

文章编号: 1000-7423(2012)-04-0321-04

【综述】

PCR 及其衍生技术在广州管圆线虫检测中的应用

崔立云¹, 张霄霄¹, 李锐华², 杨毅梅^{1*}

【摘要】 广州管圆线虫病 (angiostrongyliasis) 是一种人兽共患寄生虫病, 是中国最具潜在危险的食源性寄生虫病之一。本文综述了 PCR 及其衍生技术在广州管圆线虫检测中的应用进展。

【关键词】 PCR; PCR 衍生技术; 广州管圆线虫

中图分类号: R383.1 文献标识码: A

Application of PCR and PCR-derived Technologies in the Detection of *Angiostrongylus cantonensis*

CUI Li-yun¹, ZHANG Xiao-xiao¹, LI Kun-hua², YANG Yi-mei^{1*}

(1 Department of Parasitology, College of Basic Medical Science, Dali University, Dali 671000, China;

2 College of Mathematics and Computer, Dali University, Dali 671000, China)

【Abstract】 Angiostrongyliasis is a zoonotic disease and has become one of the potentially threatening food-borne parasitic infections in China. This article reviews the advances in the application of PCR and PCR-derived techniques in detection of *Angiostrongylus cantonensis*.

【Key words】 PCR; PCR-derived technologies; *Angiostrongylus cantonensis*

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81160363)

* Corresponding author, E-mail: yym0408@163.com

广州管圆线虫病是由广州管圆线虫 (*Angiostrongylus cantonensis*) 幼虫引起的一种人兽共患寄生虫病。人感染后常表现为嗜酸粒细胞增多性脑膜炎或脑膜脑炎, 严重感染可危及生命。2002 年, WHO 将广州管圆线虫病作为新发食源性寄生虫病提出警告^[1]。2004 年, 该病被列为中国新发传染病。

病原学检测为广州管圆线虫病的确诊依据, 但由于患者脑脊液中虫体数量少、分布密度低, 以及虫体移行等原因, 虫体的检出率极低。用酶消化法和直接研磨法检测螺体内的感染期幼虫需要专业的检测人员, 且花费时间较长, 不适合现场大规模普查。免疫学诊断方法是检测广州管圆线虫病最常用的方法, 其中 ELISA 是一种较为成熟的检测方法, 具有较好的敏感性和特异性, 但该方法不能鉴别现症和既往感染, 假阳性、假阴性和交叉反应也经常发生。随着免疫学技术的发展, 纯化抗原和基因工程抗原也广泛应用于广州管圆线虫病的诊断, 但抗原的纯化需要足够的虫源, 操作比较复杂, 且目前对广州管圆线虫病的致病机制的认识有限, 限制了该方法的应用。其他一些免疫学

方法则存在特异性低和敏感性差的缺点^[2]。

PCR 技术是近年来迅速发展起来的分子生物学检测技术, 已广泛地应用于寄生虫学与寄生虫病研究领域。为此笔者对 PCR 技术及以 PCR 技术为基础的分子生物学检测和鉴定方法在广州管圆线虫研究中的应用作一综述。

1 广州管圆线虫的检测

1.1 PCR 技术 PCR 技术是一种体外快速扩增特定基因或 DNA 序列的方法。目前, 该技术已广泛应用于病原体的检测、基因突变检测和疾病诊断等领域。广州管圆线虫的核糖体 RNA (rRNA) 是细胞中含量最多的一种 RNA^[3], 其编码基因通常为多拷贝基因, 结构保守, 具有较高的 PCR 诊断价值。

朱慧儿等^[4]根据广州管圆线虫成虫 rRNA 大亚基基因 (rrL) 部分序列设计引物, 对其成虫 DNA 进行扩增, 扩增产物与预期大小一致, 测序结果也证实与已知广州管圆线虫的基因序列完全一致。表明该技术可用于广州管圆线虫病的诊断。魏纪玲等^[5]利用引物 AC(P1) 和 AC (P2) 对福寿螺体内的广州管圆线虫 III 期幼虫的 rrL 部分序列进行 PCR 扩增, 均扩增出一条大小为 421 bp 的片段, 经测序分析, 结果与已知广州管圆线虫目的基因序列完全一致, 而对照组和阴性福寿螺则无特异

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 81160363)

