

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20233719

· 论 著 ·

2021 年郴州市人间布鲁氏菌病流行特征及分离菌株种型鉴定

谢 群¹, 胡 琳¹, 袁红霞², 刘 卫³, 曾汇文¹

(1. 湘南学院公共卫生学院, 湖南 郴州 423000; 2. 郴州市第一人民医院检验医学中心, 湖南 郴州 423000; 3. 郴州市疾病预防控制中心急性传染病防治科, 湖南 郴州 423000)

[摘要] **目的** 了解 2021 年湖南省郴州市布鲁氏菌病(简称布病)患者的流行病学特征及菌株种型, 为科学防控布病提供依据。**方法** 收集并分析 2021 年郴州市布病病例临床及流行病学资料, 对分离菌株采用 AMOS 聚合酶链式反应(AMOS-PCR)方法进行种型鉴定。**结果** 2021 年郴州市共报告布病 32 例, 发病率为 0.68/10 万, 男性 26 例、女性 6 例, 年龄为(51.13 ± 13.33)岁。临武县(3.72/10 万)、桂阳县(0.99/10 万)、嘉禾县(0.87/10 万)的发病率居前三位。病例报告主要集中在 3—9 月, 共 29 例; 发病年龄以中青年为主; 布病患者临床表现以发热、多汗、乏力、腰腿痛为主。14 例布病患者血培养分离布鲁氏菌, AMOS-PCR 进行种型鉴定结果均为羊种。**结论** 2021 年郴州市人间布病发病时间集中在春夏季, 男性多于女性, 发病年龄以中青年为主, 分离菌株主要为羊种, 对与羊牛等接触后出现发热伴有腰腿关节痛的患者, 应考虑布病的可能性。

[关键词] 布鲁氏菌病; 布鲁氏菌; 流行病学特征; 种型鉴定; AMOS-PCR

[中图分类号] R516.7

Epidemiological characteristics and species identification of isolated strains of human brucellosis in Chenzhou City in 2021

XIE Qun¹, HU Lin¹, YUAN Hong-xia², LIU Wei³, ZENG Hui-wen¹ (1. School of Public Health, Xiangnan University, Chenzhou 423000, China; 2. Laboratory Medical Center, Chenzhou First People's Hospital, Chenzhou 423000, China; 3. Department of Acute Infectious Disease Prevention and Control, Chenzhou Center for Disease Control and Prevention, Chenzhou 423000, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the epidemic characteristics and species of brucellosis in patients in Chenzhou City, Hunan Province in 2021, and provide basis for the scientific prevention and control of brucellosis. **Methods** Clinical and epidemiological data of brucellosis cases in Chenzhou City in 2021 were collected and analyzed. The species of isolated strains were identified by AMOS polymerase chain reaction (AMOS-PCR). **Results** A total of 32 cases of brucellosis were reported in Chenzhou in 2021, with an incidence of 0.68/100 000. There were 26 males and 6 females, and the average age was (51.13 ± 13.33) years old. The top three counties with the highest incidence were Linwu County (3.72/100 000), Guiyang County (0.99/100 000), and Jiahe County (0.87/100 000). The majority cases (29 in total) were reported between the months from March to September, and the age group most affected was middle-aged and young adults. Clinical manifestations of brucellosis patients were mainly fever, hyperhidrosis, fatigue, lumbago and leg pain. *Brucella* was isolated from the blood cultures of 14 patients with brucellosis, and identified as *Brucella melitensis* by AMOS-PCR. **Conclusion** The onset time of human brucellosis in Chenzhou City in 2021 is mainly concentrated in spring and summer, with more males than females. The onset age is mainly middle-aged and young adults. The isolated strains are mainly *Brucella melitensis*. The possibility of bru-

[收稿日期] 2022-12-27

[基金项目] 湖南省教育厅科学研究项目(19A466); 湖南省教育厅高校重点实验室项目(湘教通[2021]241号)

[作者简介] 谢群(1968-), 女(汉族), 湖南省宁乡市人, 主任技师, 主要从事病原微生物检验研究。

[通信作者] 袁红霞 E-mail: 50460310@qq.com

cellosis should be considered in patients with fever accompanied by lumbago and leg pain after contact with sheep or cattle.

