

·脑膜炎脑炎流行病学和病原学研究·

2007—2016 年济南市流行性脑脊髓膜炎 实验室确诊病例的流行病学和临床特征 分析

张岩 宋立志 刘桂芳 李漫时 林小娟 徐爱强

山东省疾病预防控制中心免疫预防管理所 山东大学预防医学研究院 山东省传染病预防控制重点实验室, 济南 250014

通信作者: 徐爱强, Email: aqxuepi@163.com, 电话: 0531-82679606

【摘要】 目的 分析济南市流行性脑脊髓膜炎(流脑)实验室确诊病例的流行病学和临床特征。方法 收集 2007—2016 年济南市 6 家急性脑膜炎脑炎候群(AMES)哨点监测医院上报的 AMES 病例的个案调查资料、临床信息,并采集病例血清和(或)脑脊液标本。采用 Real-time PCR、细菌培养等方法进行脑膜炎奈瑟菌(*Nm*)的检测及其血清群鉴定,描述流脑实验室确诊病例的流行病学和临床特征。结果 2007—2016 年,6 所哨点医院共报告 AMES 病例 6 809 例,共检测病例标本 4 422 份,发现实验室确诊流脑病例 90 例,其中 Real-time PCR、血培养和脑脊液培养方法分别确诊 90、2 和 1 例。2007—2011 年确诊流脑 22 例(其中 4 例未分群),以 *Nm* C 群为主(17/18),不可分群 1 例(1/18);2012—2016 年确诊流脑病例大幅增多(68 例,其中 1 例未分群),以 *Nm* B 群为主(43/67, 64.2%),C 群则大幅降低(5/67, 7.5%),首次检出 W135 群(2012 年和 2013 年各 2 例)和 X 群(2014 年 1 例)病例,不可分群病例也有所升高(13/67, 19.4%);而 *Nm* A 群一直处于低流行状态,仅在 2013 年发现 1 例。流脑全年均有发病,但以冬春季节居多,当年 11 月至次年 5 月流脑确诊病例占 AMES 检测病例的比例(3.5%, 67/1 920)高于 6 至 10 月(0.9%, 23/2 502)($\chi^2=34.45, P<0.001$)。病例以儿童、学生和农民为主,分别占 30.0%(27/90)、31.1%(28/90)、18.9%(17/90);<20 岁者居多,占 66.7%(60/90),其中感染 *Nm* C 群者以 >12 岁为主(77.3%, 17/22),而 B 群(55.8%, 24/43)和不可分群病例(6/14)在 ≤12 岁者中比例较高。流脑病例的主要临床症状为发热(78/90, 86.7%)、头痛(59/90, 65.6%)和呕吐(51/90, 56.7%),且因其特异性症状、血液和脑脊液阳性指征不典型,导致入院诊断误诊率高达 87.8%(79/90);而诊断正确流脑病例痊愈的比例为 7/11,高于诊断错误者(2.5%, 2/79)($\chi^2=40.61, P<0.001$)。结论 流脑病例的临床症状不典型,加强分子生物学检测可提高诊断的灵敏性和准确性。*Nm* 优势致病血清群发生由 C 群向 B 群的变迁,流脑菌群变异趋势监测是防控工作的重点。

【关键词】 脑脊髓炎; 流行病学; 血清学试验; 脑膜炎奈瑟菌; 临床诊断

基金项目: 山东省医药卫生科技发展计划(2017WS450); 山东预防医学会智飞疾病预防控制技术研究基金项目(LYH2017-02); 山东省泰山学者工程(ts201511105)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2019.02.009

Analysis of current epidemiological and clinical characteristics for laboratory confirmed epidemic cerebrospinal meningitis cases in Shandong Province, 2007–2016

Zhang Yan, Song Lizhi, Liu Guifang, Li Manshi, Lin Xiaojuan, Xu Aiqiang

Division of Expanded Immunization Program, Shandong Center for Disease Control and Prevention; Academy of Preventive Medicine, Shandong University; Shandong Provincial Key Laboratory of Infectious Disease Control and Prevention, Jinan 250014, China

