

## 2009~2018年北京协和医院布鲁菌感染的 临床与实验室特点分析

刘文静<sup>1,2</sup>, 孙宏莉<sup>1,2</sup>, 张小江<sup>1,2</sup>, 王瑶<sup>1,2</sup>, 杨启文<sup>1,2</sup>, 窦红涛<sup>1,2</sup>, 王贺<sup>1,2</sup>, 赵颖<sup>1,2</sup>, 郭莉娜<sup>1,2</sup>,  
刘亚丽<sup>1,2</sup>, 张丽<sup>1,2</sup>, 肖盟<sup>1,2</sup>, 徐英春<sup>1,2</sup>

(1. 中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院检验科, 北京 100730;

2. 北京市侵袭性真菌病机制研究与精准诊断重点实验室, 北京 100730)

**摘要:** **目的** 分析布鲁菌感染的临床与实验室特点, 为其临床诊治提供依据。 **方法** 回顾性分析 2009~2018 年北京协和医院 134 例布鲁菌感染患者的临床和实验室资料, 对其流行病学特征 (包括年龄、性别、接触史、时间分布)、临床表现和疗效进行分析。 **结果** 134 例患者中男性 88 例, 女性 46 例, 平均年龄 48 岁 (1~78 岁)。50% 患者有明确生活在疫区、接触牲畜、生牛羊肉及食用未灭菌奶制品等方面接触史。布鲁菌感染临床表现前三位的症状和体征为发热 (66 例)、关节痛和/或肌肉痛伴乏力 (23 例)、心脏疾病 (10 例)。布鲁菌感染急性期经规范治疗多可治愈, 若治疗不及时或不规范可转为慢性。206 例送检阳性标本, 住院 99 例、门诊 62 例和急诊 45 例。布鲁菌分离前三位的科室为感染内科 (49 例)、急诊科 (34 例) 和普通内科 (11 例)。外周血送检比率最高, 需氧血培养瓶阳性报警时间均值为 88.12h (2~481h)。其他培养阳性标本包括组织、骨髓、脑脊液、关节液和玻璃体等。布鲁菌培养与血清凝集实验结果一致性高, 两种方法均送检的有 83 例, 其中 82 例两种方法均阳性, 仅 1 例培养阳性, 血清凝集实验阴性。十年间布鲁菌培养阳性分离率最高的年度是 2015~2017 年, 阳性分离率最高的季节是 4 月至 7 月。 **结论** 布鲁菌感染的临床表现复杂, 分离出布鲁菌是确诊的依据之一, 需要综合考虑患者的基本情况和药物的毒副作用选择药物。掌握布鲁菌感染的临床和实验室特征十分重要。

**关键词:** 布鲁菌; 布鲁菌病; 凝集实验; 流行病学

**中图分类号:** R378.5; R446.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2019) 06-126-05

**doi:**10.3969 / j.issn.1671-7414.2019.06.032

### Analysis of Clinical and Laboratory Features of *Brucella* Infection in Peking Union Medical College Hospital from 2009 to 2018

LIU Wen-jing<sup>1,2</sup>, SUN Hong-li<sup>1,2</sup>, ZHANG Xiao-jiang<sup>1,2</sup>, WANG Yao<sup>1,2</sup>, YANG Qi-wen<sup>1,2</sup>,  
DOU Hong-tao<sup>1,2</sup>, WANG He<sup>1,2</sup>, ZHAO Ying<sup>1,2</sup>, GUO Li-na<sup>1,2</sup>, LIU Ya-li<sup>1,2</sup>, ZHANG Li<sup>1,2</sup>,  
XIAO Meng<sup>1,2</sup>, XU Ying-chun<sup>1,2</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China; 2. Beijing Key Laboratory for Mechanisms Research and Precision Diagnosis of Invasive Fungal Diseases, Beijing 100730, China)

