

云南省不明原因发热病人巴尔通体感染调查

王跃兵, 杨发莲, 彭海燕, 杨向东, 杨慧, 于彬彬, 张青, 李志强, 杨秋菊, 夏淑婷

云南省地方病防治所, 云南 大理 671000

摘要:目的 掌握云南省不明原因发热病人巴尔通体的感染状况。方法 选择4个调查点,用间接免疫荧光法定性检测不明原因发热病人和对照人群血清抗汉塞巴尔通体和抗五日热巴尔通体的IgG抗体,对抗体阳性率进行比较分析。结果 共检测不明原因发热病人血清232份,对照人群血清80份。不明原因发热病人抗汉塞巴尔通体IgG抗体阳性率30.17%,抗五日热巴尔通体阳性率18.10%,混合感染率14.22%。对照人群抗汉塞巴尔通体抗体阳性率13.75%,抗五日热巴尔通体阳性率6.25%,混合感染率2.5%。三项指标不明原因发热病人都明显高于对照人群,同一人群的汉塞巴尔通体阳性率亦高于五日热巴尔通体阳性率。结论 部分不明原因发热病人是因为感染了汉塞巴尔通体和/或五日热巴尔通体而引起的发热,且两种巴尔通体的混合感染率也较高。部分对照人群也存在汉塞巴尔通体和/或五日热巴尔通体的隐性感染或既往感染。在不明原因发热的病因诊断中,进行巴尔通体感染的鉴别诊断是十分有必要的。

关键词:不明原因发热;巴尔通体;血清抗体阳性率

中图分类号:R441.3 文献标识码:A 文章编号:1009-9727(2014)12-1446-03

Investigation of *Bartonella* infection in patients with fever of unknown origin in Yunnan province

WANG Yue-bing, YANG Fa-lian, PENG Hai-yan, YANG Xiang-dong, YANG Hui, YU Bin-bin, ZHANG Qing, LI Zhi-qiang, YANG Qiu-ju, XIA Shu-ting

Yunnan Provincial Institute for Endemic Disease Control and Prevention, Dali 671000, Yunnan, P.R. China

Abstract: Objective To master the situation of *bartonella* infection in patients with fever of unknown origins (FUO) in Yunnan province. Methods Indirect immunofluorescence assay (IFA) was applied to qualitatively test the serum *B. henselae* and *B. quintana* antibody of patients with FUO and control group in four survey sites selected from Yunnan province, then, the serum antibody positive rates of them were comparatively analyzed. Results Totally 232 samples of patients with FUO and 80 of control group were tested. The *B. henselae* antibody positive rate, *B. quintana* antibody positive rate and mixed infection rate among the patients with FUO were 30.17%, 18.10% and 14.22%, respectively. The *B. henselae* antibody positive rate, *B. quintana* antibody positive rate and mixed infection rate among the case of control group were 13.75%, 6.25% and 2.5%, respectively. The three indexes of patients with FUO were significantly higher than those of control group. The positive rate of *B. henselae* antibody was higher than that of *B. quintana* antibody among patients with FUO and control group. Conclusion *B. henselae* and/or *B. quintana* infection may be the main cause of fever in some patients with FUO, whose mixed infection rate was relatively high. In addition, some of control group had latent or previous infection with *B. henselae* and/or *B. quintana*. Thus screening of bartonella is of importance in the diagnosis of FUO.

Key words: Fever of unknown origins; *Bartonella*; Serum antibody positive rates

巴尔通体(*Bartonella*)是一种新发现的古老病原体。迄今已发现的巴尔通体有21种及3个亚种,其中汉赛巴尔通体(*B. henselae*)、五日热巴尔通体(*B. quintana*)和伊丽莎白巴尔通体(*B. elizabethae*)等9种巴尔通体可致人类疾病。其所致疾病谱较为复杂,主要有猫抓病、战壕热、Oroya热、心内膜炎、杆菌性血管瘤等,我国近年来十几个省已有病例报道^[1-3]。为了掌握不明原因发热病人巴尔通体的感染状况,现对云南省部分地区不明原因发热病人进行了巴尔通体血清学调查研究。

1 对象和方法

1.1 调查对象 按随机抽样原则,在云南省范围内随机选择4个县作为调查点,即华坪县、双江县、孟连县和勐腊县。以调查点内2011~2013年的不明原因发热(FUO)病人作为调查对象,不发热、无巴尔通体相关疾病症状的健康人群作为对照人群。不明原因发热的诊断标准为:发热持续2~3周以上,体温 $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$,经详细询问病史、体格检查和常规实验室检查仍不能明确诊断者^[4-5]。

1.2 方法 采集每个调查对象的外周静脉血,分离血清后4℃冷藏保存,用间接免疫荧光法(IFA)定性检测血清中抗汉塞巴尔通体和抗五日热巴尔通体的

基金项目:云南省科技厅应用基础研究计划面上项目(No. 2011FB135)

