

本文引文格式:文韬,李军.恙虫病基础研究与诊疗进展[J].右江民族医学院学报,2021,43(5):672-675,679.

【综述与讲座】

恙虫病基础研究与诊疗进展

文韬¹,李军²

(1. 右江民族医学院研究生学院,广西 百色 533000;
2. 右江民族医学院附属医院重症医学科,广西 百色 533000)

摘要:恙虫病临床特征复杂多样,容易造成误诊漏诊。通过检索最新研究文献,对检索的科研成果进行分析、总结,得出近年来恙虫病发病机制研究正逐渐成熟,但仍有待完善;其次,目前大部分医院对该病的诊断依靠的是临床诊断标准以及外斐试验。本文对恙虫病基础、实验室诊断方法以及临床诊疗的最新研究进展进行综述,旨在提高恙虫病及重症恙虫病的临床诊疗水平。

关键词:恙虫病;恙虫病基础;影响因素分析;临床实验室技术;治疗;进展

中图分类号:R513.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-5817(2021)05-0672-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.05.022

恙虫病又称丛林斑疹伤寒,是恙螨东方体(旧称恙虫病立克次体)寄生在恙螨身上然后通过恙螨叮咬易感人群而引起的一种地方疫源性疾 病^[1],既往曾被列为我国法定传染性疾病。在我国以及亚太地区人群中广泛分布,甚至毗邻亚太地区的中亚、中东也有该疾病的相关报道^[2]。对于重症恙虫病,目前我国尚无统一的诊断标准,所采取的多是 Park SW 等^[3]于 2011 年所提出的诊断意见,可以简要归纳为:在恙虫病诊断明确的基础上,发生器官功能损害。重症恙虫病是目前最严重的立克次体病,每年造成全球约 100 万人死亡^[4]。但是,由于医务人员对该病专业知识的欠缺,易发生误诊和漏诊,从而导致该病治疗不及时,预后较差^[5]。针对该现象,中国疾病预防控制中心已于 2009 年颁布《恙虫病预防控制技术指南(试行)》^[6]指导临床实践。本文将从恙虫病的基础研究以及临床诊断、治疗进展三个方面进行综述,以提高临床医生对该病的诊疗水平。

1 恙虫病基础研究现状

1.1 流行病学 恙虫病作为一种地方疫源性疾 病,其流行病学特点包括一般传染病的规律,即有主要特定传染源、一般的传播途径、易感人群。

1.1.1 传染源 恙虫病的传染源通常是恙虫病东方体的寄生宿主,最主要的是啮齿类动物:鼠类。流行病学研究者将我国与周边有恙虫病报道的国家进行宿主

对比,发现宿主类大鼠差异较大,每个国家均有与其对应的宿主类大鼠^[7]。除此之外,在我国恙虫病发病的地区,其宿主鼠类不仅存在差异,发病高峰期也不同。如:广东、台湾是四季发病,冬季型仅南方疫区有发病,如广东、海南等^[8]。

1.1.2 传播途径 目前,基础和临床医学研究者最倾向于认为恙虫病的传播途径是恙螨通过叮咬较薄、嫩的皮肤传播^[9]。另有研究显示:恙螨并非直接穿破皮肤叮咬,而是通过宿主的毛囊或毛孔分泌一种液体,对所在部位组织进行溶解,若不及时干预将直接导致患者多器官功能障碍,恙虫病便发展为重症恙虫病^[10]。

1.1.3 易感人群 具有外出或野外劳作史的均为恙虫病易感人群,无年龄、性别差异。

1.2 致病机制 恙虫病病理表现为血管炎,其致病机制复杂,与我们的体液免疫、细胞免疫等密切相关。

1.2.1 免疫机制 恙虫病的免疫机制有以下几方面:其一,目前大多数专家学者认同宿主内皮细胞是恙虫病感染的主要靶点;其二,恙虫病东方体诱发树突细胞产生白介素导致细胞反应、使淋巴细胞等增殖减少^[11];其三,有部分学者认为恙虫病的发病与人体血管功能减退相关,特别是重症恙虫病的并发症发生在脑部、中枢神经系统时血管功能减退尤为严重^[12];其四,内皮细胞的激活会使中性粒细胞和单核细胞等大量内流进入肺间质,因为该内流方式使血管通透性增