Corresponding author: Xu Aiqiang, Email: aqxuepi@163.com, Tel: 0086-531-82679606

【Abstract】 Objective To analyze epidemiological and clinical characteristics of laboratory confirmed epidemic cerebrospinal meningitis cases. **Methods** Epidemiological and clinical informations and cerebrospinal fluid (CSF) and blood specimens of AMES (acute meningitis / encephalitis syndrome) cases were collected in the six sentinel hospitals from 2007 to 2016. *neisseria meningitides* (*Nm*) species and serogroup identification were detected by the methods of real-time fluorescent quantitative polymerase chain

reaction (Real-time PCR) and bacterial culture, and epidemiological and clinical characteristics of laboratory confirmed epidemic cerebrospinal meningitis cases were analyzed. **Results** 6 809 AMES cases were reported from 2007 to 2016. Total 4 422 cases were detected, and 90 cases were *Nm* positive. Through the methods of Real-time PCR, bacterial blood culture and CSF culture, the numbers of *Nm* positive cases were 90, 2 and 1 respectively. Twenty-two *Nm* cases were identified from 2007 to 2011 (4 cases were ungrouped), which with the highest incidence in serogroup C cases (17/18), and one cases was ungroupable *Nm*. *Nm* laboratory confirmed cases (68 cases) were increased dramatically and mainly occurred in serogroup B cases (43/67, 64.2%) from 2012 to 2016, with serogroup C cases highly decreased (5/67, 7.5%) and ungroupable *Nm* cases increased (13/67, 19.4%) meanwhile. Serogroup W135 and X cases were first detected at 2012 and 2014, and serogroup A remaining a low level which only detected one case at 2013. The morbidity of epidemic cerebrospinal meningitis was occurred in the whole year, and mainly in winter and spring. The ratio of *Nm* laboratory confirmed cases to AMES cases during November to May (3.5%, 67/1 920) was higher than that during June to October (0.9%, 23/2 502) ($\chi^2=34.45, P<0.001$). Most *Nm* cases were children, students and farmers, and account for 30.0% (27/90), 31.1% (28/90), 18.9% (17/90), respectively. The majority of *Nm* cases were under 20 years old (60/90, 66.67%), and serogroup C cases (17/22, 77.3%) mainly occurred in over 12 years old population, while serogroup B (24/43, 55.8%) and ungroupable (6/14) cases mainly occurred in under 12 years old population. The main clinical symptoms of epidemic cerebrospinal meningitis cases were fever (78/90, 86.7%), headache (59/90, 65.6%) and vomiting (51/90, 56.7%). Misdiagnosis rate of admitting diagnosis was up to 87.8% (79/90) for the reason of atypical features in specific symptoms and blood or CSF positive index. The well-healed ratio in correct diagnosed group (7/11) was higher than that in misdiagnosed group (2.5%, 2/79) ($\chi^2=40.61, P<0.001$). **Conclusion** The clinical symptoms of epidemic cerebrospinal meningitis cases were atypical, and the diagnosed sensitivity and accuracy would be improved by enhanced molecular biology detection. The predominant epidemic serogroup of *Nm* switched from serogroup C to B, and the key work was surveillancy of serogroup transition.

【Key words】 Encephalomyelitis; Epidemiology; Serologic tests; Neisseria meningitides; Clinical diagnosis

Fund program: Projects of Medical and Health Technology Development Program in Shandong Province(2017WS450); Zhi Fei Disease Control and Prevention Technological Research Foundation of Shandong Preventive Medicine Association (LYH2017-02); Tai Shan Scholar Program of Shandong Province (ts201511105)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2019.02.009