作者简介:王跃兵(1980~),男,硕士,主管医师,研究方向:人兽共患病防治。

IgG 抗体。IFA 试剂盒为美国 FOCUS 公司生产,批号: X24778 (效期至 2015-07); X25297 (效期至 2015-11)。

1.2.1 实验操作方法 ①稀释血清:用样品稀释液 1:64 稀释待检血清,并以血清 1:64 稀释度作为该实验的筛查滴度。②加样:取瓶装未稀释过的阳性对照液和阴性对照液各 20 μ L,以及稀释过的待检血清样品 20 μ L 加入抗原片上的相应反应孔中,并做好标记。③孵育:放入 35~37 $^{\circ}$ C 的潮湿容器内(湿盒法),孵育抗原片 30min。④冲洗:孵育结束后取出抗原片,用 PBS 缓冲液缓慢冲洗抗原片。不能直接对准反应孔冲洗,避免样品混合。将冲洗后的抗原片放入含有 PBS 缓冲液的染色缸中浸泡 10min,再放入含有蒸馏水的染色缸中浸泡半分钟。⑤再孵育:待抗原片干燥后,在每一反应孔中加入 20 μ L 荧光标记的 IgG 结合液,放入 35~37 $^{\circ}$ C 的湿盒中孵育抗原片 30min。⑥再冲洗:重复上述冲洗步骤再次冲洗抗原片。⑦封片观察:待抗原片干燥后,在各反应孔中加 1 滴封固剂,盖上盖玻片,在荧光显微镜 400 倍下观察结果。对于待观察的抗原片,置 2~8 $^{\circ}$ C 的避光环境中保存,且保存时间未超过 3h。

1.2.2 结果判读 根据所观察到的抗原片中黄绿色荧光颗粒(抗原抗体复合物)的数目和亮度进行结果判断。阴性(-):无荧光颗粒,或荧光颗粒灰暗朦胧,或荧光强度相当于阴性对照;弱阳性(+):荧光细胞亮度一般;中等阳性(++):荧光细胞多而亮;强阳性(+++):荧光细胞多而闪亮;弱阳性、中等阳性和强阳性均判定为阳性。

1.3 统计学分析 用 SPSS 20.0 统计软件进行资料分析,计算不明原因发热病人和对照人群的血清抗体阳性率和混合感染率,率的比较用 χ^2 检验进行。

2 结果

共检测不明原因发热病人血清 232 份,对照人群 80 份,对每份血清同时进行抗汉塞巴尔通体和抗五日热巴尔通体 IgG 抗体检测。

2.1 抗汉塞巴尔通体阳性 不明原因发热病人汉塞巴尔通体抗体阳性率高达 30.17%,对照人群阳性率为 13.75%,不明原因发热病人和对照人群的阳性率差异有统计学意义($\chi^2=8.347, P<0.05$)。不同地区检测结果显示勐腊县不明原因发热病人阳性率最高,达到 35.00%,华坪县、孟连县和双江县对照人群阳性率均为 15.00%。见表 1。

2.2 抗五日热巴尔通体阳性 不明原因发热病人五日热巴尔通体抗体阳性率为 18.10%,对照人群阳性率为 6.25%,不明原因发热病人和对照人群的阳性率差异有统计学意义($\chi^2=6.532, P<0.05$)。不同地区检测结果显示孟连县不明原因发热病人阳性率最高,达到 22.41%。华坪县和双江县对照人群阳性率均为 10.00%,孟连县对照人群无阳性检出。见表 2。

2.3 双抗体阳性 共有 33 份不明原因发热病人和 2 份对照人群血清抗汉塞巴尔通体和抗五日热巴尔通体抗体均为阳性,不明原因发热病人混合感染率为 14.22%,与对照人群混合感染率间的差异有统计学意义($\chi^2=8.210, P<0.05$)。不同地区检测结果显示勐腊县不明原因发热病人混合感染率最高,达到 20.00%。华坪县和双江县对照人群混合感染率均为

表 1 不同地区抗汉塞巴尔通体抗体检测结果

Table 1 Results of *B. henselae* antibody test in different regions

调查点 Survey sites	不明原因发热病人 Patients with FUO		对照人群 Control group	
	样品数(份) No. sample	阳性数(%) No. positive	样品数(份) No. sample	阳性数(%) No. positive
华坪县 Huaping county	54	15(27.78)	20	3(15.00)
孟连县 Menglian county	58	19(32.76)	20	3(15.00)
勐腊县 Mengla county	60	21(35.00)	20	2(10.00)
双江县 Shuangjiang county	60	15(25.00)	20	3(15.00)
合计 Total	232	70(30.17)	80	11(13.75)

表 2 不同地区抗五日热巴尔通体抗体检测结果

Table 2 Results of *B. quintana* antibody test in different regions

调查点 Survey sites	不明原因发热病人 Patients with FUO		对照人群 Control group	
	样品(份) No. sample	阳性数(%) No. positive(%)	样品数(份) No. sample	阳性数(%) No. positive(%)
华坪县 Huaping county	54	8(14.81)	20	2(10.00)
孟连县 Menglian county	58	13(22.41)	20	0(0.00)
勐腊县 Mengla county	60	13(21.67)	20	1(5.00)
双江县 Shuangjiang county	60	8(13.33)	20	2(10.00)
合计 Total	232	42(18.10)	80	5(6.25)