**Abstract:** **Objective** The clinical and laboratory characteristics of *Brucella* infection were analyzed to provide basis for clinical diagnosis and treatment. **Methods** The clinical and laboratory data of 134 patients with *Brucella* infection in Peking Union Medical College Hospital from 2009 to 2018 were retrospectively analyzed. The epidemiological characteristics (including age, sex, contact history, time distribution), clinical manifestations and therapeutic effects were analyzed. **Results** In the 134 Brucellosis patients, 88 were male and 46 were female with an average age of 48 years (1~78 years). Only 50% of the patients had a clear history of living in epidemic areas, contact with livestock, raw beef and mutton, and eating unsterilized dairy products. The first three clinical symptoms and signs were fever (66 cases), arthralgia and muscle pain with fatigue (23 cases), and heart disease (10 cases). Most cases of acute *Brucella* infection could be cured by standard treatment. If the treatment was not timely or standardized, they could become chronic. 206 positive samples distribution was 99 in hospital, 62 in outpatient department and 45 in emergency department, respectively. The top three departments of *Brucella* infection were infectious medicine (49 cases), emergency medicine (34 cases) and general medicine (11 cases). Peripheral blood was the highest isolated sample type,

**作者简介:** 刘文静 (1984-), 女, 硕士学位, 助理研究员, 研究方向: 常见病原菌快速鉴定及耐药机制研究, E-mail: liuwenjing1220@139.com。

**通信作者:** 徐英春 (1964-), 男, 本科, 研究员, 研究方向: 常见病原菌快速鉴定及耐药机制研究, E-mail: xycumch@139.com。

the average alarm time of aerobic blood culture bottle was 88.12h (2~481h). *Brucella* was also isolated from other sample types such as tissues, bone marrow, cerebrospinal fluid, joint fluid and vitreous body. *Brucella* culture and serum agglutination test was in high consistency, only one of 83 patients with two methods was positive in culture but negative in serum agglutination test. The highest positive isolation rate of *Brucella* in the past ten years was from 2015 to 2017, and the highest positive isolation season was from April to July. **Conclusion** The clinical manifestations of *Brucella* infection are complex. Isolation of *Brucella* is one of the bases for its diagnosis. It is necessary to consider the basic situation of patients and the side effects of drugs to choose drugs. And it's important to master the clinical and laboratory epidemiological characteristics of *Brucella* infection.

**Keywords:** *Brucella*; brucellosis; agglutination test; epidemiology

布鲁菌病是一种常见的动物源性疾病,感染对象包括家畜、野生动物和人,一般来说,动物是布鲁菌的无症状携带者。人感染布鲁菌病的潜伏期长短不一,一般是1~4周。因布鲁菌寄生在巨噬细胞内,可通过局部淋巴结转运至循环系统,进而通过网状内皮系统的趋向性播散至全身,导致疾病的不同阶段<sup>[1]</sup>。布鲁菌病起病隐匿,可表现为广泛多样性的非特异临床症状和体征,如发热、盗汗、关节痛、肌痛、乏力、食欲缺乏、体重减轻和肝脾肿大等。并发症可涉及多个器官和组织,可有局限病灶,儿童表现为相似的临床表现<sup>[2]</sup>。引起人的感染发热初期与疟疾、伤寒等疾病容易混淆,给临床诊断带来极大挑战,病史采集和体格检查对于感染性疾病的诊断和经验性治疗是决定性的<sup>[3]</sup>。布鲁菌感染急性期经规范治疗多可治愈,若治疗不及时或不规范可转为慢性,不同区域布鲁菌流行的特点略有不同<sup>[4]</sup>,为提高临床医生对该病的认识,减少误诊漏诊,使患者得到及时正确的诊断治疗,现将2009~2018年北京协和医院布鲁菌感染的临床和实验室特征分析如下。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集北京协和医院检验科2009~2018年134例布鲁菌感染患者送检外周血自动化血培养(185)及组织(8)、骨髓(7)、脑脊液(3)、关节液(2)和玻璃体(1)等普通培养标本共206例。

