

DOI:10.16781/j.0258-879x.2016.03.0283

## 广西某血站献血员巴贝虫感染情况调查

王华素<sup>1,2</sup>, 彭恒<sup>2</sup>, 朱淮民<sup>2\*</sup>, 薛绍礼<sup>1\*</sup>

1. 安徽医科大学生物医学工程教研室, 合肥 230032

2. 第二军医大学基础部病原生物学教研室, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 调查分析广西某采血站献血员感染巴贝虫情况, 提供我国巴贝虫的流行病学基础资料, 也为安全输血提供科学依据。 **方法** 于2013年从广西某血站搜集抗凝输血袋残留血, 共计1 900份, 采用巴贝虫属18S rRNA和 $\beta$ tubulin的引物Nest-PCR、形态学观察及间接荧光免疫方法(IFA), 对献血员血液内的巴贝虫感染情况进行检测。 **结果** 广西某采血站献血员血液内巴贝虫感染总阳性率为2.53%(48/1 900), 均为田鼠巴贝虫(*Babesia microti*), 巴贝虫属18S rRNA引物扩增灵敏度远高于 $\beta$ tubulin引物。显微镜检查有38份标本在红细胞内发现有核呈圆形且致密、胞质呈环形且纤细的环状体, 巴贝虫属18S rRNA的Nest-PCR阳性标本血清IFA在抗体滴度 $\geq 1:64$ 未观察到特异性荧光, 视为阴性。 **结论** 健康献血员中存在一定比例的*Babesia microti*感染率, 对于有免疫功能低下的接受输血者来说, 应当增加输血样本的巴贝虫检测。

**[关键词]** 巴贝虫属; 18S rRNA; 献血员; 巢式PCR; 田鼠巴贝虫

**[中图分类号]** R 382.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2016)03-0283-05

### Investigation of *Babesia* spp. infections in blood donors in Guangxi, China

WANG Hua-su<sup>1,2</sup>, PENG Heng<sup>2</sup>, ZHU Huai-min<sup>2\*</sup>, XUE Shao-li<sup>1\*</sup>

1. Department of Medical Bioengineering, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui, China

2. Department of Pathogen Biology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To know about the *Babesia* infection situation in the blood donors in Guangxi, China, so as to provide a basal epidemical date, and to provide scientific proofs for safety blood transfusion. **Methods** A total of 1 900 peripheral blood samples were obtained from tubes of used blood bagsteking from Guangxi, China in 2013. *Babesia* spp. infections in the donors were tested using *Babesia* 18S rRNA and  $\beta$ tubulin Nest-PCR, morphological observation, and indirect immunofluorescence assay (IFA). **Results** We found that the positive rate of *Babesia* infection was 2.53% (48/1 900) in Guangxi, with all cases caused by *Babesia microti*. The PCR sensitivity of *Babesia* 18S rRNA primer was much higher than that of  $\beta$ tubulin. In 38 blood the erythrocytes were found to have circular and dense nuclear, with ring-form thin cytoplasm under microscope. The specific fluorescence was not observed when Nest-PCR positive specimens with IFA at  $\geq 1:64$  antibody concentration, and was taken as negative. **Conclusion** There is a certain proportion of *Babesia microti* infection in Guangxi. For those patients with immunocompromised condition who needs blood transfusion, *Babesia microti* should be tested in blood donors.

**[Key words]** *Babesia*; 18S rRNA; blood donors; Nest-PCR; *Babesia microti*

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2016, 37(3): 283-287]

巴贝虫(*Babesia*)在分类上属孢子虫纲梨浆虫亚纲梨浆虫目巴贝虫科巴贝虫属, 主要寄生于哺乳动物的红细胞内, 偶可寄生于人体, 在人体红细胞中繁殖, 使大量红细胞被破坏。其呈世界性分布, 种类

超过100多种, 但感染人巴贝虫主见于田鼠巴贝虫(*Babesia microti*, *B. microti*)和分歧巴贝虫<sup>[1]</sup>。巴贝虫病是由巴贝虫经蜱传播引起的一种血源性寄生虫病, 在全球热带和亚热带地区广泛流传, 影响人类

