

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 633—2018

巴贝虫检测 虫种核酸鉴定法

Detection of *Babesia* spp.—Identification of species by nucleic acid method

2018 - 09 - 26 发布

2019 - 04 - 01 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家卫生标准委员会寄生虫病标准专业委员会提出。

本标准起草单位：中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所、复旦大学、第二军医大学。

本标准起草人：刘琴、周晓农、张仪、胡薇、陈家旭、朱淮民。

巴贝虫检测 虫种核酸鉴定法

1 范围

本标准规定了检测巴贝虫的虫种核酸鉴定法。
本标准适用于各级疾病预防控制机构和医疗机构对巴贝虫的检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

WS/T 564 巴贝虫病诊断

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

巴贝虫 *Babesia* spp.

一类寄生于人和脊椎动物红细胞内的原虫，可引起巴贝虫病（babesiosis）。感染人体的巴贝虫种类主要有田鼠巴贝虫（*Babesia microti*）、分歧巴贝虫（*B. divergens*）、邓肯巴贝虫（*B. duncani*）和猎户巴贝虫（*B. venatorum*）等（参见附录A）。

4 仪器和器材

4.1 高速离心机

最大相对离心力为 12 000×g。

4.2 涡旋仪

无级调速范围为 200 r/min~3 000 r/min。

4.3 PCR 扩增仪

温度范围为 4℃~99℃，温度精确为 0.1℃，热盖为 105℃。

4.4 微波炉

4.5 电泳仪

电压为 5 V~5 000 V，电流为 1 mA~500 mA。

4.6 凝胶成像系统

镜头分辨率(H×V)为1360×1024,光源为透射UV。

5 试剂和材料

5.1 分子生物学试剂

Taq 酶、脱氧核糖核苷三磷酸(dNTPs)、分子质量指示物及核酸提取试剂盒选用商品化产品。

5.2 化学试剂

Tris-乙酸电泳缓冲液(TAE)、琼脂糖凝胶、6×加样缓冲液(参见附录B)。

5.3 引物

扩增巴贝虫18S核糖体RNA(18S rRNA)基因和转录间隔区(ITS)基因的特异性引物(见附录C)。

5.4 参照材料

阳性对照为田鼠巴贝虫 peabody mjr 株基因组DNA。

空白对照为去离子灭菌水。

阴性对照为健康人全血基因组DNA。

6 检测步骤

6.1 样品

样品为临床诊断或疑似巴贝虫病病例抗凝血样品。

6.2 虫种核酸鉴定

6.2.1 核酸提取

基因组DNA提取采用商品化全血DNA提取试剂盒(参见附录B)。

6.2.2 18S rRNA 基因扩增

见附录C。

6.2.3 ITS 基因扩增

见附录C。

6.2.4 结果判定

6.2.4.1 电泳分析

6.2.4.1.1 电泳

取第二轮PCR产物 5 μ L与 1 μ L 6 \times 加样缓冲液混合,加样于含溴化乙锭替代物的 1.0%琼脂糖凝胶中,在1 \times TAE 缓冲液中,5 V/cm 电泳约 40 min,当溴酚蓝到达底部时停止电泳,用凝胶成像系统或紫外分析仪分析。

6.2.4.1.2 PCR 结果判断

6.2.4.1.2.1 PCR 扩增巴贝虫 18S rRNA 基因,出现大小为 400 bp 左右特异性的扩增片段,空白对照和阴性对照未出现条带,PCR 结果阳性。PCR 扩增巴贝虫 18S rRNA 基因,未出现大小为 400 bp 左右特异性的扩增片段,空白对照和阴性对照未出现条带,PCR 结果阴性。

6.2.4.1.2.2 PCR 扩增巴贝虫 ITS 基因,出现大小在 700 bp~2 100 bp 的特异性的扩增片段,空白对照和阴性对照未出现条带,PCR 结果阳性。PCR 扩增巴贝虫 ITS 基因,未出现特异性的扩增片段,空白对照和阴性对照未出现条带,PCR 结果阴性。