流行性脑脊髓膜炎(流脑)是由脑膜炎奈瑟菌(*neisseria meningitides, Nm*)感染引起的急性化脓性脑膜炎,典型临床症状为突发高热、剧烈头痛、频繁呕吐、皮肤黏膜淤点和脑膜刺激征等,脑脊液呈化脓性改变。该病具有发病快、病死率高的特点,患者常留有神经系统后遗症,严重者可出现败血症性休克和脑实质损伤^[1]。自 2006 年开始,山东省与 WHO 合作开展急性脑膜炎脑炎症候群(acute meningitis and encephalitis syndrome, AMES)监测项目,该项目对于推动中国建立以病原学为基础的急性脑膜炎/脑炎研究工作发挥了重要作用。就流脑而言,将有别于我国流脑常规监测主要依靠临床诊断的现状,而是通过症候群监测发现流脑病例,及时开展病例主动监测、个案调查、实验室采样和检测等工作,更加全面地了解和分析现阶段实验室确诊流脑病例的流行特征和临床特征,以期为今后制订流脑防控策略提供参考依据。现将 2007—2016 年近 10 年的监测研究结果报告如下。

材料与方法

1. 材料:收集 2013—2016 年济南市 6 家 AMES 哨点监测医院(山东大学齐鲁医院、山东省立医院、济南市儿童医院、济南市传染病医院、章丘市医院、济阳县医院)上报的 AMES 病例的个案调查资料、临床信息,并采集病例血清和(或)脑脊液标本进行实验室检测。

2. 实验室检测:(1)细菌培养:选用赛默飞世尔公司(美国)生产的血平板,对新鲜的血和(或)脑脊液进行细菌培养。(2)核酸检测:选用 Qiagen 公司(德国)生产的核酸提取试剂盒(QIAamp DNA Mini kit),对冻存的血和(或)脑脊液进行 DNA 提取,并对 *Nm* 种属及其血清群进行 Real-time PCR 检测,检测技术及试剂均由美国疾病预防控制中心提供^[2]。

3. 相关定义:(1)AMES 监测病例:根据监测方案要求,急性起病,具有发热、头痛、恶心、呕吐等症状,伴有不同程度的意识障碍或脑膜刺激征等表现

者均作为 AMES 监测病例。(2) *Nm* 实验室确诊病例: 血培养、脑脊液培养以及脑脊液或血液 Real-time PCR 检测中, 任一结果为阳性, 均可诊断为 *Nm* 实验室确诊病例。

4. 统计学分析: 采用 Epidata 3.1 软件建立数据库, 采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。病例发病年龄不符合正态分布, 采用 $P_{50}(P_{25}, P_{75})$ 表示。采用 χ^2 检验比较 *Nm* 脑膜炎病例的流行病学差异。以双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 监测情况: 2007—2016 年, 共报告 AMES 病例 6 809 例, 各年分别为 421、369、331、612、526、632、885、1 238、906 和 889 例, 其中济南市病例占总病例数的 41.0% (2 792 例), 山东省其他市占 56.7% (3 858 例), 外省占 2.3% (159 例)。共 4 422 例病例进行了 *Nm* 实验室检测, 其中采用 Real-time PCR 检测 3 930 份 (血液或脑脊液), 血培养 382 份, 脑脊液培养 696 份, 分别发现阳性者 90 例 (2.3%)、2 例 (0.5%) 和 1 例 (0.1%), 最终确定 90 例实验室确诊流脑病例。其中, 采用 Real-time PCR 法对 2 715 份脑脊液标本和 1 303 份血标本进行检测 (88 例病例的脑脊液和血标本均进行了检测), 分别检出 *Nm* 阳性 74 份和 22 份 (6 例病例脑脊液和血标本均为阳性), 阳性率分别为 2.7% 和 1.7%。184 份血液标本和 326 份脑脊液标本同时开展了细菌培养和 Real-time PCR 检测, 两种检测方法在血液标本中的 *Nm* 检出数分别为 2 例和 5 例, 在脑脊液标本中为 1 例和 7 例。

2. 确诊流脑病例 *Nm* 血清群分布: 2007—2016 年确诊的 90 例病例中, 有 5 例 (5.56%) 未分群外, 检出 A 群 1 例 (1.2%), B 群 43 例 (50.6%), C 群 22 例 (25.9%), W135 群 4 例 (4.7%), X 群 1 例 (1.2%), 不可分群 14 例 (16.5%)。2007—2011 年确诊 22 例流脑病例, 18 例进行了分群, 其中以 C 群为主 (17/18)