**[收稿日期]** 2015-06-11 **[接受日期]** 2015-10-17

**[基金项目]** 军队后勤科研项目(CWS12BJ06), 国家科技重大专项(2012ZX10004-220, 2008ZX10004-011), 卫生行业科研专项经费资助项目(201202019)。Supported by PLA Logistics Research Project(CWS12BJ06), National Science and Technology Major Program(2012ZX10004-220, 2008ZX10004-011), and the Special Fund for Health Research in Public Interest(201202019)。

**[作者简介]** 王华素, 硕士生。E-mail: 370251590@qq.com

\* 通信作者(Corresponding authors)。Tel: 021-81871011, E-mail: hmzhu@hotmail.com; Tel: 0551-65161238, E-mail: xuesl@sina.com

的健康<sup>[2-4]</sup>。美国报道的巴贝虫病例大多是田鼠巴贝虫感染,由硬肩突蜱传播<sup>[5]</sup>,而欧洲的巴贝虫病仅仅是由分歧巴贝虫感染脾切除患者引起<sup>[6]</sup>。大多数患者被感染巴贝虫的蜱虫叮咬后 1~4 周患病,而输入被其感染的血液者在输血后 1~9 周患病<sup>[2]</sup>。冷战、出汗是常见的症状,可能也伴有头痛、肌痛、厌食、干咳、关节痛和恶心,发烧是最常见的标志,可能合并脾肿大、咽红斑、肝肿大<sup>[7]</sup>。巴贝虫病严重性主要取决于患者的免疫状态和引起感染的巴贝虫种,免疫缺陷或低下的人群较易被感染,多发生在有蜱地区,特别是在蜱活跃的春秋季节感染较为严重<sup>[8]</sup>。巴贝虫病也是血源性寄生虫病,还可通过输血传播,而血站尚没有针对寄生虫病的检测项目。无偿献血员是一个特殊人群,需要严谨检查人群中血源性疾病的感染状况及分布特征。

检测巴贝虫病的方法有基于光学显微镜的病原学检测法、血清学方法,如间接免疫荧光(indirect immunofluorescence assay,IFA)法和酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)等,但这些方法存在费时、灵敏度不高、特异性不强等缺点<sup>[9]</sup>。本研究利用巴贝虫属 18S rRNA 的巢氏 PCR(Nest-PCR)方法先进行大量标本阳性筛查,再结合巴贝虫属 *βtubulin* 的 Nest-PCR、形态学观察、IFA 确认筛查结果,进而调查分析广西的巴贝虫感染情况。

## 1 材料和方法

1.1 样本采集与保存 2013 年某月广西某血站无

菌条件下采集献血员外周血,保存于含有抗凝剂的采血管中,共计 1 900 人份,取部分涂制薄血片染色和抽提基因组 DNA,剩余部分-80℃冷冻保存。同时进行流行病学调查,包括外出情况、有无输血史和蜱虫叮咬史等。

1.2 主要材料 田鼠巴贝虫引自中国疾病预防控制中心上海寄生虫病预防控制所,由BALB/c小鼠传代保种。新型植物基因组 DNA 提取试剂盒为 TIANGEN 公司产品,2×PCR Master Mix 购自上海莱枫生物科技有限公司,100 bp DNA Ladder 购自上海索宝生物科技有限公司,所用引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成,Diff-Quik 快速染液、羊抗人 IgG 荧光标记二抗购自上海鼎国生物科技有限公司。

1.3 DNA 的提取 按照 TIANGEN 公司新型植物基因组 DNA 提取试剂盒操作说明书,提取 1 900 份外周血 DNA 作为模板。同法提取田鼠巴贝虫 DNA 作为阳性对照。

1.4 Nest-PCR 检测

1.4.1 巴贝虫属 18S rRNA 的 Nest-PCR 根据巴贝虫属 18S rRNA,参照文献<sup>[10]</sup>合成引物(表 1)。Nest-PCR 扩增体系为:2×PCR Master Mix 12.5 μL,10 μmol/L 上、下游引物各 1 μL,首轮模板 DNA 3 μL,加 diH<sub>2</sub>O 至总体积 25 μL。首轮反应的产物作为次轮的模板,次轮模板是 1 μL。阴性对照均为 diH<sub>2</sub>O。首轮 PCR 反应条件为 94℃ 40 s、56℃ 40 s、72℃ 1 min,循环 30 次;72℃ 5 min。次轮 PCR 反应条件为 94℃ 40 s、56℃ 40 s、72℃ 40 s,循环 35 次;72℃ 5 min。