1.2 试剂和仪器 血琼脂平板、不含万古霉素的巧克力琼脂平板、中国蓝琼脂平板(英国Oxoid公司); BACTEC™ FX全自动血培养仪(美国BD公司); BacT/ALERT 3D,氧化酶(法国生物梅里埃公司); 触酶试剂(实验室新鲜配制); 尿素微量生化反应管(杭州滨和微生物试剂有限公司); 布鲁菌凝集试剂盒(法国生物梅里埃公司)。

### 1.3 方法

1.3.1 布鲁菌培养:严格按照北京协和医院检验科外周血自动化血培养及无菌标本病原微生物鉴定操作规程进行检测。全部操作均在生物安全柜中进行。

1.3.2 布鲁菌凝集实验:按试剂说明书在反应卡孔内加入试剂R1(经孟加拉玫瑰红染色的灭活牛布鲁

菌)15μl与待检血清15μl,用搅拌棒混匀,缓慢摇动反应卡4min,观察凝集反应。凝集(包括弱凝集)为阳性,不凝集为布鲁菌抗体阴性。

1.3.3 布鲁菌属阳性鉴定标准:37℃需氧或5~10ml/dl CO<sub>2</sub>孵育24~48h后形成边缘整齐、光滑、有折光性、直径为1~2mm的菌落,镜下形态典型沙滩样,革兰阴性小球杆菌,氧化酶、触酶和快速脲酶实验阳性,即可初步报告可疑布鲁菌属<sup>[5]</sup>。

## 2 结果

2.1 布鲁菌感染的临床特征 男性患者88例,女性患者46例,平均年龄48岁(1~78岁)。接触史方面:50%患者曾生活在疫区,接触牲畜、生牛羊肉及食用未灭菌奶制品等。临床表现前三位的症状和体征为发热(66例)、关节痛和/或肌肉痛伴乏力(23例)、心脏病(10例)。另外还有头痛、憋气、纳差、布鲁菌病脊柱炎、淋巴结肿大、睾丸肿大、脑膜炎、肾炎、眼内炎及多器官受累等多种临床表现。

2.2 布鲁菌感染的科室分布 住院99例、门诊62例、急诊45例。分离前五位的科室为感染内科(49例)、急诊科(34例)、普通内科(11例)、发热门诊(9例)、骨科(3例)。其他科室包括呼吸内科、免疫内科、神经内科、神经外科、心胸外科、儿科、肾内科、消化内科、血管外科、眼科和内分泌科,其中有少数患者转诊于两个不同的科室,主要为急诊科转到血管外科和普内科各1例;胸外科转外科ICU和血管外科各1例,内分泌科转胸外科1例。

2.3 布鲁菌培养阳性标本分析 布鲁菌需氧血培养瓶阳性报警时间均值为88.12h(2~481h)。除外周血外,组织、骨髓、脑脊液、关节液、玻璃体等标本类型也有布鲁菌的分离。134例布鲁菌感染患者标本送检情况为:外周血115例、组织4例、骨髓2例、脑脊液2例和玻璃体1例;部分患者同时送检2种不同类型的标本,其中外周血+骨髓4例,外周血+其他组织3例,外周血+关节液2例,骨髓+脑脊液1例。206例送检阳性标本中,外周血是重复送检比率最高的标本类型为185例,提示部分患者重复送检多套外周血阳性。

2.4 布鲁菌培养与血清凝集实验结果的一致性 83例疑似布鲁菌感染患者同时进行了布鲁菌培养和布鲁菌凝集实验, 82例患者布鲁菌培养和血清凝集实验同时阳性, 1例患者布鲁菌培养阳性, 血清凝集阴性。