作者单位: 1 大理学院基础医学院寄生虫学教研室, 大理 671000

2 大理学院数学与计算机学院, 大理 671000

* 通讯作者, E-mail: yym0408@163.com

性条带出现。将广州管圆线虫感染的福寿螺 DNA 模板进行 10 倍系列稀释后进行扩增, 结果模板浓度在 1 ng/ μ l 时仍有微弱条带出现, 从而证实了 PCR 技术在检测广州管圆线虫中具有较高的特异性和灵敏度。杨发柱等^[3]根据广州管圆线虫 rL 部分序列设计了 1 对引物, 分别对广州管圆线虫成虫、Ⅲ期幼虫、I 期幼虫和虫卵的 DNA 进行 PCR 扩增, 也扩增出大小约为 400bp 的特异性产物。Fontanilla 等^[6]应用 PCR 技术对广州管圆线虫Ⅲ期幼虫 rRNA 小亚基(rS)的 5'端进行研究后发现, 该基因序列是鉴定广州管圆线虫的一个潜在标记, 同时也证实 PCR 技术是一种快速、准确鉴定广州管圆线虫的分子生物学方法。

1.2 实时定量 PCR (real-time quantitative PCR, qRT-PCR) 技术 该技术是在常规 PCR 技术的基础上发展起来的高灵敏度核酸定量技术。与常规 PCR 相比, qRT-PCR 实现了从定性到定量的飞跃, 有效解决 PCR 污染问题, 具有特异性强、重复性好、灵敏度高、定量准确和速度快等优点。目前, 该技术已应用于病原体检测、肿瘤免疫、基因表达和基因组变异等方面。

魏纪玲等^[7]根据广州管圆线虫 rL 保守区域设计了 TaqMan 探针及其引物, 分别对广州管圆线虫、异尖线虫 (*Anisakis*)、毛圆线虫 (*Trichostrongylus*)、棘头虫 (*Macracanthorhynchus*) 和河蚌内线虫未知种的 DNA 进行 TaqMan 荧光 PCR 分析, 结果显示, 仅广州管圆线虫感染的福寿螺有较好的荧光值, 其他均无, 且模板为 1 pg/ μ l 时即能得到有效的扩增曲线, 证实该方法具有耗时短、灵敏度高和特异性强等特点, 明显优于常规 PCR 检测方法。Qvarnstrom 等^[8]根据广州管圆线虫 rDNA 的内转录间隔区 1 (ITS-1)基因序列设计引物和 TaqMan 探针, 分别对广州管圆线虫阳性和阴性的蛞蝓提取 DNA 并进行 qRT-PCR 分析, 结果显示仅阳性的蛞蝓出现特异性扩增反应, 认为 qRT-PCR 在鉴定广州管圆线虫中优于常规 PCR, 且不需要 DNA 测序。

1.3 环介导等温 DNA 扩增 (loop-mediated isothermal DNA amplification, LAMP) 技术 LAMP 是由日本研究者 Notomi 于 2000 年发明的一种新型的体外扩增 DNA 的方法, 其原理是通过靶序列的 6 个特殊区域设计 2 对特殊的引物, 在等温条件下, 利用链置换反应和环介导进行的体外 DNA 扩增。LAMP 可产生肉眼可见的副产物白色焦磷酸酶沉淀。该技术不需要昂贵的仪器设备, 除了保留 PCR 技术的优点外, 还具有费用低廉、准确、适合基层和现场使用等优点, 目前已广泛应用于病原微生物的检测和传染性疾病的诊断^[9]。

Liu 等^[10]应用该技术, 根据广州管圆线虫 rDNA 的 ITS-1 序列设计引物, 对广州管圆线虫和对照组的简单

异尖线虫 (*Anisakis simplex*)、毛首鞭形线虫 (*Trichuris trichiura*)、犬弓首线虫 (*Toxocara canis*)、旋毛虫 (*Trichinella spiralis*) 和似蚓蛔线虫 (*Ascaris lumbricoides*) 的 DNA 进行扩增。特异性试验表明, 仅广州管圆线虫出现扩增条带, 对照组无条带产生。灵敏度试验表明, LAMP 是传统 PCR 的 10 倍。该技术为广州管圆线虫的检测提供了快速、灵敏、简便的方法。Chen 等^[11]应用同样方法, 根据广州管圆线虫 18s rRNA 序列设计引物, 结果模板为 1 fg/ μ l 时仍可扩增出特异性条带, 且与其他寄生虫无交叉反应, 验证了敏感性和特异性。作为 PCR 技术的最新进展^[12], 该技术在广州管圆线虫中的研究还较少, 有待进一步的发展。

