

神经型布鲁菌病临床特点和实验室诊断分析

曹敬荣 王岩 王育英 谢威 陈典典 段园园 闵嵘 王培昌

【摘要】目的 总结神经型布鲁菌病(NB)的临床及实验室诊断过程,为提高临床和实验室对该病的认识和早期诊疗提供经验。**方法** 回顾性分析2015年1月至2017年1月于首都医科大学宣武医院确诊的12例神经型布鲁菌病患者的临床表现、流行病学资料及脑脊液(CSF)培养等病原学检查、影像学表现和其他实验室检查结果,并与非神经型布鲁菌病患者比较平均发病年龄,CSF白细胞数、蛋白含量、氯化物、葡萄糖水平等。**结果** 12例神经型布鲁菌病患者中男性9例,女性3例,平均年龄为(43±14)岁;10例患者来自流行地区,9例有明确的流行病学接触史,其中3例既往诊断布鲁菌病;12例患者均出现不同程度发热,6例有头痛伴脑膜刺激征表现;3例患者表现为复视、视力下降;伴有听力减退伴步态不稳,肢体麻木无力,精神状态改变者各4例。血清布鲁杆菌凝集试验阳性(100%)较CSF凝集阳性率(58.3%)和CSF培养阳性率(46.1%)对临床诊断神经型布鲁菌病价值较大,差异具有统计学意义($\chi^2=52.68, P=0.005, \chi^2=73.79, P=0.005$);12例NB患者CSF白细胞数(单核为主)和蛋白均不同程度升高,葡萄糖、氯化物正常或减低,与非NB感染者相比,CSF葡萄糖检测具有重要价值(P 均 <0.05)。给予多西环素或米诺环素+利福平+头孢曲松治疗后12例患者均预后良好。**结论** 神经型布鲁菌病临床表现多样,易误诊或漏诊,非疫区医务人员应重视CSF血瓶培养及布鲁杆菌凝集,加强多学科协作交流以及早确诊及早治疗。

【关键词】 神经型布鲁菌病;脑脊液;16S rRNA;布鲁杆菌凝集试验

Clinical presentations and features of diagnostic examinations of neurobrucellosis Cao Jingrong, Wang Yan, Wang Yuying, Xie Wei, Chen Diandian, Duan Yuanyuan, Min Rong, Wang Peichang. Department of Clinical Laboratory, Xuanwu Hospital of Capital Medical University, Beijing 100053, China

Corresponding author: Wang Peichang, Email: pcw1905@126.com

【Abstract】Objective To investigate the clinical and laboratory diagnosis of neurobrucellosis (NB), and to provide the experience for improving the early diagnosis and treatment of NB in clinical and laboratory practice. **Methods** The clinical manifestations, epidemiological data and cerebrospinal fluid (CSF) culture of 12 patients with NB confirmed in Xuanwu Hospital of Capital Medical University from January 2015 to January 2017 were analyzed, retrospectively. The results of other laboratory examination including average age of patients, level of CSF leukocyte count, protein content, chloride, glucose were examined and compared with patients with non-NB. **Results** Among the 12 cases of neurobrucellosis, 9 cases were males and 3 cases were females, with an average age of (43±14) years old. Ten patients came from epidemic areas of brucellosis and 9 had a clear history of epidemiological contact. Three of them had previously been diagnosed as brucellosis. All the 12 cases had fever of different degrees, 6 with headache and meningeal irritation, 3 cases presented diplopia and decreased vision. Hearing loss with gait instability, limbs numbness and mental status changed occurred in 4 cases, respectively. The positive rate of Brucella blood agglutination test (100%) was higher than that of CSF agglutination test (58.3%) and CSF culture (46.1%) in clinical diagnosis of NB, with significant differences ($\chi^2=52.68, P=0.005; \chi^2=73.79, P=0.005$). The count of CSF leukocyte (monocyte) and levels of protein

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2018.03.007

基金项目:北京市科委首都临床特色应用研究基金(No. Z141107002514012);首都医科大学校长基金(No. 2016JYY96)

作者单位:100053北京,首都医科大学宣武医院检验科

通信作者:王培昌, Email: pcw1905@126.com

increased in 12 patients with NB. The glucose and chloride levels were normal or decreased. Compared with other non-NB diseases, CSF glucose detection was with great value in patients with NB ($P < 0.05$). All 12 cases with NB who treated with doxycycline or minocycline + rifampin + ceftriaxone were with a good prognosis.