5.00%, 孟连县和勐腊县对照人群均无双阳性检出。 见表3。

表3 不同地区抗汉塞巴尔通体和抗五日热巴尔通体抗体双阳性检测结果
Table 3 Results of *B. henselae* and *B. quintana* antibody test in different regions

调查点 Survey sites	不明原因发热病人 Patients with FUO		对照人群 Control group	
	阳性数(份) No. positive	阳性率(%) Positive rate	阳性数(份) No. positive	阳性率(%) Positive rate
华坪县 Huaping county	7	12.96	1	5.00
孟连县 Menglian county	9	15.52	0	0.00
勐腊县 Mengla county	12	20.00	0	0.00
双江县 Shuangjiang county	5	8.33	1	5.00
合计 Total	33	14.22	2	2.50

3 讨论

巴尔通体感染属于人兽共患的自然疫源性疾 病,所引起的疾病谱较广。如汉塞巴尔通体和克氏巴尔通体可引起猫抓病,五日热巴尔通体是战壕热的致病原,该两种疾病也是常见的巴尔通体病。巴尔通体所引起的大多数疾病伴随着“发热”症状,尤以战壕热最为明显,表现为有规律的周期性发热^[1-2]。“发热”是多种疾病的首发症状和非特异性症状,因此“不明原因发热”(FUO)的诊断就变成了一大难题,尤其是一些罕见疾病引起的发热^[4-5]。巴尔通体是1997年才被正式确认的人类新发现的致病菌,由于人们对巴尔通体的认识不足,一部分临床上归类为不明原因发热的病人有可能是因为感染巴尔通体而引起的。

通过本研究发现云南省不明原因发热病人抗汉塞巴尔通体IgG抗体阳性率高达30.17%,抗五日热巴尔通体IgG抗体阳性率达18.10%,混合感染率为14.22%,三个阳性率均明显高于对照人群,也明显高于杨发莲等人的研究结果^[6],与云南省家鼠间的感染率接近^[7]。地区分布上,属于热带亚热带季风气候区的勐腊县和孟连县高于高海拔河谷地区的华坪县和双江县,勐腊县和孟连县均为以傣族为主的少数民族边境县。这提示巴尔通体的感染可能与海拔、气候条件、生活习惯、饮食习惯等因素有关。不明原因发热病人较高的抗汉塞巴尔通体和抗五日热巴尔通体抗体阳性率、混合感染率表明:部分不明原因发热病人确实是因为感染了巴尔通体而引起的发热,并非原因不明,且存在两种巴尔通体的混合感染。与巴尔通体感染流行的因素相对应,不同地区、不同人群的感染率也不同。对照人群的阳性率虽明显低于不明原

因发热病人,但阳性率也不小,其中抗汉塞巴尔通体抗体阳性率达到13.75%,抗五日热巴尔通体抗体阳性率为6.25%,混合感染率2.5%。这说明不发热的对照人群中也可能存在部分汉塞巴尔通体和/或五日热巴尔通体的隐性感染或既往感染者。对于不明原因发热病人和对照人群,同一人群的汉塞巴尔通体阳性率亦高于五日热巴尔通体阳性率。

本研究结果表明,在不明原因发热的病因诊断中,有必要根据流行病学线索,对部分病例进行巴尔通体感染筛查。这有利于提高疾病的确诊率,降低治疗成本和患者的病痛。同时,也为巴尔通体所引起相关疾病的预防控制提供基础信息,有利于开展具有针对性的预防控制措施。

参考文献

[1] 俞东征,梁国栋.人兽共患传染病学 [M].北京:科学出版社,2009,532-547.
[2] 栗冬梅,张建中,刘起勇.中国巴尔通体与相关疾病的研究进展 [J].中国人兽共患病学报,2008,24(8):762-765.
[3] 杨发莲,白鹤鸣,杨慧,等.云南放牧人群汉塞巴尔通体感染的血清学调查 [J].中国热带医学,2008,8(6):1011-1012.
[4] 盛瑞媛.全国发热性疾病学术研讨会纪要 [J].中华内科杂志,1999,38(5):784-785.
[5] 欧鹏程,彭雁忠.不明原因发热综述 [J].中国热带医学,2010,10(6):710-712.
[6] 杨发莲,白鹤鸣,杨慧.云南巴尔通体研究概况 [J].医学动物防制,2008,24(5):326-327.
[7] 白瑛,M. Y Kosoy,G. O Maupin,等.首次证实巴尔通体在我国云南鼠群中流行 [J].中国人兽共患病杂志,2002,18(3):5-9.

收稿日期:2014-09-23 编辑:刘雪梅