6.2.4.2 测序分析

阳性 PCR 扩增产物进行双向测序,将序列进行 BLAST 比对分析(见附录 C)。

6.2.4.3 虫种鉴定

根据PCR扩增产物电泳结果与测序结果分析,综合判定虫种种类(见附录C)。

附 录 A
(资料性附录)
病原生物学

A.1 分类

巴贝虫 (*Babesia* spp.) 属于顶复门 (Apicomplexa)、孢子虫纲 (Sporozoa)、梨形虫亚纲 (Piroplasmata)、梨形虫目 (Piroplasmida)、巴贝虫科 (Babesiidae) 的巴贝虫属 (*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。在100多种巴贝虫中,既往已知可以感染人的巴贝虫种类主要有:田鼠巴贝虫(*B. microti*)、分歧巴贝虫 (*B. divergens*)、邓肯巴贝虫 (*B. duncani*, 也称为WA1) 和猎户巴贝虫 (*B. venatorum*, 也被称为EU1) 等。不同巴贝虫虫种引起人体临床症状的比较见表A.1。

A.2 分布

本病呈地方性流行。

在美国,巴贝虫病病例主要发现于马萨诸塞岛、纽约州、康涅狄格岛、加利福尼亚州以及罗得岛。在欧洲,法国、葡萄牙、意大利、波兰、挪威等地均有人巴贝虫病病例发生。另外,在埃及、墨西哥、澳大利亚、日本、韩国、巴基斯坦及南非也均有人巴贝虫病病例报道。

在我国云南、河南、新疆、山东、陕西、浙江、江苏、广西、福建及台湾、香港地区等地均有人巴贝虫病病例报道。

表 A.1 不同巴贝虫虫种引起人体临床症状的比较

虫种	地理分布	媒介名称	潜伏期	临床特征	其他
田鼠巴贝虫 (<i>B. microti</i>)	欧洲、美国、 日本、中国、 埃及等	肩突硬蜱、 卵形硬蜱、 全沟硬蜱、 丹敏硬蜱	1周~6周, 甚至3 个月以上	大多数患者症状比较轻微, 只出现一过性的发热症状; 而重症患者出现疟疾样症状, 包括发热、寒战、肌肉疼痛、贫血、无力、肝脾肿大、溶血性贫血等	一般以50岁以上的老人易感
分歧巴贝虫 (<i>B. divergens</i>)	欧洲	篦子硬蜱	1周~3周	突然起病、血红蛋白尿、黄疸、休克样表现	脾脏切除和免疫缺陷者易感
邓肯巴贝虫 (<i>B. duncani</i>)	欧洲、美国 等	丹敏硬蜱、 肩突硬蜱	3周~2个月	发热、寒战、肌肉疼痛、贫血、无力、肝脾肿大、溶血性贫血, 持续数周或更长	脾脏切除患者易感; 易输血传播
猎户巴贝虫 (<i>B. venatorum</i>)	欧洲、中国 等	篦子硬蜱、 卵形硬蜱	不明确	大多数患者症状比较轻微, 只出现一过性的发热症状; 严重者表现贫血、血红蛋白尿、黄疸等症状	免疫功能低下者或者脾切除患者易感

附 录 B
(资料性附录)
试剂配制

B.1 试剂的配制

B.1.1 Tris-乙酸电泳缓冲液 (Tris- acetic acid buffer solution, TAE) 的配制

50× TAE 的配制: 三(羟甲基)氨基甲烷 (Tris 碱) 242 g, 冰乙酸 57.1 mL, 0.5 mol/L EDTA (pH 8.0) 100 mL, 加去离子灭菌水定容至 1 000 mL, 混匀 4℃保存备用。

B.1.2 1× TAE 使用液的配制

50× TAE 20 mL加蒸馏水定容至 1 000 mL, 混匀备用。

B.1.3 1.0%琼脂糖凝胶的配制

琼脂糖 1.0 g 加1× TAE 定容至 100 mL, 微波炉加热完全融化后, 溶液冷却至 60 ℃, 加 10 mg/mL 溴化乙锭替代物 5 μL (终浓度0.5 μg/mL), 轻轻混匀后, 制备凝胶。

