

一宗输入性卵形疟个案调查分析与实验室诊断

高世同* 李晓恒 黄达娜 耿艺介 谢旭 梅树江

【摘要】目的 调查深圳市首例境外输入性卵形疟患者的发病和诊疗过程, 为科学防治卵形疟提供借鉴。 **方法** 收集患者的临床和流行病学资料, 采集外周血作涂片镜检疟原虫, 疟疾快速诊断试验 (rapid diagnostic test, RDT) 检测疟原虫特异性抗原, 巢式 PCR 扩增富色氨酸抗原基因鉴定基因型。 **结果** 患者由非洲几内亚疟疾流行区回国, 具有寒战、发热、出汗等临床症状。血涂片查见疟原虫, 受感染红细胞呈伞矢状, 薛氏点明显, 可见滋养体、裂殖体和配子体, 形态特点与卵形疟原虫相符; 但疟疾 RDT 抗原检测结果为阴性; 基因分型鉴定为卵形疟原虫 *walikeri* 新亚种, 采用青蒿琥酯片与磷酸伯氨喹联合用药治愈。 **结论** 根据患者流行病学史、临床表现以及实验室检测结果判断为一宗输入性卵形疟个案。

【关键词】 卵形疟; 输入性; 流行病学调查; 诊断

Investigation and laboratory diagnosis of an imported *Plasmodium ovale* malaria case Gao Shitong*, Li Xiaoheng, Huang Dana, Geng Yijie, Xie Xu, Mei Shujiang. Shenzhen Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen 518055, China

*Corresponding author: Gao Shitong, Email: gst@szcdc.net

【Abstract】Objective To investigate the first imported case of *P. ovale* malaria in Shenzhen area for providing reference for the diagnosis and treatment. **Methods** The clinical history and epidemiological information were collected. The *Plasmodium* parasite in blood sample was detected and identified by microscopy, malaria rapid diagnostic test and nested PCR methods. **Results** The patient returned from malaria endemic areas in Guinea on Jan 24, 2014, and developed symptoms of chill, fever and sudation, which lasted about 3hr every day since Mar 3, 2014. The different blood stages of *P. ovale* were observed under microscopy, with fimbriated edges of infected red blood cells. The *P. ovale* was identified as *P. ovale walikeri* by nested PCR. However, the RDT test was negative. The patient was cured with artesunate combined with primaquine phosphate. **Conclusion** The case was an imported *P. ovale* malaria according to epidemiological, clinical manifestations and laboratory examination results.

【Key words】 *P. ovale* malaria; Imported; Epidemiological investigation; Diagnosis

疟疾是严重危害人类健康的蚊媒寄生虫病, 广泛流行于热带、亚热带地区。深圳市在历史上曾是间日疟的高发区, 经过多年的科学防治, 疟疾流行得到有效阻断, 已无本地感染病例。但由于国际贸易与劳务输出而导致的输入性疟疾病例仍时有发生。近年来, 输入性疟疾病例主要来自非洲及东南亚等疟疾流行区, 以恶性疟和间日疟多见^[1]。2014年我们诊断了首例输入性卵形疟患者, 鉴定为卵形疟原虫 *walikeri* 新亚种。鉴于国内卵形疟病例比较少见, 故将该病例的个案调查情况以及实验室检查的结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 资料来源

病例资料源自国家传染病疫情网络直报系统、个案调查表以及患者医院就诊病历档案, 通过访谈患者和接诊医生了解感染途径和诊治情况。

1.2 实验室检查

常规制血涂片, 吉姆萨染色, 油镜下观察疟原虫形态。快速检测试验 (rapid diagnostic test, RDT) 检测, 以包被乳酸脱氢酶单克隆抗体的 Right-VIEW 疟疾检测试纸条 (购自深圳康伯得生物公司) 测定疟原虫特异性抗原。以 MiniBEST 通用基因组提取试剂盒 (大连宝生物有限公司产品) 提取全血 DNA, 采用巢式 PCR 检测和鉴定疟原虫亚种。扩增目的基因为卵形疟原虫富色氨酸抗原

(tryptophan-rich antigen, TRA) 基因, 第1轮扩增引物为 fwd3: 5'-GCA CAA AAA TGG TGC TAA CC-3', rev3: 5'-ATC CAT TTA CCT TCC ATT GC-3'; 第2轮扩增引物为 fwd5: 5'-ACG GCA AAC CCG ATA AAC AC-3', rev5: 5'-GTG TTT GTA GTA TTT ACA GG-3'。具体方法参照文献[2]进行。

1.3 流行病学调查和处理

采用《输入性疟疾病例个案调查表》展开个案调查, 内容包括一般情况、发病和治疗经过以及感染来源和传播途径等; 疫情处理主要是对前往疫区的随行人员和密切接触人员作医学观察, 对患者居住社区进行灭蚊和疟疾防治知识的宣教。