[Key words] brucellosis; *Brucella*; epidemiological characteristics; species identification; AMOS-PCR

布鲁氏菌病(brucellosis, 简称布病)是由布鲁氏菌引起的人兽共患传染病,是我国法定报告的乙类传染病。羊、牛、猪、鹿、犬是动物布病的主要传染源,布鲁氏菌致病性强,能通过体表黏膜、消化道和呼吸道等侵入机体,人群普遍易感,临床上以发热、多汗、乏力以及全身肌肉关节游走性疼痛等为特点^[1]。2000 年以后,人间布病在我国成为报告发病数上升速度最快的传染病之一^[2],湖南省 2010—2014 年共报告布病 104 例,全省 14 个地州市,除郴州市外,均有病例报告^[3],2015 年 6 月郴州市桂阳县报告首例病例^[4],2016—2021 年布病病例数分别为 43、43、21、15、22、32 例,布病由北向南快速传播,郴州布病新发病例数一跃至湖南省前列^[5-6]。本研究收集 2021 年郴州市确诊的布病患者的资料进行流行病学调查分析,并对布鲁氏菌分离株采用 AMOS 聚合酶链式反应(AMOS-PCR)进行种型鉴定,为郴州市布病防控提供依据。

1 资料与方法

1.1 资料来源 资料来源于中国疾病预防控制中心信息系统个案调查表、调查报告及医院电子病历,选取 2021 年 1—12 月郴州市 32 例布鲁氏菌病住院患者作为研究对象,病例诊断参考《布鲁氏菌病诊断》WS 269—2019^[7]。郴州市各县(市、区)人口学数据来源于 2021 年郴州市统计年鉴。

1.2 方法

1.2.1 细菌培养与血清学鉴定 取患者血液 8~10 mL,骨髓或组织脓液约 5 mL。静脉血培养采用全自动血培养仪,在血培养仪提示阳性后,将其接种于血平板,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 2~3 d。如革兰染色阴性并且培养出现微小、无色、凸起、不溶血菌落,则高度怀疑布鲁氏菌。将疑似布鲁氏菌感染患者的血清标本送往当地疾病预防控制中心进行血清学检测确诊。先进行虎红平板凝集试验(RBPT),针对结果呈阳性的标本,再使用试管凝集试验(SAT)复检,滴度 >1:100 判断为血清学阳性。

1.2.2 菌株种型鉴定 布鲁氏菌在布氏琼脂上 37℃

培养 48 h 后,按照细菌基因组 DNA 提取试剂盒所附的操作说明书,提取布鲁氏菌基因组 DNA。采用布鲁氏菌属特异性 PCR(BCSP31-PCR)鉴定菌属、AMOS-PCR 鉴定布鲁氏菌种。BCSP31 蛋白存在于布鲁氏菌属各个种及各生物型菌株中,根据 BCSP31 核苷酸序列设计的引物用于布氏菌属的鉴定。AMOS-PCR 是针对 IS711 元件的种特异性插入序列的 PCR 试验,用于鉴定羊种、牛种、猪种及绵羊附睾种布鲁氏菌。引物序列和 PCR 扩增程序参考文献^[7]操作。

1.2.3 菌株分型方法 分离菌株通过单相特异性血清(A/M)凝集试验、硫化氢(H₂S)产生、初代分离培养时 CO₂ 需求、染料(硫基/碱性复红)抑菌试验、噬菌体(TB 和 BK2)裂解试验等进行种/型鉴定,可鉴定羊种(1、2、3 型)、牛种(1、2、4 型)、猪种(1 型)布鲁氏菌。布鲁氏菌血清分型检测试剂盒(A、M、R 各 1 支,青岛中创汇科)可初步鉴定布鲁氏菌生物型。鉴定方法参照《布鲁氏菌病诊疗及防控手册》^[8]。

