

· 临床论著 ·

田鼠巴贝虫病的诊治及文献复习

李孟英 彭恒 陈要朋 刘铁牛 甘琼萍 乔岩 潘卫 朱淮民

【摘要】目的 探讨巴贝虫感染的流行病学特点、临床表现、诊断和治疗方法,为巴贝虫病的诊治提供参考。方法 回顾性分析1例确诊为田鼠巴贝虫患者的流行病学资料、临床表现、实验室检查结果、诊断和治疗转归情况。结果 田鼠巴贝虫患者主要症状是反复不规则的、可以自限的发热,镜下见骨髓和外周血片红细胞内外有点状、逗点状和环状以及类似疟原虫裂殖体的寄生物;间接免疫荧光检测试验(IFA)阳性,用田鼠巴贝虫特异性引物PCR扩增到阳性条带,序列比对提示为田鼠巴贝虫;磷酸氯喹片联合克林霉素对田鼠巴贝虫病的治疗有效。结论 临床上人感染巴贝虫鲜有报道,症状不典型,对发热原因不明时应仔细检查患者骨髓和外周血涂片可以提高诊断率,免疫学(IFA)及PCR方法检查有助于确诊,田鼠巴贝虫病的治疗有待于进一步探讨。

【关键词】田鼠巴贝虫病; 诊断; 治疗

Diagnosis and treatment of microti-babesiosis and review on related literature LI Mengying*, PENG Heng, CHEN Yaopeng, LIU Tieniu, GAN Qiongpeng, QIAO Yan, PAN Wei, ZHU Huaimin. *Department of Infectious Diseases, 303 Hospital of PLA, Nanning 530021, China
Corresponding author: ZHU Huaimin, Email: hmzhu@smmu.edu.cn

【Abstract】Objective To review the epidemiological features, clinical characteristics, diagnosis and treatment of human babesiosis, and to provide the reference for the clinicians. Methods The data of one case with babesia microti-infected were analyzed, retrospectively, including the epidemiological features, clinical findings, laboratory test results, treatment and outcomes. Results The main symptoms of human babesiosis was repeatedly irregular self-limited fever. Under microscopy, the parasites display a little bit uncertain forms, such as dots, comma-shaped, ring and parasites looked like plasmodium's schizonts inside and outside red blood cells of bone marrow and peripheral blood smears. The indirect immunofluorescent antibody test (IFA) was positive. Positive fragments were amplified by PCR using the specific primers for babesia microti, and sequence alignment shown the sequence had 99% identity with that of babesia microti. Chloroquine phosphate combined clindamycin were useful to the treatment of babesia microti infection. Conclusions Human babesiosis is rarely reported in China with the atypical clinical manifestations. For those patients of unknown origin fever, it's necessary to pay more attention to microscopic inspection of bone marrow and peripheral blood smears, which could improve the diagnostic rate of babesiosis and IFA and PCR would help to confirm it. The treatment of babesia microti infection needs further discussing.

【Key words】Babesiosis microti; Diagnosis; Treatment

巴贝虫病(babesiosis)是由蜱虫传播的一种人畜共患寄生虫病。巴贝虫主要寄生于哺乳类动物的红细胞内,以发热、溶血、贫血、脾肿大为主要临床表现,免疫功能低下者可以引起死亡。巴贝虫病在我国鲜有报道,临床医生无相关知识,容易忽视。本文报道一例巴贝虫病的诊断及治疗经过,并通过文献复习,探讨巴贝虫病的诊断及治疗方法。

资料与方法

一、一般资料

患者,男性,19岁,原籍山西临汾市,于2012年12月迁至广西,在某地接受培训3个月后被分配到广西某边境小镇工作。

二、流行病学资料

经详细询问病史,患者出生及生长于城市,高中毕业后到广西,无外出旅游史,家中无喂养猫、狗等宠物,无机会接触猪、牛、羊、马等动物。在培训基地附近有1个养犬场,但患者未到过该地,未接触犬只。培训结束后到广西中越边境小镇,居住地附近为农村,村民有喂养猫、狗、猪、牛、羊、

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.04.007

基金项目:国家自然科学基金(No. 81141085); 卫生行业科研专项经费资助项目(No. 201202019)