1.4 诊断和治疗

根据《疟疾诊断标准 (WS259-2006)》进行病例诊断; 采用青蒿琥酯片和磷酸伯氨喹片进行抗疟治疗, 青蒿琥酯片总剂量600 mg, 每天2次, 第1天每次100 mg, 第2天起每次50 mg, 连服5 d, 磷酸伯氨喹总剂量180 mg, 每天1次, 每次22.5 mg, 连服8 d; 同时给予输液、抗感染等辅助治疗。

2 结果

2.1 发病及临床诊治过程

患者, 男, 39岁, 2014年3月3日开始无明显诱因自感发热, 伴畏寒、寒战, 偶有头晕, 无头痛、呕吐, 无咳嗽、咳痰、流涕, 无腹痛、腹泻、腹胀, 每天发作1次, 发热持续3 h左右, 出汗后症状缓解。于3月5日在深圳市某医院就诊。查体: 体温37.5 °C, 脉搏90次/分, 血压99/62 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa)。一般情况可, 神志清, 全身皮肤无皮疹及黄染, 浅表淋巴结未扪及; 腹平软, 无压痛及反跳痛, 肝肋下未及, 脾肋下1 cm, 无触痛。血常规: 白细胞 8.01×10⁹/L, 嗜中性粒细胞54.2%, 淋巴细胞27.0%, 嗜酸性粒细胞0.9%, 血红蛋白 151 g/L,

血小板 134×10⁹/L; 尿常规: 尿蛋白++, 尿胆原+, 白细胞计数11.9/μl; 肝功能正常: 肌酐117 μmol/L, C反应蛋白定量72.3 mg/L。B超示: 肝脏、脾脏未见异常。胸部CT: 双肺病变, 考虑感染可能, 痰培养阴性, 肺穿刺物抗酸杆菌阴性。疟原虫RDT特异性抗原检查阴性; 血涂片查见疟原虫 (未分型)。诊断为: 疟疾, 肺部感染。给予青蒿琥酯、伯氨喹抗疟治疗, 输液、头孢呋辛防治细菌感染, 患者症状好转, 复查血片疟原虫阴性。

2.2 实验室检查结果

血涂片镜检检查见疟原虫, 受感染红细胞大小正常或稍涨大, 呈伞矢状或边缘呈锯齿状, 薛氏点粗大明显, 可见滋养体、裂殖体和配子体, 形态特点与卵形疟原虫相符, 见图1。疟疾RDT测试条检测显示1条质控条带, 结果判为阴性。提取患者血样核酸, 巢式PCR扩增第一轮反应获得约787 bp的卵形疟原虫特异性DNA条带, 第二轮扩增反应的特异性DNA条带大小约245 bp, 见图2。结果提示: 卵形疟原虫感染, 基因分型为卵形疟原虫wallikeri亚种。

2.3 流行病学调查结果

患者曾于2013年7月至2014年1月被公司派往非洲几内亚工作, 当地为疟疾的高度流行区, 同事多有疟疾史。在此期间, 患者曾3次疟疾发作, 最近一次发病时间为2013年12月, 在当地采用青蒿素类药物治疗5 d, 症状好转。2014年1月20日患者回国, 3月3日发病。除患者本人外, 家中其他人员均未发病。

3 讨论

卵形疟原虫是1922年由Stephens描述和命名, 与其他3种人体疟原虫相比, 卵形疟地理分布局限, 感染人数少; 目前, 卵形疟主要分布在非洲中部、西部以及西太平洋的一些岛屿国家 (如巴比亚新几

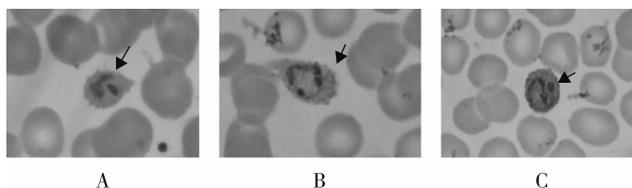


图1 显微镜下卵形疟原虫形态 (×1 000)

A: 滋养体, B: 裂殖体, C: 雌配子体

Fig. 1 Blood smears with *P. ovale* infection under microscope (×1 000)

A: Trophozoite, B: Shizont, C: Macrogamete

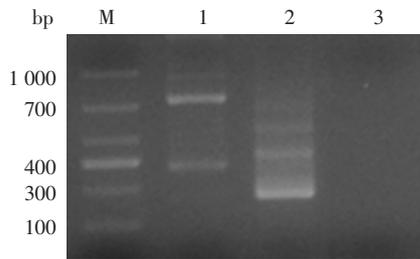


图2 卵形疟原虫亚种巢式PCR鉴定结果

M: DNA标志物, 1: 第一轮扩增反应, 2: 第二轮扩增反应,
3: 阴性对照

Fig. 2 Identification of the subtype of *P. ovale* with nest PCR
M: DNA marker, 1: The first round PCR, 2: The second round PCR,
3: Negative control