基金项目:右江民族医学院附属医院博士点学科建设项目(右医附院[2018]29号);广西医疗卫生重点(培育)学科建设项目(桂卫科教发[2019]19号)

第一作者简介:文韬(1995-),男,在读硕士研究生,研究方向:急诊医学,E-mail:13558983718@163.com

通讯作者简介:李军(1967-),男,硕士,教授,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:脓毒症基础与临床,E-mail:ttgxlj@163.com

加,进而引起肺部水肿、低氧血症和呼吸窘迫综合征等疾病^[13];其五,恙虫病炎症反应与内皮细胞相互作用,恙虫病东方体所感染部位的炎症因子 TNF- α 和 IL-1 引起内皮细胞活化,并且将 L-选择素、E-选择素上调。研究证明,恙虫病转变为重症恙虫病可能与 L-选择素、E-选择素表达水平有着密切的联系^[14]。

1.2.2 适应性免疫 恙虫病的发展与适应性免疫相关,适应性免疫分为:细胞免疫和体液免疫。其中细胞免疫是一把“双刃剑”,Th1 型细胞免疫反应会抑制恙虫病的发展^[15],但是,间皮细胞等呈递抗原细胞其产生的白介素却又能抑制 Th1 细胞免疫反应^[16],因此,两者共同决定着恙虫病的进一步发展。体液免疫也在恙虫病发病中起着关键作用。体内产生的黏附素基因(ScaA)对寄生在人体内恙虫病东方体的发展起促进作用,但是,体液免疫产生的抗 ScaA 抗体又能够抑制黏附素,进而抑制恙虫病向重症恙虫病发展。

1.3 临床表现 恙虫病的典型临床表现:发热、焦痂/溃疡/皮疹伴周围浅表淋巴结肿大,其中焦痂是其特征性表现^[2]。而重症恙虫病即在恙虫病的基础上出现器官功能障碍,如:肝功能损害、肾功能损害、中枢神经系统损害,以及心律失常和心功能衰竭等。由于其表现复杂多样、临床医师知识掌握欠缺以及未认真查体等原因,导致该病往往易被误诊误治,最终导致病情恶化^[5],尤其是更易伴发精神病症状。《哈里森感染病学》^[17]指出:恙病患者由于血管损伤还会导致中枢神经系统病症状与精神病症状,临床上这类患者容易被误诊为“脑炎”等神经系统疾病并延误治疗。并且有学者发现^[18]:恙病患者并发精神病症状如抑郁症等的发生率远高于非恙病患者。考虑由恙虫病导致内皮细胞损伤进而使脑部功能发生改变出现精神病症状^[18]。因此,在疫区有不明原因发热伴有神经系统症状时,应注意排除恙虫病。

2 恙虫病的诊断和治疗

2.1 诊断方法 目前恙虫病的诊断常分为临床诊断与实验室诊断两方面。按照第 4 版《实用传染病学》^[19]诊断标准:①近 3 周野外活动史;②发热;③焦痂或溃疡;④肝脾肿大或淋巴结肿大;⑤外斐反应 $\geq 1:160$;同时满足以上 3 项即可诊断恙虫病。其中还需排除伤寒、流行性出血热等疾病,即可诊断为恙虫病。Park SW 等^[3]于 2011 年所提出的重症恙虫病诊断标准:在确诊恙虫病的基础上,出现:①中枢神经系统:意识改变、抽搐、脑卒中;②呼吸系统:影像学提示双肺浸润,以及下列至少一项:氧合指数 ≤ 33.25 kPa、呼吸频率 ≥ 30 次/分,或直接气管插管呼吸机辅助呼吸;③心脏:心脏功能衰竭或新发的心律失常;④肾脏:血肌酐(Scr) ≥ 177 $\mu\text{mol/L}$;⑤感染性休克:收缩压 ≤ 11.97 kPa,或较基础值下降 5.32 kPa 以上,且排除其它因素

影响;⑥消化道出血(无消化性溃疡基础);⑦死亡。符合上述其中一项即可诊断为重症恙虫病。在实际临床工作中,外斐试验阳性率极低,缺乏敏感性和特异性^[16],并且和时间的发展有一定关系。因此,许多恙虫病患者的外斐试验结果往往呈阴性。随着科研的深入,目前实验室检查已经扩展到如血清学检查、聚合酶链反应(PCR)、二代基因测序(NGS)等最新诊断技术。