作者单位: 530021 南宁市,解放军第303医院感染科(李孟英、甘琼萍),检验科(陈要朋、刘铁牛); 第二军医大学病原生物学教研室(彭恒、乔岩、潘卫、朱淮民)

通讯作者: 朱淮民, Email: hmzhu@smmu.edu.cn

共同第一作者: 李孟英、彭恒为共同第一作者

马等习惯。居住地环境草地未采集到蜱虫,居住地一墙之隔的1只狗身上发现6只蜱虫。既往身体健康,无输血、手术史。

三、方法

1. 实验室检查:常规检查患者的肝肾功能、血常规,行血培养、骨髓培养。病原学检查包括骨髓细胞学涂片和外周血涂片。

2. 间接免疫荧光试验:用田鼠巴贝虫标准株 ATCC PRA-99TM 感染的小鼠血制备抗原片,丙酮固定后进行间接免疫荧光检测(indirect immunofluorescence assay, IFA),取患者急性感染期与恢复期血清为第一抗体, FITC 标记羊抗人 IgG 做二抗,用荧光显微镜观察^[1]。

3. PCR 扩增及序列比对:提取患者外周血液基因组 DNA,用田鼠巴贝虫特异性引物扩增^[2],获得扩增条带后,PCR 产物送克隆测序。

4. 患者行相关影像学 and 超声检查。

结 果

一、患者的临床表现

2013年5月患者无明显诱因出现发热,体温最高达40℃,伴头晕、头痛,无畏寒、寒战,发热无明显规律,持续3~7 d体温可自行下降。间隔3~20 d症状再发,曾在多家省级三甲医院就诊未能明确诊断,于2013年6月13日入本院。体格检查:T

37.5℃、R 16次/min、P 80次/min、BP 120/80 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa),神智清楚,精神好,体格健壮,全身皮肤无黄染,无瘀点、瘀斑,浅表淋巴结无肿大,颈软,心肺听诊无异常,腹壁软,无压痛、反跳痛,肝脾肋下未触及,双下肢无水肿,巴宾斯基征、布氏征和克氏征阴性。

二、实验室检查结果

(一) 常规检查

1. 肝肾功能正常,肥达-外斐试验阴性、风湿-免疫检测正常。

2. 血培养、骨髓培养:未培养出细菌、真菌。

3. 血常规:WBC $7.29 \times 10^9/L$ 、N 57.6%、L 34.6%、RBC $4.78 \times 10^{12}/L$ 、Hb 137 g/L、PLT $205 \times 10^9/L$ 。

(二) 病原学检查

1. 骨髓细胞学涂片:患者入院后首次骨髓涂片,在红细胞内外可见染成蓝紫色致密小点,少数周围环绕淡蓝色环状物,亦可见类似疟原虫裂殖体样结构(图1)。

2. 外周血涂片:红细胞内的环状体,形态与疟原虫相似(图2A、B、C)。环状体有致密圆形核,双核易见,胞浆呈淡蓝色,环纤细,但该环状体无疟色素沉着,胞浆量少而稀薄,亦可见类似疟原虫裂殖体样结构(图2D)。

(三) 间接免疫荧光试验

采用田鼠巴贝虫标准株 ATCC PRA-99TM 感染的小鼠血制备抗原片,荧光显微镜观察结果显示,急性感染期与恢复期血清均为阳性(图3)。

(四) PCR 扩增及序列比对

提取患者外周血液基因组 DNA,用田鼠巴贝虫特异性引物扩增,获得约 400 bp 大小的扩增条带(图4),PCR 产物送克隆测序。测序结果显示,长度为 409 bp 的序列,经 BLAST 序列比对与田鼠巴贝虫(登录号:JX417370.1)的同源性为 99%。

四、影像学 and 超声检查结果

患者胸部 CT 正常。腹部超声检查显示肝脏稍大、脾脏大小正常。

五、诊断、治疗和转归

根据患者的临床表现、实验室检查结果,诊断巴贝虫病。入院后在实验室检查结果未出来的两天未给特殊治疗,体温自行下降正常。抗原虫治疗,给予氯喹 0.5 g、1次/d、连续口服 3 d,联合克林霉素 0.6 g、3次/d、连续静脉输注 10 d 治疗,未能观察到症状控制的效果。治疗过程每 2 d 复查 1 次外周血涂片,发现巴贝虫数量逐渐减少,治疗结束外周血未查见虫体,但是骨髓片红细胞内仍见少量类似原虫的红色小体。