表 1 巴贝虫属巢氏 PCR 检测血标本的引物

Tab 1 Primers used for detecting the blood sample by nested PCR of *B. microti*

Target gene	Name	Primers sequence (5'-3')	Product size (bp)
18S rRNA	Bab5	AATTACCCAATCCTGACACAGG	600
	Bab8	TTTGGCAGTAGTTTCGTCTTTAACA	
	Bab6	GACACAGGGAGGTAGTGACAAAGA	390
	PIRO-B	TTAAATACGAATGCCCAAC	
<i>βtubulin</i>	BmTubu93F	GAYAGYCCCTTRCAACTAGAAAGAGC	804
	BmTubu897R	CGRTCGAACATTTGTTGHGTCARTTC	
	BmTubu192F	ACHATGGATTCTGTTAGATCYGGC	590
	BmTubu782R	GGGAADGGDATRAGATTACACAGC	

*B. microti*: *Babesia microti*

1.4.2 巴贝虫属 *βtubulin* 的 Nest-PCR 根据巴贝虫属 *βtubulin* 基因序列,参考文献<sup>[11]</sup>合成引物(表 1)。以巴贝虫属 18S rRNA 的 Nest-PCR 阳性检测样品 DNA 为模板进行巴贝虫属 *βtubulin* 的 Nest-PCR,扩增反应体系同巴贝虫属 18S rRNA。

阴性对照均为 diH<sub>2</sub>O。首轮反应条件为 94℃ 40 s、60℃ 1 min、72℃ 1 min,循环 30 次;72℃ 7 min。次轮反应条件为 94℃ 40 s、60℃ 40 s、72℃ 40 s,循环 35 次;72℃ 7 min。

1.4.3 电泳检测扩增产物 配制 1.5%琼脂糖凝

胶,置于 $1\times$ TAE电泳缓冲液中,Nest-PCR扩增产物以 $4\mu\text{L}$ /孔点样;在80 V、25 mA条件下电泳26 min,利用全自动倒置凝胶成像系统进行拍照。

1.4.4 扩增产物测序及序列比对 目标扩增片段送铂尚(上海)生物科技有限公司进行测序,并采用BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)分析序列同源性。

1.5 形态学观察 将采集的广西献血员外周血涂制薄血片,干燥后进行Diff-Quik染色,油镜镜检( $\times 400$ ),并拍照记录。

1.6 免疫学检测 巴贝虫抗原片由上海寄生虫病防治研究所提供,保鲜膜单张包裹,保存于 $-80^{\circ}\text{C}$ 。取出巴贝虫抗原片,恢复至室温后去除保鲜膜;PBST洗片1次,晾干;用3%脱脂奶粉PBS覆盖血膜, $37^{\circ}\text{C}$ 封闭孵育1 h;PBST洗片1次,晾干;用蜡笔将抗原片平均分隔成10个区域;巴贝虫属18S rRNA的Nest-PCR阳性标本血清用3%脱脂奶粉PBS倍比稀释为 $1:16$ 、 $1:32$ 、 $1:64$ 、 $1:128$ 、 $1:256$ 、 $1:512$ 、 $1:1024$ ;每张抗原片上的10个区域内滴加 $5\mu\text{L}$ 稀释好的待检标本,设置巴贝虫病患者血清阳性对照和正常血清阴性对照, $37^{\circ}\text{C}$ 湿盒中孵育2 h;PBST洗片5次,晾干;滴加 $5\mu\text{L}$ 3%脱脂奶粉PBS稀释的羊抗人FITC-IgG二抗在曾滴加待检标本的部分上, $37^{\circ}\text{C}$ 湿盒避光孵育1 h;PBST洗片5~7次,在暗处晾干;荧光显微镜下观察并记录结果。抗体滴度 $\leq 1:64$ 视为阴性<sup>[12]</sup>。

