

· 综述 ·

巴尔通体感染性心内膜炎的研究进展

张丽娟 贺金荣 海荣 俞东征

感染性心内膜炎是一类严重威胁生命,临床表现极其复杂且诊断十分困难的疾病。该病的诊断除临床表现外主要依据微生物学检查,如血液、心瓣膜组织等标本病原体的分离培养。通常采用传统的实验室诊断方法,大约 92%~95% 的感染性心内膜炎患者能够分离到病原体^[1]。

在临床上,有相当一部分病例常规微生物学分离培养阴性。据国外相关报道约有 9% 的感染性心内膜炎病例血培养阴性^[1]。来自最新的一份研究报告显示,感染性心内膜炎血培养阴性率高达 31%^[2]。因此,血培养阴性心内膜炎越来越受到广大临床医生及实验室工作者的高度重视。随着研究的深入以及实验室分离培养技术的不断改善,人们逐渐认识到,常规血培养阴性心内膜炎,其主要的病原体是一类营养要求苛刻、生长缓慢、难以培养的病原体,即巴尔通体属与考克斯体属细菌引起^[3];这两类细菌在分类学上均属于立克次体目。2003 年 Lamas, Kykyn^[4] 对 63 例血培养阴性心内膜炎进行了分析,结果显示 1/4 的病例是由上述病原体引起。

1. 流行病学:巴尔通体是一类革兰阴性短小杆菌,同立克次体一样,常规细菌培养难以生长,需细胞培养才可分离,且生长十分缓慢。故人们对这类细菌了解的甚少。1993 年,人们对巴尔通体的认识只限于 1 个种,然而,随着新发传染病的不断出现,目前人们已重新定义了 19 个种^[4]。尽管传统分类上巴尔通体属于立克次体目,但在基因结构和生物学性状上与立克次体有显著差异,故近年来,有学者认为应将其从立克次体目中分离出去。到目前为止,人们认为共有 8 种巴尔通体对人体致病。其中 4 种巴尔通体可引起心内膜炎,分别是五日热巴尔通体(*Bartonella quintana*);横塞巴尔通体(*B. henselae*);伊利沙白巴尔通体(*B. elizabethae*)以及 *B. vinsonii* Subsp. *Berkhoffii*^[5]。

伯氏考克斯体是引起 Q 热的病原体,该病原体普遍存在于鸟类、哺乳类及节肢动物体内。尽管该菌对动物不致病,但可引起山羊及绵羊的流产。该属细菌主要通过气溶胶传播,细菌可以芽孢形式存在于环境中且传染性极强,单独一个细菌便可致病。Q 热病可分为急性与慢性感染。急性感染者与临床上常见的发热性疾病难以鉴别。而慢性感染病主要表现为心内膜炎。

巴尔通体心内膜炎是一种新发现的严重的可引起临床并发症且死亡率较高的一种疾病。最新研究数字显示,巴尔

通体心内膜炎发病率在所有感染性心内膜炎患者中约占 3%。而在血培养阴性心内膜炎患者中约占 28.8%。最常见的巴尔通体心内膜炎是由五日热巴尔通体感染引起,其次是横塞巴尔通体^[6]。据国外的一份研究报告,在巴尔通体引起的 48 例心内膜炎患者中,38 例是由五日热巴尔通体感染引起,10 例是由横塞巴尔通体感染引起。五日热巴尔通体最先引起人们注意的是在第一次大战期间爆发的且死亡率较高的战壕热。最新的一份报告证实,除心内膜炎外,该菌还可以引起严重的心包积液^[7]。此外还可引起许多疾病,如慢性菌血症、细菌多发性血管瘤以及慢性淋巴结炎。横塞巴尔通体除引起心内膜炎外,还可引起猫抓病、肝紫癜、细菌性血管瘤等。国外最新报道了 1 例由 I 型横塞巴尔通体引起的家猫致死性心内膜炎^[8]。

巴尔通体心内膜炎最易发生在中年人群,其临床诊断主要靠流行病学以及临床表现,如男性、流浪汉人群、慢性酗酒人群以及与体虱、猫或猫蚤接触有关。最明显的传染源是接触已感染的啮齿动物或其寄生物。现已证明,在北美、亚洲及欧洲的啮齿动物及昆虫中普遍存在巴尔通体。目前,许多专业工作者认为,人体接触这些细菌的机会可能较目前认识的更广泛。巴尔通体感染的流行趋势正在逐年增加^[9,10],已引起广大临床工作者尤其是预防医学工作者的高度重视。