B.1.4 6×加样缓冲液的配制

溴酚蓝 0.25 g, 蔗糖 40 g, 加蒸馏水至 100 mL。置于 4 ℃保存备用。

B.2 DNA的提取

取 100 μL血液样品, 用商品化的全血样品DNA提取试剂盒提取基因组DNA, 操作步骤按试剂盒说明书进行。

附 录 C
(规范性附录)
PCR 实验、测序结果分析及标准参考序列

C.1 PCR扩增引物序列

巴贝虫虫种鉴定引物见表C.1。

表 C.1 巴贝虫虫种鉴定引物

引物	引物名称	引物序列 ^a	片段大小 ^b	参考文献
18S rRNA	Bab 5	5' -AATTACCAATCTGACACAGG-3'	400 bp 左右	[3]
外侧引物	Bab 8	5' -TTTCGCAGTAGTTCGTCTTAACA-3'		
18S rRNA	Bab 6	5' -GACACAGGGAGGTAGTGACAAGA-3'		
内侧引物	Bab 7	5' -CCCAACTGCTCCTATTAACCATTAC-3'		
ITS	ITS-F3	5' -GGTGGTGCATGGCCG-3'	700 bp~2 100 bp	[4]
外侧引物	ITS-R3	5' -T(A/T)GCGCTCAATCCC-3'		
ITS	ITS-F4	5' -GAGAAGTCGTAACAAGGTTTCCG-3'		
内侧引物	ITS-R4	5' -GCTTCACTCGCCGTTACTAGG-3'		
^a 18S rRNA 基因引物序列和 PCR 反应引自 WS/T 564 。 ^b 不同虫种片段大小不同。				

C.2 引物配制

引物用去离子灭菌水配制成100 μmol/L储备液。然后取出一部分，加入相应体积的去离子灭菌水稀释成20 μmol/L的工作液备用。

C.3 18S rRNA PCR反应体系及反应条件

C.3.1 18S rRNA PCR第一轮反应

C.3.1.1 以引物Bab 5和Bab 8进行第一轮扩增，反应体系为 50 μL。

<i>Taq</i> 酶 (5 U/μL)	0.25 μL
10×PCR缓冲液(含15 mmol/L Mg ²⁺)	5 μL
25 mmol/L dNTPs	4 μL
20 μmol/L Bab 5	1.5 μL

20 μ mol/L Bab 8	1.5 μ L
基因组DNA模板（约70 ng）	2 μ L
去离子灭菌水	35.75 μ L
总计	50 μ L

PCR 反应需设立阳性、阴性和空白对照。

G. 3. 1. 2 PCR 条件

95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 45 s, 55 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 共35个循环; 72 $^{\circ}$ C 7 min; 4 $^{\circ}$ C ∞ 。

G. 3. 2 18S rRNA PCR第二轮反应

G. 3. 2. 1 取第一轮PCR产物2 μ L为模板, 以引物Bab 6和Bab 7进行第二轮扩增, 反应体系为 50 μ L。

<i>Taq</i> 酶 (5 U/ μ L)	0.25 μ L
10 \times PCR 缓冲液 (含 15 mmol/L Mg ²⁺)	5 μ L
25 mmol/L dNTPs	4 μ L
20 μ mol/L Bab6	1.5 μ L
20 μ mol/L Bab7	1.5 μ L
第一轮PCR产物	2 μ L
去离子灭菌水	35.75 μ L
总计	50 μ L

G. 3. 2. 2 PCR 条件

95 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 45 s, 55 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 共35个循环; 72 $^{\circ}$ C 7 min; 4 $^{\circ}$ C ∞ 。

G. 4 ITS PCR反应体系及反应条件

G. 4. 1 ITS PCR第一轮反应

G. 4. 1. 1 以引物ITS-F3和ITS-R3进行第一轮扩增, 反应体系为 50 μ L。

<i>Taq</i> 酶 (5 U/ μ L)	0.25 μ L
10 \times PCR 缓冲液(含15 mmol/L Mg ²⁺)	5 μ L
25 mmol/L dNTPs	4 μ L
20 μ mol/L ITS-F3	1.5 μ L
20 μ mol/L ITS-R3	1.5 μ L
基因组DNA模板（约70 ng）	2 μ L
去离子灭菌水	35.75 μ L
总计	50 μ L

PCR 反应需设立阳性、阴性和空白对照。

G. 4. 1. 2 PCR条件

95 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 50 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 2 min, 共35个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min; 4 $^{\circ}$ C ∞ 。

G. 4. 2 ITS PCR第二轮反应

G. 4. 2. 1 取第一轮PCR产物 2 μ L为模板, 以引物ITS-F4和ITS-R4进行第二轮扩增, 反应体系为 50 μ L。

<i>Taq</i> 酶 (5 U/μL)	0.25 μL
10×PCR缓冲液(含15 mmol/L Mg ²⁺)	5 μL
25 mmol/L dNTPs	4 μL
20 μmol/L ITS-F4	1.5 μL
20 μmol/L ITS-R4	1.5 μL
第一轮PCR产物	2 μL
去离子灭菌水	35.75 μL
总计	50 μL

