

巴贝虫病诊断

Diagnosis of Babesiosis

2017 - 08 - 01 发布

2018 - 02 - 01 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准按照GB/T1.1—2009给出的规则起草。

本标准起草单位：上海市寄生虫学会、复旦大学、中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所、中国医学科学院医学实验动物研究所、复旦大学附属华山医院、浙江省疾病预防控制中心、中国农业科学院上海兽医研究所。

本标准主要起草人：陈家旭、程训佳、许学年、秦川、张文宏、姚立农、周金林、魏强、陈韶红、郑彬、陈木新。

巴贝虫病诊断

1 范围

本标准规定了巴贝虫病的诊断依据、诊断原则、诊断和鉴别诊断。
本标准适用于各级医疗机构和疾病预防控制机构对巴贝虫病的诊断。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

巴贝虫 *Babesia*. spp

寄生在人和脊椎动物红细胞内的原虫，感染人的主要有田鼠巴贝虫（*Babesia microti*）、分歧巴贝虫（*B. divergens*）、邓肯巴贝虫（*B. duncani*）、猎户巴贝虫（*B. venatorum*）等（参见附录A）。

2.2

巴贝虫病 babesiosis/babesiasis

由巴贝虫感染引起的一类人兽共患寄生虫病，主要经蜱传播。

2.3

无症状感染者 asymptomatic case

无临床症状的巴贝虫感染者。

2.4

重症巴贝虫病 severe babesiosis

巴贝虫病确诊病例，出现高热、重度贫血、黄疸、血红蛋白尿、呼吸窘迫、肾功能衰竭、昏迷等一项或多项临床表现。

3 诊断依据

3.1 流行病学史

有野外活动、蜱叮咬、输血或器官移植史（参见附录B）。

3.2 临床表现

3.2.1 常见临床表现：寒战、发热、出汗、乏力、恶心、食欲减退、肌肉疼痛、关节疼痛、头痛、腹痛、贫血等（参见附录C的C.1）。

3.2.2 重症临床表现：高热、重度贫血、血红蛋白尿、黄疸、呼吸窘迫、肾功能衰竭、昏迷等（参见附录C的C.2）。

3.3 实验室检查

3.3.1 血涂片镜检查见巴贝虫（见附录D的D.1）。

3.3.2 巴贝虫核酸检测阳性（见附录D的D.2）。

3.3.3 巴贝虫抗体检测阳性（见附录D的D.3）。

3.3.4 动物接种巴贝虫阳性（见附录D的D.4）。

4 诊断原则

根据流行病学史、临床表现以及实验室检查结果予以诊断。

5 诊断

5.1 无症状感染者

无明显临床症状和体征，并同时符合3.3.1、3.3.2和3.3.4中任一条。

5.2 疑似病例

符合3.1，并同时符合3.2中任一条。

5.3 临床诊断病例

疑似病例并同时符合3.3.3。

5.4 确诊病例

临床诊断病例或疑似病例，并同时符合3.3.1、3.3.2和3.3.4中任一条。

5.5 重症病例

确诊病例，同时符合3.2.2。

6 鉴别诊断

临床诊断病例应与以发热为主要症状的其他疾病，如疟疾、莱姆病、恙虫病、黑热病、登革热、败血症等相鉴别（参见附录E）。

附录 A

(资料性附录)

病原学

A.1 分类

巴贝虫属于顶复门 (Apicomplexa)、孢子虫纲 (Sporozoa)、梨形虫亚纲 (Prioplasmasina)、梨形虫目 (Piroplasmida)、巴贝虫科 (Babesiidae)、巴贝虫属 (*Babesia*)。目前已鉴定的有100多种巴贝虫,可以感染牛、马、羊、犬等多种哺乳动物和鸟类。能感染人体的巴贝虫主要有田鼠巴贝虫(*Babesia microti*)、分歧巴贝虫(*B. divergens*)、邓肯巴贝虫 (*B. duncani*)、猎户巴贝虫 (*B. venatorum*) 等。

A.2 形态

巴贝虫在红细胞内形态多样。常见虫体形态有环形、圆形、杆形、点状、梨形、阿米巴形等。典型形态为梨形,常在一个红细胞内有多个虫体寄生,以1~4个虫体居多,可形成三联体,或四联体型,即马耳他十字形;且可为不同发育时期的虫体。经瑞氏或吉氏染色后,胞浆呈蓝色,核呈红色。根据虫体大小分为:大型巴贝虫,体长2.5 μm~5 μm,如分歧巴贝虫;小型巴贝虫,体长1.0 μm~2.5 μm,如田鼠巴贝虫。

