

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS 290—2026

代替 WS 290—2008

钩端螺旋体病诊断标准

Diagnostic standard for leptospirosis

2026-07-01 发布

2027-06-01 实施

国家卫生健康委员会  
国家疾病预防控制局

发布

## 前 言

**本标准**为强制性标准。

本标准代替WS 290—2008《钩端螺旋体病诊断标准》，与WS 290—2008相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

——增加了“钩端螺旋体”“钩端螺旋体病”和“后发热”的术语和定义（见3.1、3.2和3.4），更改了“赫氏反应”的术语和定义（见3.3，2008年版的2.1），删除了“菌群更迭”“疫水”的术语和定义（见2008年版的2.2、2.3）；

——更改了流行病学史（见4.1，2008年版的3.1）；

——更改了临床表现（见4.2，2008年版的3.2）

——更改了实验室检查（见4.3，2008年版的3.3）；

——更改了疑似病例的诊断（见6.1，2008年版的5.1）；

——更改了临床诊断病例的诊断（见6.2，2008年版的5.2）；

——更改了确诊病例的诊断（见6.3，2008年版的5.3）；

——更改了鉴别诊断（见第7章，2008年版的第6章）；

——更改了钩端螺旋体病原学检查（见附录A，2008年版的附录A）；

——更改了钩端螺旋体的核酸检测（见附录C，2008年版的附录A）。

本标准由中国疾病预防控制中心负责组织技术审查、技术咨询、协调性和格式审查，由国家卫生健康委会同国家疾病预防控制中心共同管理。

本标准起草单位：中国疾病预防控制中心传染病预防控制所、贵州省疾病预防控制中心、首都医科大学附属北京地坛医院、上海交通大学医学院、四川省疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：张翠彩、李世军、陈志海、蒋秀高、郭晓奎、曾林子、朱泳璋。

本标准及其所代替标准的历次版本发布情况为：

——1995年首次发布为GB 15995—1995；

——2008年第一次修订，标准编号改为WS 290—2008；

——本次为第二次修订。

# 钩端螺旋体病诊断标准

## 1 范围

本标准规定了钩端螺旋体病的诊断依据、诊断原则、诊断和鉴别诊断。  
本标准适用于全国各级各类医疗卫生机构及其医务人员对钩端螺旋体病的诊断。

## 2 规范性引用文件

本标准没有规范性引用文件。

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

### 3.1

#### 钩端螺旋体 *Leptospira*

一种形体纤细、运动活泼、螺旋细密规则的螺旋体，其长度平均为6  $\mu\text{m}$ ~10  $\mu\text{m}$ ，直径平均为0.1  $\mu\text{m}$ ~0.2  $\mu\text{m}$ ，菌体一端或者两端弯曲成钩状，使菌体呈问号状、C或S形。

注：革兰染色阴性，但不易着色，光学显微镜下Fontana镀银染色效果较好，菌体被染成金黄色或棕褐色，因菌体折光性较强，故常用暗视野显微镜观察。

### 3.2

#### 钩端螺旋体病 leptospirosis

由钩端螺旋体引起的一种急性自然疫源性传染病。

注：人类通过接触携带钩端螺旋体的动物尿液污染的水或者土壤而感染，或接触携带钩端螺旋体的动物或其血液、尿液、其他排泄物而感染。根据临床表现分为5个型别：流感伤寒型、肺出血普通型、肺弥漫性出血型、黄疸出血型、肾型及脑膜脑炎型。

### 3.3

#### 赫氏反应 herxheimer reaction

钩端螺旋体病经抗生素治疗后出现的病情加重现象。多见于青霉素治疗后，表现为突然出现寒战、高热、头痛、身痛、心率和呼吸加快，原有症状加重，部分患者出现体温骤降、四肢厥冷。一般持续30 min~1 h，可诱发肺弥漫性出血。

### 3.4

#### 后发热 recurrence of fever in the phase of convalescence

急性期钩端螺旋体病经治疗后体温下降或正常1 d~5 d后又再次出现的发热，体温多在38℃左右，经1 d~3 d可自行退热，主要与人体变态反应有关。

## 4 诊断依据

### 4.1 流行病学史

发病前30 d内，接触携带钩端螺旋体的动物尿液污染的水或者土壤，或接触携带钩端螺旋体的动物或其血液、尿液或其他排泄物。

### 4.2 临床表现

4.2.1 急性起病，可有头痛、畏寒发热，短期内体温可高达 39℃左右，常为弛张热，有时也可稽留热，少数间歇热。全身肌痛，特别是腓肠肌痛明显。全身乏力，可出现皮疹、出血点、紫癜。