Conclusions The clinical presentation of neurobrucellosis are diverse and easy to be misdiagnosed or missed. CSF blood culture and brucellosis agglutination should be emphasized by medical staff in non-endemic areas. In addition, the multidisciplinary cooperation is proved to be helpful for early diagnosis and treatment of neurobrucellosis.

【Key words】 Neurobrucellosis; Cerebrospinal fluid; 16S rRNA; Brucella blood serum agglutination test

神经型布鲁菌病 (neurobrucellosis, NB) 是布鲁杆菌病神经系统的并发症, 近年来, 随着疫区和城市布鲁菌病发病率的上升, NB 发生率及国内外对其发病机制及诊疗方面的报道亦呈增加趋势^[1-3]。NB 患者临床表现多样、缺乏特异性, 与神经系统众多疾病难以区分和鉴别, 易于误诊、漏诊而使临床诊断率低^[3-6], 且后遗症严重。因此, 为提高本地区临床医师和微生物人员对 NB 和布鲁杆菌的认识, 现对本院 2015 年 1 月至 2017 年 1 月确诊的 12 例 NB 患者的临床表现、流行病学资料和脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 实验室检查结果进行回顾性分析, 现报道如下。

资料与方法

一、入组患者的一般资料

12 例 NB 患者中男性 9 例, 女性 3 例, 年龄 22~60 岁, 平均年龄 (43 ± 14) 岁; 12 例患者均符合 NB 的诊断标准^[7]。对照组包括神经梅毒 20 例 (数据见文献^[9])、细菌性脑膜炎 35 例、隐球菌性脑膜炎 6 例、病毒性脑膜炎 22 例和非感染者 20 例, 均来自首都医科大学宣武医院。

二、主要仪器与试剂

血培养仪 BACTEC 9120 及儿童血培养瓶 (BD 公司), VITEK-2 Compact GN 自动鉴定仪及配套 GN 鉴定卡、布鲁杆菌凝集试剂 (法国梅里埃公司), 哥伦比亚血平板 (OXID 公司), 质谱 Biotyper 3.1 及 HCCA 基质 (BRUKER 公司), PCR mix 试剂为 TaKaRa 公司产品, 引物合成和测序由上海生工公司完成。

三、方法

1. 资料分析: 回顾性分析 12 例 NB 患者的临床症状、流行病学资料、影像学及实验室检查结果, 复习国内外文献进行讨论。查阅同期本院细菌性脑

膜炎、真菌性脑膜炎和神经梅毒患者脑脊液检查资料。

2. 细菌培养与鉴定: 按照《临床微生物检验标准化操作》第 4 版处理临床标本。脑脊液 (CSF) 普通培养采用 3 000 r/min 离心后沉渣接种哥伦比亚血平板, 35 °C 培养 24~48 h 观察结果; CSF 血培养: 取 1~2 ml CSF 接种儿童血培养瓶, 仪器阳性报警后转种哥伦比亚血平板。细菌鉴定采用 VITEK-2 Compact GN 鉴定卡、质谱和 16S rRNA 测序方法^[8]。