2.1.1 血清学检查 血清学检查对于恙虫病诊断有着独特意义,一直运用在临床检查诊断之中。其中主要包括间接免疫荧光法(IIFA)和酶联免疫吸附试验(ELISA)。

2.1.1.1 间接免疫荧光法(IIFA) IIFA 被认为是目前诊断恙虫病的金标准试验。基于抗原抗体反应原理,将恙虫病患者的血清与载玻片上的抗原混合,然后使用荧光标记的抗体进行检测,其中 Karp、Kato 和 Gilliam 血清型是最常用的抗原。但是由于地区不同常用抗原也存在着差异,在抗原血清型的选择以及反应最终滴度的确定需要根据当地临床研究结果而制定不同的标准,所以,为了避免假阴性以及滴度监测更加准确,常取两份血清进行检测^[20]。

虽然目前认为 IIFA 是诊断恙虫病的黄金标准,但此实验除了上述问题之外还有其它不足,因为 IIFA 最后滴度与显微镜下读片,是由检验科医生人工进行,因此,存在着人为因素差异,不同的医生得出不同的结果^[21]。并且,人血中抗体形成一般需要 7~10 d,所以在此期间,即便使用 IIFA 检查,所得出结果也是阴性。综上,该检查在目前多种辅助检查中是成熟的一种,但是因其对实验设备、人员要求较高,因此存在着诸多弊端,导致其在医院的开展并不理想。

2.1.1.2 酶联免疫吸附试验(ELISA) ELISA 是对免疫荧光反应的一大补充。利用酶联反应监测仪,检测病人血清中的恙螨东方体的 IgG 和 IgM 抗体。不同的恙螨东方嵌合抗原与 r21、kr562 个抗原重组,既降低交叉反应又提高特异性、敏感性。ELISA 检测与 IIFA 检测相比而言,其无论在灵敏度还是准确度方面均高于 IIFA,并且结果还可以定量到具体数值,对于检测设备和人员要求、成本较 IIFA 而言更低,所以可以大量检测用于筛查,最终将极有可能取代 IIFA,也更容易推广到我国各大医院^[14]。

2.1.2 聚合酶链反应(PCR) PCR 技术为医务人员对于恙虫病的确诊提供了更加可靠的方法。当患者拟诊为恙虫病时,对患者血液中的基因提取进行扩增,然后进行片段比对。其中常用检测基因有:16SrRNA、相对分子质量为 56000 蛋白和相对分子质量为 58000 蛋白的编码基因以及 groEL 基因^[22-23]。近年来,逐渐有学者提出,在恙虫病的早期进行基因扩增不应局限于提取血液中的基因,更应该优先考虑提取焦痂^[24],

将焦痂内的基因进行扩增,不仅利于辅助诊断还有利于进行药敏试验,选择敏感性药物^[25]。虽然PCR正成为研究的热点,但是,其仍然有一弊端:恙虫病并非全部具有特征性焦痂。因此,初步诊断未考虑恙虫病时,难以取得标本进行基因扩增,所以,其只能作为确诊诊断,但不利于筛查。此外,基因扩增技术复杂,要求较高,需要较高的软硬实力,因此其推广存在一定困难。

2.1.3 二代基因测序(NGS) NGS是目前关于恙虫病诊断的最新技术手段,其早已广泛应用于钩端螺旋体、结核分枝杆菌^[26]、人类免疫缺陷病毒的诊断测序。PCR技术对于疑似恙虫病的患者具有诊断意义,那NGS对于部分未发现明显焦痂的患者诊断就具有高测序深度、低测序成本、高通量数据分析的绝对优势。NGS包括:DNA测序文库的制备、锚定桥接、PCR扩增、基因延伸测序的基因分析。由于现代医学技术的发展,NGS的已知致病基因芯片的研发十分成熟,因此,NGS应用于恙虫病的诊断指日可待。查阅现有资料,目前我国学者率先将NGS技术应用于恙虫病诊断和治疗上,研究发现通过抽取患者血液,进行基因扩增后将其与NGS多基因芯片进行比对、分析,从而在较短时间内确定恙虫病东方体,或其他病原体,其打破了传统检验方法,有望成为恙虫病、多器官功能衰竭或多基因疾病的新一代诊疗首选方法^[27]。

