

· 综述 ·

无形体与人粒细胞无形体病

张丽娟 任军 徐建国

【关键词】 无形体; 人粒细胞无形体病

Anaplasma and human granulocytic anaplasmosis ZHANG Li-juan*, REN Jun, XU Jian-guo. *Institute for Infectious Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

【Key words】 *Anaplasma*; Human granulocytic anaplasmosis

无形体病 (Anaplasmosis) 是一类新发的重要人兽共患自然疫源性疾病^[1]。人粒细胞无形体病 (Human granulocytic anaplasmosis, HGA) 是由嗜吞噬无形体 (*Anaplasma phagocytophilum*) 引起, 主要侵染人末梢血中性粒细胞的蜱源立克次体疾病^[2]。其病原体无形体 (*Anaplasma*) 为革兰阴性细胞专性寄生菌^[1,2]。HGA 首例病例中性粒细胞内所见细菌最初被认为是查菲埃立克体 (*Ehrlichia chaffeensis*), 但针对查菲埃立克体的实验室检查全部是阴性, 后期对 13 例类似病例进行深入研究发现, 该病原体明显不同于查菲埃立克体, 故被命名为 HGA。此后, 报告的病例数明显增加, 近期, 欧洲已有相继报道^[3]。1999 年, 再次证明了引起犬粒细胞埃立克体病的埃文埃立克体 (*E. ewingii*) 也能引起人粒细胞埃立克体病。

1. 无形体分类: 无形体与埃立克体均属立克次体目, 无形体科 (*Anaplasmataceae*), 变形菌纲, α 亚群。按最新分类标准, 对人有致病作用的所有蜱源无形体科细菌被分为两个相近的属, 既无形体属与埃立克体属。以前命名的马埃立克体、嗜吞噬埃立克体和 HGA 病原体无论表型特征还是遗传特征均十分相似, 故合并为一个种 (*Anaplasma phagocytophilum*), 并从埃立克体属中分离重新划分为无形体属。而对人致病的非蜱源埃立克体, 如腺热埃立克体和 *E. risticii* 另立为新立克次体属 (*Neorickettsia*)。由此, 对人致病的无形体和埃立克体主要包括埃立克体属的查菲埃立克体和埃文埃立克体、无形体属中的嗜吞噬无形体和新立克次体属中腺热新立克次体 (*Neorickettsia sennetsu*)^[4]。

2. 流行病学: 无形体病流行地区血清流行率为 15% ~ 36%。美国 Wisconsin 州 HGA 年发病率为 16/10 万, 一些地区高达 58/10 万 (同地区莱姆病发病率为 110/10 万), 1997-1999 年间美国 Connecticut 州人群发病率为 24/10 万 ~ 51/10 万。同 human monocytic ehrlichiosis (HME, 死亡率约 2% ~ 3%) 相比, HGA 死亡率较低, 约为 0.5% ~ 1%^[5]。除

腺热埃立克体外, 无形体与埃立克体病主要通过蜱叮咬、接触或吸食病原因子而传播^[6]。嗜吞噬无形体传播媒介主要为全沟硬蜱 (*Ixodes persulcatus*) 群, 包括 *I. scapularis*、*I. pacificus*、*I. ricinus*。埃文埃立克体的传播媒介为 *Amblyomma americanum* 以及血红扇头蜱 (*Rhipicephalus sanguineus*)^[7]。查菲埃立克体传播媒介主要为 *Amblyomma americanum*。我国还从云南龟形钝眼蜱 (*A. testudinarium*)、福建的越南血蜱 (*H. yeni*) 和卵形硬蜱 (*I. ovatus*), 内蒙古森林革蜱 (*D. silvarum*)、西藏微小牛蜱 (*Boophilus microplus*) 中检出查菲埃立克体核酸序列, 从 *I. persulcatus* 蜱中检测到嗜吞噬无形体^[8]。嗜吞噬无形体的储存宿主有白足鼠 (*Peromyscus leucopus*)、野鼠类 (*Clethrionomys gapperi*) 以及其他小型哺乳动物。查菲埃立克体自然宿主是白尾鹿 (*Odocoileus virginianus*) 及家狗。动物宿主持续感染是病原体维持自然循环的基本条件。在欧洲, 红鹿、牛、羊、山羊可持续感染嗜吞噬无形体。狐狸、野生火鸡以及一些鸟类也是埃立克体的宿主^[9]。