4.2.2 流感伤寒型表现：发热、头痛、全身酸痛，眼结膜充血，轻者主要在眼球结膜、外眦及上下穹窿部，重者除角膜周围外的全球结膜血管扩张呈网状，无分泌物，无疼痛感，不畏光。腓肠肌痛，重者拒按。浅表淋巴结肿大，尤以腹股沟和腋下淋巴结肿痛常见，呈现不同程度的感染中毒败血症症状，无明显器官损害及功能不全。

4.2.3 肺出血型表现：咳血、咯血或大咯血。部分患者感染中毒症状进行性加重，出现进行性呼吸困难、甚至窒息、循环功能障碍，迅速发展的肺部啰音，胸部 X 线检查呈现双肺弥漫性出血阴影。

4.2.4 黄疸出血型表现：黄疸，常伴有皮肤、黏膜、腔道出血，或可伴有肺出血，部分患者出现肝脾肿大。严重者出现肝肾功能不全或者衰竭。

4.2.5 肾型表现：尿中出现蛋白、红细胞和白细胞，可出现管型尿、少尿、不同程度肾功能不全（氮质血症和肌酐升高），无黄疸。危重病例出现无尿、尿毒症、酸中毒昏迷、高钾血症。

4.2.6 脑膜脑炎型表现：剧烈头痛、恶心呕吐、畏光、颈项强直，严重者出现不同程度的意识障碍、抽搐、瘫痪、呼吸衰竭。

4.2.7 后发症表现：部分患者在急性期退热后 6 个月内（个别可长达 9 个月），再次出现一些临床症状或者器官损害的后发症表现，如后发热、以葡萄膜炎为主的眼后发症、变态反应性脑膜炎、闭塞性脑动脉炎等。

### 4.3 实验室检查

4.3.1 患者临床标本，暗视野显微镜检查发现一端或两端弯曲成钩状、菌体呈现问号状、C 或 S 形态的螺旋体（见附录 A 中第 A.1 条）。

4.3.2 显微镜凝集试验检测，患者单份或多份血清抗钩端螺旋体抗体效价  $\geq 1:200$  且  $< 400$ （见附录 B 中第 B.2 条）。

4.3.3 患者急性期血清，抗钩端螺旋体 IgM 抗体阳性（见附录 B 中第 B.3 条）。

4.3.4 患者临床标本，分离到钩端螺旋体（见附录 A 中第 A.2 和 A.3 条）。

4.3.5 患者恢复期血清抗钩端螺旋体抗体效价较早期血清有 4 倍及以上升高（见附录 B 中第 B.2 和 B.3 条）。

4.3.6 显微镜凝集试验检测，患者单份或多份血清抗钩端螺旋体抗体效价  $\geq 1:400$ （见附录 B 中第 B.2 条）。

4.3.7 患者临床标本，钩端螺旋体特异性核酸片段阳性（见附录 C 中第 C.1 和 C.2 条）。

## 5 诊断原则

根据流行病学史、临床表现、实验室检查等进行诊断。

## 6 诊断

### 6.1 疑似病例

具有本标准第 4.1 条的流行病学史，同时符合第 4.2.1 条者。

### 6.2 临床诊断病例

符合下列任何一项者：

- a) 具有本标准第 4.1 条的流行病学史，同时符合第 4.2.2 条～4.2.7 条中任何 1 项者；
- b) 具有本标准第 4.2 条中任何 1 项，同时符合第 4.3.1 条～4.3.3 条中任何 1 项者。

### 6.3 确诊病例

疑似病例或临床诊断病例，同时符合本标准第4.3.4条～4.3.7条中任何1项者。

## 7 鉴别诊断

钩端螺旋体病临床表现复杂多样，非典型病例较多，特别是散发时容易误诊。本病应注意与流行性感冒、流行性出血热、疟疾、登革热、恙虫病、伤寒和副伤寒、肺结核、急性黄疸型病毒性肝炎、急性肾炎、急性肾盂肾炎、细菌性败血症、立克次体病、细菌性和病毒性脑膜炎等鉴别诊断。