## 2 结果

2.1 Nest-PCR检测结果 巴贝虫属18S rRNA的Nest-PCR扩增产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳,得到阳性条带与巴贝虫阳性对照条带基本一致,获得的阳性条带大小约387 bp。Nest-PCR产物直接双向测序,经BLAST序列比对,48份血样标本与*B. microti*(登录号为KF891472.1)的同源性高达98%以上,广西献血员巴贝虫阳性感染率为2.53%(48/1900)。用巴贝虫属 $\beta$ -tubulin的Nest-PCR验证48份阳性标本,结果只有6份BLAST序列比对是*B. microti*。为此,设计了两种引物灵敏度测试实验,模板是阳性对照的基因组DNA,初始浓度是 $25\text{ ng}/\mu\text{L}$ ,5倍梯度倍比稀释,共16个梯度,结果巴贝虫属18S rRNA引物最低检测浓度是 $2.048\times$

$10^{-8}\text{ ng}/\mu\text{L}$ , $\beta$ -tubulin引物最低检测浓度是 $1.28\times 10^{-5}\text{ ng}/\mu\text{L}$ ,相差625倍,说明巴贝虫属18S rRNA引物比 $\beta$ -tubulin引物灵敏(图1)。

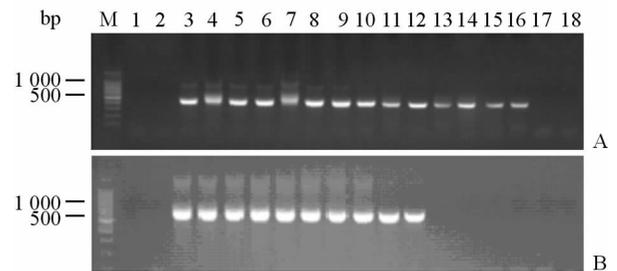


图1 巴贝虫属18S rRNA(A)与 $\beta$ -tubulin (B)的Nest-PCR灵敏度测试结果

Fig 1 Comparison of Nest-PCR sensitivities between *Babesia* 18S rRNA (A) and *Babesia*  $\beta$ -tubulin (B)

1, 2: Negative; 3-18: The concentration of *Babesia* DNA being 25, 5, 1, 0.2, 0.04,  $8\times 10^{-3}$ ,  $1.6\times 10^{-3}$ ,  $3.2\times 10^{-4}$ ,  $6.4\times 10^{-5}$ ,  $1.28\times 10^{-5}$ ,  $2.56\times 10^{-6}$ ,  $5.12\times 10^{-7}$ ,  $1.024\times 10^{-7}$ ,  $2.048\times 10^{-8}$ ,  $4.096\times 10^{-9}$ ,  $8.192\times 10^{-10}\text{ ng}/\mu\text{L}$ , respectively; M: 100 bp DNA Ladder

2.2 形态学观察结果 38份被检测标本因血涂片染色后保存时间不同,导致镜下观察背景不同。阳性血涂片在红细胞内发现有核呈圆形且致密、胞质呈环状且纤细的环状体(图2A~2C),与疟原虫极为相似;但该环状体无疟色素沉着,胞质量少而稀薄,亦可见类似疟原虫裂殖体样结构(图2D)。10份未见典型的巴贝虫形态,但不能排除未被巴贝虫感染。