(各年分别为 1、0、10、5、1 例), 未检出 A、B、X、Y 和 W135 群, 2009 年首次检出不可分群 1 例。2012—2016 年确诊流脑病例大幅增多, 共 68 例, 其中 1 例未分群; 以 B 群为主 (43 例, 占 64.2%), 各年分别为 2、3、7、27、4 例; 不可分群占比升高, 为 13 例, 占 19.4%, 各年分别为 8、1、0、2、2 例; C 群减少至 7.5% (5 例), 各年分别为 1、2、1、0、1 例; A 群占 1.5% (1 例); 首次检出 W135 群 (2012 年和 2014 年各 2 例, 占 6.0%) 和 X 群 (2014 年 1 例, 占 1.5%) 病例, 未发现 Y 群 *Nm* 感染病例。

3. 实验室确诊流脑病例的流行特征: (1) 时间分布: 2007—2016 年流脑确诊病例占 AMES 监测病例的比例分别为 0.8% (2 例)、0.4% (1 例)、4.2% (12 例)、2.0% (5 例)、0.5% (2 例)、3.3% (14 例)、1.6% (9 例)、2.0% (9 例)、3.8% (29 例)、1.0% (7 例), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 36.28, P < 0.001$)。流脑全年均有发病, 但以冬春季居多, 当年 11 月至次年 5 月流脑确诊病例占 AMES 监测病例的比例 (3.5%, 67 例) 高于 6—10 月 (0.9%, 23 例) ($\chi^2 = 34.45, P < 0.001$)。 (2) 人群分布: 90 例流脑实验室确诊病例中, 男性 64 例 (71.1%); 职业以儿童、学生和农民者为主, 分别占 30.0% (27 例)、31.1% (28 例)、18.9% (17 例), 其余为其他职业, 占 20.0% (18 例); 大部分为散居 (88.9%, 80 例)。病例发病年龄的 $P_{50}(P_{25}, P_{75})$ 为 14.8 (5.3, 32.8) 岁, 以 < 20 岁者为主, 占 66.7% (60 例)。另外 *Nm* C 群脑膜炎病例以 > 12 岁为主 (77.3%, 17 例); 而在感染 B 群和不可分群的病例中, ≤ 12 岁者的比例较高, 分别为 55.8% (24 例) 和 6/14。详见表 1。

4. 实验室确诊流脑病例的临床特征: 90 例流脑确诊病例的主要症状分别为发热 (78 例, 86.7%)、头痛 (59 例, 65.6%) 和呕吐 (51 例, 56.7%)。血液中白细胞增高、中性粒细胞比例增高者分别占 28.9% (26 例) 和 25.6% (23 例); 脑脊液外观混浊、白细胞增高、蛋白质阳性、葡萄糖和氯化物减少的阳性率

表 1 2007—2016 年济南市 AMES 监测病例中不同年龄 *Nm* 脑膜炎病例血清分群情况 [例 (%)]

年龄 (岁)	<i>Nm</i> 脑膜炎病例	A 群	B 群	C 群	W135 群	X 群	不可分群	未分群
<3	11 (12.2)	1 (1/1)	8 (18.6)	1 (4.6)	0	1 (1/1)	0	0
3~6	17 (18.9)	0	9 (20.9)	2 (9.1)	0	0	4 (4/14)	2 (2/5)
7~12	11 (12.2)	0	7 (16.3)	2 (9.1)	0	0	2 (2/14)	0
13~20	21 (23.3)	0	7 (16.3)	9 (40.9)	1 (1/4)	0	3 (3/14)	1 (1/5)
>20	30 (33.3)	0	12 (27.9)	8 (36.4)	3 (3/4)	0	5 (5/14)	2 (2/5)
合计	90 (100.0)	1 (1/1)	43 (100.0)	22 (100.0)	4 (4/4)	1 (1/1)	14 (14/14)	5 (5/5)

注: AMES: 急性脑膜炎炎症候群; *Nm*: 脑膜炎奈瑟菌

较低,分别为10.0%(9例)、33.3%(30例)、22.2%(20例)、30.0%(27例)和13.3%(12例)。入院诊断为流脑者仅11例(12.2%),而诊断为病毒性脑膜炎和颅内感染分别为38和36例,误诊率87.8%;入院诊断正确的流脑病例痊愈的比例为7/11,高于诊断错误者(2.5%,2例)。详见表2。