**附 录 A**  
**(规范性)**  
**钩端螺旋体病原学检查**

**A.1 临床样本显微镜检查****A.1.1 患者血液直接镜检**

**A.1.1.1** 取早期患者血液一滴，加蒸馏水一滴，使血细胞溶解，在暗视野显微镜下检查有无活动的钩端螺旋体。

**A.1.1.2** 取早期患者静脉血 1 mL~2 mL 于无菌试管中静置凝固，离心沉淀，吸取血清与血细胞交界处略显白色的悬液，置于载玻片上，在暗视野显微镜下检查有无活动的钩端螺旋体。

**A.1.1.3** 采集早期患者静脉血 1 mL，加于含 2 mL 枸橼酸钠盐水管中，1000 r/min 离心 10 min，吸上层血浆置另一清洁管中，3000 r/min~3500 r/min 离心 30 min~60 min。弃上清，取沉淀物一滴于载玻片上，用暗视野显微镜检查有无活动的钩端螺旋体。

**A.1.2 患者尿液直接镜检**

无菌采集患者尿液，取一滴尿液置于载玻片上，加盖玻片，在暗视野显微镜下检查有无活动的钩端螺旋体。

**A.2 细菌分离培养****A.2.1 患者血液培养**

血培养应在发病最初 10 d 内并在在使用抗生素治疗前进行。无菌操作取患者血液 100  $\mu$ L~200  $\mu$ L，接种到 5 mL~10 mL Korthof 或 EMJH (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris) 等适宜培养基中，平行接种 2 管~3 管，在 28℃ 培养，每隔 5 d~7 d 取培养物在暗视野显微镜下观察有无一端或两端弯曲成钩状、菌体呈现问号状、C 或 S 形态的螺旋体生长，若有生长，可进一步开展鉴定。若未见生长，应继续培养 60 d，仍不见生长方做阴性处理。

**A.2.2 患者尿液培养**

采集发病 1 周后的患者中段尿 30 mL~50 mL 于无菌离心管中，以 10000 r/min 离心 1 min。取沉渣 0.5 mL 接种于第一管 5 mL Korthof 或 EMJH 培养基中，混匀后吸 0.5 mL 接种于第二管 5 mL 培养基中，混匀后吸 0.5 mL 接种于第三管 5 mL 培养基中。平行接种 2 管~3 管，在 28℃ 培养，每隔 5 d~7 d 取培养物在暗视野显微镜下观察有无一端或两端弯曲成钩状、菌体呈现问号状、C 或 S 形态的螺旋体生长，若有生长，可进一步开展鉴定。若未见生长，应继续培养 60 d，仍不见生长方做阴性处理。为提高检出率和减少污染，可在培养基中加入 100  $\mu$ g/mL~400  $\mu$ g/mL 5-氟脲嘧啶。尿液标本应在留尿 2 h 内完成接种。

**A.2.3 患者脑脊液培养**

脑脊液培养应在发病最初 10 d 内进行。对有脑膜刺激和其他神经系统症状的患者，腰椎穿刺获取脑脊液，取 0.5 mL 脑脊液接种于 5 mL Korthof 或 EMJH 培养基中，平行接种 2 管~3 管，在 28℃ 培养，每隔 5 d~7 d 取培养物在暗视野显微镜下观察有无一端或两端弯曲成钩状、菌体呈现问号状、C 或 S 形态的螺旋体生长，若有生长，可进一步开展鉴定。若未见生长，应继续培养 60 d，仍不见生长方做阴性处理。

**A.2.4 动物接种培养**

取患者血液或脑脊液 0.5 mL~1 mL 或尿液 2 mL 接种金黄地鼠 (体重 20 g~50 g) 或幼龄豚鼠 (体重 120 g~200 g) 下腹两侧皮下或者腹腔，进行发病观察，一周后取心血暗视野显微镜下观察以及进行钩端螺旋体分离。

**A.3 钩端螺旋体菌株鉴定****A.3.1 显微镜凝集试验 (Microscopic agglutination test; MAT)**

#### A.3.1.1 操作步骤

待检菌株需提前在暗视野显微镜下检查，要求每400倍视野下不少于100条~200条，运动活泼并无自凝。将我国15群15型标准菌株免疫家兔获得的诊断血清，56℃水浴灭活30 min后，用生理盐水以1：50开始稀释，稀释到1：6 400。不同稀释度各血清群诊断血清、阳性对照（相应标准菌株）及空白对照生理盐水各取50 μL加入各反应孔中。分别取待检分离株培养液50 μL加入上述稀释度血清及对照中。摇匀后37℃孵育1 h。取反应液及对照，放置载玻片上暗视野显微镜下观察凝集情况。凝集滴度按原血清稀释倍数×2计算。