1.4 其他相关 PCR 技术 Chye 等^[13]分别用免疫 PCR (Immuno-PCR) 法和双抗体夹心 ELISA 法检测广州管圆线虫抗原, 结果表明前者的敏感性是后者的 100~1 000 倍, 虽然两者特异性相似, 但 Immuno-PCR 在广州管圆线虫病的特异性诊断方面还有待于进一步研究。为了建立一种更为有效的监测广州管圆线虫宿主的方法, 张仪等^[14]根据广州管圆线虫Ⅲ期幼虫 cDNA 特异性片段基因序列 (登录号为 ACU17581) 设计引物, 分别对感染广州管圆线虫Ⅲ期幼虫的大瓶螺总 RNA, 以及阴性大瓶螺总 RNA 和Ⅲ期幼虫总 RNA 的混合模板进行逆转录 PCR (RT-PCR) 扩增, 结果均在 400 bp 处出现特异性条带, 因而认为该技术可用于检测大瓶螺内的广州管圆线虫。陈代雄等^[15]根据广州管圆线虫成虫特异性肌蛋白-1 基因的序列设计引物, 对其成虫的 DNA 进行半嵌套式 PCR 扩增, 扩增产物经测序后证实与广州管圆线虫基因序列完全一致。但同时也发现, 用相同的方法对感染小鼠的全血、血清和脑脊液进行检测时, 未能扩增出特异性的 DNA 条带, 可能与在血液和脑脊液中幼虫虫体脱落细胞中的 DNA 含量较少, 以及肌蛋白-1 基因在单个细胞的拷贝数不高有关, 相信随着广州管圆线虫基因组测序工作的开展可以解决扩增靶标的选择问题。危芙蓉等^[16]根据广州管圆线虫 18s rDNA 基因序列及小管福寿螺 16s rDNA 的基因序列设计引物, 以阳性和阴性小管福寿螺 DNA 为模板进行多重 PCR 扩增, 分别扩增出约 550 bp 和 405 bp 的片段, 经测序后认为均为目的条带。同时进行了敏感性和特异性实验, 最后结论认为建立了检测小管福寿螺体内广州管圆线虫的多重 PCR 方法。但实验中也发现由于多重 PCR 具有极高的敏感性, 因而容易导致假阳性的发生。

2 分子遗传标志

广州管圆线虫的自然疫源地存在地理间隔,因此可能存在遗传多态性。但目前有关广州管圆线虫遗传多态性的报道较少。rDNA 由编码小亚基 rRNA (如 18s) 和大亚基 rRNA (如 28s) 的基因串联而成,2 个大小亚基之间存在 ITS-1、ITS-2 和 5.8s rRNA 基因。ITS 区域受外界环境因素的影响较小,进化速度较快,是系统发育分析的重要分子标记^[17]。线粒体 DNA (mtDNA) 为母系遗传,与核 DNA 的复制相对独立且无内含子,其基因组的某些区域,如细胞色素 C 氧化酶 3 个亚基的编码基因 (CO I、CO II 和 CO III) 的序列进化速率相对较快,也是一种理想的分子遗传标记。魏纪玲^[7]应用 PCR 方法对收集于福建省长乐地区、广州医学院、上海疾病预防控制中心和广西疾病预防控制中心经形态学初步鉴定为管圆线虫的 rDNA ITS-2 的特异序列进行鉴定,结果所有样品均成功扩增出约 250 bp 的条带,与预期目的片段长度相符,经测序和序列比对,其与已知序列同源性均高于 98.6%,确认为广州管圆线虫。但同时也指出该技术只是在种及种内水平鉴定的辅助工具,只有与传统形态学、细胞学、生态学和生物化学等方法结合起来,才能更准确地对线虫进行分类、鉴定和其他方面的研究。何汉江^[18]对中国 5 个地区广州管圆线虫的 ITS-2 和 CO I 序列进行了 PCR 扩增,并对扩增产物进行了测序分析,结果表明同一地区的虫株序列完全一致;广州、福州和南宁分离株的 ITS-2 和 CO I 基因片段序列一致,海口和温州分离株的 ITS-2 和 CO I 序列略有差异,证实中国南方地区存在不同的广州管圆线虫地域分离株。该实验中还发现 CO I 的变异幅度较大,各地域分离株之间相差 11~15 个碱基,能反映出广州管圆线虫的遗传多态性,可作为鉴别该虫不同分离株的遗传标记,ITS-2 差异较小,各地域分离株之间相差 1~2 个碱基,未显示出遗传距离。故认为 ITS-2 虽然是检测寄生虫基因多态性的一个重要基因^[19,20],但就广州管圆线虫而言不能明显反映虫株的多态性。Caldeira 等^[21]运用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 技术分别扩增广州管圆线虫、哥斯达黎加管圆线虫 (*A. costaricensis*) 和豚居管圆线虫 (*A. vasorum*) 的 rDNA ITS-2 和 mtDNA CO I,并对扩增产物进行酶切,结果显示,该方法可区分和鉴别上述 3 种线虫。Eamsobhana 等^[22]应用 PCR 技术对采自中国、美国夏威夷和泰国的广州管圆线虫分离株的 CO I 序列进行扩增,经测序及构建系统发生树后,认为中国和夏威夷的广州管圆线虫为同一地域分离株,泰国株自为一株。