A.3 生活史

巴贝虫的生活史主要包括在人或脊椎动物红细胞内的发育阶段和媒介蜱体内发育阶段。巴贝虫的子孢子通过蜱叮咬随唾液进入人或脊椎动物体内,侵入红细胞后,通过出芽生殖方式或二分裂增殖发育成裂殖子。随着红细胞破裂,裂殖子释放后,再侵入新的红细胞,重复分裂增殖。部分虫体不再进行裂体增殖,而发育成雌雄配子体。配子体通过蜱吸食宿主血液进入蜱体内,在肠道中发育为配子,进而结合成合子,然后进行增殖,再通过血淋巴移行至蜱体内各个组织。移行到蜱唾液腺的合子,进一步发育为子孢子,完成一个生活周期。巴贝虫在蜱间传播方式有:①经卵传递:雌蜱吸血后,巴贝虫在蜱体内繁殖发育后,进入蜱卵巢,经卵传递给下一代蜱。②期间传播:幼蜱(或若蜱)吸食含有巴贝虫的血液后发育,将虫体传给下一个发育阶段。

附录 B

(资料性附录)

流行病学

B.1 传染源

感染巴贝虫的人和社鼠、褐家鼠、黄胸鼠、黑线姬鼠等啮齿类，及牛、鹿、犬、浣熊、鸟类等动物。

B.2 传播途径

经蜱叮咬、输血或器官移植等途径传播。

B.3 易感人群

人对巴贝虫普遍易感。

B.4 地区分布

B.4.1 国外分布

巴贝虫呈世界性分布，自1888年罗马尼亚科学家Babes首次从病牛红细胞中发现双芽巴贝虫 (*Babesia bigemina*) 以来，已鉴定报道100余种，但感染人体的主要有田鼠巴贝虫、分歧巴贝虫、邓肯巴贝虫和猎户巴贝虫等数种。1957年南斯拉夫学者报道了首例人体巴贝虫感染病例之后，美洲、欧洲、亚洲、非洲和大洋洲等均有巴贝虫感染病例报道，以美洲、欧洲地区为多。美国自2011年将巴贝虫病作为法定传染病报告以来，每年报告约1000例感染者，主要流行虫种为田鼠巴贝虫。而欧洲地区报道病例略少，主要流行虫种为分歧巴贝虫、猎户巴贝虫和田鼠巴贝虫。近年来，埃及、墨西哥、南非、莫桑比克、澳大利亚、巴西、日本、韩国等相继报道了人感染巴贝虫的病例。

B.4.2 我国分布

我国首次人体巴贝虫感染病例报告可追溯到1944年，洪式间对重庆地区一例疑似疟原虫感染者的血涂片检查时，根据原虫形态特征分析判定，该患者为巴贝虫感染。至今，我国已报告病例约100例，病例报告地区包括黑龙江、云南、重庆、广西、上海、新疆、浙江、内蒙古、山东及台湾等，报道病例较多的地区为黑龙江和云南。我国分布虫种主要是田鼠巴贝虫、猎户巴贝虫和分歧巴贝虫，南方以田鼠巴贝虫为主，北方则以猎户巴贝虫为主。多数病例发病集中在夏季，可能由于该季节是蜱虫活动的高峰期，易引起人的感染。在我国文献报道病例中少数患者有明确的蜱虫叮咬史、手术输血史，有些患者无明确的感染方式。

附录 C

(资料性附录)

临床表现

C.1 常见临床表现

巴贝虫病的临床表现与无性繁殖期巴贝虫破坏红细胞程度及宿主免疫状态有关，其潜伏期1周~4周。免疫功能正常者多呈自限性，症状可持续2周~4周。症状包括寒战、发热、出汗、乏力、恶心、食欲减退、肌肉疼痛、关节疼痛、头痛、腹痛、贫血或血红蛋白尿等。

C.2 重症临床表现

重症患者起病急，多发生于脾切除、老年体弱及免疫功能低下患者。病人可出现高热（体温可达40℃）、重度贫血、血红蛋白尿、呈酱油色尿、黄疸、呼吸窘迫、肾功能衰竭或昏迷，甚至死亡。病人肝功能异常。

附 录 D
(规范性附录)
实验室检查

D.1 血涂片镜检

D.1.1 血涂片的制作

用一次性采血针在耳垂或指端采血，婴儿可从拇趾或足跟采血。取血在表面洁净、无刮痕的载玻片上涂制薄血膜。用推片中部刮取血液 1.0 μL ~1.5 μL ，将推片下缘平抵载玻片的中线，当血液在载玻片与推片之间向两侧扩展至约2 cm宽时，使两张玻片保持25°~35°角，迅速推成舌状薄血膜。