表2 2007—2016年济南市 AMES 监测病例中不同疗程和转归流行性脑脊髓膜炎确诊病例入院诊断情况比较

项目	病例数	诊断正确 病例数	构成比 (%)	诊断错误 病例数	构成比 (%)
疗程(d)					
<14	44	8	8/11	36	45.6
14~28	29	2	2/11	27	34.2
≥28	17	1	1/11	16	20.3
转归					
痊愈	9	7	7/11	2	2.5
好转	60	2	2/11	58	73.4
未好转	21	2	2/11	19	24.1

注:AMES:急性脑膜炎症候群

讨 论

全国法定传染病报告系统的流脑报告发病率持续下降,但病死率仍维持在10%左右的较高水平^[3]。由于法定传染病报告系统是一个基于临床诊断的被动监测系统^[4],在准确性和及时性上会存在一定缺陷,而 AMES 监测不依赖临床诊断,并将高灵敏性的分子生物学诊断技术运用到病原检测之中,能更加及时全面的发现病例。

2007—2016年山东省各级医疗机构通过传染病专病系统共报告流脑病例104例,其中实验室确诊病例28例,而本研究同期的实验室确诊病例高达90例,提示现阶段我省流脑并存着严重的漏诊和误诊两方面的问题。首先,对入院诊断的分析发现流脑病例的误诊率较高,仅12.2%的实验室确诊病例入院诊断为流脑,且流脑非流行季节的误诊率显著高于流行季节,误诊病例主要诊断为病毒性脑炎/脑膜炎和颅内感染。分析误诊原因,可能与流脑病例的特异性症状不典型以及医护人员对流脑发病的认知不高有关,有研究显示具有典型临床症状的流脑患者不足1/3,40%~70%会由非特异性症状进展为败血症^[5-6]。其次,现行的流脑实验室检测技术相对落后,多数医疗机构尚不开展实验室诊断,或仅依靠细菌培养,有可能导致流脑病例漏诊。腰椎穿刺是快速确诊流脑的重要手段,还可通

过血培养、PCR、皮肤组织活检等方法来辅助诊断。本研究中,*Nm*在脑脊液中的检出率显著高于血液,但标本送检率较低(39.9%);而医院仅采用脑脊液培养或血培养的方法进行病原检测,检测率也较低,提示标本的低检测率及检测方法的单一也是影响诊断的重要因素。再者,抗生素的不规范使用对病原检出率的影响不容忽视^[7-8]。*Nm*菌株的耐药现象已逐渐凸显出来,而且由于菌群结构的改变,其耐药模式也越来越复杂^[9]。因此,病原菌的获得以及实时的耐药监测是疾病防治的根本^[10]。迟诊或误诊还会使患者错过病理学上的临床高效治疗期^[11],本研究发现入院诊断正确的流脑病例在转归方面显著优于入院诊断错误的病例。

流脑流行的一个显著特征是具有明显的地域性,并且随着时间推移和疫苗应用,会发生血清群转换。2006—2014年中国流脑流行以A和C群为主,自2010年起B群流脑报告发病数持续上升,B群流脑导致死亡的病例不断有报道^[3,12],而在欧洲、美洲和大洋洲等地区,由B群*Nm*菌株引起的病例已经占到所有流脑病例的2/3左右^[13]。2007—2011年山东省 AMES 监测的流脑病例以C群为主,2012—2016年B群成为首要优势菌群,同时C群病例下降至7.5%(5例),而A群病例的构成比一直处于较低水平,山东省流脑以B群为主的流行趋势已经初现。我国流行的C群*Nm*大多属于ST-4821克隆群,而B群*Nm*也已呈现出ST-4821克隆群的克隆化趋势^[14],提示ST-4821克隆群C群和B群菌株之间可以发生血清群转换,在疫苗的选择压力下流脑流行菌群发生遗传变异,逐渐向B群迁移。

