

血培养布氏杆菌阳性患者的临床诊断及感染特征

刘利华 张楠楠 戈宁宁 董海新

作者单位: 272007 山东济宁, 济宁医学院附属医院检验科(刘利华、戈宁宁、董海新), 呼吸与重症医学科(张楠楠)

通信作者: 刘利华, Email: 1340236848@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2022.03.022

【摘要】 目的 探讨血培养布氏杆菌阳性患者的临床诊断及感染特征。方法 收集 2019 年 1—12 月济宁医学院附属医院送检的 13 455 份临床标本, 包括 13 238 份血培养标本和 217 份骨髓培养标本, 使用全自动血培养仪对样本进行检测。需氧瓶阳性报警后观察细菌生长曲线特点, 接种于血平板, 在 35 ℃、5% CO₂ 培养箱中分离培养, 并进行生化鉴定; 统计血培养和骨髓培养的阳性报警时间; 抽取本组 85 例疑似布氏杆菌感染患者, 了解其临床特征。结果 血培养检出马耳他布鲁菌 68 例, 骨髓培养检出 16 例患者, 与 85 例疑似布氏杆菌感染患者的临床症状相似, 均有不规则发热、头痛、乏力以及关节疼痛等, 且均具有动物接触史; 生长曲线具有相似特点, 即生长期较短, 生长期对应的纵轴较短, 稳定期平缓, 符合布氏杆菌的生长特点。1 例患者血培养和骨髓培养结果均为阴性, 但该患者血培养细菌生长曲线及临床体征都符合布氏杆菌感染, 且临床按照布氏杆菌感染治疗方案诊疗成功。在确诊的 68 例血培养标本中, 全自动血培养仪阳性报警平均时间(4.15±0.30)d, 16 例骨髓培养标本阳性报警平均时间(3.65±0.48)d, 骨髓培养较血培养比较阳性报警时间早, 阳性率明显高于血培养[7.37%(16/217)比 0.51%(68/13 238), $P<0.05$]。结论 骨髓培养阳性报警时间明显早于血培养, 阳性率也明显高于血培养; 但鉴于骨髓标本不易采集, 不能纳入常规送检, 因此采用血培养联合生长曲线特点, 有助于快速鉴定布氏杆菌感染, 为临床早期诊断布氏杆菌感染抢先治疗提供有力依据, 对传染性疾病的遏制有非常重要的价值。

【关键词】 布氏杆菌; 血培养; 临床诊断

基金项目: 山东省济宁市科技发展计划(2021YXNS025); 山东省济宁市重点研发计划(2016-56-39)

Clinical diagnosis and infection characteristics of patients with brucella positive blood bacteria culture

Liu Lihua, Zhang Nannan, Ge Ningning, Dong Haixin. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Jining Medical College, Jining 272007, Shandong, China (Liu LH, Ge NN, Dong HX); Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the Affiliated Hospital of Jining Medical College, Jining 272007, Shandong, China (Zhang NN)
Corresponding author: Liu Lihua, Email: 1340236848@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the clinical diagnosis and infection characteristics of patients with brucella positive blood bacteria culture. **Methods** A total of 13 455 clinical samples in the Affiliated Hospital of Jining Medical College from January to December 2019 were collected, including 13 238 blood culture samples and 217 bone marrow culture samples. The samples were tested with automatic blood culture instrument. After the positive alarm of the aerobic flask, the characteristics of the bacterial growth curve were observed, and then the bacteria were inoculated on the blood plate. The isolation, culture and biochemical identification were conducted in 35 ℃, 5% CO₂ incubator. The positive alarm time of blood culture and bone marrow culture was counted. The 85 patients with suspected brucella infection were selected to understand the clinical characteristics. **Results** The clinical symptoms of 68 patients with brucella maltaeica detected in blood culture and 16 patients with bone marrow culture were similar to those of 85 patients with suspected brucella infection, including irregular fever, headache, fatigue and joint pain, with animal contact history. At the same time, it had the same characteristic growth curve, the growth period was short, the vertical axis corresponding to the growth period was short, and the stable period was gentle, which conformed to the characteristics of the growth curve of brucella. One patient's blood culture and bone marrow culture results were negative, but the growth curve of blood culture bacteria and clinical signs were consistent with those of patients with brucella infection. The clinical treatment was successful according to the brucellosis protocol. The average positive alarm time of automatic blood culture instrument was (4.15±0.30) days in 68 confirmed blood culture patients, and the average time of bone marrow culture was (3.65±0.48) days in 16 patients. The positive alarm time of bone marrow culture was earlier than that of blood culture, and the positive rate was higher than that of

