

布鲁氏菌病的防治研究进展

呼延昕娜¹

(宁夏医科大学中医学院 宁夏 银川 750101)

【摘要】布鲁氏菌病是人畜共患传染病，其流行范围不断蔓延，从以畜牧业为主的高发地区逐步蔓延至全球，对人和家畜健康带来巨大威胁，也对畜牧业造成重大经济损失。本文对国内外布病的诊断技术、诊疗方案、防治热点及疫苗研究等方面进行对比、总结、概述，以期对布病的预警、监测、调整防控相关政策等提供参考。

【关键词】布鲁氏菌病；疫苗；防控思路

布鲁氏菌病（以下简称布病）是一种感染布鲁氏菌的人畜共患传染病。本病多发生于牧区，随着畜牧业的发展，已成为全球关注的公共卫生问题之一，人群普遍易感，羊、牛、猪、犬等病畜为传染源。人体感染后可造成多器官和组织损伤，表现为波状热、多汗、头痛、乏力、关节疼痛、神经痛等非特异性症状，极易造成误诊。^[1]目前世界范围内为防治布病疫情扩散，国内外均做出了积极的防治措施。疫苗免疫防治是目前公认布病疫情防控最为有效的手段，但目前就国际范围内并没有对人用布病疫苗进行统一，临床也认为布病疫苗仍存在免疫期短、安全性难以保障等缺点。抗菌治疗是目前布病的主要治疗方案，大剂量使用可引起或加重肝肾功能损伤。因此如何加强布病的防治是目前对于布病研究的重点之一。而多学科、多部门、多领域的联手防治，无疑对其预警、预防、监督以及治疗、防控均具有重要作用。

1 布病的概述

布病是由布鲁氏菌属细菌所引起的常见人畜共患流行性慢性传染疾病^[2]。世界动物卫生组织（OIE）将其列入了须通报性动物疫病，在我国则归为人类乙类法定报告传染病与职业病，在我国出台的《中华人民共和国动物防疫法》中将布病明确规定为需管理的二类动物疫病^[2, 3]。布病菌种的区分一般根据布鲁氏菌在宿主偏好、致病性、病原学特征以及表型分为六大类型^[4]，其中病菌种种型的发现在不断扩大，不同种型菌种下人畜共患潜力也存在明显差异。目前证实人类感染布病的主要病原体主要是有 *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus*^[5]。人类感染的主要途径就是通过与病畜及其相关畜牧产品发生接触，往往患病人群职业特点鲜明。

中医医典古籍中虽没有布病的概念，但据其特点应属疫病范畴。根据其“发热、乏力、多汗、关节疼痛”等症状，将其归于“湿温、痹证、虚损”等范畴。

中医认为，布病为外界湿热秽毒邪气从口鼻、皮肤乘虚侵犯人体而致。急性期由湿热毒邪蕴于肌表，壅遏卫气，则见发热恶寒；深入中焦脾胃，气机升降受阻，热气蒸腾，腠理开泄，故见壮热烦渴、多汗；湿热留恋气分，内迫营血，则见斑疹甚至咳血、便血、尿血；上干清窍，则见头痛、神昏；湿热或夹风邪留滞关节，局部气血运行不畅，气滞水停，不通则痛，则见全身关节沉重、酸胀、麻木、红肿和固定或游走性疼痛，甚至可见关节积液和脓肿，活动明显受限；湿热蕴结不同脏腑，则见相应脏腑功能异常的表现。病久元气耗伤而湿热未尽，疾病转为慢性期，热盛煎熬阴血，阴液无以濡养和滋润，湿热余邪未清，循经伤及诸脏，可见乏力、低热不退、筋脉拘挛、关节肌肉酸痛、心悸、胸闷、咳嗽、咳痰、腰酸、水肿等。2012年，由卫生部印发的《布鲁氏菌病诊疗指南（试行）》中将布病归为湿热痹，包括湿热侵袭、湿浊痹阻和气虚络阻3个证型，但实际上本病辨证思路和证型分类远不止此。一般以湿热内蕴证为急性期主要证型，慢性期辨证以辨气、血、阴、阳虚损为主，同时兼顾风、湿瘀等邪实。