对全人群B群流脑的防控应引起高度关注。由于B群*Nm*菌株的荚膜多糖免疫原性较低,并且多糖的唾液酸结构与人体神经组织具有同源性,疫苗接种易产生自身免疫^[15],给疫苗研究带来很大阻碍。外膜蛋白是*Nm*B疫苗研制的突破点,随着B群*Nm*全基因序列的检测完成,候选抗原大幅增加,多组分疫苗成为发展趋势,为B群脑膜炎球菌疫苗的发展带来新的希望^[16]。目前我国应加大流脑菌株的药物敏感性监测,根据监测结果合理选用敏感的抗菌药物,以取得较好的预防和治疗效果。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Rosenstein NE, Perkins BA, Stephens DS, et al.

- Meningococcal disease[J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(18): 1378-1388. DOI: 10.1056/NEJM200105033441807.
- [2] World Health Organization. Japanese encephalitis[EB/OL]. [2018-01-02]. http://www.who.int/immunization/diseases/japanese_encephalitis/en/.
- [3] 李军宏, 李艺星, 吴丹, 等. 中国 2006—2014 年流行性脑脊髓膜炎病例菌群分布特征及变迁趋势 [J]. *中国疫苗和免疫*, 2015, 21(5): 481-485.
- [4] 仇小强, 董柏青, 杨进业, 等. 流行性乙型脑炎监测手册中疑似病例定义和分类方法的现场评估[J]. *中华流行病学杂志*, 2011, 32(1): 38-41. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.01.010.
- [5] Strelow VL, Vidal JE. Invasive meningococcal disease[J]. *Arq Neuropsiquiatr*, 2013, 71(9B): 653-658. DOI: 10.1590/0004-282X20130144.
- [6] Thompson MJ, Ninis N, Perera R, et al. Clinical recognition of meningococcal disease in children and adolescents[J]. *Lancet*, 2006, 367(9508): 397-403. DOI: 10.1016/S0140-6736(06)67932-4.
- [7] Juganariu G, Miftode E, Teodor D, et al. Clinical features and course of bacterial meningitis in children[J]. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*, 2012, 116(3): 722-726.
- [8] Brouwer MC, Tunkel AR, van de Beek D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2010, 23(3): 467-492. DOI: 10.1128/CMR.00070-09.
- [9] 徐丽, 朱兵清, 徐征, 等. 2003—2012 年中国部分地区脑膜炎奈瑟菌体外抗生素敏感性分析[J]. *疾病监测*, 2015, 30(4): 316-320. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2015.04.017.
- [10] 夏照帆, 李骏强. 医疗领域抗菌耐药现状、问题及对策[J]. *中华预防医学杂志*, 2018, 52(5): 460-463. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2018.05.002.
- [11] 吴兴华. 急性脑炎脑膜炎候群及其监测研究进展[J]. *中国公共卫生*, 2012, 28(11): 1537-1540.
- [12] 郭立春. 流行性脑脊髓膜炎流行病学研究进展[J]. *解放军预防医学杂志*, 2017, 35(6): 687-689, 693.
- [13] Ma Y, Shen X, Yang Y, et al. Clinical analysis on children with group B epidemic meningitis [J]. *J Clin Pediatrics*, 2003, 21: 461-463.
- [14] 邵祝军. 中国流行性脑脊髓膜炎流行变异趋势[J]. *中华预防医学杂志*, 2013, 47(10): 891-893. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2013.10.014.
- [15] Finne J, Bitter-Suermann D, Goridis C, et al. An IgG monoclonal antibody to group B meningococci cross-reacts with developmentally regulated polysialic acid units of glycoproteins in neural and extraneural tissues[J]. *J Immunol*, 1987, 138(12): 4402-4407.
- [16] 吴晓霞, 宋迎春, 李振宇, 等. B 群脑膜炎球菌四组分疫苗的研究进展 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(19): 2881-2884.

(收稿日期: 2018-01-26)

(本文编辑: 梁明修)

中华医学会《中华预防医学杂志》理事单位名单

(排名不分先后)

北京市疾病预防控制中心

广州市疾病预防控制中心

济南市疾病预防控制中心

上海市(复旦大学附属)公共卫生临床中心

深圳市疾病预防控制中心