1.3 统计学方法 应用 Excel 2007 软件对数据进行统计分析,计量资料采用均数 ± 标准差表示,计数资料采用例数及百分数表示。

2 结果

2.1 发病人群基本特征 郴州市 2021 年共报告布病 32 例,病历资料完整,其中男性 26 例、女性 6 例,男女比例为 26:6;发病年龄为(51.13 ± 13.33)岁,年龄最小 29 岁,最大 87 岁;患者均为散发病例,全市 11 个县(市、区),桂东县、安仁县无病例,全年除 1、10、12 月,均有布病报告病例。患者从发病到诊断间隔时间 <6 d 23 例,6~<15 d 6 例,15~30 d 3 例。32 例布病患者基本特征见表 1。

2.2 流行病学特征

2.2.1 时间分布 郴州市 5 月份报告布病例数最多(7 例);7 月份报告 6 例,3、6、9 月份各报告布病 4 例;布病病例主要集中在 3—9 月,共 29 例,占总病例数的 90.63%。见图 1。

表 1 32 例布病患者基本特征

Table 1 General characteristics of 32 patients with brucellosis

基本特征	例数	构成比(%)
性别		
男性	26	81.25
女性	6	18.75
年龄(岁)		
<18	0	0
18~	11	34.37
41~	16	50.00
>66	5	15.63
接触史		
屠宰或处理生羊、牛	10	31.25
饲养羊、牛	8	25.00
居住地附近有羊、牛	5	15.63
无明确羊、牛接触史	9	28.12
职业		
农民	19	59.38
商业服务人员	4	12.50
餐饮、食品服务人员	3	9.38
工人	2	6.25
家务	2	6.25
卡车司机	1	3.12
退休人员	1	3.12
确诊医院		
省级医院	3	9.38
市级医院	21	65.62
县级医院	8	25.00

0.99/10 万、0.87/10 万,发病数分别为 12、7、3 例,共计 22 例,占总病例数的 78.13%。见表 2。

表 2 2021 年郴州市 32 例人间布病报告病例的地区分布
Table 2 Regional distribution of 32 human brucellosis cases in Chenzhou City in 2021

地区	人口数	发病例数	发病率(/10 万)
临武县	322 987	12	3.72
桂阳县	709 372	7	0.99
嘉禾县	343 169	3	0.87
北湖区	568 778	3	0.53
苏仙区	435 836	2	0.46
宜章县	567 970	1	0.18
汝城县	344 617	1	0.29
资兴市	322 990	1	0.31
永兴县	538 532	1	0.19
桂东县	160 956	0	0
安仁县	357 972	0	0
合计	4 673 179	32	0.68

2.3 主要临床表现 32 例布病病例中,发热 32 例(100%),乏力 29 例(90.63%),多汗 27 例(84.38%),头痛 26 例(81.25%),伴腰腿关节痛 21 例(65.63%),肝、脾及淋巴结肿大 13 例(40.63%)。

2.4 实验室检验

2.4.1 血清学检验 直接取患者血清, RBPT 与 SAT 结合,血清滴度 >1:100,确诊布病 10 例;通过细菌培养分离出疑似布菌菌株,再采用 RBPT 与 SAT,血清滴度 >1:100,确诊布病 22 例。生化检验:血沉(ESR)升高 28 例,C 反应蛋白(CRP)升高 27 例,乳酸脱氢酶(LDH)升高 26 例,天冬氨酸转氨酶(AST)升高 22 例、丙氨酸转氨酶(ALT)升高 18 例。

2.4.2 分子生物学试验 14 例布病患者血培养分离布鲁氏菌, BCSP31-PCR 试验证实布鲁氏菌属阳性 14 例, AMOS-PCR 证实 4~17 号为布鲁氏菌羊种(bp731)。均来源于郴州市第一人民医院住院病例(临武县 7 例、桂阳县 2 例、嘉禾县 2 例、北湖区 2 例、苏仙区 1 例),产物电泳结果见图 2。