3. 病原生物学特征: 同其他立克次体不同, 无形体在细胞浆内不是游离存在, 而是以包涵体形式存在。电镜下, 有类似衣原体的两种型, 即实体 (0.2 ~ 0.4 μm) 和网状体 (0.8 ~ 1.5 μm)。两者均以二分裂进行繁殖, 但发育循环机理还不清楚。细菌细胞壁没有明显的肽聚糖, 但可见较多的膜状皱褶突起。细菌缺乏经典糖代谢途径, 需依赖宿主酶系统进行代谢及生长繁殖。常用的培养细胞有 HL-60、DH82、HEL、HMEC-1、Vero、Hela、THP-1、HEL299、鼠胚胎细胞等^[9]。查菲埃立克体及嗜吞噬无形体基因组较小, 分别为 1250 kb 及 1500 kb, 而腺热新立克次体为 800 kb。属内 16S rRNA 基因序列相似性在 97.7% 以上。特征性基因包括 16S rRNA、各种免疫蛋白基因, 如 VLPT、 $M_1, 120 \times 10^3$ 、 $M_1, 106 \times 10^3$ 、 $M_1, 37 \times 10^3$ 以及热休克蛋白基因 *groESL*、*quinolate* 合成酶 A 基因以及 *p28* 多基因家族。 $M_1, 120 \times 10^3$ 蛋白基因含有一系列 240 bp 串联重复序列, 且不同菌株间存在变异性, 借以鉴别分离株^[10]。VLPT 基因在菌株间也存在较大变异性, 不同来源标本扩增出的 VLPT 基因显示 2 ~ 6 个重复序列单位。该基因编码 $M_1, 30 \times 10^3$ ~ 60×10^3 蛋白, 但其功能还不清楚。埃立克体与无形体菌株间的变异性还取决于 *p28* 多基因家族, 该基因家族编码一系列 $M_1, 26 \times 10^3$ ~ 32×10^3 分子量不等的蛋白质, 其氨基酸序列变异性在 20% ~ 80%。研究证实至少有 16 个 *p28* 等位基因, 由此决定了菌株间抗原异质性的表达。

作者单位: 102206 北京, 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所 (张丽娟、徐建国); 安徽省疾病预防控制中心 (任军)

4. 致病机理与机体免疫: 年龄 > 60 岁是重病及致死性感染的独立危险因素。疾病的严重程度取决于宿主、病原体及医疗干涉等综合因素。HIV 患者、免疫抑制治疗以及 Down 氏综合症患者常导致严重或致死性感染。病理改变包括多脏器周围血管淋巴组织炎症浸润、坏死性肝炎、脾及淋巴结单核吞噬系统增生以及较为罕见的脾坏死。在肝、脾及骨髓可见嗜血吞噬现象, 即白细胞受病原体感染后, 导致的对机体自身红细胞、白细胞、血小板的吞噬作用。

HGA 病理改变与免疫损伤有关, 而与细菌负荷量无关。参与病理损伤的细胞因子主要有 γ -干扰素 (IFN γ) 和白介素 10 (IL-10), 但缺乏 α 肿瘤坏死因子 (TNF α)、IL-1 β 以及 IL-4。感染后的中性粒细胞黏附功能、循环移动、脱颗粒作用、呼吸暴发以及吞噬功能明显下降。无形体与埃立克体感染中性粒细胞后, 可影响宿主细胞基因转录、细胞凋亡、细胞因子产生紊乱、吞噬功能缺陷, 进而造成免疫病理损伤, 并可通过 p28 基因多样性表达逃逸机体免疫, 进而造成持续感染^[11]。