2.1.4 其他 诊断恙虫病的其他检验手段较多但各有弊端,如:组织活检、培养、间接免疫过氧化物酶检测法(IIP)、免疫层析法(ICT)、血常规等检验手段。组织培养、活检通过病理诊断的手段能够使疾病确诊,但是,其是基于高度怀疑恙虫病的条件下进行检查,并且该手段还具有生物安全的风险^[28],因此需要特定的设备与环境才能够进行此项检查;IIP和ICT检查是既常用手段,但是对于人员以及设备技术要求较高,临床推广与实践并未取得较大进展。除此之外,恙虫病患者血常规常提示:WBC变化不大,嗜酸性粒细胞减少甚至为0以及血小板的减少,究其原因,可能与病原体影响血液系统免疫相关。血常规虽然能够提示重症恙虫病,但是影响因素太多,不能够作为诊断。

2.2 影响恙虫病严重程度的相关因素 恙虫病若不及时干预,极大可能进一步发展成重症恙虫病。随着科学技术的进步,医学工作者逐步揭示恙虫病的危险因素。

2.2.1 热程 恙虫病的常见表现是发热,热程指患者发热至体温持续3天正常的时间。传统研究证明,热程长短常常与恙虫病的严重程度密切相关。最初的误诊误治,直接导致热程变长,患者发生多器官功能障碍综合征(MODS)的可能将越大^[29],恙虫病的患者预后也就越来越差。虽然大多研究均证明热程与疾病严重程度相关,但近年,有学者研究显示:热程长短与恙虫

病的预后和严重程度无直接关系^[30]。

2.2.2 降钙素原(PCT) PCT是降钙素的前体物质,是感染的一项敏感指标,正常值一般 <0.1 ng/ml,常在感染4 h内上升,8~24 h达到峰值。目前,诸多学者研究表明,PCT的数值,与恙虫病的严重程度与死亡率呈正相关^[31]。PCT数值上升,探究其原因,或许与以下因素相关:①恙虫病患者因恙虫病东方体进入体内,诱发全身血管炎,感染加重,最终因恙虫病东方体导致机体内PCT上升;②恙虫病患者因全身多器官功能损害导致免疫系统减弱,进而诱发细菌感染,最终引起PCT上升。因为目前研究未对PCT上升原因进行详细分析,大多数科研工作者仅仅关注到恙虫病伴PCT上升。因此,在后续研究中PCT上升原因或成为新的聚焦点。

2.2.3 血细胞比容(HCT)与血浆白蛋白(ALB)差值 随着研究的深入,近年来有学者从HCT以及ALB的角度探究恙虫病的预后,结果发现HCT与ALB的差值与恙虫病的严重程度和预后密切相关,其主要表现为HCT上升、ALB下降,HCT与ALB的差值能够代表恙虫病的评估指标;甚至,当HCT与ALB差值 >8.56 时还具有鉴别意义^[32]。

2.2.4 尿酸(UA)与血浆白蛋白(ALB)比值 恙虫病患者因为血管内皮细胞损失导致通透性改变,ALB漏出形成低蛋白血症。恙虫病东方体导致血管炎使肾脏局部发生实质、功能损害,UA排泄障碍,引起血中UA升高。李梅等^[33]学者发现:恙虫病患者ALB下降和UA上升,二者均成为恙虫病的危险因素;当UA与ALB的比值 >11.64 时,可以诊断其已经从恙虫病发展成重症恙虫病;UA/ALB的敏感性与准确性高于UA与ALB独立因素。

2.2.5 其它 恙虫病的危险因素以及预后还与C反应蛋白、血小板、D-二聚体相关,但是影响上述指标因素较多,故本文不详细论述。

2.3 治疗方法 目前恙虫病的治疗多采用一般治疗、病因治疗以及对症支持治疗。

2.3.1 一般治疗 恙虫病患者保持良好的作息、维持水电解质平衡并注意减少并发症的发生是治疗的首要手段,也是治疗的基础。

2.3.2 病因治疗 恙虫病患者病因治疗指采取脂溶性抗生素破坏恙虫病多方位在细胞内寄生,其中强力霉素以及阿奇霉素是抗恙虫病常用抗生素。根据中国疾控中心颁发的《恙虫病预防控制治疗指南》^[6]意见,强力霉素具体使用方法:成人100 mg,每12 h口服1次,退热后100 mg/d顿服;8岁以上小儿每日2.2 mg/kg,每12小时1次,退热后按体重2.2 mg/kg,每日口服1次。阿奇霉素用法:成人每次500 mg顿服,退热后250 mg/d顿服,儿童10 mg/kg(1日量最大不超过500 mg)顿服,退热后剂量减半,亦可静脉滴注阿