3 结语与展望

PCR 技术是公认的敏感和特异的检测方法,对感染性疾病具有较好的诊断价值^[3],其操作简便、快速,已广泛应用于病原体的鉴定与检测。特别是近年来,随着以 PCR 技术为基础的新技术的出现,检测的敏感性与特异性不断提高^[4,11,16]。但如同其他技术一样,该技术在广州管圆线虫的研究应用中也存在一定的不足。例如,传统 PCR 技术在检测中间宿主时由于软体动物富含多糖、脂类和蛋白质,且容易受外界生物感染,而易导致 PCR 假阳性的发生;多重 PCR 技术虽然敏感性极高,但更容易导致假阳性的发生,而且工作量大,成本高;qRT-PCR 方法成本较高,操作要求严格,虽适合实验室检测,但不适合现场的大批量检测;LAMP 技术虽简单快捷,但引物的设计较为复杂等。尽管如此,随着分子生物学技术的不断发展和实验操作流程的不断完善与提高,PCR 及其衍生技术在广州管圆线虫的检测、鉴定及防治中将发挥日益重要的作用。

参 考 文 献

- [1] Yang YM. Medical Parasitology[M]. Kunming: Yunnan University Publishing House, 2010: 80-84. (in Chinese)
(杨毅梅主编. 医学寄生虫学[M]. 昆明: 云南大学出版社, 2010: 80-84.)
- [2] Wang H, Shen LJ, Li W. Research progress on immunodiagnosis of angiostrongyliasis cantonensis[J]. Int J Med Parasit Dis, 2011, 38 (2): 113-117. (in Chinese)
(王涵, 申丽洁, 李伟. 广州管圆线虫病免疫诊断研究进展[J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2011, 38(2): 113-117.)
- [3] Yang FZ, Lin YY, Zhang SY, et al. Detection on specific subunit rRNA gene of *Angiostrongylus cantonensis* by PCR[J]. Chin J Zoonoses, 2010, 26(11): 1045-1047. (in Chinese)
(杨发柱, 林耀莹, 张山鹰, 等. 广州管圆线虫特异性基因的检测[J]. 中国人兽共患病学报, 2010, 26(11): 1045-1047.)
- [4] Zhu HE, Zhou JH, Li YM, et al. Amplification of large subunit ribosomal RNA gene of *Angiostrongylus cantonensis* [J]. J Trop Med, 2006, 6(4): 414-415. (in Chinese)
(朱慧儿, 周君华, 李明月, 等. 广州管圆线虫特异性 rRNA 基因的 PCR 扩增[J]. 热带医学杂志, 2006, 6(4): 414-415.)
- [5] Wei JL, Zhou WC, Shao BY, et al. Establishment of a PCR assay for detection of snails infected with *A. cantonensis* [J]. Chin J Zoonoses, 2008, 24(12): 1136-1140. (in Chinese)
(魏纪玲, 周卫川, 邵碧英, 等. PCR 检测螺类感染广州管圆线虫方法的建立与应用[J]. 中国人兽共患病学报, 2008, 24(12): 1136-1140.)
- [6] Fontanilla IKC, Wade CM. The small subunit (SSU) ribosomal (r) RNA as a genetic marker for identifying infective 3rd juvenile stage *Angiostrongylus cantonensis* [J]. Acta Trop, 2008, 105(2): 181-186.
- [7] Wei JL. Study on the detection of *Angiostrongylus cantonensis* in snails by PCR[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2009. (in Chinese)
(魏纪玲. PCR 检测螺类感染广州管圆线虫方法的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2009.)
- [8] Qvarnstrom Y, da Silva AC, Teem JL, et al. Improved molecular detection of *Angiostrongylus cantonensis* in mollusks and other environmental samples with a species-specific internal transcribed spacer 1-based TaqMan assay[J]. Appl Environ Microbiol, 2010,