2.4.3 A、M、R 布鲁氏菌分型诊断试剂盒检测 14 株羊种布鲁氏菌菌株,14 株血清学凝集试验:A+ 和 M+, R-, 初步诊断为羊种 3 型。

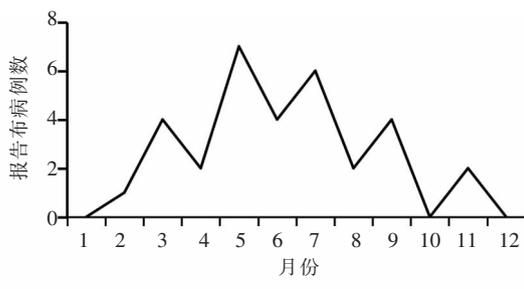


图 1 2021 年郴州市 32 例人间布病报告病例的时间分布

Figure 1 Time distribution of human brucellosis cases in Chenzhou City in 2021

2.2.2 地区分布 郴州市 11 个县(市、区)中,临武县、桂阳县、嘉禾县发病率排前 3 位,分别为 3.72/10 万、



注:4~17号对应实验室编号2021CZB01—2021CZB14。1号为空白对照;2号阳性对照来源于2021年16S rDNA确认为布鲁氏菌羊种的DNA样品(bp731);3号为实验室沙门氏菌的DNA样品(未出现条带);4~17号为分离菌株的DNA样品。

图2 AMOS-PCR测定布鲁氏菌产物电泳图

Figure 2 Electrophoresis map of AMOS-PCR products of *Brucella*

2.5 治疗效果 急性期患者住院期间多采用多西环素(100 mg/次,2次/d,6周)+利福平(600~900 mg/次,1次/d,6周)或多西环素(100 mg/次,2次/d,6周)+链霉素(15 mg/kg,1次/d,2~3周),难治性病例采用多西环素+利福平+喹诺酮类或第三代头孢菌素类抗生素,总疗程至少12周,期间监测血常规、肝肾功能变化,经过早期、联合、足量、足疗程用药治疗后,预后良好。

3 讨论

布病是由布鲁氏菌属细菌侵入机体引发的感染-变态反应性人兽共患传染病,近年来疫情不断暴发,已成为一项重要的公共安全问题,尤其在我国南方大部分地区,越来越多的县(区)出现布病疫情^[9]。2015年郴州市桂阳县报告首例布病病例^[4],郴州市布病疫情不断蔓延,发病数跃居湖南省前列^[5-6],2021年郴州市报告布病32例,14株布鲁氏菌AMOS-PCR鉴定为羊种,A/M凝集试验初步鉴定为羊种3型,与国内报道的布病流行的优势菌种型一致^[10]。郴州市布病病例高度散发,病例以中青年男性农牧民为主,可能与男性参与牲畜饲养、屠宰、运输等相关工作多,与传染源接触机会多有关。布病新发病例数从3月开始增多,5月达到高峰后下降,可能是因为羊的繁殖季节一般在2~4月份,在产羔季节人接触布病病畜机会增加,且产羔后开展免疫接种等活动,接触机会多,容易发病^[11]。布病传染性强,少量病原体就存在高度传染性,可导致布病肆虐^[12],研究^[5,13]表明郴州市医院检验人员、动物防疫人员

可在工作期间感染布病,提示需要加强布病防控及个人防护知识的宣传。未直接接触牲畜的非职业人群感染布病9例,占28.13%,提示气溶胶、食源性等非传统途径感染有上升趋势^[14-15]。

布鲁氏菌培养是诊断布病的金标准,常通过血培养检出布鲁氏菌来判断,但培养耗时较长,一般需要3~5 d。本文局限性为布鲁氏菌菌株标本量较少,未对14株菌株进行传统生物学方法分型,主要原因是布鲁氏菌传染性极强,涉及抗原制备的大量活菌操作需在三级生物安全实验室进行。《布鲁氏菌病诊断标准(2019)》中增加了布鲁氏菌实验室生物安全要求,标准规定病原菌分离纯化、药敏试验、生化鉴定、PCR核酸提取等可以在二级生物安全实验室操作。