blood culture [7.37% (16/217) vs. 0.51% (68/13 238), $P < 0.05$]. **Conclusions** The positive alarm time of bone marrow culture was earlier than that of blood culture, and the positive rate was also significantly higher than that of blood culture. However, in view of the fact that bone marrow samples are not easy to collect and cannot be included in the routine submission for examination, the use of blood culture combined with growth curve characteristics is conducive to rapid estimation of brucella infection, which provides a strong help for early clinical diagnosis of brucella infection and preemptive treatment, and is of great value for the containment of infectious diseases.

【Key words】 Brucella; Blood culture; Clinical diagnosis

Fund Program: Science and Technology Development Plan Project of Jining City, Shandong Province (2021YXNS025); Key Research and Development Plan Project of Jining City, Shandong Province (2016-56-39)

近年来,我国布氏杆菌病(布病)的发病率不断上升,疫情形势严峻^[1-2]。布氏杆菌感染患者的临床表现多样,该菌可经消化道、呼吸道、生殖器官以及皮肤损伤等多种途径感染^[1]。其中羊是主要传染源,其次是牛和猪^[3]。布病患者大多有病畜接触史,可由饮食被污染的奶制品或未熟的牛、羊肉引起^[4]。由于布氏杆菌培养的迟缓期较长,生长期较短,且布氏杆菌病的临床表现多样,由于临床医师对该病的认识不足而容易造成误诊及漏诊,导致临床治疗效果较差^[5],因此探索快速有效鉴定布氏杆菌的方法是重要的研究任务。有文献报道,检测布氏杆菌使用骨髓标本优于血标本,但临床抽取患者骨髓时细胞量过少,且给患者带来痛苦,因此骨髓培养不宜作为筛查布氏杆菌的常规方法,临床通常使用血液标本筛查。本研究主要探讨血培养布氏杆菌阳性患者的临床诊断及感染特征,现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 研究对象 收集本院 2019 年 1—12 月送检的 13 455 份血培养和骨髓培养标本,患者平均年龄为 (44.21 ± 12.24) 岁,分布科室为呼吸内科、血液科、感染性疾病科、重症医学科、急诊科、风湿免疫科等。

1.2 仪器与试剂 Bact/Alert3 D 全自动培养仪、全自动微生物鉴定仪及原装配套血培养瓶均购自法国生物梅里埃公司。质量控制(质控)菌株为大肠埃希菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC25923。

1.3 样本采集 疑似患者可只采集需氧瓶 2 套,成人每瓶采集静脉血 8~10 mL 注入中和抗菌药物的需氧瓶,经仪器扫描识别后,直接放入培养仪自动检测。

1.4 疑似布病患者血培养处理流程

1.4.1 阳性培养瓶的处理 将全自动血培养系统阳性报警的培养瓶采用平板划线法转种于血平板,置于 35 ℃、5%~10% CO₂ 培养箱中培养 16~48 h 后观察,对疑似布氏杆菌生长的菌落直接进行涂片革兰染色镜检,镜下可见革兰阴性(Gram negative, G⁻)短小球杆菌呈沙滩细沙样排列。布氏杆菌为苛养菌,

对所需营养要求高,转接种血平板培养 24 h 后肉眼可见划线第一区有小片湿润的薄菌苔。快速尿素酶试验 5 min 内可见尿素水解试验结果为阳性,氧化酶试验阳性,这时应高度怀疑为是布氏杆菌,继续培养 48 h 后,菌落呈微小针尖状,96 h 后可见透明、湿润、细小、无色、不溶于血的菌落生长。挑取单个菌落涂片染色,镜检为 G⁻ 短小球状菌,同时经全自动微生物鉴定仪鉴定为马耳他布鲁菌,发出阳性报告同时上报疫情。但如果对仪器显示阳性的培养瓶进行涂片和革兰染色镜检未见病原菌,需要观察细菌生长曲线特点,如果迟缓期较长,生长期较短,生长期对应的纵轴较短,稳定期平缓,则高度怀疑布氏杆菌,继续培养,隔日观察,延长至 1 个月未见生长的则判断为阴性,发出阴性报告。