奇霉素。其中,阿奇霉素在治疗恙虫病中效果更为确切以及不良反应相对较少^[34]。

2.3.3 对症支持治疗 恙虫病对症支持治疗包括:呼吸机辅助呼吸、血液净化、人工肝等。当恙虫病伴呼吸、肝、肾功能损害时,常采取抗炎、给氧、保肝降酶以及维持肾功能等治疗。黎淑芬等^[35]学者指出,恙虫病合并呼吸功能衰竭,及时使用无创或有创呼吸机将一定程度上减少并发症和病情恶化。此外,也可以用“人工肝”和血液净化的方式吸附炎症介质和加快毒素的排泄,其中恙虫病通过血液净化后,很大一部分患者都能取得理想的疗效^[36],血液净化治疗或许成为未来一个重点研究方向。近年有学者研究这方面发现:通过输注血浆治疗,可以很好地改善患者临床症状,减轻炎症反应,从而提高重症恙虫病的治愈率^[37]。

2.3.4 其他 恙虫病病理表现为小血管炎症,根据《恙虫病预防控制治疗指南》意见:重症患者慎用激素,但是中毒症状明显的重症患者,在使用有效抗菌素的情况下,可适当使用激素。

3 总结

综上所述,恙虫病作为一种地方疫源性疾病,我们应当加强对恙虫病诊断治疗的科普和专业培训,争取做到早期诊断、早期治疗,以减少发展为重症病例的概率。现阶段,恙虫病的流行病学探索明确:传染源、传播途径、易感人群研究逐渐完善。该病发病机制的研究结果均倾向于与人体适应性免疫相关,但是目前针对发病机制与临床治疗相结合方面研究较少,或许在后续研究中会成为新的方向,辅助检查方面 NGS 更具有独特优势,可进一步推广;PCT、HCT 与 ALB 差值、UA/ALB,以及 C 反应蛋白、血小板、D-二聚体均为恙虫病严重程度的相关因素,热程、性别、年龄等因素目前仍具有争议,值得进一步研究;治疗上,及早抗立克次体治疗是最关键的措施,输注血浆治疗可以改善患者临床症状,可考虑作为辅助治疗手段。目前血液净化治疗对恙虫病疗效显著,有望成为恙虫病治疗的首选方案。

参考文献:

- [1] 李贵昌,刘起勇.恙虫病的流行现状[J].疾病监测,2018,33(2):129-138.
- [2] 栗绍刚,郭东星,李静宜,等.恙虫病临床诊治特点及预防[J].寄生虫与医学昆虫学报,2019,26(2):118-123.
- [3] Park SW, Lee CS, Lee CK, et al. Severity predictors in eschar-positive scrub typhus and role of serum osteopontin [J]. Am J Trop Med Hyg, 2011, 85(5): 924-930.
- [4] Weitzel T, Aylwin M, Martínez-Valdebenito C, et al. Imported scrub typhus: first case in South America and review of the literature [J]. Trop Dis Travel Med Vaccines, 2018, 4: 10.
- [5] 曾诚,张剑锋,黄英华.广西壮族自治区恙虫病 191 例误诊原因分析[J].临床误诊误治,2015,28(4):5-8.
- [6] 中国疾病预防控制中心.恙虫病预防控制技术指南(试行)[A/OL].(2011-11-17).<https://wenku.so.com/d/3b909d1e288e3df2efe4aa84bdac2e7a>.
- [7] 韩雪玲,景莉,张莹,等.我国恙虫病临床流行病学研究进展[J].现代医学,2018,46(3):340-345.
- [8] 于恩庶.我国目前恙虫病流行特征分析[J].中华流行病学杂志,1997,18(1):56.
- [9] Luce-Fedrow A, Lehman ML, Kelly DJ, et al. A Review of Scrub Typhus (Orientia tsutsugamushi and Related Organisms): Then, Now, and Tomorrow [J]. Trop Med Infect Dis, 2018, 3(1): 8.
- [10] Salje J. Orientia tsutsugamushi: A neglected but fascinating obligate intracellular bacterial pathogen [J]. PLoS Pathog, 2017, 13(12): e1006657.
- [11] Kang SJ, Jin HM, Cho YN, et al. Dysfunction of Circulating Natural Killer T Cells in Patients With Scrub Typhus [J]. J Infect Dis, 2018, 218(11): 1813-1821.
- [12] Soong L, Shelite TR, Xing Y, et al. Type 1-skewed neuroinflammation and vascular damage associated with Orientia tsutsugamushi infection in mice [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2017, 11(7): e0005765.
- [13] Gill SE, Rohan M, Mehta S. Role of pulmonary microvascular endothelial cell apoptosis in murine sepsis-induced lung injury in vivo [J]. Respir Res, 2015, 16(1): 109.
- [14] Sunyakumthorn P, Paris DH, Chan TC, et al. An intradermal inoculation model of scrub typhus in Swiss CD-1 mice demonstrates more rapid dissemination of virulent strains of Orientia tsutsugamushi [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e54570.
- [15] Soong L. Dysregulated Th1 Immune and Vascular Responses in Scrub Typhus Pathogenesis [J]. J Immunol, 2018, 200(4): 1233-1240.
- [16] Ha NY, Sharma P, Kim G, et al. Immunization with an autotransporter protein of Orientia tsutsugamushi provides protective immunity against scrub typhus [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2015, 9(3): e0003585.
- [17] Kasper DL, Fauci AS. 哈里森感染病学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2019.
- [18] Wang YC, Chiu CH, Lin CL, et al. Scrub typhus and depression: a nationwide cohort analysis [J]. J Transl Med, 2018, 16(1): 333.
- [19] 王宇明,李梦东.实用传染病学 [M]. 4 版.北京:人民卫生出版社,2017.
- [20] 徐翼,周淑如.恙虫病诊治进展 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2016, 31(10): 732-736.
- [21] Gautam R, Parajuli K, Tshokey T, et al. Diagnostic evaluation of IgM ELISA and IgM Immunofluorescence assay for the diagnosis of Acute Scrub Typhus in central Nepal [J]. BMC Infect Dis, 2020, 20(1): 138.
- [22] Sonthayanon P, Chierakul W, Wuthiekanun V, et al. Association of high Orientia tsutsugamushi DNA loads with disease of greater severity in adults with scrub typhus [J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(2): 430-434.

(下转第 679 页)