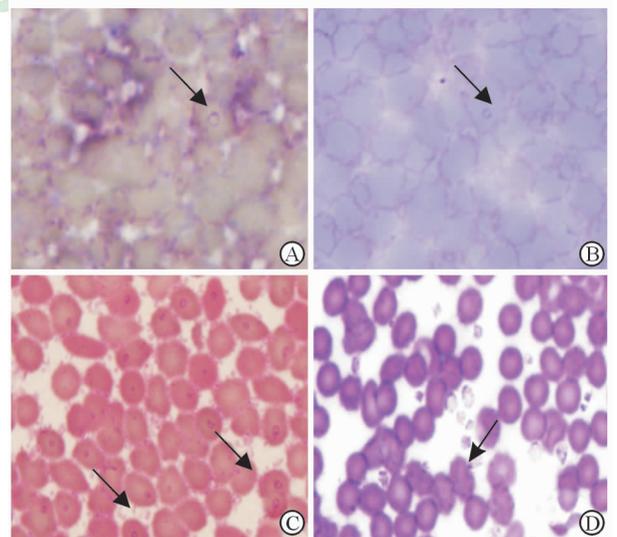


图2 薄血涂片的形态学观察结果

Fig 2 Microscopic observation of blood thin-smear slide A, B, C, and D: Blood smears after Diff-Quik dyeing (The arrows pointing to *Babesia microti*). Original magnification:  $\times 400$

2.3 IFA检测结果 被检测血清标本未见特异性

荧光,阳性对照可见,阴性对照未见(图3)。

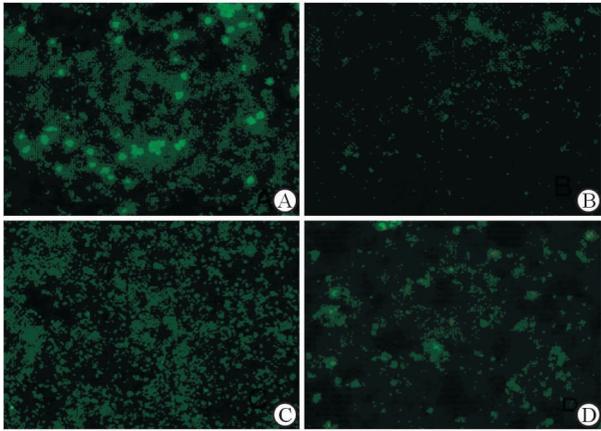


图3 阳性标本的血清 IFA 结果

Fig 3 The IFA result of positive serum samples

IFA: Indirect immunofluorescence assay. A: Positive control; B: Negative control; C: One of the 48 positive samples (titer  $\leq 1:16$ ); D: One of the 48 positive samples (titer  $\geq 1:64$ ). Original magnification:  $\times 400$

### 3 讨论

巴贝虫病呈全球分布,世界各地均有报道<sup>[13]</sup>,我国只有少数巴贝虫病的报道,其中云南省2例(1984年)、内蒙古自治区1例(1996年)、台湾省3例(1994年、1994年及1998年)、浙江省1例(2002年),但对疫源地的调查开展较少<sup>[9]</sup>。本研究采集的标本对象是广西某血站献血员,广西是亚热带地区,丛林密布,此种环境会有蜱虫出没。本组检测结果阳性的人员中有1名献血员是被蜱虫叮咬后确诊为巴贝虫病,其他人员被怀疑有巴贝虫感染。

本实验结果显示巴贝虫属 18S rRNA 的 Nest-PCR 阳性标本 48 份,巴贝虫感染总阳性率 2.53% (48/1 900),而巴贝虫属  $\beta$ tubulin 的 Nest-PCR 只有 6 份测序比对结果是巴贝虫,其差异性由两种引物的灵敏度测试实验可以说明,前者灵敏度远高于后者。镜下观察到 38 份阳性标本的血涂片红细胞内有核呈圆形且致密、胞质呈环形且纤细的环状体,亦可见类似疟原虫裂殖体样结构;其余 10 份阳性标本的血涂片没有观察到巴贝虫,但是红细胞有棘突,淋巴细胞常见。有文献报道,镜检巴贝虫是最便宜、最快速的传统方法,而灵敏度和特异性有限,需经验丰富的镜检观察者且血液中有足够量的寄生虫才可以被检测到,低寄生虫血症不会被镜检到<sup>[14-16]</sup>,这提示有隐蔽的寄生虫血症和(或)低于检测极限下的寄生虫血症的存在。另外,48 份阳性标本血清 IFA 未见特异性荧光,血清学方法检测巴贝虫的缺点在