2.5 2009~2018年北京协和医院布鲁菌阳性分离趋势 见图1。十年间, 2015~2017年是布鲁菌分离率最高的3年。

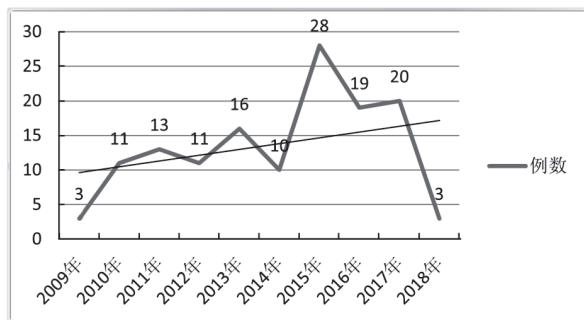


图1 2009年~2018年布鲁菌培养阳性分离例数趋势

2.6 2009~2018年北京协和医院布鲁菌培养阳性例数随季节分配情况 见图2。4~7月是布鲁菌培养阳性分离最高的季节。

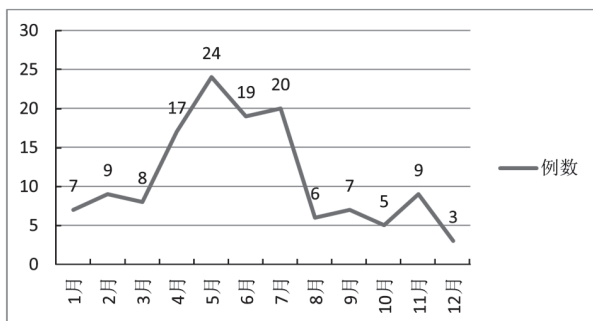


图2 2009~2018年北京协和医院布鲁菌阳性季节分配情况

2.7 布鲁菌感染的用药及转归 参考卫健委印发的《布鲁氏菌病诊疗指南》<sup>[6]</sup>, 134例患者中2例为隐性感染病例, 其他均为确诊病例。严格按照推荐用药方案进行治疗: 一线药物为多西环素联合利福平或链霉素, 二线药物为多西环素联合复方新诺明或妥布霉素, 利福平联合氟喹诺酮类。难治性病例加用氟喹诺酮类或三代头孢菌素类。隐性感染病例是否需要治疗目前尚无循证医学证据, 建议给予治疗。急性期疗程为6周, 且外周血培养阴性方可考虑停药, 治疗过程中需口服保肝护胃等药物, 定期复查血细胞计数、肝肾功能、红细胞沉降率、超敏C反应蛋白、外周血培养等, 警惕药物副作用, 如有进行性加重血细胞计数及肝肾功能异常时需停药并及时就诊; 慢性期(病程超过6个月仍未痊愈)

治疗周期达半年甚至一年以上。考虑到药物的毒副作用, 如利福平相关的骨髓抑制、肝功能损伤等, 会暂缓使用或改为阿米卡星和/或左氧氟沙星进行治疗。四环素类药物中米诺环素抗菌活性最强, 多西环素不良反应最少, 用药组合时也会权衡进行选择。并发睾丸炎、脑膜炎、心内膜炎、血管炎、脊椎炎、其他器官或组织脓肿的病例, 加用了三代头孢菌素头孢曲松。

除13例门诊急诊患者确诊后无后续诊疗记录, 2例患者因其他基础疾病急剧恶化放弃治疗外, 其他117例均为治疗有效, 好转或治愈。慢性布鲁菌感染患者7例, 1例因不规律用药和食用未灭菌奶制品有关, 3例久住疫区贩卖养殖牲畜有关。特殊人群(1岁儿童)感染1例, 链霉素和四环素治疗有效。