3. 检测指标: 比较两组患者的年龄、平均发病年龄, CSF 白细胞数、蛋白含量、氯化物、葡萄糖水平以及 CSF 凝集试验阳性率等指标。

四、统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件对数据资料进行统计学分析, 患者年龄、CSF 白细胞计数、蛋白、葡萄糖等计量资料呈正态分布者采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组患者比较采用 t 检验; 构成比、阳性率等计数资料用率表示, 采用配对资料 χ^2 检验或非参数检验, 以 $P < 0.05$ 具有统计学意义。

结 果

一、流行病学史

12 例患者中 10 例来自流行地区 (黑龙江、内蒙古自治区、河北、吉林和河南等), 其中 9 例患者有与牛羊密切接触史, 3 例患者接触史不明确; 3 例患者既往诊断为布鲁菌病, 2 例患者曾规律服药 3 个月, 1 例患者未规范治疗。

二、临床特点与诊疗转归

12 例患者中 9 例为亚急性或慢性起病 (≥ 2 个月), 3 例为急性起病 (< 1 个月); 12 例患者均出现不同程度发热 ($37.5 \sim 39$ °C), 9 例颅内压明显升高, 6 例有头痛伴脑膜刺激征表现; 表现为复

视、视力下降者3例，听力下降、步态不稳者4例，肢体麻木无力者4例，精神状态改变者4例。临床给予多西环素或米诺环素 + 利福平（链霉素）+ 头孢曲松（庆大霉素）三联治疗，12例患者症状均好转、病情稳定出院，随访预后较好。

三、实验室检查

1. 病原学检查：12例患者血清布鲁杆菌凝集试验均阳性（100%），其中CSF凝集试验同时阳性者7例（58.3%）；5例（41.6%）CSF培养阳性（69~136 h，平均106.7 h），镜检有革兰阴性细小杆菌生长，快速尿素试验阳性（1~15 min），分离菌落经VITEK-2 Compact和16S rRNA测序鉴定为马耳他布鲁杆菌（99%），质谱未给出鉴定结果。分子测序图和凝集试验及尿素试验结果见图1。血清凝集阳性（100%）与CSF凝集阳性率和培养阳性相比（ $\chi^2 = 52.68, 73.79, P$ 均 = 0.005），即血清学阳性结合临床诊断NB有重要价值。

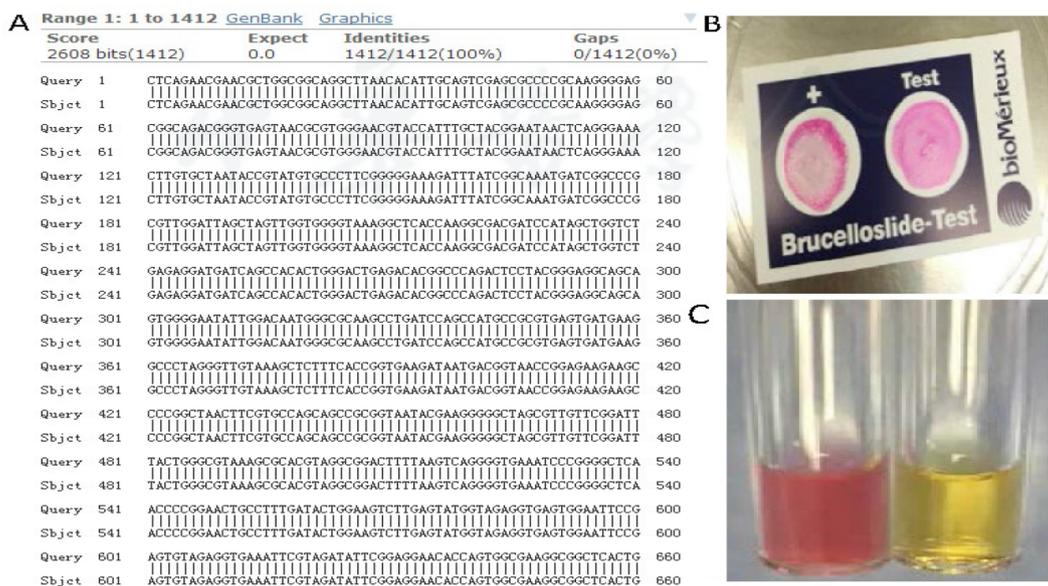
2. CSF常规及生化检查：12例NB患者均进行多次腰椎穿刺检查，10例患者颅内压增高（> 180 mmH₂O），2例患者正常；12例患者CSF白细胞数均增多[(11~1 680) × 10⁶/L，单核细胞为主]；蛋白不同程度升高11例（78~2 309 mg/dl），1例患者正常；8例患者葡萄糖减低（0.19~1.61 mmol/L），4例患者正常；12例入组患者氯化物正常或减低（95~129 mmol/L）。