于抗巴贝虫特异性抗体在感染的动物体内需要几天或几周才出现,感染早期或血清转化很难被检测到,急性感染期尚未产生针对巴贝虫的抗体<sup>[11,17-18]</sup>。本研究的标本采集完成后在广西某实验室存放,经过很长时间空运到实验室,4℃放置一段时间后才取血清存放于-20℃待 Nest-PCR 筛选后进行 IFA 检测,可能在标本运输、保存这个阶段内抗体效价已经大打折扣,而且阳性标本镜检原虫率本就很低,寄生虫低水平感染会使得 IFA 检测困难<sup>[18]</sup>。Nest-PCR 方法灵敏度高、特异性强,本研究以巴贝虫属 18S rRNA 的 Nest-PCR 方法筛查采集的标本进行巴贝虫病的相关调查,外周血基因组 DNA 提取、Nest-PCR 在不同房间的生物安全柜进行,避免了样品污染可能,阳性标本扩增的核苷酸片段大小不同,与阳性对照田鼠巴贝虫序列经 MegAlign 软件进行对比,序列在保守区域相似度极高,并不完全相同。48 份阳性标本 BLAST 序列与不同种的巴贝虫序列经 Clustal X 软件对位排列,采用 MegAlign 软件做系统进化树构建,设立什曼原虫 (*Leishmania obnovari*) 为外群,结果与 NCBI 的 BLAST 结果一致,均与田鼠巴贝虫亲缘关系很近。

有文献表明,引起巴贝虫病的主要是田鼠巴贝虫<sup>[11]</sup>,而巴贝虫病是以蜱为媒介的血源性寄生虫病,一种新发传染病,在全球热带和亚热带地区广泛流行<sup>[19]</sup>。近年来由于输血而引起感染的病例持续增多<sup>[20]</sup>,作为血源性寄生虫病,在血站血液质量管理中更加值得重视。通常血站血液检测项目有:采用 ELISA 法检测 HBsAg、抗 HCV、抗 HIV;采用赖氏法检测 ALT,采用 RPR 法、TRUST 法检测梅毒,尚无血源性寄生虫病检测项目。通过输血传播的巴贝虫病潜伏期为 1~9 周,临床症状的轻重与巴贝虫种以及宿主的免疫功能有关,接受输血的人群多数身体虚弱、免疫力低下,如果接受了隐性感染者的血液或将出现严重后果,甚至死亡。文献报道无症状的感染可持续数月至数年,特别是 40 岁以下健康人可能在整个过程中保持亚临床状态;而脾切除患者、接受免疫抑制剂治疗患者、合并 HIV 感染及年龄超过 50 岁的患者临床表现常较严重,可出现急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)、弥散性血管内凝血 (DIC)、充血性心力衰竭、肾衰竭、心肌梗死、脾梗死或脾破裂导致致命并发症,重型者于 5~8 d 内死亡<sup>[8]</sup>。另外,检测隐性感染人群可进行疾病的早期治疗,避免持久的寄生虫血症,也可以从血库中排除

已被污染的血液<sup>[21]</sup>。故血源性寄生虫病需要得到血站关注。

近年来蜱病流行频率逐渐增加,蜱虫叮咬人类病例屡有报道<sup>[22-23]</sup>,有必要严谨检查人群中的感染状况及分布特征,建议有关部门加强血源管理,在蜱高峰期季节、有巴贝虫病病例报道的区域加强对供血者检测,以便更好地做好传染病管理工作,同时避免媒介蜱类活动季节进入疫区、定期灭蜱、尽量避免与啮齿动物接触。本研究也为巴贝虫感染提供了高灵敏性、强特异性且快速的检测方法。

## [参考文献]

[1] 何登明,王宇明. 人巴贝虫病研究进展[J]. 中华传染病杂志,2012,10:638-640.

[2] Vannier E, Krause P J. Human babesiosis[J]. N Engl J Med, 2012, 366: 2397-2407.

[3] Jefferies R, Ryan U M, Muhl nickel C J, Irwin P J. Two species of canine *Babesia* in Australia: detection and characterization by PCR[J]. J Parasitol, 2003, 89: 409-412.

[4] Qi C, Zhou D, Liu J, Cheng Z, Zhang L, Wang L, et al. Detection of *Babesia divergens* using molecular methods in anemic patients in Shandong Province, China[J]. Parasitol Res, 2011, 109: 241-245.

