K13 propeller domain mutations and pfmdr1 amplification in isolates of *Plasmodium falciparum* collected from Thai-Myanmar border area in 2006-2010[J]. Folia Parasitol(Praha), 2019, 66: 2019.
- [11] Kulatee S, Toochinda P, Suksangpanomrung A, et al. Theoretical investigation of the enantioselective complexations between pfDHFR and cycloguanil derivatives[J]. Sci Pharm, 2017, 85(4): 37.
- [12] 张咏梅. 恶性疟原虫抗药性基因研究现状[J]. 职业与健康, 2020, 36(14): 2001-2003, 2007.
- [13] Fidock DA, Nomura T, Talley AK, et al. Mutations in the *P. falciparum* digestive vacuole transmembrane protein PfCRT and evidence for their role in chloroquine resistance[J]. Mol Cell, 2000, 6(4): 861-871.
- [14] Fidock DA, Eastman RT, Ward SA, et al. Recent highlights in antimalarial drug resistance and chemotherapy research[J]. Trends Parasitol, 2008, 24(12): 537-544.
- [15] Ecker A, Lehane AM, Clain J, et al. PfCRT and its role in antimalarial drug resistance[J]. Trends Parasitol, 2012, 28(11): 504-514.
- [16] Lakshmanan V, Bray PG, Verdier-Pinard D, et al. A critical role for PfCRT K76T in *Plasmodium falciparum* verapamil-reversible chloroquine resistance[J]. EMBO J, 2005, 24(13): 2294-2305.
- [17] Awasthi G, Satya G, Das A. Pfert haplotypes and the evolutionary history of chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* [J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2012, 107(1): 129.
- [18] Gresty KJ, Gray KA, Bobogare A, et al. Genetic mutations in pf-crt and pfmdr1 at the time of artemisinin combination therapy introduction in South Pacific islands of Vanuatu and Solomon Islands[J]. Malar J, 2014, 13: 406.
- [19] Ross LS, Dhingra SK, Mok S, et al. Emerging Southeast Asian PfCRT mutations confer *Plasmodium falciparum* resistance to the first-line antimalarial piperazine[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 3314.
- [20] Labb AC, Bualombai P, Pillai DR, et al. Molecular markers for chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Thailand and Laos[J]. Ann Trop Med Parasitol, 2001, 95(8): 781-788.
- [21] Rungsahirunrat K, Chaijaroenkul W, Seugorn A, et al. Association between chloroquine resistance phenotypes and point mutations in pfcr1 and pfmdr1 in *Plasmodium falciparum* isolates from Thailand[J]. Acta Trop, 2009, 109(1): 37-40.
- [22] Setthadom C, Tan-ariya P, Sitthichot N, et al. Role of *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance transporter and multidrug resistance 1 genes on in vitro chloroquine resistance in isolates of *Plasmodium falciparum* from Thailand[J]. Am J Trop Med Hyg, 2011, 85(4): 606-611.
- [23] Phompradit P, Muhamad P, Wisedpanichkij R, et al. Four years' monitoring of in vitro sensitivity and candidate molecular markers of resistance of *Plasmodium falciparum* to artesunate-mefloquine combination in the Thai-Myanmar border [J]. Malar J, 2014, 13: 23.
- [24] Phompradit P, Muhamad P, Chaijaroenkul W, et al. Genetic polymorphisms of candidate markers and in vitro susceptibility of *Plasmodium falciparum* isolates from Thai-Myanmar border in relation to clinical response to artesunate-mefloquine combination [J]. Acta Trop, 2014, 139: 77-83.
- [25] Thita T, Jadsri P, Thamkhantho J, et al. Phenotypic and genotypic characterization of Thai isolates of *Plasmodium falciparum* after an artemisinin resistance containment project [J]. Malar J, 2018, 17(1): 197.
- [26] Mahotorn K, Tan-Ariya P, Thita T, et al. In vitro sensitivity of pyronaridine in Thai Isolates of *Plasmodium falciparum* [J]. Am J Trop Med Hyg, 2018, 98(1): 51-56.
- [27] Boonyalai N, Thamnurak C, Sai-Ngam P, et al. *Plasmodium falciparum* phenotypic and genotypic resistance profile during the emergence of Piperazine resistance in Northeastern Thailand [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 13419.
- [28] Mungthin M, Intanakom S, Suwandittakul N, et al. Distribution of pfmdr1 polymorphisms in *Plasmodium falciparum* isolated from Southern Thailand [J]. Malar J, 2014, 13: 117.
- [29] Van der Pluijm RW, Imwong M, Chau NH, et al. Determinants of dihydroartemisinin-piperazine treatment failure in *Plasmodium falciparum* malaria in Cambodia, Thailand, and Vietnam: a prospective clinical, pharmacological, and genetic study [J]. Lancet Infect Dis, 2019, 19(9): 952-961.
- [30] Sanchez CP, Dave A, Stein WD, et al. Transporters as mediators of drug resistance in *Plasmodium falciparum* [J]. Int J Parasitol, 2010, 40(10): 1109-1118.
- [31] Reed MB, Saliba KJ, Caruana SR, et al. Pgh1 modulates sensitivity and resistance to multiple antimalarials in *Plasmodium falciparum* [J]. Nature, 2000, 403(6772): 906-909.
- [32] Ibraheem ZO, AbdMajid R, Noor SM, et al. Role of Different Pf-crt and Pfmdr-1 mutations in conferring resistance to antimalaria drugs in *Plasmodium falciparum* [J]. Malar Res Treat, 2014, 2014: 950424.
- [33] Picot S, Olliaro P, de Monbrison F, et al. A systematic review and meta-analysis of evidence for correlation between molecular markers of parasite resistance and treatment outcome in falciparum malaria [J]. Malar J, 2009, 8: 89.
- [34] Price RN, Cassar C, Brockman A, et al. The pfmdr1 gene is associated with a multidrug-resistant phenotype in *Plasmodium falciparum* from the western border of Thailand [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1999, 43(12): 2943-2949.
- [35] Poyontip T, Suwandittakul N, Sitthichot N, et al. Polymorphisms of the pfmdr1 but not the pfnhe-1 gene is associated with in vitro quinine sensitivity in Thai isolates of *Plasmodium falciparum* [J]. Malar J. 2012, 11: 7.
- [36] Muhamad P, Chaijaroenkul W, Phompradit P, et al. Polymorphic patterns of pfcr1 and pfmdr1 in *Plasmodium falciparum* isolates along the Thai-Myanmar border [J]. Asian Pac J Trop Biomed, 2013, 3(12): 931-935.
- [37] Phyto AP, Ashley EA, Anderson TJC, et al. Declining efficacy of artemisinin combination therapy against *P. falciparum* malaria on the Thai-Myanmar Border (2003-2013): The role of parasite genetic factors [J]. Clin Infect Dis, 2016, 63(6): 784-791.
- [38] Khammanee T, Sawangjaroen N, Buncherd H, et al. Molecular surveillance of Pfkelch13 and Pfmdr1 mutations in *Plasmodium falciparum* isolates from Southern Thailand [J]. Korean J Parasitol