四、影像学检查

12例患者均行MRI检查，其中2例头颅MRI检查显示额叶、顶叶异常信号；2例患者腰椎MRI检查示腰椎病变（L1、L2-3、L3-4、L4-5）；其中1例患者同时存在腰椎病变伴脑干及颈髓脊膜明显强化，左侧额顶叶皮层下及小脑半球异常信号；头颅MRI示1例患者脑白质斑片状异常信号；1例患者上颌窦囊肿、脊髓异常信号；1例患者颞叶脑膜强化；1例患者脑积水、硬膜下积液；1例患者腔隙性脑梗、脑白质变性；1例患者右侧大脑颈内动脉颈段、交通段及前A动脉段管壁增厚并明显强化。

五、NB患者和非NB患者CSF指标统计学分析

NB患者与非NB感染者均为男性发病率高于女性，神经梅毒发病平均年龄稍大而病毒性脑炎发病年龄略小；NB和细菌性脑膜炎患者白细胞和蛋白含量均高于其他疾病；NB、细菌性/真菌性脑膜炎CSF葡萄糖明显降低，而神经梅毒和病毒性脑炎葡萄糖水平正常或略低；方差分析结果显示，NB患者CSF实验室指标与非NB比较，平均发病年龄、CSF白细胞数、蛋白含量和氯化物均无显著差异（ $P > 0.05$ ），而NB与神经梅毒（ $F = 805.5, P = 0.005$ ）和病毒性脑炎（ $F = 232.05, P = 0.005$ ）CSF葡萄糖水平差异有意义，NB患者与非感染者相比，CSF白细胞计数、蛋白水平均显著增高（ P 均 < 0.01），葡萄糖和氯化物降低（ P 均 < 0.01），见表1。



注：A：16S rRNA分子测序经BLAST比对与JF939172相似性100%；B：血清布鲁杆菌凝集试验产生凝集颗粒，结果阳性；C：快速尿素试验变黄色阳性（右），左为阴性对照

图1 分子测序BLAST比对及布鲁杆菌凝集试验和尿素试验

表1 NB患者与非NB的患者年龄和CSF实验室指标

组别	性别(例)		年龄(岁)		CSF ($\bar{x} \pm s$)			
	男	女	年龄	平均年龄 ($\bar{x} \pm s$)	白细胞 ($\times 10^6/L$)	蛋白 (mg/dl)	葡萄糖 (mmol/L)	氯化物 (mmol/L)
神经型布鲁菌病	9	3	22~60	43.0 \pm 14.0	157.8 \pm 69.0	167.7 \pm 88.7	1.85 \pm 0.5	111.1 \pm 6.9
神经梅毒	16	4	29~78	52.6 \pm 12.0	78.8 \pm 69.0	64.9 \pm 22.8	3.19 \pm 1.1	115.3 \pm 3.5
细菌性脑膜炎	20	15	9~80	49.1 \pm 16.0	355.5 \pm 290.8	267.7 \pm 88.7	1.25 \pm 0.5	105.1 \pm 5.9
隐球菌脑膜炎	5	1	22~53	40.2 \pm 12.8	70.8 \pm 18.8	82.2 \pm 16.5	1.42 \pm 0.3	107.0 \pm 4.6
病毒性脑炎	12	10	16~56	36.3 \pm 14.7	75.8 \pm 18.0	54.2 \pm 18.2	3.3 \pm 0.6	121.3 \pm 4.1
非感染	10	10	25~65	40.0 \pm 12.0	5.0 \pm 18.0	30.0 \pm 15.2	3.0 \pm 1.25	122.0 \pm 2.2
F值				1.087	176.880	22.630	9.700	5.440
P值				0.521	0.001	0.001	0.001	0.001