C.4.2.2 PCR 条件

95 °C 5 min; 94 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 2 min, 共35个循环; 72 °C 10 min; 4 °C ∞。

注: PCR实验符合WS/T 230的规定。

C.5 测序结果分析

序列同源性分析利用Blastn (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome), 根据序列的相似度, 判断样本所扩增序列的巴贝虫种类:

a) 18S rRNA 基因序列与GenBank中巴贝虫18S rRNA序列相似度96%以上, 或是 ITS 基因序列与GenBank中ITS 序列相似度95%以上, 判定为巴贝虫;

b) 18S rRNA 基因序列与田鼠巴贝虫18S rRNA序列相似度99%以上, 或是 ITS 基因序列与田鼠巴贝虫ITS 序列相似度 98%以上, 判定为田鼠巴贝虫;

c) 18S rRNA 基因序列与分歧巴贝虫18S rRNA序列相似度99%以上, 或是 ITS 基因序列与分歧巴贝虫ITS 序列相似度98%以上, 判定为分歧巴贝虫;

d) 18S rRNA 基因序列与邓肯巴贝虫18S rRNA序列相似度99%以上, 判定为邓肯巴贝虫;

e) 18S rRNA 基因序列与猎户巴贝虫18S rRNA序列相似度99%以上, 判定为猎户巴贝虫。

C.6 标准参考序列

C.6.1 18S rRNA 标准参考序列

C.6.1.1 田鼠巴贝虫18S rRNA 基因参考序列(参考序列GenBank序列号为 KU204794, 其在该基因中起始位置为405-811)

```
GACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAATACAGGGCTTAAAGTCTTGTAATTGGAATGATGGGAATCTAAAC
CCTTCCCAGAGTATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATT
AAAGTTGTTGCAGTTAAGAAGCTCGTAGTTGAATTTCTGCCTTGTCATTAATCTCGCTTCCGAGCGTTTTTTTATTG
ACTTGGCATCTTCTGGATTTGGTGCTTCGGGTAATTTTCCAGGATTTACTTTGAGAAAAGTAGAGTGTTTCAAA
CAGGCATTCGCCTTGAATACTACAGCATGGAATAATGAAGTAGGACTTTGGTTCTATTTTGTGGTTATTGAGCCA
GAGTAATGGTTAATAGGAGCAGTTGGG (407 bp)
```

C.6.1.2 分歧巴贝虫18S rRNA 基因参考序列(参考序列GenBank序列号为 KP745627, 其在该基因中起始位置为347-725)

```
GACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAATACAGGGCAATTGTCTTGTAATTGGAATGATGGTGACCTAAACC
CTCACCAGAGTAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTA
AACTTGTTCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTTCGTGGTGTGAATATTGACTAATGTTCGAGATTGCACTTCG
```

CTTTGGGATTTATCCCTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAGCAT
GGAATAATAGAGTAGGACTTTGGTCTATTTGTTGGTTTGTGAACCTTAGTAATGGTAAATAGGAACGGTTGGG
(379 bp)

C. 6. 1. 3 邓肯巴贝虫18S rRNA 基因参考序列（参考序列GenBank序列号为 HQ289870，其在该基因中起始位置为445-842）

GACACCGTGAGGTAGTGACAAGAAATAACAATACAGGGCTTAAAGCTTTGTAATTGGAATGATGGGAATCCAAAC
CCCTTCAGAGTATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTA
AACTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAACTTCTGCCGCTTGGCCTTCGTTCCCCTGGGGTTTCGTTGCCTG
GTGGCTTACCTCTGGCGGTGGTTCTCCATTTGCCAGTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGGCTTTTG
CCTTGAATACTTCAGCATGGAATAATAAAGTAGGACTTTGGTCTATTTGTTGGTTTCAGGACCAAAGTAATGGTT
AATAGGAACAGTTGGG (398 bp)