- tol, 2019, 57(4):69-377.
- [39] Arley F, Witkowski B, Amaratunga C, et al. A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria[J]. Nature, 2014, 505(7481):50-55.
- [40] Arley F, Mard D. An Update on artemisinin Resistance[J]. Methods Mol Biol, 2019, 2013:141-149.
- [41] World Health Organization. WHO updates on artemisinin resistance. World Health Organization[R]. Geneva, Switzerland, 2017.
- [42] Wang Z, Shrestha S, Li X, et al. Prevalence of K13-propeller polymorphisms in *Plasmodium falciparum* from China-Myanmar border in 2007-2012[J]. Malar J, 2015, 14:168.
- [43] Talundzic E, Okoth SA, Congpuong K, et al. Selection and spread of artemisinin-resistant alleles in Thailand prior to the global artemisinin resistance containment campaign [J]. PLoS Pathog, 2015, 11(4):e1004789.
- [44] Boull M, Witkowski B, Duru V, et al. Artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* K13 mutant alleles, Thailand-Myanmar Border[J]. Emerg Infect Dis, 2016, 22(8):1503-1505.
- [45] Kobasa T, Talundzic E, Sug-Aram R, et al. Emergence and Spread of kelch13 mutations associated with artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* parasites in 12 Thai Provinces from 2007 to 2016[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2018, 62(4):e02141-17.
- [46] Imwong M, Jindakhad T, Kunasol C, et al. An outbreak of artemisinin resistant falciparum malaria in Eastern Thailand[J]. Sci Rep, 2015(5):17412.
- [47] 徐超, 黄炳成, 闫歌, 等. 恶性疟原虫与耐药性相关分子遗传标记的研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2016, 11(12):1149-1153.
- [48] Jiang T, Cheng W, Yao Y, et al. Molecular surveillance of anti-malarial resistance Pfdhfr and Pfdhps polymorphisms in African and Southeast Asia *Plasmodium falciparum* imported parasites to Wuhan, China[J]. Malar J, 2020, 19(1):434.
- [49] Lozovsky ER, Chookajorn T, Brown KM, et al. Stepwise acquisition of pyrimethamine resistance in the malaria parasite[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(29):12025-12030.
- [50] Wang P, Read M, Sims PF, et al. Sulfadoxine resistance in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* is determined by mutations in dihydropteroatesynthetase and an additional factor associated with folate utilization[J]. Mol Microbiol, 1997, 23(5):979-986.
- [51] Biswas S, Escalante A, Chaiyaroj S, et al. Prevalence of point mutations in the dihydrofolate reductase and dihydropteroate synthetase genes of *Plasmodium falciparum* isolates from India and Thailand: a molecular epidemiologic study [J]. Trop Med Int Health, 2000, 5(10):737-743.
- [52] Sugaram R, Suwannasin K, Kunasol C, et al. Molecular characterization of *Plasmodium falciparum* antifolate resistance markers in Thailand between 2008 and 2016[J]. Malar J, 2020, 19(1):107.
- [53] Phompradit P, Chaijaroenkul W, Na-Bangchang K. Cellular mechanisms of action and resistance of *Plasmodium falciparum* to artemisinin[J]. Parasitol Res, 2017, 116(12):3331-3339.
- [54] Hao M, Jia D, Li Q, et al. *In vitro* sensitivities of *Plasmodium falciparum* isolates from the China-Myanmar border to piperazine and association with polymorphisms in candidate genes[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57(4):1723-1729.
- [55] Gil JP, Fan ony C. *Plasmodium falciparum* multidrug resistance proteins (pfMRPs)[J]. Front Pharmacol, 2021(12):759422.
- [56] Gupta B, Xu S, Wang Z, et al. *Plasmodium falciparum* multidrug resistance protein 1 (pfmrp1) gene and its association with *in vitro* drug susceptibility of parasite isolates from north-east Myanmar[J]. J Antimicrob Chemother, 2014, 69(8):2110-2117.