在我国，北方地区仍为布病主要流行地区，南方地区疫情也有扩散趋势^[6]，呈现疫区从牧区向半牧区、农村向城市蔓延以及流行形式以多发、分散、点状为主的流行病学新趋势^[7]。随着近年来布病疫情的扩大，国家也相继出台政策落实疫情防控，重点并多次提到布鲁氏菌病防治计划。

2 国内外诊疗方案研究

2.1 诊断技术的研究进展：目前布病的实验室诊断主要包括细菌学检测、血清学检测和分子生物学检测技术^[8]。

①细菌学诊断技术：众所周知，布鲁氏菌的分离、培养鉴定是诊断布病的最基础方法，也是检测布病的“金标准”^[8]。但布鲁氏菌的生长繁殖对环境和营养有相对高的要求，且阳性率低，因此极易出现细菌污

染。另外，受样本中病原体数量、动物感染阶段及检测前抗生素的使用等情况影响，都会使该技术在及时诊断方面受限。

②血清学诊断技术：是布病临床最常用的方法，目前血清学检测种类较多，但在国际上尚未有标准方法，常用的有常规血清学试验（试管凝集试验（SAT）、虎红平板凝集试验（RBPT）和全乳环状试验（MRT））、补体结合试验（CFT）、酶联免疫吸附试验（ELISA）和荧光偏振试验（FPA）等^[8]。但因患者不同个体之间差异性较大以及感染存在“空窗期”的原因，血清中抗体产生极易受到影响。并且布鲁氏菌与沙门氏菌之间存在着交叉抗原，因此该技术缺乏诊断特异性^[9]。

目前 SAT 在欧美发达国家已停用，但在我国仍广泛使用。我国将 SAT 改良成为微量试管凝集试验，该方法具有稀释方法简便、节约抗原血清、省时省力等优点。RBPT 是一种经典的血清凝集试验，该方法敏感性较高、检测快速，但因其特异性和准确性一般，受试验温度和凝集时间影响，不易准确判定结果，所以目前我国常用于动物群体布病的普查和人布病的初筛及监测，而不作为确诊试验。MRT 主要通过抗原抗体反应检测乳样中的布鲁氏菌抗体来筛查泌乳期牛群的布病，此方法操作简便、成本较低，可用于奶牛布病的现场筛查，但其敏感性较差，可能出现假阳性反应。

与上述常规血清学检测方法相比，CFT 相对于，具有敏感度高、特异性强的特点，是目前布病血清学诊断中最准确的方法之一。因此，CFT 是国际贸易指定试验，也是世界动物卫生组织（OIE）确认的确诊方法，广泛应用于牛、羊、人布病的诊断。其主要缺点是对试验条件要求较高、操作过程繁琐、检测结果受主观因素影响较大，因此不适用于实验条件有限的基层和现场检测。ELISA 方法的特点是简便快速、剪异性强、所需样品少且过程易标准化等，不仅可以用于大量样本的筛查，也可作为确诊试验。ELISA 是国际贸易指定试验，于 2004 年被 OIE 列为诊断牛种布病的推荐方法^[9]。但该方法对试验条件要求更苛刻，需在国家生物二级实验室内进行，不适用于基层和现场快速检测。FPA 是目前欧美发达国家大量应用于动物布病快速、高通量的新技术，主要用于动物群体布病的检疫、筛查和净化。其诊断布病的敏感性和剪异性与 ELISA 相近，但检测更快速。

③分子生物学检测技术：分子生物学技术因其检测剪异性强、剪剪度高、操作简便、检测时间短等优势而在布病的检测和种型鉴别等方面应用日益广泛。其中核酸扩增试验（NAAT）是目前应最广泛的方法，根据实际情况的不同，又可选择普通 PCR、实时荧光定量 PCR、多重实时 PCR 和 CRISPR 等检测技术。

目前常规 PCR 可以作为人布病的常规检测方法，适用于临床症状明显但血清学检测为阴性的患者^[10]。其中多重 PCR 可以同时检测多种病原，不仅具有剪剪度高、剪异性强的特点外，还有剪剪度高、经济便捷以及辅助快速鉴别诊断等优点。CRISPR 的检测便捷且不依赖于仪器和技术人员，有望实现床旁检测。另一方面，因为 NAAT 高剪剪性的优点，对于其结果的阳性要注意综合全面考虑分析，排除环境暴露等因素。