由于布病临床表现不典型,易被误诊为流感等上呼吸道感染、结核病、风湿性关节炎等疾病,郴州市仍有少数布病病例从发病到确诊的间隔时间超过15 d。郴州市25%的布病病例由县级医院确诊,还需加强对基层医疗机构医务人员布病诊疗及防控知识的培训。研究^[16-18]显示,呼吸系统受损布病患者的血培养阳性率为20%~50%,通过发现ESR、CRP、LDH、AST、ALT出现升高,结合RBPT试验可对布病进行初步诊断,对长期出现不明原因发热、多汗、肌肉骨骼痛的患者,临床医生要结合流行病学史,ESR、CRP升高,考虑布病的可能性。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] Shi YJ, Gao H, Pappas G, et al. Clinical features of 2041 human brucellosis cases in China[J]. PLoS One, 2018, 13(11): e0205500.
- [2] 高彦辉, 赵丽军, 孙殿军, 等. 布鲁氏菌病防治基础研究现状与展望[J]. 中国科学(生命科学), 2014, 44(6): 628-635. Gao YH, Zhao LJ, Sun DJ, et al. Status and perspective of basic research of prevention and control of brucellosis[J]. Scientia Sinica(Vitae), 2014, 44(6): 628-635.
- [3] 伍忠辉, 高立冬, 胡世雄, 等. 2010—2014年湖南省人间布鲁氏菌病网络直报系统监测数据分析[J]. 实用预防医学, 2017, 24(9): 1117-1119. Wu ZH, Gao LD, Hu SX, et al. Surveillance data of human brucellosis cases from the network direct reporting system in Hunan Province, 2010-2014[J]. Practical Preventive Medicine, 2017, 24(9): 1117-1119.
- [4] 谢群, 郑文, 朱韩武, 等. 2015年郴州市布鲁氏菌病的实验室