2. 巴尔通体感染性心内膜炎的实验室诊断:血培养阴性心内膜炎始终是临床微生物学诊断最为棘手的问题。目前提高细菌性心内膜炎检出率的有效方法,一是较好的掌握患者的临床表现及发病危险因素,尽可能早的在使用抗生素前进行血培养。另一措施就是改进血培养技术,延长培养时间,将普通培养改为 CO₂ 培养,丰富培养基配方以及多次传代培养。由此,一些难以培养的微生物,如 *Abiotrophia* 及 *HACEK* 群细菌的分离培养已得到较大改善。对于那些普通培养基上难以生长的如巴尔通体属以及伯氏考克斯属细菌,提高诊断率的改进方法就是应用血清学诊断技术以及细胞培养来完成。巴尔通体属细菌生长十分缓慢,若使用血平板,初次分离通常需要 12-14 天,有时需要培养 45 天。分离株的初次传代培养也十分困难,通常需要 10-15 天才可形成菌落。如果常规血培养阴性,应怀疑巴尔通体感染。心内膜炎的诊断标准,首先应符合国际 Duke's 诊断标准^[11]。对于巴尔通体感染性心内膜炎血清学诊断只能作为辅助诊断,而血液及瓣膜组织培养分离病原体以及基因组聚合酶链反应(PCR)的扩增才可作为主要诊断标准。通常病原体的分离可作为明确诊断,但由于巴尔通体分离培养十分困难,尽管

国外许多作者曾尝试不同的分离方法,然而分离率仍然很低,因此,目前国外许多实验室通常采用敏感特异的荧光 PCR、巢式或半巢式 PCR 技术、血清抗体技术以及病原分离等综合分析进行诊断。

(1) 巴尔通体的分离培养: ①人工培养基的分离培养: 目前,临床各种标本分离巴尔通体的方法和使用的培养基不尽相同,其报道的结果也不一致。有人认为,五日热巴尔通体在巧克力平板上生长较好,而在酵母浸出液或脑心浸液血平板不够理想。横塞巴尔通体在 CDC 血平板分离较好,在脑心浸液血平板也有成功报道,而在酵母浸出液培养基报告的结果不一致。在上述各种血平板培养基上,巴尔通体可疑菌落一般通过氧化酶、触酶实验以及革兰染色和 Gimenez 染色进行鉴定。同时可疑菌落还应进行 DNA 的提取,最后通过 PCR 扩增及测序进行鉴定^[4]。②细胞培养: 巴尔通体最有效的分离方法是细胞培养。国外较为常用的细胞是人血管内皮细胞 ECV304。血液标本通常需增菌后再接种,而组织标本如心瓣膜、皮肤组织、淋巴结以及骨髓等需在接种前进行组织研磨。培养条件通常温度在 35~37℃, 5% CO₂ 条件下进行。巴尔通体生长情况的观察可采用免疫荧光方法进行。若细胞培养呈阳性,则应通过 PCR 扩增进行种的鉴定^[4]。

(2) 分子生物学鉴定: 巴尔通体分子生物学水平的鉴定主要基于 16S rRNA 基因、16S~23S 间隔区及序列分析。但对于种内细菌不同株却无法区别。柠檬酸合成酶基因也可以鉴定横塞与五日热巴尔通体。但却无法区别其他种。目前,有学者还采用扩增 60×10^3 热休克蛋白基因 *groEL* 以及细胞分裂蛋白基因 *ftsZ* 进行系统树分析。而有学者采用 Riboflavin 合成酶基因 (*ribC*) 并结合限制性内切酶分析进行巴尔通体属中不同种的鉴别。此种方法可对目前认识的 8 种致病性巴尔通体进行有效的鉴别^[12]。巴尔通体心内膜炎可直接进行 EDTA 抗凝血以及各种组织标本如心瓣膜、皮肤组织以及骨髓等 DNA 的提取。并以此作为模板进行 PCR 扩增。通过 PCR 产物的序列分析最后得出结论。