【收稿日期】 2022-01-11 【修回日期】 2022-03-12

(上接 366 页)

- [39] Rattananarithkul R, Harrison BA, Panthusiri P, et al. Illustrated keys to the mosquitoes of Thailand I. Background; geographic distribution; lists of genera, subgenera, and species; and a key to the genera[J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2005, 36 Suppl 1:28-43.
- [40] Lee N, 王剑, 徐艳春, 等. 老挝波乔会晒县和敦蓬县居民区蚊虫种类调查[J]. 中国病原生物学杂志, 2020, 15(5):560-562.
- [41] Vilayvone M, 王剑, 邓艳, 等. 老挝南部沙湾拿吉省农县居民区成蚊种类构成调查[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2019, 30(6):672-674.
- [42] Sorchampa S, 郭晓芳, 王剑, 等. 老挝南塔省芒新县蚊虫种类调查[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2017, 28(1):66-68.
- [43] 吴林波, 董学书, 杨锐. 老挝岳乌和邦耐县蚊虫种类及栖息习性调查研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2021, 32(2):213-216.
- [44] Chen-Hussey V. A cluster-randomised trial to assess whether the insect repellent N, N-diethyl-m-toluamide (DEET) can provide additional protection against clinical malaria over current best practice in Lao PDR. [D]. London : London School of Hygiene & Tropical Medicine, 2012.
- [45] Vythilingam I, Sidavong B, Chan ST, et al. Epidemiology of malaria in Attapeu Province, Lao PDR in relation to entomological parameters[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2005, 99(11):833-839.
- [46] Pothikasikorn J, Bangs MJ, Boonplueang R, et al. Susceptibility of various mosquitoes of Thailand to nocturnal subperiodic *Wuchereria bancrofti* [J]. J Vector Ecol, 2008, 33(2):313-320.
- [47] Alam MS, Chakma S, Khan WA, et al. Diversity of anopheline species and their *Plasmodium* infection status in rural Bandarban, Bangladesh[J]. Parasit Vectors, 2012(5):150.

【收稿日期】 2022-01-11 【修回日期】 2022-03-15