- 76(15): 5287-5289.
- [9] Guo JC, Yang LT, Zhang DB. LAMP method and its application in nucleic acid analysis[J]. Int Med Parasit Dis, 2008, 35(4): 181-185. (in Chinese)
(郭金超, 杨立桃, 张大军. 环介导等温扩增技术及其应用[J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2008, 35(4): 181-185.)
- [10] Liu CY, Song HQ, Zhang RL, et al. Specific detection of *Angiostrongylus cantonensis* in the snail *Achatina fulica* using a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay[J]. Mol Cell Probes, 2011, 25(4): 164-167.
- [11] Chen R, Tong QB, Zhang Y, et al. Loop-mediated isothermal amplification; rapid detection of *Angiostrongylus cantonensis* infection in *Pomacea canaliculata*[J]. Parasite Vectors, 2011, 4: 204.
- [12] Yan C, Zhao GH, Zhu XQ. The application of PCR technology in parasitology[J]. Int Med Parasit Dis, 2008, 35(5): 231-236. (in Chinese)
(颜超, 赵光辉, 朱兴全. PCR 技术在寄生虫学中的应用[J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2008, 35(5): 231-236.)
- [13] Chye SM, Lin SR, Chen YL, et al. Immuno-PCR for detection of antigen to *Angiostrongylus cantonensis* circulating fifth stage worms[J]. Clin Chem, 2004, 50(1): 51-57.
- [14] Zhang Y, Zhou XN, Liu HX, et al. Development of PCR assay for detection of *Angiostrongylus cantonensis* in *Pomacea canaliculata*[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2006, 24(5): 353-355. (in Chinese)
(张仪, 周晓农, 刘和香, 等. PCR 检测大瓶螺体内广州管圆线虫幼虫方法的建立[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2006, 24(5): 353-355.)
- [15] Chen DX, Shen HX, Li XM, et al. Observation of *Angiostrongylus cantonensis* infection and amplification of specific myoprotein-1 gene of adult[J]. J Modern Clin Med Bioeng, 2003, 9(3): 244-247. (in Chinese)
(陈代雄, 沈浩贤, 李小敏, 等. 广州管圆线虫感染的观察与成虫特异性肌蛋白-1 基因的扩增 [J]. 现代临床医学生物工程杂志, 2003, 9(3): 244-247.)
- [16] Wei FR, Liu HX, Lv S, et al. Multiplex PCR assay for the detection of *Angiostrongylus cantonensis* larvae in *Pomacea canaliculata* [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2010, 28(5): 355-358. (in Chinese)
(危芙蓉, 刘和香, 吕山, 等. 用多重 PCR 技术检测小管福寿螺体内广州管圆线虫幼虫[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2010, 28(5): 355-358.)
- [17] Chu KH, Li CP, Ho HY. The first internal transcribed spacer (ITS-1) of ribosomal DNA as a molecular marker for phylogenetic analyses in crustacea[J]. Mar Biotechnol, 2001, 3(4): 355-361.
- [18] He HJ. Basic research on angiostrongyliasis control and DNA vaccine for leptospirosis [D]. Guangzhou: Sun Yat-Sen University, 2009. (in Chinese)
(何汉江. 广州管圆线虫病防治的相关基础研究及钩端螺旋体病 DNA 疫苗的研究[D]. 广州: 中山大学, 2009.)
- [19] Zhou BJ, Yang BB, Doanh PN, et al. Sequence analyses of ITS2 and CO I genes of *Paragonimus proliferus* obtained in Yunnan Province, China and their similarities with those of *P. hokuoensis* [J]. Parasitol Res, 2008, 102(6): 1379-1383.
- [20] Zhu XQ, Podolska M, Liu JS, et al. Identification of anisakid nematodes with zoonotic potential from Europe and China by single-strand conformation polymorphism analysis of nuclear ribosomal DNA[J]. Parasitol Res, 2007, 101(6): 1703-1707.
- [21] Caldeira RL, Carvalho OS, Mendonça CL, et al. Molecular differentiation of *Angiostrongylus costaricensis*, *A. cantonensis* and *A. vasorum* by polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2003, 98(8): 1039-1043.
- [22] Eamsobhana P, Lim PE, Solano G, et al. Molecular differentiation of *Angiostrongylus taxa* (Nematoda: Angiostrongylidae) by cytochrome C oxidase subunit I (CO I) gene sequences[J]. Acta Trop, 2010, 116(2): 152-156.
(收稿日期: 2011-12-14 编辑: 瞿麟平)