### 3 讨论

布鲁菌的感染剂量很低( $\leq 10^2$ 个病原菌), 感染主要发生在成年男性, 与国内外文献<sup>[4-5, 7]</sup>报道一致, 可能主要与职业有关, 因感染大多发生在乳制品行业人员、兽医、屠宰场工人、临床和微生物学研究人员中, 从事这些行业的较多为男性。感染的主要途径为与感染动物组织的直接皮肤接触(比如通过伤口和擦伤)、吸入含感染性颗粒的气溶胶、意外接种(如喷雾剂或气溶胶接种到眼、口和鼻)等。人与人的传播有可能发生, 但非常罕见。布鲁菌感染的高发季节为4~7月与GUAN P<sup>[8]</sup>等报道的发病季节峰3~8月一致, 与国内文献报道北方流行的高峰为5月份一致<sup>[4]</sup>。2009年~2018年北京协和医院布鲁菌培养阳性分离情况, 除2009年和2018年阳性检出仅为3例外, 整体呈上升趋势, 可能与就诊患者人群有很大关系, 布鲁菌感染患者是否来协和医院就诊有关。通过对布鲁菌培养阳性患者科室分布和高发季节等数据的分析, 应引起就诊率高的相关科室医师在相应季节时注意对布鲁菌感染的鉴别诊断。

培养是布鲁菌病实验室诊断的金标准。由于布鲁菌是高致病菌, 阳性培养物的转种、染色、进一步生化鉴定、分型、药敏、PCR, 质谱等试验均有较高的实验室感染风险, 不建议一般的实验室进行操作。急性布鲁菌病培养阳性率(40%~90%)高于慢性、局限病灶和病情复杂的布鲁菌病(5%~20%), 骨髓培养比外周血培养阳性率高15%~20%, 脑脊液布鲁菌培养阳性率低(5%~30%)。血琼脂平板和巧克力琼脂平板37℃, 5%~10%(v/v) CO<sub>2</sub> 孵育10天, 若仍无菌生长, 则报告阴性<sup>[9-10]</sup>。自动连续监测血培养系统, 大部分细菌一周之内可以快速监测到细菌生长, 没有必要孵育超过10~14天<sup>[10]</sup>。但实际工作中为了同时捕获一些其他非典型性病原



体,往往将怀疑布鲁菌感染的自动化培养延长至21天。布鲁菌的准确诊断,极大依赖实验室工作人员的经验,由于布鲁菌菌落形态的不特异性,当菌量比较少时,极易被当成污染菌。不同类型临床标本的送检极大依赖于临床医生的经验,当高度怀疑布鲁菌感染时应提高骨髓标本的送检率,局限病灶时应考虑相应部位标本的送检,以便提高阳性检出率。

血清学试验是实验室诊断布鲁菌病最常用的方法,可早期快速诊断<sup>[11]</sup>。布鲁菌感染过程中,首先出现IgM抗体,接下来10~14天内出现IgG抗体。一般这些抗体和其他的免疫球蛋白的变化依赖于机体对治疗的反应,在恢复期可观察到抗体滴度逐步缓慢下降,若滴度持续较高则提示治疗反应不佳,可能存在局部并发症、慢性感染或复发,但15%~20%正在治疗和痊愈的无症状患者也会出现抗体持续存在,目前尚无法解释此现象<sup>[10]</sup>。治愈后患者抗体维持阳性滴度其意义尚未明确。血清学试验使用的抗原通常来自于马尔他布鲁菌和流产布鲁菌,犬布鲁菌和绵羊布鲁菌主要以粗糙型菌落存在,与其他菌种不存在交叉抗原<sup>[12]</sup>。血清凝集试验无法区分抗体的类型,急性病例中应用较好,复杂和慢性病例中假阴性率高<sup>[5]</sup>。本文中有1例患者培养阳性,但血清凝集试验阴性,可能与病情复杂多器官受累有关。酶免测定可区分IgM, IgG和IgA,尤其在慢性、局灶性和复发性布鲁菌病具有较高的敏感度和特异度,被认为是筛选布鲁菌血清抗体的好方法。

质谱技术近些年来也开始应用到布鲁菌的鉴定中,但由于涉及到活菌的操作一定要注意生物安全,有报道指出质谱将羊布鲁菌错误的鉴定为人苍白杆菌<sup>[13]</sup>,可能与其建库有关,所以警示实验室人员不能过度依赖新兴技术,对于特殊病原菌尚需涂片染色、生化反应等传统技术进行复核。