#### A.3.1.2 终点凝集滴度的判定

以出现++凝集(即视野中50%钩端螺旋体被凝集)的群血清最高稀释度作为终点凝集滴度，确定所属血清群。

#### A.3.2 核酸检测

可疑菌株进行核酸检测，检出钩端螺旋体特异性核酸可判定为钩端螺旋体菌，见C.1和C.2。

**附 录 B**  
**(规范性)**  
**钩端螺旋体病血清学检查**

**B.1 标本要求**

需采集患者急性期和恢复期双份血清进行检测。急性期血清应在首次检视患者时采取，血清分离后进行第一次抗体检测。根据患者的病程（一般为3周~4周）获得恢复期血清后，进行第二次抗体检测，两次间隔2周~3周。采用显微镜凝集试验和酶联免疫吸附试验进行检测。

**B.2 显微镜凝集试验（MAT）**

**B.2.1 抗原的选择和制备**

将我国15群15型钩端螺旋体标准菌株接种于Korthof或EMJH等适宜培养基中，28℃培养5 d~7 d，暗视野显微镜检查，每400倍视野下不少于100条~200条，运动活泼并无自凝者可作为抗原。

**B.2.2 操作步骤**

患者血清56℃水浴灭活30 min后，用生理盐水以1:50（早期患者血清）或1:100（恢复期患者血清）和1:400两个稀释度做定性试验。稀释血清以及阳性对照、阴性对照及空白对照生理盐水各取50 μL加入各反应孔中。分别取15个代表株钩端螺旋体的培养液50 μL加入上述稀释度血清及对照中。摇匀后37℃孵育1 h。取反应液及对照，放置载玻片上暗视野显微镜下观察凝集情况。若稀释血清与某一血清群钩端螺旋体抗原发生凝集，需进一步稀释该血清再与该群钩端螺旋体抗原进行显微镜凝集试验，以测定其凝集滴度，凝集滴度按原血清稀释倍数×2计算。

**B.2.3 终点凝集滴度的判定**

以出现++凝集（即视野中50%钩端螺旋体被凝集）的血清最高稀释度作为终点凝集滴度。

**B.3 酶联免疫吸附试验（ELISA）**

可使用商品化试剂盒，按照操作说明书进行操作。

## 附 录 C

### （规范性）

### 钩端螺旋体核酸检测

#### C.1 聚合酶链式反应（PCR）检测钩端螺旋体特异基因

##### C.1.1 目标基因

从临床标本和分离培养的菌株中检测钩端螺旋体核酸时，通常以*secY*和*flaB*作为目标基因，*flaB*基因用来检测*L. kirschneri*致病性钩端螺旋体，*secY*基因检测其他常见的致病性钩端螺旋体，也可选择其他特异性基因。

##### C.1.2 参考引物序列

参考引物序列见表C.1。

表C.1 PCR用参考引物序列

| 目标基因        | 引物名称   | 序列<br>(5'-3')              | 扩增片段长度/<br>bp |
|-------------|--------|----------------------------|---------------|
| <i>secY</i> | G1     | CTG AAT CGC TGT ATA AAA GT | 285           |
|             | G2     | GGA AAA CAA ATG GTC GGA AG |               |
| <i>flaB</i> | B64-I  | ACT AAC TGA GAA ACT TCT AC | 563           |
|             | B64-II | TCC TTA AGT CGA ACC TAT GA |               |

##### C.1.3 模板制备

临床标本和已经分离培养的菌株使用商品化基因组DNA提取试剂盒，具体操作方法按试剂盒说明进行。

##### C.1.4 PCR反应体系

一次总量25 μL的反应体系如表C.2所示。

表C.2 PCR 反应体系中的成分及加样量

| 试剂              | 体积                   |
|-----------------|----------------------|
| 酶和缓冲液（2×）       | 12.5 μL              |
| 上游引物（10 μmol/L） | 1 μL                 |
| 下游引物（10 μmol/L） | 1 μL                 |
| 待测模板（阳性对照）      | 3 μL~5 μL（1 μL~2 μL） |
| 纯水              | 补足至25 μL             |