患者出院后 7 d 再次出现发热,体温 37.6~

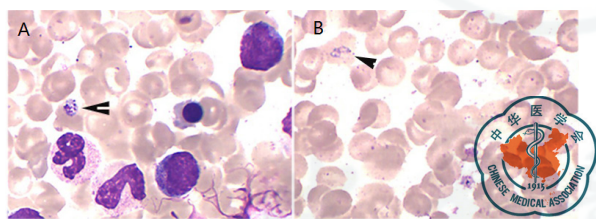


图1 骨髓涂片瑞氏染色

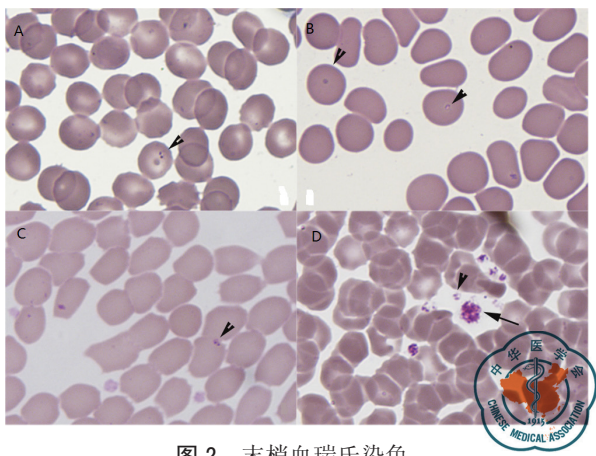
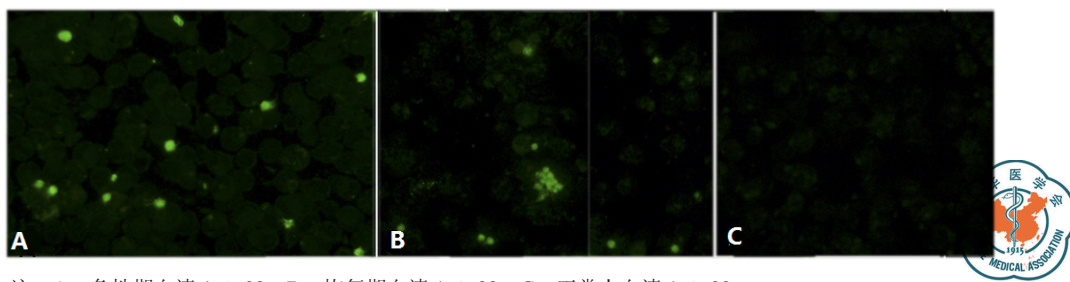
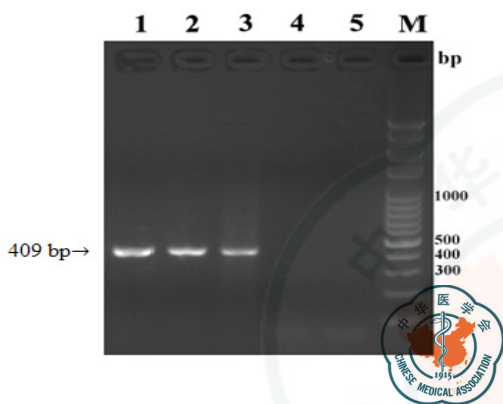


图2 末梢血瑞氏染色



注: A: 急性期血清 1 : 32; B: 恢复期血清 1 : 32; C: 正常人血清 1 : 32

图 3 IFA 检测结果



注: 1: 阳性对照; 2~3: 患者血液基因组 DNA; 4~5: 阴性对照; M: DNA Marker

图 4 巢式 PCR 结果

38.1 °C, 外周血和骨髓查见少量虫体, 再次给予氯喹 0.5 g、1次/d、连续口服 10 d, 联合克林霉素 0.6 g、3次/d、连续静脉输注 10 d 治疗, 外周血未找到虫体。电话随访 6 个月未出现发热。