LAMP 诊断布病^[11]，首先针对布鲁氏菌的剪异性基因序列设计引物，通过先扩增再分析的模式进行布病病原检测。但 LAMP 技术试验条件和专业的仪器设备没有很高的要求，其结果判定通过肉眼可直接观察，整个检测过程可在 1 h 内快速完成，适合在布病的基层防控工作中使用。

2.2 治疗方案的研究进展：

人类感染布病最大的特点就是显著的职业剪异性，绝大部分感染人群基本均与畜牧行业、兽医及相关行业存在一定联系或直接从事有关行业，但分析布病患者人群的年龄、性别因素却未发现明显的差异影响^[13]。对于布病的治疗在国内外也存在着差异。西医主要推荐抗生素药物治疗手段（药物以抗菌药物为主，包括四环素类、利福霉素类、喹诺酮类、磺胺类、氨基糖苷类、及三代头孢类），由于其主要病原体寄养在宿主细胞体内，因此对其进行治疗需要选择细胞内浓度相对较高的抗菌药物，研究还发现选用某一抗菌药物进行单独治疗的效果并不好，往往容易出现高复发率，因此西医推荐对于布病治疗进行联合用药。

世界卫生组织（WHO）对于布病治疗推荐方案为：西环素联合利福平或链霉素。研究表明^[13, 14]，布病短期治疗（小于 30 天）失败率和复发率较长期治疗（大于 6 周）高。且单药应用被视为治疗不充分，其复发率较高，且两药联用的治疗有效率明显更高。研究显示^[15, 16]多西霉素-利福平-氨基糖苷类三药联合应用时，其效果比多西霉素-链霉素联合好，且三联药物治疗的失败率和复发率较低。由此可见，国外

在布病治疗用抗菌药原则上强调联合、足量、足疗程。

早期我国布病治疗方案与国外差异较大,疗效评价不一,具有地方特色,且缺乏长期的大样本对照分析结果。为进一步加强我国布病的防治工作,并为广大医务工作者提供有益的指导意见,2012年我国以早期、联合、足量、足疗程用药为原则制定了《布鲁氏菌病诊疗指南》^[17],对于布病急性期、慢性期、并发症以及特殊人群的抗菌治疗与国外基本一致^[18]。

而与国外治疗不同的是我国独具特色的中医治疗。布病属于中医痹证、湿温、虚损等范畴,因感受湿热疫毒之邪,初起侵袭体表关节,壅遏卫气,进而深入中焦,伏于膜原,内迫营血,伤及肝脾,累及全身。又因其具有传染性,故可纳入湿热疫病范畴。在我国《布鲁氏菌病诊疗指南》(2012版)中,急性期根据湿热之邪盛衰关系,予以清热透邪,利湿通络或利湿化浊,宣络通痹法,参考方剂有三仁汤、独活寄生汤等,慢性期则益气化湿,养血通络,常用药物有生黄芪、党参、苍术、茯苓、山药、当归、白芍、威灵仙、杜仲、川断、乌梢蛇、泽泻等。大量研究表明^[20-22],中医在布病慢性期治疗方面有着明显疗效。当湿热毒邪侵犯人体,迁延日久,人体正气渐衰、气血阻滞、经脉痹阻,依据具体辨证予以八珍汤、四物汤、肾气丸、益气养阴煎、血府逐瘀汤、蠲痹汤、独活寄生汤、黄芪滑石汤或清热达原饮加减。此外,对于局部的疼痛,也可进行针灸、熏蒸及塌渍等外治法治疗。同时,大量研究显示中药联合抗菌药物治疗布病的有效率明显高于单独的西医治疗,且前者能明显改善患者的预后情况^[20, 22-26]。