C. 6. 1. 4 猎户巴贝虫18S rRNA基因参考序列（参考序列GenBank序列号为 KF724377，其在该基因中起始位置为423-801）

GACACAGGGAGGTAGTGACAAGAAATAACAATACAGGGCAATTGTCTTGTAATGGAATGATGGTGACCTAAACC
CTCACCAGAGTAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTA
AACTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAACTTCTGCGTTATCGAGTTATTGACTCTGTCTTAAATCGATTTCG
CTTTGGGATTTATCCCTTTTACTTTGAGAAAATTAGAGTGTTTCAAGCAGACTTTTGTCTTGAATACTTCAGCAT
GGAATAATAGAGTAGGACTTTGGTCTATTTGTTGGTTTGTGAACCTTAGTAATGGTAAATAGGAACGGTTGGG
(379 bp)

C. 6. 2 ITS标准参考序列

C. 6. 2. 1 田鼠巴贝虫ITS 标准参考序列（参考序列GenBank序列号为 AF510198，其在该基因中起始位置为1-828）

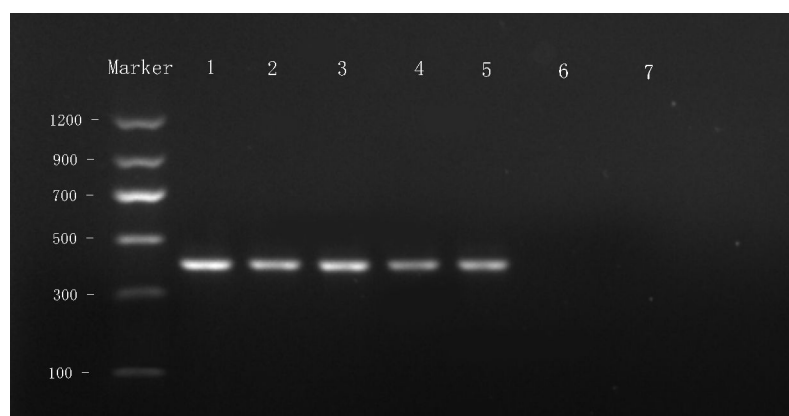
TTAAAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTCTTATTAGAATTCTATGTA
TCCGTTTGGGTACGCTGGCCCGTGCCTTGGTCGCACCTTTTATAGTAGTGGCCTTGGACGTAGCGGCTGCAACTG
TTGGAGCCGCATCCCCGTGGTGCCACAACGCGTCGGAAGGCGGTTTGTCCGCTATGGGGCGTCTCACTCCCAAG
GTATTTTCCCGGGCCTCTGTGTTAGATCATTCTAACGGCTTGGGGGCTATACTGTCATTGCTGAGAAGTGCCCCC
GTGGCTTCTTGGCTGCTAACGTGGCTTTTCTCGGAAGGTCATGAGGAGCGATTTGTCTAACAACTACTACGAATATT
AAACGAAACAAATTTTCAGCGGTGGATGTCTCGGCTCACACAACGATGAAGGACGCAGCGAAGTGCGATAATCATT
GTGAATTGCAGAATTTAGCAAATCAACAGGTTTCTGAATGTATTGTACACACTGCCTCTGTTGCAAGCAGTGCACC
CATTTACGCGCTCTTAAAATCCTAAAGTATACCTTTTCCAAGTATGCTTTGTGAGTGGTGCACAACAGATTTTCTGT
GTGTGCATTTAAGTTGGTGTGACTAGACGCTTTATCACGCAGAAGGTTCTTTGAACTTGGACTTGTGTTGTGGT
AGATAGTTTAGTTAGTAGCCGCGGCTAGAGAATACGTTGCTGATGTTTTATGGCCTGAAATTGGATGTGATGATCC
GCTGAATTTAAGCATATACTAAGCGGAAGAAAAGAAAATAACAATGATCCCCT(828 bp)