讨 论

1957 年欧洲报道了世界上首例人体巴贝虫病以来, 由该病原体引起的人巴贝虫病在欧洲、美洲、非洲以及亚洲的陆续报道, 人巴贝虫病逐渐被人们认识, 至今全球已发现数百例人体感染者, 我国云南、内蒙、浙江、山东、台湾等地均有散在的病例报道。

巴贝虫病是由疟原虫样的寄生虫——巴贝虫(早期文献及动物医学中又有称梨形虫)感染红细胞所致。田鼠巴贝虫(*babesia microti*)是梨形虫中感染人类的最常见的种类, 其次是分歧巴贝虫(*B. divergens*)。蜱虫是巴贝虫的传播媒介, 但输血也是人体感染来源。

在免疫功能低下人群, 如老年人、免疫功能低下或脾切除患者, 可以表现为症状不典型, 或为致死性感染^[3]。并发症包括低血压、肝功能障碍、

严重溶血性贫血以及肾功能衰竭。免疫功能正常者则表现为隐性或亚临床感染。典型的巴贝虫病, 其临床症状通常起于高热和寒战, 呈不规则发热。随着病情发展, 可有疲劳、头痛、大汗淋漓、肌肉疼痛、恶心、呕吐等。免疫功能正常者感染巴贝虫后大都症状轻微, 或为自限性过程。由于家畜巴贝虫感染在我国分布很广, 以及广泛存在的野鼠体内的田鼠巴贝虫也可通过蜱叮咬传染给人, 估计实际感染人数更多, 需要进一步证实。

本例患者反复出现可以自限的、无规律的发热症状; 镜下见骨髓和外周血片红细胞内外有点状、逗点状和环状以及类似疟原虫裂殖体的寄生物; IFA 试验阳性, 用田鼠巴贝虫特异性引物 PCR 扩增到阳性条带, 序列比对提示为田鼠巴贝虫, 故诊断田鼠巴贝虫感染成立。

诊断巴贝虫病主要靠镜检发现患者血液涂片红细胞内的巴贝虫。免疫学 (IFA) 及 PCR 检查血液中巴贝虫 DNA 有助于确诊。国外还有用荧光原位杂交 (fluorescent in-situ hybridization, FISH) 方法检测。国外学者建议诊断巴贝虫病有必要用几种不同方法, 甚至阴性结果也不能轻易排除巴贝虫感染的可能, 可尝试实验性治疗。

关于巴贝虫病治疗的报道不一, 可以选择青蒿琥酯、乙胺嘧啶、奎宁、氯喹和克林霉素。国外推荐治疗分歧巴贝虫病的方案是: 原虫血症低于 1% 时, 可静脉注射克林霉素 (clindamycin) 600 mg, 3~4 次/d, 连续 10 d; 重症感染时还需大量换血 (血容量的 2~3 倍)^[4]。治疗田鼠巴贝虫病则推荐联合使用奎宁 (650 mg 3 次/d) 及口服克林霉素 (1 200 mg, 2 次/d), 共 7 d。重症患者也需换血。HIV 感染者患巴贝虫病时则需要加用其他药物, 如强力霉素 (200 mg/d) 和阿奇霉素 (2 000 mg/d), 需长期用药。文献报道用阿托伐醌 (Atovaquone) 1~10 mg/kg, 在体外实验以及在仓鼠模型中成功的杀灭原虫。1 例脾切除巴贝虫病患者因不能忍受奎宁而改为口服阿奇霉素 500 mg/d 配伍阿托伐醌 750 mg, 2 次/d, 疗程 4 个月治愈^[5]。值得注意的是, 尽管治疗后外周血未能查到虫, 临床

症状改善,患者的持续感染依然存在,仍有复发的可能。患者无症状,也建议给以治疗,以防止出现暴发性感染^[6-7]。

本例患者不发热时,选择氯喹联合克林霉素治疗,未能观察到症状控制的效果,但是可以观察到外周血红细胞内虫体转阴,骨髓中成熟红细胞内虫体明显减少。因此氯喹联合克林霉素治疗10 d,应该是目前治疗巴贝虫病的方案之一。