讨 论

神经型布鲁菌病(NB)为布鲁菌病严重并发症,约占布鲁菌病患者总数的10%^[1,3,10-11],因其临床表现多样,该病发病率低(1.7%~10%)且缺乏特异性,非疫区医生和实验室人员极易误诊或漏诊^[1-3,6,11]。神经系统症状是NB常见或唯一的临床表现,NB患者可伴有视听神经、外展神经和面神经受损。本组NB患者表现为脑膜炎者占75%,且多以脑膜炎刺激征表现多见(50%),与以往报道一致^[3,5]。本组患者视听神经受累4例,结合病史询问确诊为NB;而16.67%出现尿潴留或排尿困难的NB患者可能与腰骶神经根病变有关。NB影像学无明显特异性改变,可表现为炎性、脑白质受累和血管受累等,不易与其他神经系统疾病鉴别。

病原学诊断是临床确诊NB的重要依据,但因布鲁杆菌的特点和实验室检测条件的限制,布鲁杆菌培养阳性率和检出率低^[2-3,12-14],CSF培养阳性率为15%,CSF常规和生化检查特异性低,与病毒性脑膜炎或结核性脑膜炎相似,易误诊。本组4例病例初诊为病毒性感染,经抗病毒治疗无效后行血清布鲁杆菌凝集试验阳性并追问接触史而确诊NB,NB首诊误诊率为25%,与文献报道一致^[2-3,12]。实验室检查结果显示,血清布鲁杆菌凝集试验对NB临床诊断价值较大(P 均 < 0.05),尤其当流行病学接触史和临床表现不典型时,血清凝集试验可帮助临床快速鉴别诊断NB。

研究认为CSF血瓶培养阳性率高于常规培养^[15],本组5例CSF培养阳性报警时间为69~136 h,与文献报道的阳性时间(72~120 h)相近,显著长于其他常见病原菌,提示实验室对怀疑该菌感染时

应延长培养时间以减少漏检^[10,17]。而实验室对布鲁杆菌亦有错误鉴定的报道^[18],本研究中5例布鲁杆菌均通过Vitek-2 Compact和PCR测序鉴定,但使用MALDI Biotyper 3.1质谱因其数据库限制多次未能鉴定,提示实验室人员不能完全依赖质谱,需结合多种鉴定手段综合考虑。

布鲁杆菌为胞内致病菌,目前国内外多首选多西环素(米诺环素)+利福平联合头孢曲松或氨基糖甙类(庆大霉素)治疗^[3,7,10]。本组9例NB用多西环素+利福平+头孢曲松治疗,2例患者给予米诺环素+利福平+头孢曲松治疗,1例患者给予米诺环素+利福平+庆大霉素治疗,所有患者均好转。另外,布鲁杆菌可通过皮肤、黏膜接触或形成的气溶胶经呼吸道而感染,实验室生物安全不可忽视,应特别注意做好个人防护,防止实验室感染发生^[16]。

综上,NB患者临床表现多样且不典型,多为类似脑膜炎表现,极易误诊、漏诊。随着流行病学特征、临床表现等变化,临床和实验室应对其引起足够重视。对不明原因发热、头痛、神经系统症状或经常规治疗无效时,应考虑是否为布鲁杆菌感染,及早行布鲁杆菌凝集试验、血液或骨髓培养及分子生物学检测以提高检出率^[19-20]。因NB诊断尚无有效金标准,诊断NB需在相关检查基础上,结合实验室检测、影像学资料、流行病学证据等综合分析及多学科协作交流(multidisciplinary team,MDT),以提高NB诊治水平。