[5] Herwaldt B L, Linden J V, Bosserman E, Young C, Olkowska D, Wilson M. Transfusion-associated babesiosis in the United States: a description of cases [J]. Ann Intern Med, 2011, 155: 509-519.

[6] Hunfeld K P, Hildebrandt A, Gray J S. Babesiosis: recent insights into an ancient disease [J]. Int J Parasitol, 2008, 38: 1219-1237.

[7] Vannier E, Gewurz B E, Krause P J. Human babesiosis[J]. Infect Dis Clin North Am, 2008, 22: 469-488, viii-ix.

[8] 汪恭富,钱存忠,王存刚,殷玉武,梁军,王启顺,等. 南京地区犬巴贝斯虫病的诊断与治疗[J]. 中国兽医寄生虫病,2007,15:20-23.

[9] 范东辉,李明,徐翻飞,呼满霞,张箭,孙毅. 鼠与蜱感染人致病性巴贝虫状况的初步研究[J]. 中华卫生杀虫药械,2012,18:48-50.

[10] Wei Q, Tsuji M, Zamoto A, Kohsaki M, Matsui T, Shiota T, 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: 2178-2183.

[11] Zamoto A, Tsuji M, Wei Q, Cho S H, Shin E H,

Kim T S, et al. Epizootiologic survey for *Babesia microti* among small wild mammals in northeastern Eurasia and a geographic diversity in the  $\beta$ tubulin gene sequences[J]. J Vet Med Sci, 2004, 66: 785-792.

- [12] Young C, Chawla A, Berardi V, Padbury J, Skowron G, Krause P J; Babesia Testing Investigational Containment Study Group. Preventing transfusion-transmitted babesiosis: preliminary experience of the first laboratory-based blood donor screening program [J]. Transfusion, 2012, 52: 1523-1529.
- [13] Armstrong P M, Katavolos P, Caporale D A, Smith R P, Spielman A, Telford S R 3<sup>rd</sup>. Diversity of *Babesia* infecting deer ticks (*Ixodes dammini*) [J]. Am J Trop Med Hyg, 1998, 58: 739-742.
- [14] Cacciò S, Cammà C, Onuma M, Severini C. The  $\beta$ tubulin gene of *Babesia* and *Theileria* parasites is an informative marker for species discrimination [J]. Int J Parasitol, 2000, 30: 1181-1185.
- [15] Homer M J, Aguilar-Delfin I, Telford SR 3<sup>rd</sup>, Krause P J, Persing D H. Babesiosis [J]. Clin Microbiol Rev, 2000,13: 451-469.
- [16] Mosqueda J, Olvera-Ramirez A, Aguilar-Tipacamu G, Canto G J. Current advances in detection and treatment of babesiosis [J]. Curr Med Chem, 2012, 19: 1504-1518.
- [17] Ong K R, Stavropoulos C, Inada Y. Babesiosis, asplenia, and AIDS [J]. Lancet, 1990, 336: 112.
- [18] Tonnetti L, Eder A F, Dy B, Kennedy J, Pisciotto P, Benjamin R J, et al. Transfusion-transmitted *Babesia microti* identified through hemovigilance [J]. Transfusion, 2009, 49: 2557-2563.
- [19] Liu A, Yin H, Guan G Q, Schnittger L, Lin Z J, Ma M L, et al. At least two genetically distinct large *Babesia* species infective to sheep and goats in China [J]. Vet Parasitol, 2007, 147(3-4): 246-251.
- [20] Guhemot D M, Lucey C T, Lee K C, Conley G B, Holness L G, Wise R P. *Babesia* infection through blood transfusions: reports received by the US Food and Drug Administration, 1997-2007 [J]. Clin Infect Dis, 2009, 48: 25-30.
- [21] 孙嘉慧,韩建平,冯正,胡薇. 田鼠巴贝虫病诊断方法的研究进展[J]. 中华寄生虫学与寄生虫病杂志, 2013,3:235-241.
- [22] 张萍. 蜱叮咬伤6例临床分析[J]. 中国社区医师, 2008,10:113.
- [23] 王建,石年,陈用军. 蜱咬伤1例[J]. 中国医学文摘: 皮肤科学, 2011,24:182.