1.4.2 阴性培养瓶的处理 培养瓶经仪器培养检测 5 d 显示阴性者,进行盲目转种培养,转种方法同阳性培养瓶。如果培养结果为无菌生长,同时涂片、革兰染色镜检未找到病菌,继续普通培养 5 d,发出无细菌生长报告。但如果盲种和涂片均发现病原菌生长,则立即查看血培养细菌生长曲线,如果曲线迟缓期较长,生长期较短,生长期对应的纵轴较短,稳定期平缓,则推定为布氏杆菌,进一步鉴定后发出阳性报告,同时上报疫情。

1.4.3 生化鉴定 血培养仪需氧瓶阳性报警,观察细菌生长曲线特点为迟缓期较长,生长期较短,生长期对应的纵轴较短,稳定期平缓。尿素水解试验 5 min 内出现阳性,可推定为布氏杆菌;氧化酶、触酶、硝酸盐试验均为阳性,硫化氢、精氨酸和吲哚反应试验为阴性,涂片可见 G⁻ 球杆菌、染色很弱。这是可初步报告临床高度怀疑是布氏杆菌,并结合临床体征及病史采取生物预防措施。同时上报当地疾病预防控制中心(Centers for Disease Control, CDC)实施最终确定试验。

1.5 伦理学 本研究符合医学伦理学标准,并经本院伦理委员会批准(审批号:2022C219),所有检测

均获得过患者或家属知情同意。

1.6 统计学方法 使用 SPSS 17.0 统计软件处理数据,符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 *t* 检验;计数资料以例 (%) 表示,采用 χ^2 检验;计算单项试验和联合检测诊断真菌感染的敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者临床主要表现 抽取 85 例可疑布氏杆菌感染患者,临床表现主要为发热、多汗、头痛、乏力以及关节疼痛等。见表 1。

表 1 85 例疑似布氏杆菌感染患者的临床主要表现

临床主要表现	例数 (例)	发生率 (%)	临床主要表现	例数 (例)	发生率 (%)
发热	85	100.0	肝脾大	10	11.8
多关节疼痛	17	20.0	腰痛	9	10.6
多汗	14	16.5	神经系统症状	6	7.1
头痛	12	14.1	胸腔积液	5	5.9
乏力	10	11.8	冠心病	2	2.4

2.2 不同培养方法标本阳性报警时间比较 统计 13 238 份血培养标本和 217 份骨髓培养标本的阳性率及阳性例数报警时间,结果表明,全自动血培养仪检出 68 例血培养阳性标本报警时间明显长于骨髓培养标本的阳性报警时间,骨髓培养检测布氏杆菌的阳性率明显高于血培养。见表 2。

表 2 不同培养方法标本阳性率及阳性报警时间比较

培养方法	样本数 (份)	阳性报警时间 (d, $\bar{x} \pm s$)	阳性样本数 (份)	阳性率 (%)
血培养	13 238	4.15 ± 0.30	68	0.51
骨髓培养	217	3.65 ± 0.48 ^a	16	7.37 ^a

注:与血培养比较,^a $P < 0.05$

2.3 不同培养方法阳性标本分布 本研究中 69 例马耳他布氏杆菌感染患者由血培养检出 68 例,临床确诊病例 68 例,骨髓培养检出 16 例,临床确诊 16 例。1 例患者血培养和骨髓培养培养均为阴性,但根据发热、关节疼痛、有牧场接触史等临床特征,同时结合其他辅助检查,按照布病诊疗方案治疗成功。本研究检出布氏杆菌经当地 CDC 血清学分型鉴定,均为羊布氏杆菌。见表 3。

表 3 血培养和骨髓培养标本布氏杆菌阳性分布

培养方法	同时阳性 (份)	同时阴性 (份)	血培养阳性 (份)	骨髓培养阳性 (份)
血培养	14	1	68	0
骨髓培养	14	1	0	2
临床确诊数	14	1	68	2

2.4 感染科室分布 布氏杆菌检出最多的科室为呼吸科、血液科、风湿免疫科。见图 1。对相关科室的血培养结果要高度重视,对疑似布氏杆菌生长曲线的标本要及时传种,延长培养时间。本院低发科室儿科只检出 1 例布病患者。