- charted territories in the brain[J]. *Nat Med*, 2017, 23(2): 144-146.
- [9] 谢芳. 基于“雨课堂”的混合式教学模式设计与实践——以病原生物学与免疫学课程为例[J]. *卫生职业教育*, 2019, 37(1): 63-64.
- [10] 张彩萍, 庞雅琴, 周敏. 流行病学课程线上线下教学模式的研究[J]. *右江民族医学院学报*, 2020, 42(5): 663-666.
- [11] Kassab SE, Du XY, Toft E, et al. Measuring medical students' professional competencies in a problem-based curriculum: a reliability study [J]. *BMC Med Educ*, 2019, 19(1): 155.
- [12] Pomerantz T, Bergin A, Miller KH, et al. A Problem-Based Learning Session on Pregnancy Options, Counseling, and Abortion Care[J]. *MedEdPORTAL*, 2019, 15: 10816.
- [13] Saqr M, Alamro A. The role of social network analysis as a learning analytics tool in online problem based learning [J]. *BMC Med Educ*, 2019, 19(1): 160.
- [14] 覃月秋, 蒋业政, 曹聪, 等. CBL 教学法在内科学临床双语教学中的应用探讨[J]. *右江民族医学院学报*, 2017, 39(3): 237-238, 241.
- [15] Hasamnias AA, Arya A, Patil SS. Case-based Learning: Our Experience in Clinical Pharmacology Teaching[J]. *J Pharm Bioallied Sci*, 2019, 11(2): 187-189.
- [16] Jhala M, Mathur J. The association between deep learning approach and case based learning [J]. *BMC Med Educ*, 2019, 19(1): 106.
- [17] Nalbantgil D, Nur Ylmaz RB, Akn E, et al. Evaluation of the Impact of Interdisciplinary Case-Based Courses in Dental Education on Smile Evaluation Skills of Undergraduate Students[J]. *Turk J Orthod*, 2019, 32(1): 11-15.
- [18] Li SS, Ye XC, Chen WT. Practice and effectiveness of “nursing case-based learning” course on nursing student's critical thinking ability: A comparative study [J]. *Nurse Educ Pract*, 2019, 36: 91-96.
- [19] Gao JW, Yang L, Zhao JH, et al. Comparison of problem-based learning and traditional teaching methods in medical psychology education in China: A systematic review and meta-analysis. [J]. *PLoS One* Dec, 2020, 15(12): e0243897.
- [20] Liu YF, Xu YM, Li YH, et al. Application of problem-based learning and case-based learning integrated method in the teaching of maxillary sinus floor augmentation in implant dentistry[J]. *Peer J*, 2020, 8: e8353.
- 收稿日期: 2021-06-24; 修回日期: 2021-07-08
- (上接第 675 页)
- [23] Paris DH, Aukkanit N, Jenjaroen K, et al. A highly sensitive quantitative real-time PCR assay based on the groEL gene of contemporary Thai strains of *Orientia tsutsugamushi*[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2009, 15(5): 488-495.
- [24] Biswal M, Zaman K, Suri V, et al. Use of eschar for the molecular diagnosis and genotypic characterisation of *Orientia tsutsugamushi* causing scrub typhus[J]. *Indian J Med Microbiol*, 2018, 36(3): 422-425.
- [25] Phuklia W, Panyanivong P, Sengdetka D, et al. Novel high-throughput screening method using quantitative PCR to determine the antimicrobial susceptibility of *Orientia tsutsugamushi* clinical isolates [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2019, 74(1): 74-81.
- [26] Hassibi A, Manickam A, Singh R, et al. Multiplexed identification, quantification and genotyping of infectious agents using a semiconductor biochip[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(8): 738-745.
- [27] Chen J, Zheng XD, Dai QH, et al. Diagnosis of severe scrub typhus infection by next-generation sequencing: a case report[J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20(1): 270.
- [28] Abdad MY, Abou Abdallah R, Fournier PE, et al. A Concise Review of the Epidemiology and Diagnostics of Rickettsioses: *Rickettsia* and *Orientia* spp[J]. *J Clin Microbiol*, 2018, 56(8): e01728-17.
- [29] 杜梅霞, 玉艳红. 恙虫病发生多器官功能障碍综合征危险因素分析[J]. *广西医科大学学报*, 2018, 35(3): 381-383.
- [30] 韩焕钦, 杜谕君, 张丽敏, 等. 恙虫病并发多器官功能障碍综合征及死亡预测因素研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(15): 71-74.
- [31] 李久荣, 刘群, 陈春成, 等. 恙虫病严重程度与血清降钙素原水平的相关性[J]. *中国医学科学院学报*, 2018, 40(3): 334-337.
- [32] 许汪斌, 胡锐, 王雨平, 等. 血细胞比容与血浆白蛋白比值评估恙虫病病情严重程度的可行性研究[J]. *中华危重病急救医学*, 2019, 31(12): 1527-1530.
- [33] 李梅, 许汪斌, 王雨平, 等. 尿酸与白蛋白比值在预测重症恙虫病中的价值[J]. *昆明医科大学学报*, 2020, 41(3): 62-66.
- [34] 赵婧芳. 阿奇霉素治疗恙虫病合并多脏器衰竭的效果观察[J]. *临床合理用药杂志*, 2020, 13(10): 75-76.
- [35] 黎淑芬, 龙何英. 应用无创呼吸机治疗恙虫病并发急性呼吸衰竭的效果观察[J]. *当代护士(下旬刊)*, 2018, 25(1): 134-135.
- [36] 李柏成, 朱洁云, 王霄玲, 等. 广西某医院 2014—2018 年恙虫病致急性肾损伤临床对照分析[J]. *中华疾病控制杂志*, 2019, 23(9): 1132-1136.
- [37] 莫介程, 叶桂成, 孙振永. 输血浆治疗对纠正重症恙虫病患者内环境失衡的效果[J]. *深圳中西医结合杂志*, 2019, 29(17): 148-149.
- 收稿日期: 2020-06-22; 修回日期: 2021-09-26