文献报道国内动物感染巴贝虫比较广泛,人群感染情况不明。我国报道的病例大多是形态学鉴定^[8-11]。用PCR鉴定见于姚立农等^[12]报道浙江地区1例误诊为疟疾的田鼠巴贝虫感染, Qi等^[13]在山东某医院370余份住院有贫血的患者中经PCR普查发现的分歧巴贝虫感染,以及Zhou等^[14]在我国中缅边境筛查发热患者时发现田鼠巴贝虫与疟原虫共感染率为0.2% (1/449),巴贝虫单独感染率为1.8% (8/449)。本文报道的广西地区患者,是我国首例经病原学、免疫学及分子生物学等方法综合诊断的人感染田鼠巴贝虫病例。

由于国内巴贝虫病病例报道有限,故临床医师普遍对巴贝虫缺乏认识,检验科医师容易把巴贝虫感染者的血片中的异常发现当成血片染液污染处理。另外,目前大部分医院血常规检测均为机器检测,不容易发现血片中细胞异常情况。我国已经在野外采集的硬蜱体内分离到田鼠巴贝虫^[15],因此,临床应加强注意发热原因不明需要镜检,另外,应尽快研制临床容易开展的快速检测方法,提高巴贝虫的诊断。

参考文献

- 1 Krause PJ, Telford SR 3rd, Ryan R, et al. Diagnosis of babesiosis: evaluation of a serologic test for the detection of *Babesia microti* antibody[J]. J Infect Dis, 1994, 169(4):923-926.
- 2 Wei Q, Tsuji M, Zamoto A, et al. 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]. J Clin Microbiol, 2001, 39(6):2178-2183.
- 3 Wormser GP, Lombardo G, Silverblatt F, et al. Babesiosis as a cause of fever in patients undergoing a splenectomy[J]. Am Surg, 2011, 77(3):345-347.
- 4 Gorenflot A, Moubri K, Precigout E, et al. Human babesiosis[J]. Ann Trop Med Parasitol, 1998, 92(4):489-501.
- 5 Vannier E, Krause PJ. Human Babesiosis[J]. N Engl J Med, 2012, 366(25):2397-2407.
- 6 Bonoan JT, Johnson DH, Cunha BA. Life-threatening babesiosis in an asplenic patient treated with exchange transfusion, azithromycin, and atovaquone[J]. Heart Lung, 1998, 27(6):424-428.
- 7 Krause PJ, Spielman A, Telford III SR, et al. Persistent parasitemia after acute babesiosis[J]. N Engl J Med, 1998, 339(3):160-165.
- 8 Kjemtrup AM, Conrad PA. Human babesiosis: an emerging tick-borne disease[J]. Int J Parasitol, 2000, 30(12-13):1323-1337.
- 9 王惠萱. 昆明地区巴贝西虫病一例分析[J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2012, 39(3):190-192.
- 10 苏关关, 赵年丰, 叶有新. 巴贝虫病病例报道[J]. 中国人畜共患病杂志, 2002, 18(5):112.
- 11 石珍宝, 李珍珍, 高权荣. 人体感染巴贝虫一例[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1996, 14(3):240.
- 12 李金福, 孟大邦, 王庆芳, 等. 人巴贝斯焦虫病的发现[J]. 中国兽医杂志, 1984, 20(6):21-22.
- 13 姚立农, 阮卫, 曾长佑, 等. 1例人感染巴贝虫的诊断与病原体鉴定[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2012, 30(2):118-121.
- 14 Qi C, Zhou D, Liu J, et al. Detection of *Babesia divergens* using molecular methods in anemic patients in Shandong Province[J]. China Parasitol Res, 2011, 109(1):241-245.
- 15 Zhou X, Li SG, Chen SB, et al. Co-infections with *Babesia microti* and *Plasmodium* parasites along the China-Myanmar border[J]. Infect Dis Poverty, 2013, 2(1):24.
- 16 Sun Y, Liu G, Yang L, et al. *Babesia microti*-like rodent parasites isolated from *Ixodes persulcatus* (Acari: Ixodidae) in Heilongjiang Province, China[J]. Vet Parasitol, 2008, 156(3-4):333-339.

(收稿日期: 2014-02-27)

(本文编辑: 孙荣华)

李孟英, 彭恒, 陈要朋, 等. 田鼠巴贝虫病的诊治及文献复习 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2014, 8 (3): 332-335.