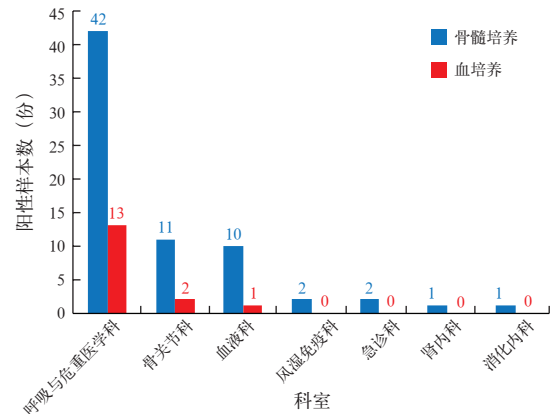


图 1 85 例布氏杆菌感染患者的科室分布

3 讨论

布病是由布氏杆菌引起的人畜共患急慢性传染病,属自然疫源性疾病之一,在我国主要流行于西北、东北、青藏高原地区及内蒙古自治区^[6]。布氏杆菌侵入人体后被吞噬细胞吞噬,但由于布氏杆菌具有荚膜,能有效抵抗吞噬细胞的吞噬作用,并在该细胞内增殖,随后进入血液循环,导致患者反复出现菌血症^[7]。之后布氏杆菌再随血流进入患者脾脏、肝脏、骨髓细胞内,经血液、淋巴管到达局部淋巴结,之后寄生其中。细菌在寄生细胞中繁殖到一定时期,又再次进入血流,造成患者反复出现发热、乏力等症状,因此该疾病也被称为波浪热^[8-9]。反复发热是布病的主要临床特点,本研究抽取的 85 例疑似布氏杆菌感染患者临床表现多为长期反复发热、多汗、乏力、关节疼痛、肝脾及淋巴结肿大,部分患者伴有肝脾变大、白细胞和血小板计数降低。

布氏杆菌为专性需氧菌,对营养和培养条件要求较高,因此在血培养平板上生长和代谢缓慢。如果技术人员经验不足,可能会出现将还未生长出的布氏杆菌视为阴性丢弃的情况,造成假阴性或假阳性结果。上述存在人为因素的情况在临床中应尽量避免,在最大程度上降低假阴性和假阳性结果的发生率。本研究中未出现假阳性病例,但由于方法学存在局限性,临床工作中应高度重视可能造成假阳性结果的因素,如血培养瓶存放环境温度超过 28 ℃,血培养仪外界温度过高,血培养仪电压不稳,厌氧菌

存在等。血液病患者血细胞数量异常,血细胞本身的新陈代谢也会产生大量的 CO₂,如果采血量过多,或部分炎症疾病患者体内白细胞计数水平升高,都可能导致出现假阳性结果。

由于布氏杆菌的生长缓慢,会造成出现假阴性结果的概率较高,本研究检出 1 例假阴性样本,但根据患者发热、关节疼痛、有牧场接触史等临床特征,同时结合其他辅助检查,按照布病诊疗方案治疗成功。造成假阴性结果的原因有以下几点:① 血培养瓶存放于冰箱中,取出后立刻进行培养,温度过低,抑制布氏杆菌的生长;② 标本采集量偏少,产生 CO₂ 的量不足以激发荧光系统,从而导致假阴性结果;③ 标本采集时机不合适,未抓住菌血症时期;④ 血液标本采集后,放于机外时间过长,布氏杆菌生长已达到衰老期;⑤ 患者在使用抗菌药物后不久。

布病患者临床症状往往不典型,容易造成漏诊或误诊^[10],特别是在疾病的急性期,易与伤寒、副伤寒、风湿病、类风湿关节炎、流行性感冒以及其他病毒性呼吸道感染混淆。因此在患者长期发热且对症治疗效果不佳的情况下,除常见外科疾病外,需考虑到细菌感染,如有牛羊接触史的患者,注意罕见的人畜共患传染病。另外,临床治疗效果不佳时,往往是由于布氏杆菌在网状内皮细胞内繁殖,单纯使用一种药物治疗,药效难以到达,因此疗效不佳,且易复发^[11]。布病亦是可防可治的,若治疗及时,预后良好,大多可于 3~6 个月内康复,仅 10%~13% 的病例病程超过 6 个月。未经抗菌药物治疗的病死率为 2%~3%^[12]。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)推荐的首选治疗方法为多西环素和利福平联合用药,6 周为 1 个疗程^[11, 13],足量疗程用药,预后良好^[14]。