文章编号: 1000-7423(2012)-04-0324-02

【病例报告】

北京市 1 例输入性恶性疟死亡病例报告

黄儒婷¹, 杨军勇¹, 张建军¹, 何占英², 王小梅²

中图分类号: R531.32 文献标识码: D

患者, 男, 48 岁, 河北省唐山市人。2010 年 11 月赴尼日利亚务工, 2011 年 12 月 5 日返回唐山, 路途中已出现不规则发热, 最高温度 39.8℃, 间断发热。患者先后就诊于当地小诊所和 2 所医院, 均按“流感”输液治疗, 效果不佳 (具体用药不明)。12 月 11 日因发热 7 d (体温 37.7~39.8℃), 尿黄 5 d, 腹痛、腹泻和头痛 2 d, 于北京市某传染病医院就诊。入院查体: 体温 38℃, 血压 110/70 mm Hg, 心率 112 次/min, 呼吸 23 次/min, 急性面容, 神智清楚, 皮肤和巩膜中重度黄染; 腹部饱满, 全腹肌紧张, 左侧腹部压痛 (+), 移动性浊音可疑阳性, 肝区和肾区扣痛 (+)。血常规: 白细胞 6.4×10⁹/L, 血小板 10×10⁹/L; 肝功能: 丙氨酸转氨酶 (ALT) 78 U/L, 天冬氨酸转氨酶 (AST) 119 U/L, 总蛋白 56.2 g/L, 白蛋白 33.2 g/L, 总胆红素 112.7 μmol/L, 结合胆红素 90.8 μmol/L, 尿素 26.7 mmol/L, 尿肌酐 387 μmol/L; 便常规: 潜血弱阳性, 白细胞 15~20/hp,

红细胞 6~8/hp。诊断为“发热、腹痛待查, 肝功能异常、肾功能不全, 流行性出血热不除外”, 收治入中毒性肝病科, 给予保肝、退黄、降酶和拉氧头孢抗感染治疗。

12 月 12 日会诊, 考虑患者长期在国外的野外工作经历, 并有发热、肝损伤、肾损害情况, 但血细胞增高不明显, 血小板未见明显下降, 周身未见出血, 与流行性出血热不符, 不能排除疟疾, 即转入感染科继续治疗。入院后尿量<100 ml, 经股静脉穿刺置管术、锁骨下穿刺置管术行血液净化治疗, 给予蒿甲醚注射液 (1 ml, 80 mg/支), 肌肉注射, 首剂 2 ml, 第 2 天起 1 ml/d, 配合美罗培南 (1 g), 肌肉注射, 2 g/d 抗感染。

12 月 13 日凌晨, 患者出现癫痫样抽搐 1 次。7 点 10 分, 患者去世, 临床死亡原因为“发热待查, 脑型疟疾? 黄热病? 呼吸循环衰竭”。将 12 月 12 日采集的血样送至北京市疾病预防控制中心。用巢式 PCR 检测疟原虫 ssRNA 基因和 RT-PCR 方法检测黄热病病毒包膜 E 蛋白, 结果出现 205 bp 恶性疟疾

作者单位: 1 北京市丰台区疾病预防控制中心, 北京 100071;
2 北京市疾病预防控制中心, 北京 100013