研究表明组织相容性复合物 MHC-II 基因在抗感染过程中起主要作用, 说明 CD $_4^+$ T 淋巴细胞发挥重要作用。但是, *tlr4* 和 MHC-II 基因缺陷鼠感染后, 不引起发病或致死性感染, 而只有 T 及 B 淋巴细胞同时缺陷的 SCID 鼠感染后 24 h 死亡。相反, 具有功能性 B 细胞, 但 α/β 细胞缺陷, 或者 α/β 及 α/γ T 细胞同时缺陷的动物可表现持续性感染, 但不发病。总之, 只有完善的细胞免疫尤其是 CD $_4^+$ T 淋巴细胞与体液免疫协同作用, 才能共同完成病原体的彻底清除^[12]。

5. 临床表现: 一般接触感染蜱或吸食入病原体后 1-2 周 (平均 9 d) 出现前驱症状, 最常见的临床表现是全身不适 (94%)、发热 (92%)、肌痛 (77%)、头痛 (75%)。少数患者有关节痛及胃肠道症状 (恶心、呕吐、腹泻)、呼吸道症状 (咳嗽、肺炎、呼吸窘迫综合征)、肝脏、中枢神经系统症状。与斑点热不同 (90% 患者有皮疹), 无形体病皮疹少见 (6%), 且缺乏特异性皮疹。皮疹多在发病晚期 (平均发病 5 d), 表现为一过性的。分布四肢、躯干、脸部。手掌及足掌少见。皮疹表现为淤斑、斑丘疹、斑结节以及弥漫性红斑。如果与伯氏疏螺旋体复合感染, 可同时发生游走红斑, 但少见。实验室检测有血小板减少 (71%)、白细胞减少 (49%)、贫血 (37%) 及肝酶升高 (71%)^[17]。60%~70% 的患者需要住院治疗, 否则部分患者可在发病第 2 周死亡。严重病例可发生多器官受累如急性肾衰、代谢性酸中毒、呼吸衰竭、严重低血压、弥漫性血管内凝血、肝衰竭、心肌受损。老年或免疫缺陷患者易进展多器官衰竭、大出血及继发细菌或霉菌感染, 如巨细胞病毒及念珠菌感染^[13]。

6. 实验室检测: 发病早期表现多细胞系减少, 这一点常作为诊断线索。60%~70% 患者发病第 1 周表现白细胞减少, 淋巴细胞明显减少。而恢复期呈淋巴细胞增多, 70%~90% 患者发生血小板减少 (60 000~120 000/ μ l), 一些患者可降至 20 000/ μ l。多数患者血压正常, 然而, 约一半患者 2 周后发展为贫血。多数患者肝酶轻、中度升高, 25%~60%

患者硷性磷酸酶及胆红素升高, 然而 50% 的成人及 70% 儿童这些指标偏低。重危患者可表现血 Na $^+$ \leq 130 mEq/L。反应疾病进展及多器官受累的生化指标还有促凝血酶原激活酶原激活时间延长、凝血酶原时间延长、纤维蛋白原降解产物升高、血清肌酐、乳酸脱氢酶、肌酸磷酸激酶及淀粉酶升高。电解质异常如低钙、低镁、低磷。有些患者有胆红素及血清蛋白降低。