8岁以下儿童及孕妇特殊人群治疗可选用利福平联合复方新诺明治疗。妊娠12周内选用三代头孢菌素类联合复方新诺明治疗。本研究中1岁儿童布鲁菌感染患者用链霉素和四环素治疗有效,值得借鉴。布鲁菌对四环素、利福平和氨基糖甙类抗生素罕有耐药,联合药物治疗比单一药物治疗可减少复发,使用喹诺酮类和广谱头孢菌素的治疗方案有较高的复发率,尽管体外药敏提示有较好的MIC<sup>[14]</sup>,但本文尚未发现这样的规律。实验室高风险暴露后的预防治疗(四环素和利福平治疗3~6周)问题还存在争议,暴露后的管理指南是经验性的指南<sup>[15-16]</sup>,然而暴露后还是建议采集基础水平时的血液标本,每周监测,直至6个月,同时在0, 2, 4, 6和24周分别进行血清学监测。

尽管巴氏消毒法、紫外线照射、酸液、多种防腐剂 and 消毒剂可杀死布鲁菌,但它能在多种环境中存活一段较长的时间,如在土壤中存活10年,在流产胎儿中可存活11周,在牛粪便中可存活17周,在牛奶和冰淇淋中约存活3周,在新鲜奶酪中可存活数月<sup>[17]</sup>。所以一定要加强布鲁菌病的流行病学调查和宣传教育,尤其是在疫区,避免布鲁菌病的高发和传播,建议采用多种方法综合诊断布鲁菌病,但一定要注意生物安全。

本文不足之处,由于北京协和医院为全国疑难病诊治中心,难以通过籍贯判断患者为流动或常驻人群,难以区分不同区域患者疾病特点是否不同。部分患者为门急诊患者,用药及转归情况不详。如果能够完善布鲁菌病确诊的大致时间、不同期不同方法的阳性检出率、误诊的几率等可为临床布鲁菌病的诊治提供更加完善的信息。

#### 参考文献:

- [1] GORVEL JP. *Brucella*: a Mr "Hide" converted into Dr Jekyll [J]. *Microbes & Infect*, 2008, 10 (9): 1010-1013.
- [2] 孙美艳, 其其格. 儿童布鲁菌病128例临床分析 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2018, 33 (4): 302-305.  
SUN Meiyang, QI Qige. Clinical analysis of 128 children with *brucellosis* [J]. *Chinese Journal of Practical Pediatrics*, 2018, 33 (4): 302-305.
- [3] 马小军. 感染性疾病诊疗的思考 [J]. *协和医学杂志*, 2018, 9 (5): 393-398.  
MA Xiaojun. Overview of diagnosis and treatment of infectious diseases [J]. *Medical Journal of Peking Union Medical College Hospital*, 2018, 9 (5): 393-398.
- [4] 施玉静, 赖圣杰, 陈秋兰, 等. 我国南北方2015~2016年人间布鲁氏菌病流行特征分析 [J]. *中华流行病学杂志*, 2017, 38 (4): 435-440.  
SHI Yujing, LAI Shengjie, CHEN Qinlan, et al. Analysis on the epidemiological features of human *brucellosis* in northern and southern areas of China, 2015~2016 [J]. *Chinese Journal of Epidemiology*, 2017, 38(4): 435-440.
- [5] JORGENSEN J H, PFALLER M A, CARROLL K C, et al. *Manual of Clinical Microbiology* [M]. 11th Ed. American Society for Microbiology, 2015.
- [6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 卫生部办公厅关于印发布鲁氏菌病诊疗指南(试行)的通知 [S]. 卫办医政发〔2012〕117号 [A/OL]. <http://www.gov.cn/gzdt/2012-10/23/content-2249087.htm>.  
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. Notice of the General Office of the Ministry of Health on publishing guidelines for diagnosis and treatment of *brucellosis* Medical Affairs of the Health Office [2012] 117 [A/OL]. <http://www.gov.cn/gzdt/2012-10/23/content-2249087.htm>. (下转137页)