参 考 文 献

- [1] 王丹,赵世刚.神经型布氏杆菌病的研究进展与分析[J].中国人兽共患病学报,2017,33(10):927-932.
- [2] Malhi AB, Ridal M, Bouchal S, et al. Neurobrucellosis: a treatable

- cause of sensorineural hearing loss not to ignore[J]. Pan Afr Med J,2015,22(1):122.
- [3] 钱芳, 高学松, 郭嘉祯, 等. 神经型布鲁菌病的临床特点及诊治分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2016,10(1):41-45.
- [4] Zhao S, Cheng Y, Liao Y, et al. Treatment efficacy and risk factors of neurobrucellosis[J]. Med Sci Monit,2016,28(22):1005-1012.
- [5] 郭荣静, 常婷, 刘煜, 等. 神经型布氏杆菌病14例并文献分析[J]. 卒中与神经疾病,2017,24(5):452-454.
- [6] Zheng N, Wang W, Zhang JT, et al. Neurobrucellosis[J]. Int J Neurosci,2018,128(1):55-62.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 布鲁氏菌病诊疗指南(试行)[J]. 传染病信息,2012,25(6):323-324.
- [8] Kumar A, Asthana M, Gupta P, et al. 16 SrRNA sequencing of dye decolorizing bacteria isolated from soil [J]. Bioinformation, 2015,11(1):1-5.
- [9] 程勇, 曹敬荣, 王培昌. 抗-HIV阴性神经梅毒患者的临床特点与实验室检测分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2016,10(6):669-673.
- [10] 杨昱, 高纪称. 神经型布氏杆菌病临床特点及其治疗[J]. 检验医学与临床,2017,14(21):3254-3256.
- [11] 于朝旭, 王宁, 陈文劲, 等. 神经型布鲁杆菌病误诊为颅内感染一例[J]. 临床误诊误治,2015,28(6):5-6.
- [12] 宋秀娟, 许艳秋, 王慧词, 等. 神经型布氏杆菌病四例[J]. 脑与神经疾病杂志,2016,24(4):210-213.
- [13] 吴建玲. 我院25例布鲁菌病临床特征与实验室分析[J]. 检验医学与临床,2018,36(1):77-79.
- [14] Tarfarosh SF, Manzoor M. Neurological manifestations of brucellosis in an Indian population[J]. Cureus,2016,8(7):e684.
- [15] 田瑞卿, 陈爱地, 王卫红. 血培养分离布氏杆菌的临床病例分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018,18(16):203-204.
- [16] 龚玉姣, 张晶, 周勇, 等. 布鲁菌实验室检测技术进展[J]. 感染, 炎症, 修复,2016,17(3):189-192.
- [17] 何晶晶, 张雁, 周珣, 等. 布鲁菌感染的实验室检测方法对比[J]. 中华地方病学杂志,2016,35(3):228-230.
- [18] Vila A, Pagella H, Vera Bello G, et al. Brucella suis bacteremia misidentified as *Ochrobactrum anthropi* by the VITEK-2 system[J]. J Infect Dev Ctries,2016,10(4):432-436.
- [19] 郑美. 血清检验及细菌检验在检查布氏菌感染方面的价值[J]. 临床医药文献杂志,2017,85(4):16704.
- [20] Fan S, Ren H, Wei Y, et al. Next-generation sequencing of the cerebrospinal fluid in the diagnosis of neurobrucellosis [J]. Int J Infect Dis,2018,67(1):20-24.

(收稿日期: 2017-08-14)
(本文编辑: 孙荣华)

曹敬荣, 王岩, 王育英, 等. 神经型布鲁菌病临床特点和实验室诊断分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2018,12(3):235-239.