实验室诊断方法主要有^[14]: ①血清 IFA 检测特异抗体; ②PCR 扩增埃立克体或无形体核酸; ③使用 Romanowsky 染色检查末梢血白细胞包涵体; ④免疫组化染色检测特异抗原; ⑤病原体分离培养。IFA 检测抗体时, 原则上采集双份血清, 即急性期 (发病 1 周内) 与恢复期 (至少相隔 2-3 周); 双份血清抗体 4 倍升高具有明确诊断意义。PCR 检测全血、CSF 以及血清标本中病原体 DNA 方法已成为血清学标准补充方法。16S rRNA 基因是重要的靶基因。热休克蛋白基因 *groESL* 在不同种甚至不同分离株间, 基因长度及间隔序列都存在较大变异性, 且高度保守, 可作为种特异靶基因。M $_1$ 120 \times 10 3 抗原基因在诊断方面虽不如 16S rRNA 基因应用广泛, 但由于其遗传特征, 可作为分子流行病学研究的靶基因。VLPT 基因具有地理分布特点, 因此可作为流行病学分型及诊断工具。M $_1$ 28 \times 10 3 多基因家族也常作为靶基因进行诊断埃立克体病^[15]。对于 HGA 及埃文埃立克体感染病例, 末梢血及骨髓涂片染色镜检包涵体是一快速的诊断方法, 但检出率较低。各种临床标本如血液、CSF 等进行病原体分离是诊断最可靠方法, 但一般需要较长时间。

7. 无形体诊断与鉴别诊断^[5, 16]:

(1) 确诊病例诊断: 典型临床表现 + 实验室阳性指标之一。典型临床表现: ①发热、头痛、疲劳、肌痛、食欲不振, 部分患者腹痛、腹泻、咽痛; ②末梢血白细胞减少、血小板减少、急性期杆状中性粒细胞增多 (核左移) 及异淋巴细胞增多; ③肝酶 (谷草转氨酶) 轻中度增高 (2~4 倍)。实验室检测指标: ①血清特异抗体 4 倍升高; ②PCR 检测核酸阳性; ③免疫组化染色阳性; ④单份血清抗体阳性以及末梢血检测到包涵体; ⑤分离到病原体。

(2) 可疑病例诊断: 典型临床表现 + 实验室阳性指标之一; 典型临床表现同确诊病例。实验室指标包括: ①单份血清抗体阳性; ②末梢血检测到包涵体。

(3) 鉴别诊断: 无形体病与其他疾病的鉴别要点参见表 1。

8. 无形体病治疗与处置: 强力霉素是首选药^[17]; 成人患者推荐剂量是 100 mg, 住院患者主张静脉给药。疗程没有明确规定, 建议退热后继续用药 3 d, 直到症状完全改善。氯霉素可作为替代药物, 但副作用较大, 需定时监测血象。由于四环素可导致胎儿牙齿损伤以及孕妇肝、胰腺损伤, 因此禁用。但在高度怀疑蜱源立克次体病的孕妇有生命危险时, 可以使用四环素^[18]。有蜱接触史的人员不主张预防用药。

表1 埃立克体及无形体病与其他皮疹性疾病鉴别要点^[16]

疾病	病原体	季节	发 病	临床特征
斑点热	斑点热群立克次体	春季到夏季	发热、头痛、乏力,有时胃肠道症状,50%患者 2-4 d 后有皮疹	皮疹从远端向中心扩散,有时手掌、脚掌可发生皮疹。斑丘疹向淤斑进展
鼠伤寒	莫氏立克次体	散发,四季均有	发热、头痛、乏力,50%患者 4-5 d 后有皮疹	斑丘疹以躯干为主,也可出现在四肢
嗜单核细胞埃立克体病	查非埃立克体	春季到夏季	发热、头痛、乏力,30%患者有皮疹	红斑、斑丘疹、淤斑进行性发展,儿童较成人常见
A 群链球菌咽炎	A 群链球菌	秋季到冬季	突然发热、咽痛,无力,发病后出现皮疹	儿童出现淤斑
细菌性脑膜炎	脑膜炎双球菌	一年四季,晚冬到早春	发热,24 h 皮疹	四肢远端出现斑丘疹、淤斑向中心扩散,早期也可能不出现淤斑
红斑病	人细小病毒 B19	晚冬或早夏	低热,中度全身症状,后即发生皮疹	美颊疹出现,躯干花边疹
蔷薇疹	人疱疹病毒 6	一年四季	发热 3-5 d 出疹,2 岁以下儿童常见	斑丘疹首先在躯干出现,而后向四周扩散,快速消失
肠道病毒感染	Echoviruses, coxsackieviruses, Other nonpolio, 肠道病毒	夏季或早秋,也可四季	非特异发热,皮疹不定	发热时,细小皮疹,开始出现在脸,而后向胸及四肢扩散,也可能是淤斑