D.1.2 染色

D.1.2.1 吉氏染色

染色前先用甲醇固定血膜。成批染色时，将血膜朝一个方向插入染色缸中，或每对载玻片血膜朝外插入染色缸中，倒入新配制的2%吉氏染液（2 mL吉氏原液与98 mL蒸馏水或PBS缓冲液混匀）浸没薄血膜，30 min后，向染色缸中注入自来水或PBS缓冲液至溢出，除掉染液表面浮渣，将染色缸中残余的染液倾出，加入新水，反复冲洗2~3次，然后取出玻片，将血膜朝下插在晾片板上晾干。单张血膜染色可取PBS缓冲液2 mL加入吉氏染液1~2滴，混匀后滴在薄血膜上，20 min~30 min后，水洗、晾干。

D.1.2.2 瑞氏染色

在薄血膜上加瑞氏染液5~8滴，固定染色1 min~2 min。然后再加5~8滴蒸馏水于血膜上，用吸管将染液与蒸馏水混合均匀，染色3 min~5 min后，用清水轻轻冲去染液，晾干。

D.1.3 血涂片检查

染色后的血膜用光学显微镜检查。经瑞氏或吉氏染色后，巴贝虫胞浆呈蓝色，核呈红色。常见虫体形态有环形、圆形、杆形、点状、梨形、阿米巴形、马耳他十字等。检查到上述形态的巴贝虫为阳性。

D.2 巴贝虫核酸检测

D.2.1 样本处理

采取核酸提取试剂盒或其他基因组DNA提取方法提取巴贝虫DNA。

D.2.2 试剂组成

血液基因组DNA提取试剂盒和PCR扩增试剂盒。

D.2.3 操作步骤和结果判读

D.2.3.1 引物序列

采用巢氏PCR方法从患者红细胞中检测巴贝虫18S rRNA特异性基因。引物序列如下：

引物名称	引物序列
Bab 5 (第一轮上游引物)	5'-AATTACCCAATCCTGACACAGG-3'
Bab 8 (第一轮下游引物)	5'-TTTCGCAGTAGTTCGTCTTTAACA-3'
Bab 6 (第二轮上游引物)	5'-GACACAGGGAGGTAGTGACAAGA-3'
Bab 7 (第二轮下游引物)	5'-CCCAACTGCTCCTATTAACCATTAC-3'

D. 2. 3. 2 第一轮扩增

以引物Bab5和Bab8进行第一轮扩增，反应体系为50 μL ：

Taq酶 5 U/ μL	0.25 μL
10 \times buffer	5 μL
dNTP	4 μL
Bab5 20 $\mu\text{mol/L}$	1.5 μL
Bab8 20 $\mu\text{mol/L}$	1.5 μL
DNA模板	2 μL
ddH ₂ O	35.75 μL

PCR过程为：

95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min 共35个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min。

D. 2. 3. 3 第二轮扩增

取PCR产物2 μL ，以Bab6和Bab7进行第二轮扩增，反应体系为50 μL ：

Taq酶 5 U/ μL	0.25 μL
10 \times buffer	5 μL
dNTP	4 μL
Bab6 20 $\mu\text{mol/L}$	1.5 μL
Bab7 20 $\mu\text{mol/L}$	1.5 μL
PCR产物	2 μL
ddH ₂ O	35.75 μL

PCR过程为：

95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 45s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min 共35个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min。

将第二轮的PCR产物进行电泳，确认片段大小约为400 bp的特异片段。PCR产物经割胶回收后，连入载体，进行克隆并测序分析，确定巴贝虫感染。

D. 3 巴贝虫抗体检测

D. 3. 1 方法

采用间接酶联免疫吸附试验 (ELISA) 法，检测人血清、血浆或其他体液样品中的巴贝虫IgG (或IgM) 抗体。

D.3.2 试剂组成

巴贝虫诊断抗原(5 μg/mL~10 μg/mL)包被的96微孔板、葡萄球菌蛋白A(SPA)或抗人IgG(或IgM)酶标结合物、洗涤液(含有0.05% Tween-20的PBS缓冲液)、稀释液(含有1%牛血清白蛋白的洗涤液)、终止液(主要成分为2 mol/L硫酸溶液)、底物A液(主要成分为过氧化氢)、底物B液(主要成分为四甲基联苯胺)、阳性对照和阴性对照。

D.3.3 操作步骤

在盛有0.5 mL稀释液的1.5 mL塑料离心管或稀释板孔中,加入5 μL待检测样混匀。在包被巴贝虫抗原的96微孔板中加入稀释的待检样品100 μL(复孔检测),设阳性对照2孔,阴性对照2孔,并设空白对照2孔,置37 °C 孵育30 min。随后弃去孔内液体,用洗涤液洗涤3次,每次间隔1 min,甩干。除空白对照孔外,每孔加入酶标结合物50 μL,37 °C 孵育30 min。弃去孔内液体,用洗涤液洗涤3次,每次间隔1 min,甩干。每孔依次加入底物A液、底物B液各50 μL,轻叩微孔板混匀,37 °C 避光放置5 min~10 min。每孔加入终止液50 μL。