3 国内外防治热点比较

对于布病的疫情控制与疾病根除各个国家之间由于经济发展的差异存在着较大的不同,一般的防控措施包括疫苗免疫接种、定期扑杀与有关补偿措施相结合等策略。但在经济水平较高的发达国家,由于疫情防控资金投入更高,所实施的检疫-扑杀-补偿等防控方案相对效果更为显著^[2]。我国也依据国情提出了坚持人畜同步防治、联防联控、分区防治、分类指导的原则,稳步推进定期检测、分区免疫、移动控制、强制扑杀等综合防治措施^[27]。

目前国内外主要都是通过传染源控制、教育宣传、监测与病例积极治疗等综合手段进行防控,不断提升对布病的监测和预警能力,加强对布病患者的移动监

管,优化完善对疫情的处置,从而迅速遏制布病上升态势。纵观国际趋势,布病防治势必走上跨学科、跨部门与跨领域之路。另一方面,国内外学者均已认识到并已经着手研究中草药在布病治疗中存在的有效成分和机制。

4 国内外疫苗研究现状

由于布病的主要病原体布鲁氏菌为胞内寄养菌,布鲁氏菌病防控应坚持预防为主策略,因此疫苗防疫是控制病情最为有效的措施。早在20世纪,人类就开始了布鲁氏菌疫苗的研究,早期科学家曾使用灭活疫苗用于人和动物的布病防控,但随诊预防免疫技术的发展,后逐渐被免疫效果更好的弱毒疫苗取代^[8, 28]。截至目前,我们尚未找到理想的针对人类的布病疫苗,但研究证实对动物种群进行疫苗接种可以降低动物感染率和人类患病风险。随着分子生物学及重组DNA技术的发展,基因工程疫苗成为近年来医学研究的热点和难点,基因缺失疫苗、DNA疫苗以及重组亚单位疫苗等新型疫苗处在研发试验阶段。

(1) 弱毒活疫苗:因减毒活疫苗可以有效激活机体的细胞免疫应答,产生持久良好的保护效果,因此目前市场上大部分成功应用的疫苗均为弱毒活疫苗。如牛种布鲁氏菌S19疫苗、粗糙型牛种布鲁氏菌RB51疫苗、羊种布鲁氏菌Rev1疫苗和猪种布鲁氏菌S2疫苗等^[29, 30]。

(2) 新型疫苗:随着分子生物学及重组DNA技术的发展,新型布病疫苗成为近年来的研究热点和难点。

① 基因缺失疫苗:基因缺失疫苗的安全性高,因其遗传背景清楚,可以通过病原学和血清学方法区分疫苗免疫和野毒感染。目前已经鉴定的布鲁氏菌毒力基因已超过180个,这为基因缺失疫苗的研制奠定了基础^[30-32]。研究结果证实,疫苗产生的保护力与其毒力正相关。因此在疫苗研发过程中,可以综合考虑疫苗的安全性、毒力及保护力等因素,对分离野毒株、强毒株进行基因缺失或者对现有活疫苗进行优化。

② DNA疫苗:因为布鲁氏菌属于胞内寄生菌,所以促进细胞免疫是控制布病感染的关键步骤。研究表明其DNA疫苗的候选分子主要为能刺激T细胞引起细胞免疫的分子^[33]。虽然具有安全性高,稳定性强,使用方便的优点,但其免疫效果不理想,并且单独使用不易诱导产生特异性免疫应答,因此用于人和动物

的具体效果还有待验证,目前尚无 DNA 疫苗能完全取代弱毒苗的研究证据。

③重组亚单位疫苗:与传统疫苗相比,重组亚单位疫苗具有抗原成分单一、常规血清学方法可以鉴别、安全性高等优点^[30]。2010 年研究人员利用 L7/L12 制备的亚单位疫苗在临床上成功诱导了 Th1 型免疫应答,但因为重组亚单位疫苗研发成本较高、生产工艺复杂、免疫效果不佳而搁置^[34]。为增强免疫效果,研究人员为了提高疫苗的免疫原性、增强其免疫效果,尝试将几个蛋白或多个有效的多肽进行重组^[30]。目前该疫苗用于动物免疫的研究较少,且需要佐助其他成分增强免疫效果。