反应设立质控参数：使用纯水作为阴性对照，用已知致病性钩端螺旋体菌模板作为阳性对照。加样顺序：首先加入阴性对照，然后加待测模板，最后加入阳性对照。

### C.1.5 PCR扩增

95℃预变性5 min，1个循环；94℃变性60 s，55℃退火60 s，72℃延伸90 s，35个循环；最后72℃延伸10 min。

### C.1.6 PCR扩增产物的检测分析

PCR产物各取5 μL加入1%琼脂糖凝胶的加样孔内（不含染料的mix需要加入1 μL上样缓冲液），加入Marker 5 μL，5 V/cm电泳40 min观察条带。

PCR产物也可进行测序分析。

### C.1.7 结果判读

在紫外透射仪或凝胶成像系统中观察结果，当阴性对照和阳性对照成立时，如钩端螺旋体靶基因扩增出现预期条带，则表明检测标本阳性。当阴性对照和阳性对照不成立时，需要重新进行检测。测序结果与钩端螺旋体菌特异基因序列匹配，表明标本阳性。

## C.2 实时荧光定量聚合酶链式反应（Real-Time PCR）检测钩端螺旋体特异基因

### C.2.1 目标基因

从临床标本和分离培养的菌株检测钩端螺旋体时，以钩端螺旋体 *16S rRNA* 基因和 *LipL32* 基因作为目标基因，也可选择其他特异性基因。

### C.2.2 试剂选择

可使用商品化试剂盒，按照操作说明书进行操作，也可按照本标准第C.2.3条～C.2.7条进行。

### C.2.3 参考引物和探针序列

*16S rRNA* 基因和 *LipL32* 基因参考引物和探针序列见表C.3。

表C.3 Real-Time PCR引物和探针具体信息

| 目标基因            | 名称          | 序列                                            |
|-----------------|-------------|-----------------------------------------------|
| <i>16S rRNA</i> | Lepto F     | 5'- CCC GCG TCC GAT TAG -3'                   |
|                 | Lepto R     | 5'- TCC ATT GTG GCC GR <sup>A/G</sup> ACAC-3' |
|                 | Lepto P     | 5'-(FAM)CTCACCAAGGCGACGATCGGTAGC-3' (BHQ1)    |
| <i>LipL32</i>   | lipL32-45F  | 5'- AAG CAT TAC CGC TTG TGG TG -3'            |
|                 | lipL32-286R | 5'- GAA CTC CCA TTT CAG CGA TT -3'            |
|                 | lipL32-Prob | 5'- VIC-AAA GCC AGG ACA AGC GCC G -3' (BHQ1)  |

### C.2.4 模版制备

同C.1.3。

### C.2.5 Real-Time PCR反应体系

一次总量20 μL的Real-Time PCR反应体系见表C.4。

表C.4 Real-Time PCR 反应体系中的成分及加样量

| 试剂               | 体积                    |
|------------------|-----------------------|
| 酶和缓冲液 (2×)       | 10 μL                 |
| 上游引物 (10 μmol/L) | 0.4 μL                |
| 下游引物 (10 μmol/L) | 0.4 μL                |
| 探针溶液 (10 μmol/L) | 0.4 μL                |
| 待测模板 (阳性对照)      | 3 μL~5 μL (1 μL~5 μL) |
| 纯水               | 补足至20 μL              |

反应设立质控参数：使用纯水作为阴性对照，用已知致病性钩端螺旋体菌模板作为阳性对照。加样顺序：首先加入阴性对照，然后加待测模板，最后加入阳性对照。

#### C.2.6 Real-Time PCR扩增

一般使用两步法进行扩增，参考程序如下：95℃预变性10 s，1个循环；扩增反应：95℃ 5 s，60℃ 45 s，40个循环。不同的荧光定量PCR仪扩增的程序会有一些差异，可根据所使用的仪器对反应程序进行适当调整。

#### C.2.7 结果判定

当阴性对照和阳性对照成立时，*16S rRNA*基因和*LipL32*两个靶基因均Ct值小于35时判断为阳性，单基因或者双基因35≤Ct值<37时结果可疑，需重新采集样本重新检测，*16S rRNA*基因和*LipL32*两个靶基因均Ct值大于或等于37或没有峰值时判断为阴性。当阴性对照和阳性对照不成立时，需要重新进行检测。若采用商品化试剂盒，结果判断依据参照试剂盒说明书操作。