另外,本研究统计结果显示,骨髓标本检测布氏杆菌的阳性率明显高于血标本,骨髓培养阳性报警时间早于血培养,但临床抽取患者的骨髓细胞量少而且给患者带来痛苦,因此骨髓培养不宜作为常规检测方法筛查布氏杆菌,临床通常使用血标本筛查布氏杆菌,不能纳入常规送检,故采用血培养联合生长曲线特点有助于快速推定布氏杆菌感染,布氏杆菌阳性标本细菌生长迟缓期较长,生长期较短,生长期对应的纵轴较短,稳定期平缓,因此血培养联合生长曲线对诊断布病有重要的临床价值。

综上所述,布病的诊断应结合流行病学资料、

临床表现和特异性实验室检查确诊^[5, 15]。临床医师和实验室检验人员要加强血培养对布氏杆菌检验的重要性,做到及时诊断和治疗。布氏杆菌的初步快速鉴定不仅对临床诊断的价值大,而且对公众健康和实验室安全也有重大意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 杨芳,李云华,张蕾,等.非牧区布氏杆菌病的诊治:布氏杆菌病 30 例临床分析[J].医学与哲学,2013,34(6):45-46,62. DOI: 10.7666/d.d089061.
- 2 WARETH G, DADAR M, ALI H, et al. The perspective of antibiotic therapeutic challenges of brucellosis in the Middle East and North African countries: Current situation and therapeutic management [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2022, 69 (5): e1253-e1268. DOI: 10.1111/tbed.14502.
- 3 唐丽丽,刘白鹭,舒圣捷,等.布氏杆菌病性脊柱炎的影像学诊断[J].中国医学影像学杂志,2013,21(6):414-416. DOI: 10.3969/j.issn.1005-5185.2013.06.004.
- 4 谢秀丽,徐英春,王辉.血培养对布氏杆菌病诊治的意义[J].中国处方药,2005,3(6):62-63. DOI: CNKI:SUN:ZGCF.0.2005-06-017.
- 5 Di BONAVENTURA G, ANGELETTI S, IANNI A, et al. Microbiological laboratory diagnosis of human brucellosis: an overview [J]. *Pathogens*, 2021, 10 (12): 1623. DOI: 10.3390/pathogens10121623.
- 6 谭凤梅,李润先.血清孕酮、β-HCG 联合检测和治疗先兆流产的临床价值探讨[J].今日健康,2016,15(4):7-10.
- 7 SIBHAT B, TESSEMA T S, NILE E, et al. Brucellosis in Ethiopia: a comprehensive review of literature from the year 2000-2020 and the way forward [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2022, 69 (5): e1231-e1252. DOI: 10.1111/tbed.14495.
- 8 崔恩博,曲芬,郭桐生,等.6 例布氏杆菌病的诊治[J].中国抗生素杂志,2006,31(9):573-575. DOI: 10.3969/j.issn.1001-8689.2006.09.018.
- 9 徐楠,李娜.布氏杆菌病流行病学及诊治研究进展[J].中国实用医药,2010,5(20):246-247. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7555.2010.20.197.
- 10 杨绍基,任红.传染病学[M].北京:人民卫生出版社,2008:179-182.
- 11 张丽,彭玉兰.15 例幼儿布氏杆菌病临床特征及诊治[J].农垦医学,2016,38(2):144-145. DOI: 10.3969/j.issn.1008-1127.2016.02.014.
- 12 马万堂,李自耀,马晓曼.慢性布氏杆菌病 14 例报告[J].宁夏医学杂志,2009,31(7):658-658. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5949.2009.07.050.
- 13 张士义,朱岱,江森林.中国布氏杆菌病防治 50 年回顾(续前)[J].中国地方病防治杂志,2003,18(6):347-350. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1889.2003.06.012.
- 14 BOSIKOVSKI M, KERAMAT F, ARAPOVIC J. The current therapeutical strategies in human brucellosis [J]. *Infection*, 2021, 49 (5): 823-832. DOI: 10.1007/s15010-021-01586-w.
- 15 SUN G Q, LI M T, ZHANG J, et al. Transmission dynamics of brucellosis: mathematical modelling and applications in China [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2020, 18: 3843-3860. DOI: 10.1016/j.csbj.2020.11.014.

(收稿日期:2022-08-01)

(本文编辑:邵文)