另外,在我国以及小部分的国家对于布病疫情高风险地区的人群使用 104M 疫苗,但使用该疫苗接种将会导致一定比例的接种对象出现轻重程度不一的副反应表现或急性布病临床症状,对于血清学检测产生一定的干扰^[32];但临床实践同样证实对于布病疫情高风险地区的重点职业人群进行 104M 疫苗接种可以显著降低该地区风险人群发病率,在布病疫情流行性爆发期间是一项积极有效的应急疫情防控措施

5 展望

随着科学技术的发展和分子生物学研究的深入,人们对布病的认识和研究也越来越全面。目前,布病的防控仍以坚持免疫预防为主要策略。虽然近年关于新型疫苗的研究不断涌现,包括载体疫苗、DNA 疫苗、外膜囊泡疫苗、纳米颗粒疫苗等,但这些疫苗多数仍处于研究阶段,且面临着免疫效果不佳、免疫保护时间较短、成本较高、工艺复杂等诸多待解决的问题,并且部分疫苗还会干扰后期实验室诊断^[35, 36]。由此不难看出,未来关于布病防治的研究难点和热点仍然是以新型疫苗研发为主。同时,发挥中医药的优势,深化中药抗布鲁氏菌病的研究,在西医抗菌治疗的基础上,及早介入中医治疗,从而达到 1+1 > 2 的效果。

自 2012 年国务院办公厅提出疫病阶段性防治目标,我国在宏观政策指导下经过不懈努力,整体布病患者率呈现出缓慢下降的趋势,但形势依旧严峻。综前文所述能看出,整体防治手段都是以西医为主,缺乏中医治疗的特色。基于中医学“急则治标,缓则治其本”和“因人制宜”、“因地制宜”等原则,采取个体化、多样化的治疗手段。通过早期介入,全阶段使用,弥补现代医学治疗手段相对单一的不足,并且

还能在降低不良反应发生率,减轻副作用,提高治愈率方面发挥作用。因此后期也应不断加强中医药的防治,细化完善布病的中医药诊疗指南或方案并独立出台。另一方面,也可加强临床证型研究,开展大样本、多区域的布病中医证型调查,归纳总结可推广的辨证论治规律。并结合“未病先防”的原则在高发高危地区采取相应的措施,给予中药代茶饮、药浴、佩戴香药囊等内服、外用相结合的举措。

参考文献:

- [1] 浙江省布鲁氏菌病患者临床流行病学特点分析 _ 徐卫民 [J].
- [2] 杨勇,段博芳,董国栋,等.人畜间布鲁氏菌病研究进展 [J]. 中国动物检疫, 2020,37(04):76-83.
- [3] 曾政.布鲁氏菌新型疫苗的构建及其免疫原性研究 [D]. 西北农林科技大学, 2004.
- [4] 王真, HAN Gilsu, 吴清民. 动物布鲁氏菌病疫苗的来历及亚单位疫苗的研究概况 [J]. 中国农业大学学报, 2014,19(03):169-174.
- [5] 马耳他布鲁氏菌 M5_90_bp2_ 省略 _ 菌株的构建及安全性和免疫原性评估 _ 胡森 [J].
- [6] 康育慧,崔咏梅,曹文君. 2011-2017 年我国人间布鲁氏菌病发病的长期趋势和季节性研究 [J]. 中国卫生统计, 2018,35(06):895-897.
- [7] 周智. 传染病学 [M]. 江苏凤凰科学技术出版社, 2018.
- [8] Hou H, Liu X, Peng Q. The advances in brucellosis vaccines[J]. Vaccine, 2019,37(30):3981-3988.
- [9] 杜青春,王鹏. 布鲁氏杆菌病检测技术研究进展 [J]. 中国动物传染病学, 2019,27(02):105-109.
- [10] Saytekin A M, Ak S. Direct diagnosis of Brucella species through multiplex PCR formed by a new method[J]. J Microbiol Methods, 2018,154:86-94.
- [11] Tragoni M D, Gioffre A K, Ceron C M, et al. LAMP technology: Rapid identification of Brucella and Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis[J]. Braz J Microbiol, 2015,46(2):619-626.
- [12] Demiroglu Y Z, Turunc T, Aliskan H, et al. [Brucellosis: retrospective evaluation of the clinical, laboratory and epidemiological features of 151 cases][J]. Mikrobiyol Bul, 2007,41(4):517-527.
- [13] Karabay O, Sencan I, Kayas D, et al. Ofloxacin

plus rifampicin versus doxycycline plus rifampicin in the treatment of brucellosis: a randomized clinical trial [ISRCTN11871179][J]. BMC Infect Dis, 2004,4:18.