C. 6. 2. 2 分歧巴贝虫ITS 标准参考序列（参考序列GenBank序列号为 EU185801，其在该基因中起始位置为1-1044）

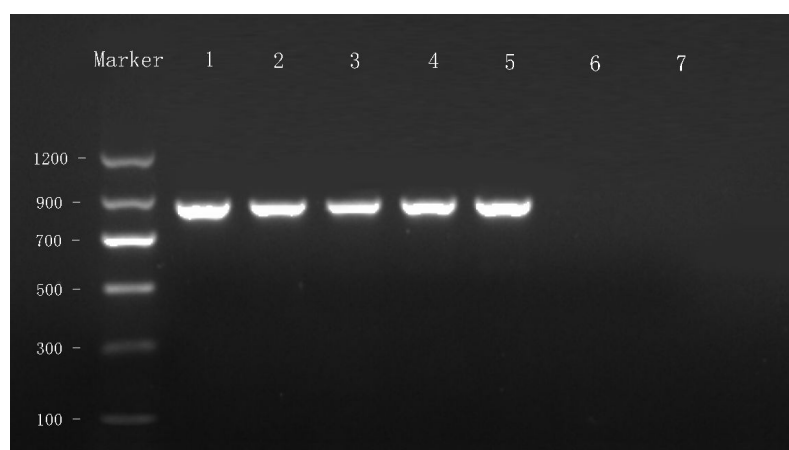
GGACCGTGGCCTTCCGATTCGTCGGCTTGGCCTAGGGAAGTCTTGTGAACCTTATCACTTAAAGGAAGGAGAAGT
CGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACATTGAATACCCTTGCACAATAGTGCTCGGCTT
CGGCATTTACGTTGTGTAAGCTTGCTTGCAGCTGTGACTCTACGTCATGGTCCACTTTTGGTGGTTTCGTATTTGTC

GTTGCCMTGGCGACGTGGTTTCGGTCTTGTTCGGTTTCCATCCCTGCGCTTTTGGGTGGGACGTTGCCCCCTCCCAC
 CCCACCGGGTGTATGTTTACTGCGGTGTAACACTGTAGTTGGCGTACACTTGGGTTATGCCGTGTCGATACTGATG
 TTACTAGTGATTGCTCTTTGAGTGGTTGTTAGTGCTACAGTGTGTGCACGGATGCTGCTCGTGGATCTAATAGATTC
 AAGCAGTTGCTGCTTCGTGCAGTGTTTTGGTAGCGATTCGTTACGATAATGCAACTCCGCTCGTTCATCGTCTTG
 CGTTGTTTCGAGTTTGTAGAAAATTATAAACTTTCAGCGATGGATGTCTTGGCTCACACAACGATGAAGGACGCAG
 CAAATTGCGATAAGCATTATGACTTGCAGACTTCTGCGATTTAACAGACCTCTGAACGTAACAAACACACCGCCTC
 TGCTCGCATGCGGTACTCCCCTTTCAGTGAGCCCCCTTTCCTAAAGGAACCACACTTTTACTCCTGGTAATAGTATG
 GTTAGTCTTTGCGAGTGGGTGTTGTGACAATCACCTAATTCCATAGCATGCTMCCGGGTATCGCCACGTGTGA
 TCTCGAAGCTTCTTGTGTAAATTTACTCTAGGCTTCTTTGAGATGTGCGGCTAGGAATTACTATTGCAGTATTT
 CTATAGCAAGTGGATGATGCTAGTGTGTGCAGTGTATAAGTTTGAATATCGCTCCTGAAATCGGGTGAGGCTAT
 CCGCTGAATTTAAGCATATAATTAAGCGGCAGAAAAGAAAATAACTAT(1044 bp)

C.7 巴贝虫PCR电泳结果图



图C.1 巴贝虫临床样品18S rRNA PCR电泳结果图（1-阳性对照样品，2、3-河南田鼠巴贝虫病病例样品，4、5-浙江，云南田鼠巴贝虫病病例样品，6、7-阴性对照和空白对照样品）



图C.2 巴贝虫临床样品ITS PCR电泳结果图（1-阳性对照样品，2、3-河南田鼠巴贝虫病病例样品，4、5-浙江，云南田鼠巴贝虫病病例样品，6、7-阴性对照和空白对照样品）

参 考 文 献

- [1] 陈小光,李学荣,吴忠道. 巴贝虫和巴贝虫病的研究进展 [J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2012, 39(1): 45-49.
- [2] 吴观陵. 人体寄生虫学 (第4版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013, 233-237.
- [3] Wei Q, Tsuji M, Zamotoet 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]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, 39: 2178-2183.
- [4] Holman P, Swift P, Frey R, et al. Genotypically unique *Babesia* spp. isolated from reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) in the United States [J]. *Parasitology research*, 2002, 88: 405-411.
- [5] 白海鹏, 孙维敏, 任任, 等. 我国巴贝虫病研究进展 [J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 2014, 30(5): 100-102.
-