内亚、菲律宾)^[3]。新中国成立后, 有研究者在云南、海南、广东和贵州地区发现有卵形疟病例, 但总数不足50例^[4]。此后, 国内未再有本地人感染卵形疟原虫的报道。近年来, 随着国内涉外企业外派到非洲、东南亚等疟疾高发地区从事贸易或劳务的员工不断增多, 在国外感染的输入性疟疾病例数呈现上升趋势^[5]。在云南、浙江、河南、江苏等份均有输入性卵形疟的病例报道^[6-9]。与恶性疟原虫和间日疟原虫相比, 人体感染卵形疟原虫后, 外周血的原虫密度较低^[3]; 薄血片检查难免漏检, 而厚血片中卵形疟形态和间日疟原虫容易混淆。本例患者的外周血原虫感染率为0.01%, 薄血片中的卵形疟原虫的形态比较典型, 具有以下特点: (1) 感染红细胞大小正常或稍涨大, 感染红细胞形态可呈卵圆形、梭形、三角形, 边缘呈伞状或锯齿状; (2) 薛氏点较间日疟原虫粗大, 在原虫的不同发育期均比较明显; (3) 小滋养体胞浆粗厚, 大滋养体空泡不明显, 核较大, 疟色素呈棕黄色。值得一提的是, 采用RDT方法检测血液中的特异性抗原结果为阴性, 提示RDT方法检测卵形疟存在漏检的可能。国内外其他学者采用不同厂家的疟疾快速测试条检测卵形疟原虫感染也观察到类似的现象^[7,8,10]。建议对于来自非洲、东南亚等疟疾高发区的“三热病人”, 即使RDT筛查结果阴性, 仍须镜检复查, 在疟原虫形态不典型的情形下, 可以采用核酸诊断技术加以区分^[11]。

人体感染卵形疟原虫后, 症状较温和, 发冷、发热、出汗症状明显而不剧烈, 一般隔日发作^[4]。尽管多数的卵形疟感染者临床症状比恶性疟或间日疟轻微, 但如果得不到及时治疗, 病情反复迁延, 可出现严重的并发症^[12]。本例患者出现的脾肿大、蛋白尿及

双肺病变的征象, 与患者多次疟疾发作引起内脏器官的损伤有关。疟原虫感染人体后, 临床表现复杂多变, 部分患者的症状不典型, 容易引起漏诊、误诊。本例卵形疟患者的发热不显著, 无隔日发作的特点, 血红蛋白和血小板正常, 而肺部影像显示病变明显, C反应蛋白增高, 临床曾被初诊为“肺部感染性疾病”。但痰培养阴性, 肺穿刺物抗酸杆菌阴性, 结合外周血观察到疟原虫, 确诊为卵形疟。

卵形疟和间日疟一样存在复发的情况, 治疗时不仅须采用症状控制类药物 (如青蒿素类、氯喹等), 尚须使用抗复发药物伯氨喹, 以杀灭肝脏中残留的子孢子。该患者在国外罹患疟疾, 曾用青蒿素类药物治疗5 d, 病情好转; 回国后4个月再次发作, 可能是治疗不彻底而引起的卵形疟复发^[11]。这种复发病例, 尤其是长潜伏期复发病例, 在临床上难于被发现; 患者得不到及时治疗, 反复发作增加了蚊媒叮咬传病的机会和疫情扩散的风险^[13-14]。在国内部分省份, 由于治疗不彻底而引起的疟疾复发曾经是当地疫情波动的一个重要影响因素^[15-16]。因此, 在疟疾消除的实际工作中, 要加强对于输入性间日疟或卵形疟病例的规范治疗以及休止期抗复发治疗措施的落实。

综上所述, 在消除疟疾的进程中, 不断输入的疟疾病例, 给当前的疟疾防治工作带来新的问题, 广大医务工作者须提高对于新出现的疟疾种类的认识和诊治水平。同时, 对涉外企业的员工加强宣传教育, 对从疟疾高发区的归国人员实施主动监测和及时排查。

参 考 文 献

- [1] 高世同, 谢旭, 李晓恒, 等. 深圳市2007~2010疟疾流行特征分析[J]. 中国热带医学, 2012, 12(5): 562-564.
- [2] Oguike MC, Betson M, Burke M, et al. *Plasmodium ovale curtisi* and *Plasmodium ovale wallikeri* circulate simultaneously in African communities[J]. Int J Parasitol, 2011, 41(6): 677-683.
- [3] Collins WE, Jeffery GM. *Plasmodium ovale*: parasite and disease[J]. Clin Microbiol Rev, 2005, 18(3): 570-581.
- [4] 郑祖佑. 云南疟疾特征与防治[M]. 1版. 昆明: 云南科技出版社, 2003: 35.
- [5] 夏志贵, 丰俊, 周水森. 2012年全国疟疾疫情分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2013, 31(6): 413-418.
- [6] 王加志, 尹雪梅, 王继琼, 等. 输入性卵形疟1例[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2014, 32(1): 80.
- [7] 姚立农, 张玲玲, 阮卫, 等. 浙江省5例输入性疟疾误诊病例的病原学诊断分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2013, 31(3):

(下转第 368 页)