- 诊断及病原学特征分析[J]. 实用预防医学, 2016, 23(12): 1465-1467.
- Xie Q, Zheng W, Zhu HW, et al. Laboratory diagnosis and etiological characteristics of brucellosis in Chenzhou City, 2015 [J]. Practical Preventive Medicine, 2016, 23(12): 1465-1467.
- [5] 王艳琴, 朱韩武. 2016 年湖南省郴州市人间布鲁菌病流行特征分析[J]. 中华地方病学杂志, 2018, 37(9): 721-724.
- Wang YQ, Zhu HW. Epidemiological characteristics and risk factors of human brucellosis in Chenzhou City of Hunan Province in 2016[J]. Chinese Journal of Endemiology, 2018, 37(9): 721-724.
- [6] 刘志国, 王妙, 湛志飞, 等. 湖南省人间布鲁氏菌病流行特征及布鲁氏菌溯源调查[J]. 中华流行病学杂志, 2019, 40(9): 1150-1154.
- Liu ZG, Wang M, Zhan ZF, et al. Epidemiology of human brucellosis and source of *Brucella* isolates in Hunan province [J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2019, 40(9): 1150-1154.
- [7] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 布鲁氏菌病诊断: WS 269—2019[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- National Health Commission of the People's Republic of China. Diagnosis for brucellosis: WS 269-2019 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2019.
- [8] 姜海, 徐卫民, 范蒙光, 等. 布鲁氏菌病诊疗及防控手册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2020.
- Jiang H, Xu WM, Fan MG, et al. Handbook of diagnosis, treatment, prevention and control of brucellosis [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2020.
- [9] 崔步云, 姜海. 2005—2016 年全国布鲁氏菌病监测数据分析 [J]. 疾病监测, 2018, 33(3): 188-192.
- Cui BY, Jiang H. Surveillance data of brucellosis in China, 2005-2016 [J]. Disease Surveillance, 2018, 33(3): 188-192.
- [10] 韩腾伟, 林代华, 陈志平, 等. 2018—2019 年福建省人感染布鲁氏菌分离株种型鉴定及分子特征分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(9): 1001-1007.
- Han TW, Lin DH, Chen ZP, et al. Species identification and analysis of the molecular characteristics of *Brucella* strains isolated from humans in Fujian, China in 2018-2019 [J]. Journal of Pathogen Biology, 2021, 16(9): 1001-1007.
- [11] 邹明远, 邢智锋, 尹世辉, 等. 黑龙江省 2010—2017 年人间布鲁氏菌病流行特征及防控重点问题分析[J]. 中国公共卫生管理, 2018, 34(1): 71-73, 76.
- Zou MY, Xing ZF, Yin SH, et al. Epidemiologic characteristics and major problems in control of human brucellosis in Heilongjiang province, 2010-2017 [J]. Chinese Journal of Public Health Management, 2018, 34(1): 71-73, 76.
- [12] Dadar M, Shahali Y, Whatmore AM. Human brucellosis caused by raw dairy products: A review on the occurrence, major risk factors and prevention [J]. Int J Food Microbiol, 2019, 292: 39-47.
- [13] 刘卫, 陈伟华, 胡雅梦, 等. 郴州市一起畜牧人员感染布鲁氏菌病暴发疫情的调查[J]. 实用预防医学, 2019, 26(8): 1005-1006.
- Liu W, Chen WH, Hu YM, et al. An epidemic outbreak of brucellosis among livestock workers in Chenzhou city [J]. Practical Preventive Medicine, 2019, 26(8): 1005-1006.
- [14] 车雷, 王晓丽, 张国斌, 等. 2011—2017 年沈阳市人间布鲁氏菌病流行病学分析[J]. 现代预防医学, 2018, 45(13): 2316-2318.
- Che L, Wang XL, Zhang GB, et al. Epidemiological analysis of human brucellosis in Shenyang, 2011-2017 [J]. Modern Preventive Medicine, 2018, 45(13): 2316-2318.
- [15] 许德, 宋丹丹, 吴家兵, 等. 2013—2017 年安徽省人间布鲁氏菌病流行病学及临床特征分析[J]. 现代预防医学, 2018, 45(23): 4240-4242, 4253.
- Xu D, Song DD, Wu JB, et al. Epidemiological and clinical characteristics of human brucellosis in Anhui, 2013-2017 [J]. Modern Preventive Medicine, 2018, 45(23): 4240-4242, 4253.
- [16] 梁晨, 魏伟, 梁秀文, 等. 4 例布鲁菌病并发胸腔积液患者的临床特征[J]. 中国感染控制杂志, 2022, 21(7): 681-685.
- Liang C, Wei W, Liang XW, et al. Clinical characteristics of four patients with brucellosis complicated with pleural effusion [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2022, 21(7): 681-685.
- [17] 林湘潭, 黄勋, 李春辉, 等. 湖南省某三甲医院 32 例布鲁菌病患者临床特点分析[J]. 中国感染控制杂志, 2018, 17(8): 697-701.
- Lin XP, Huang X, Li CH, et al. Clinical characteristics of 32 brucellosis patients in a tertiary first-class hospital in Hunan Province [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2018, 17(8): 697-701.
- [18] Jia B, Zhang FB, Lu Y, et al. The clinical features of 590 patients with brucellosis in Xinjiang, China with the emphasis on the treatment of complications [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2017, 11(5): e0005577.

(本文编辑:陈玉华)

本文引用格式: 谢群, 胡琳, 袁红霞, 等. 2021 年郴州市人间布鲁氏菌病流行特征及分离菌株种型鉴定 [J]. 中国感染控制杂志, 2023, 22(4): 463-467. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20233719.

Cite this article as: XIE Qun, HU Lin, YUAN Hong-xia, et al. Epidemiological characteristics and species identification of isolated strains of human brucellosis in Chenzhou City in 2021 [J]. Chin J Infect Control, 2023, 22(4): 463-467. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20233719.