D.3.4 结果判读

用酶标检测仪在450 nm波长下,空白孔调零,测定各试验孔 OD 值。如S/N(样品孔 OD 值/阴性对照孔 OD 均值)≥2.1,结果判为阳性。

D.4 动物接种

取患者外周抗凝血,无菌接种于BALB/c小鼠、SCID小鼠、NOD-SCID小鼠或地鼠,每只腹腔接种0.5 mL。自接种一周后开始尾部采血,制备血涂片并染色,镜检观察红细胞染虫状况(参见D.1)。查见巴贝虫则判为病原学阳性。

附录 E

(资料性附录)

鉴别诊断

E.1 疟疾

到过疟疾流行区旅游或工作，有蚊虫叮咬史。典型的疟疾发作先后出现寒战、发热、出汗、退热的周期性症状，疟原虫镜检阳性或疟疾快速诊断试剂检测阳性。血片染色后镜检巴贝虫与疟原虫的区别：间日疟原虫感染红细胞明显大于正常红细胞，巴贝虫感染红细胞大小无明显改变；恶性疟原虫感染红细胞大小无改变，常见环状体，而巴贝虫形态多样；同时注意与三日疟和卵形疟原虫的鉴别诊断。

E.2 莱姆病

莱姆病也是一种以蜱为媒介传播的感染性疾病，是由伯氏疏螺旋体所致的自然疫源性疾病。患者常出现游走性红斑、乏力、畏寒发热、头痛、恶心、呕吐、关节疼痛或肌肉疼痛等症状。

E.3 恙虫病

有恙螨叮咬史。患者在阴部或细嫩的皮肤上有焦痂或黄豆大的溃疡，全身浅表淋巴结肿大，数月消失，病后4 d~6 d 胸腹部有红色斑丘疹。其热型为稽留或弛张型。外斐试验阳性。

E.4 黑热病

有到过黑热病流行区，有白蛉叮咬史。一般有不规则发热、肝脾肿大、淋巴结肿大、贫血等症状。骨髓涂片可查见利什曼原虫。

E.5 登革热

有到过登革热流行区，有蚊虫叮咬史。起病急骤，临床表现复杂多样，有高热、头痛、眼球痛、肌肉与关节疼痛、鼻衄、淋巴结肿大、出疹等症状，一般在发热4 d~5 d时出现斑疹，分布于躯干、面部和四肢，随体温下降皮疹消失。血清登革热病毒特异性IgM抗体阳性。恢复期血清IgG抗体比急性期高4倍以上。

E.6 败血症

有寒战、高热、出汗等症状，热型多为弛张热，无周期性，白细胞总数升高伴中性粒细胞增多，血培养可见致病菌，有原发病灶和皮肤脓肿以及挤压疔疮等病史。

参 考 文 献

- [1] 吴观陵. 人体寄生虫学. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [2] 诸欣平, 苏川. 人体寄生虫学. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [3] 马永红. 巴贝斯虫与巴贝斯虫病的免疫预防. 畜禽业, 1999, 11:12-13.
- [4] 陈小光, 李学荣, 吴忠道. 巴贝虫和巴贝虫病的研究进展. 国际医学寄生虫病杂志, 2012, 39(1):45-49.
- [5] 《中国疟疾的防治与研究》编委会. 中国疟疾的防治与研究. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
- [6] WS 259—2015 疟疾的诊断.
- [7] 瞿逢伊. 我国医学寄生虫学发展百年历史回顾与评述. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007, 25(4):259-273.
- [8] Homer MJ, Aguilar-Delfin I, Telford SR 3rd, Krause PJ, Persing DH. Babesiosis. Clin Microbiol Rev. 2000, 13(3):451-469.
- [9] Hunfeld KP, Hildebrandt A, Gray JS. Babesiosis: Recent insights into an ancient disease. Int J Parasitol. 2008,38(11):1219-1237.
- [10] Kjemtrup AM, Conrad PA. Human babesiosis: an emerging tick-borne disease. Int J Parasitol. 2000,30:1323-1337.
- [11] Vannier E, Krause PJ. Human babesiosis. N Engl J med. 2012,366(25):2397-2407.
- [12] Wei Q, Tsuji M, Zamoto A, Kohsaki M, Matsui T, Shiota T, Telford SR 3rd, Ishihara C. Human babesiosis in Japan: isolation of *Babesia microti*-like parasites from an asymptomatic transfusion donor and from a rodent from an area where babesiosis is endemic. J Clin Microbiol. 2001,39(6):2178-2183.
-