参 考 文 献

- [1] Dumler JS. *Anaplasma* and *Ehrlichia* infection. Ann N Y Acad Sci, 2005, 1063(12):361-373.
- [2] Chen SM, Dumler JS, Bakken JS, et al. Identification of a granulocytotropic *ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease. J Clin Microbiol, 1994, 32(3):569-595.
- [3] Strle E. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. Int J Med Microbiol, 2004, 37(1):27-35.
- [4] Agüero-Rosenfeld ME, Dumler JS. *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Neorickettsia*, and *Aegyptianella*, 1015-1029. In: Murray PR. (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 8th edition. vol. 1. ASM press, Washington DC, USA. 2003.
- [5] Gardner SL, Holman RC, Krebs JW, et al. National surveillance for the human ehrlichioses in the United States, 1997-2002, and proposed methods for evaluation of data quality. Ann N Y Acad Sci, 2003, 990(1):80-89.
- [6] Bakken JS, Krueth JK, Lund T, et al. Exposure to deer blood may be a cause of human granulocytic ehrlichiosis. Clin Infect Dis, 1996, 23(1):198.
- [7] Chapman AS, Bakken JS, Folk SM, et al. Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis-United States. MMWR Recomm Rep, 2006, 55(RR-4):1-27.
- [8] Wen B, Cao W, Pan H. *Ehrlichiae* and ehrlichial diseases in China. Ann N Y Acad Sci, 2003, 990(1):45-53.
- [9] Christopher DP, Childs JE. *Ehrlichia chaffeensis*: a prototypical emerging pathogen. Clin Microbiol Rev, 2003, 16(1):37-64.
- [10] Yu X, Piesman JF, Olson J, et al. Short report: geographic distribution of different genetic types of *Ehrlichia chaffeensis*. Am J Trop Med Hyg, 1997, 56(6):679-680.
- [11] Zhang JZ, Guo H, Winslow GM, et al. Expression of members of the 28-kilodalton major outer membrane protein family of *ehrlichia chaffeensis* during persistent infection. Infect Immun, 2004, 72(8):4336-4343.
- [12] Bitsakis C, Huntington J, Winslow G. Production of IFN-gamma by CD4 T cells is essential for resolving *ehrlichia* infection. J Immunol, 2004, 172(11):6894-6901.
- [13] Walker DH. *Ehrlichia* under our noses and no one notices. Arch Virol, 2005, 19 Suppl:S147-156.
- [14] Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED. The clinical assessment, treatment, and prevention of lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis, 2006, 43(9):1089-1134.
- [15] Long SW, Zhang XF, Qi H, et al. Antigenic variation of *Ehrlichia chaffeensis* resulting from differential expression of the 28-kilodalton protein gene family. Infect Immun, 2002, 70(4):1824-1831.
- [16] Brouqui P, Bacellar F, Baranton G, et al. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. Clin Microbiol Infect, 2004, 10(12):1108-1132.
- [17] Bakken JS, Dumler JS. Clinical diagnosis and treatment of human granulocytotropic anaplasmosis. Ann N Y Acad Sci, 2006, 1078(10):236-247.
- [18] Dumler JS, Choi KS, Garcia-Garcia JC. Human granulocytic anaplasmosis and *Anaplasma phagocytophilum*. Emerg Infect Dis, 2005, 11(12):1828-1834.

(收稿日期:2007-01-10)

(本文编辑:尹廉)