[14] Ariza J, Bosilkovski M, Cascio A, et al. Perspectives for the treatment of brucellosis in the 21st century: the Ioannina recommendations[J]. PLoS Med, 2007,4(12):e317.

[15] Solis G D P J, Solera J. Systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials in the treatment of human brucellosis[J]. PLoS One, 2012,7(2):e32090.

[16] Solera J. Update on brucellosis: therapeutic challenges[J]. Int J Antimicrob Agents, 2010,36 Suppl 1:S18-S20.

[17] 布鲁氏菌病诊疗指南(试行)[J]. 传染病信息, 2012,25(06):323-324.

[18] 张文宏. 复杂性布氏菌病临床诊治亟待重视[J]. 中华内科杂志, 2017,56(10):721-722.

[19] 齐新. 布鲁杆菌病的诊断和防治[J]. 中国地方病防治杂志, 2013,28(05):383.

[20] 罗晓东. 慢性布鲁氏菌病骨关节疼痛 67 例疗效观察[J]. 医学动物防制, 2014,30(10):1168-1169.

[21] 李晓东, 赵越洋. 浅谈中医中药在治疗布鲁氏杆菌病中的应用[J]. 中国民族民间医药, 2012,21(13):81.

[22] 曹广秋. 人布氏菌病中医证候特征分析与治疗[D]. 天津中医药大学.

[23] 于晶, 石志山, 程世武, 等. 中西医结合治疗布鲁氏菌病 28 例临床分析[J]. 中国地方病防治杂志, 2009,24(04):307-308.

[24] 康俊婷, 侯尚妍, 关建萍. 中西医结合治疗布鲁氏菌病关节炎的临床疗效及护理[J]. 中西医结合护理(中英文), 2017,3(12):68-71.

[25] 李为. 中西医结合治疗亚急性布鲁氏杆菌病的疗效分析[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2016,4(02):135-136.

[26] 惠云杰张召. 中药治疗慢性布鲁氏菌病 60 例[J]. 陕西中医, 2003(09):785-786.

[27] 农业部关于贯彻落实《国家中长期动物疫病防治规划(2012-2020 年)》的意见[J]. 饲料广角, 2012(24):5-8.

[28] Yang X, Skyberg J A, Cao L, et al. Progress in Brucella vaccine development[J]. Front Biol (Beijing), 2013,8(1):60-77.

[29] Pascual D W, Yang X, Wang H, et al. Alternative strategies for vaccination to brucellosis[J]. Microbes Infect, 2018,20(9-10):599-605.

[30] Schurig G G, Sriranganathan N, Corbel M J. Brucellosis vaccines: past, present and future[J]. Vet Microbiol, 2002,90(1-4):479-496.

[31] He Y. Analyses of Brucella pathogenesis, host immunity, and vaccine targets using systems biology and bioinformatics[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2012,2:2.

[32] 景志刚, 严家瑞, 范伟兴. 布鲁氏菌病疫苗研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2016,32(02):188-199.

[33] Gomez L, Llanos J, Escalona E, et al. Multivalent Fusion DNA Vaccine against Brucella abortus[J]. Biomed Res Int, 2017,2017:6535479.

[34] Kazak E, Oliveira S C, Goral G, et al. Brucella abortus L7/L12 recombinant protein induces strong Th1 response in acute brucellosis patients[J]. Iran J Immunol, 2010,7(3):132-141.

[35] Hou H, Liu X, Peng Q. The advances in brucellosis vaccines[J]. Vaccine, 2019,37(30):3981-3988.

[36] 安纪红, 杜田田, 王占国. 人用布鲁氏菌病疫苗的研究进展[J]. 临床肝胆病杂志, 2023,39(08):2012-2016.

作者简介:

呼延昕娜(1993.1-), 女, 陕西榆林, 助教, 硕士研究生, 研究方向: 中医防治内分泌疾病。