(3) 血清学诊断: 微量免疫荧光血清学检查 (MIF) 是巴尔通体感染性心内膜炎实验室诊断的重要方法之一。据报道,在总体人群中,采用 MIF 方法检测血清抗体,当血清抗体滴度为 1:1600 时,其阳性符合率为 0.884。而最新的研究报道显示,同样的抗体滴度,其阳性符合率为 0.672, 敏感率为 0.771。当抗体滴度为 1:800 时,其阳性符合率为 0.398, 敏感率为 0.895。导致这一较低阳性符合率的主要原因是因为在确定正常人群实验参考值时,包含了较多无家可归并患有慢性五日热巴尔通体菌血症的流浪汉人群,因此导致正常人群抗体水平升高,其最终结果造成巴尔通体感染阳性符合率降低^[9]。

3. 小结: 作为新发与老传染病病原体为一体的巴尔通体感染越来越受到广泛的关注,由该病原体导致的疾病谱越来越广。随着研究的不断深入,越来越多的新种不断出现且所

致疾病的严重性各不相同。然而,造成该病原体再肆虐的原因以及致病机理还不清楚。但值得肯定的是社会弱势群体,如吸毒、慢性酗酒、流浪人群、HIV 阳性患者以及各种免疫力低下人群极易造成巴尔通体感染。巴尔通体感染的途径较为复杂,这就给预防措施的制定带来了困难,除了注意公共卫生及个人卫生,消灭传播媒介如虱、蚤外,还应扩大宣传饲养宠物应注意的公共卫生问题。最重要的是全社会都应关注那些巴尔通体易感人群的卫生健康。巴尔通体心内膜炎应受到临床工作者、检验工作者及预防工作者的高度重视。该病的明确诊断将有助于血培养阴性心内膜炎的临床治疗。因为针对性的临床用药可避免由经验用药治疗带来的广泛耐药问题,这同样是广大医务工作者目前所要迫切解决的任务之一。

参 考 文 献

- 1 Hocn B, Alla F, Beguinot I, et al. Changing profile of infective endocarditis results of a one-year survey in France in 1999. JAMA, 2002, 228: 75-81.
- 2 Cannady PB Jr, Sanford J. Negative blood cultures in infective endocarditis: a review. South Med J. 1976, 69: 1420-1424.
- 3 Maguina C, Gotuzzo E. Bartonellosis new and old. Infect Dis Clin North Am, 2000, 14: 1-22.
- 4 Lamas CC, Kykyn SJ. Blood culture negative endocarditis: analysis of 63 cases presenting over 25 years. Heart, 2003, 89: 258-262.
- 5 Roux V, Eykyn SJ, Wyllie S, et al. First report of *Bartonella vinsonii* Subsp. *berkhoffii* as an agent of a febrile blood culture negative endocarditis in man. J Clin Microbiol, 1999, 38: 1698-1700.
- 6 Rolain JM, Lecam C, Raoult D. Simplified serological diagnosis of endocarditis due to *Coxiella burnetii* and *bartonella*. Clin Diag Lab Immunol, 2003, 10: 147-148.
- 7 Levy PY, Fournier PE, Carta M, et al. Pericardial effusion in a homeless man due to *Bartonella Quintana*. J Clin Microbiol, 2003, 41: 5291-5293.
- 8 Chomel BB, Wey AC, Kasten RW, et al. Fatal case of endocarditis associated with *Bartonella henselae* type I infection in a domestic cat. J Clin Microbiol, 2003, 41: 5337-5339.
- 9 Fournier PE, Mainardi JL, Raoult D. Value of microimmunofluorescence for diagnosis and follow-up of *Bartonella* endocarditis. Clin Diag Lab Immunol, 2002, 9: 795-801.
- 10 Gunduchon V, Chalabreysse L, Etienne J, et al. Molecular diagnosis of infective endocarditis by PCR amplification and direct sequencing of DNA from valve tissue. J Clin Microbiol, 2003, 41: 763-766.
- 11 Li JS, Sexton MN, Nettles R, et al. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. Clin Infect Dis, 2000, 30: 633-638.
- 12 Johnson G, Ayers M, McClure SCC, et al. Detection and identification of *Bartonella* species pathogenic for humans by PCR amplification targeting the riboflavin synthase gene (*ribC*). J Clin Microbiol, 2003, 41: 1069-1072.

(收稿日期: 2004-04-09)

(本文编辑: 尹廉)