

安徽省亳州市布鲁菌病病原学监测及其分子特征分析

康晓东^{1,2}, 王 俊³, 钱树生², 王祥英², 汤云飞², 怀雪飞², 姜栋栋², 刘正祥², 柳 燕¹

(¹ 安徽医科大学基础学院微生物学教研室, 合肥 230032; ² 亳州市疾病预防控制中心

微生物实验室, 亳州 236800; ³ 安徽省疾病预防控制中心微生物实验室, 合肥 230601)

摘要 **目的** 了解安徽省亳州市布鲁菌病患者群的分布及病菌流行的型别和基因特征, 为制定本地区布鲁菌病预防与控制策略提供依据。**方法** 对采集的 698 份血液样本进行虎红平板凝集试验(RBPT)和试管凝集试验(TAT), 收集被检测者流行病学资料, 对检测结果进行统计分析; 培养并提取阳性菌株基因组 DNA, 采用 16S rRNA 测序方法进行分离菌株的分子鉴定和分型, 通过 Clustal W 和 MEGA 7 进行序列比对分析, 结果与 BCSP31-PCR 及 AMOS-PCR 的检测结果进行比较。**结果** 血清学检测共测出阳性样本 66 份, 阳性检出率为 9.46%; 检出率最高的人群主要从事活羊宰杀工作; 培养出的 10 株阳性菌株 16S rRNA 基因测序结果显示, 均与羊种布鲁菌亲缘关系较近, 进化树显示在同一分枝上, 与 BCSP31-PCR、AMOS-PCR 鉴定结果一致。**结论** 羊种布鲁菌在本地区传播中处于优势地位, 从事羊养殖、屠宰、售卖等职业的人群为高风险人群; 该研究结果为本地地区的患者群体分布及布鲁菌病基因分型和溯源研究提供了分子生物学证据, 同时也验证了 16S rRNA 进行分子溯源的有效性。

关键词 布鲁菌病; 病原学监测; BCSP31 聚合酶链式反应; AMOS 聚合酶链式反应; 16S rRNA; 羊种布鲁氏菌

中图分类号 R 378.5

文献标志码 A

布鲁菌病(简称布病)由布鲁氏菌引起, 于 1884 年首次被发现, 1886 年首次被分离^[1]。布鲁氏菌分为羊种、牛种、猪种、犬种、沙漠森林野鼠种及绵羊附睾种 6 个种群, 对人致病的是羊种、犬种、牛种和猪种, 可以通过皮肤伤口、黏膜或食用被污染的食物直接传染, 其中羊种致病力最强^[2]。我国的布病流行区正逐年扩大, 并有显著的空间聚集特点^[3]。亳州市位于安徽省淮河以北, 是该病高发区, 近年来散发病例不断。国内关于布病的研究中, 种型鉴定大多采用传统的 BSCP31-PCR 和 AMOS-PCR 方法, 这两种方法只能鉴定到布鲁氏菌的属或种, 而运用评价该菌亲缘进化关系的 16S rRNA 基因测序技术进行分子溯源的研究较少^[4-5]。该研究对近年来亳州市布病疑似患者及重点监测人群的血清学检测结果进行统计分析, 并运用 16S rRNA 基因序列分析技术对布鲁氏菌分离菌株进行检测, 研究亳州市布病流

行状态、病菌种型及分子特征, 为该病的分子溯源和精准防控提供科学依据, 同时运用 BSCP31-PCR 和 AMOS-PCR 验证 16S rRNA 基因序列的有效性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样本来源 2020—2022 年期间所采集的亳州市人民医院门诊部诊断的布病疑似患者以及亳州市从事牛羊养殖等重点人群的 698 份血液样本。血液的采集获得所有研究对象知情同意。

1.1.2 主要试剂 抗原凝集试剂、虎红平板源自安徽省疾病预防控制中心(批号: 201903、202102); 细菌基因组 DNA 提取试剂盒购自北京卓诚惠生生物科技有限公司(批号: T202106184); 哥伦比亚血平板购自北京陆桥技术股份有限公司(批号: 20200302、20200612、20200910、20210218); 双相血培养瓶购自美国 BD 公司(批号: 402508135、954260389); 革兰氏阴性鉴定卡购自法国生物梅里埃公司(批号: 2411325103); PCR 反应体系来自 Promega 生物技术有限公司 GoTaq® Green Master Mix(批号: M7122); 引物源自武汉天一辉远生物科技有限公司。

1.1.3 主要仪器 PCR 扩增仪(美国 MJ Research 公司, 型号: PTC-200); 电泳系统(北京卡尤迪生物

2025-01-10 接收

基金项目: 高校学科(专业)拔尖人才学术资助项目(编号: gxbj ZD2020058); 安徽省重点研发长三角科技合作项目(编号: 2022i01020022); 安徽医科大学科研水平提升计划项目(编号: 2020xkjT003)

作者简介: 康晓东, 男, 硕士研究生;

柳 燕, 女, 博士, 教授, 硕士生导师, 通讯作者, E-mail: yliu16888@163.com

科技有限公司,型号:COYOTE-GelBox-2000);全自动微生物鉴定仪(法国生物梅里埃公司,型号:VITEK2 Compact)。

1.2 方法

1.2.1 血清学检测 依据 WS 269-2019《布鲁菌病诊断》^[6],对采集的血液样本进行处理后,分别开展虎红平板凝集(rose bengal plate agglutination test, RBPT)和试管凝集(tube agglutination test, TAT)两种试验。RBPT 为初筛试验,结果判定标准为:出现肉眼可见的凝集为阳性;SAT 为确证试验,结果判定标准为: SAT 滴度为 1:100⁺⁺及以上,或滴度为 1:50⁺⁺及以上且患者具有临床症状且病程已持续 1 年以上者为阳性。

1.2.2 布鲁菌分离培养及生化检测 于双相血培养瓶中注入 5 ml 阳性患者血液,置于 CO₂ 培养箱中,设置 37 ℃,培养 1~2 周,如固相琼脂有菌生长,挑取菌落接种于哥伦比亚血平板,37 ℃ 培养 48 h,挑取菌落稀释,在微生物鉴定仪上做生化检测。

1.2.3 基因组 DNA 模板制备 将经微生物鉴定仪鉴定为布鲁氏菌的菌落,依据 WS 269-2019《布鲁氏菌病诊断》^[6]中煮沸裂解法及卓诚惠生细菌 DNA 提取试剂盒说明书提取布鲁氏菌基因组 DNA。

1.2.4 BCSP31-PCR 扩增参数为:第一步预变性(94 ℃,4 min);第二步变性(94 ℃,1 min)、退火(58 ℃,1 min)、延伸(72 ℃,1 min),循环 30 次;第三步末循环(72 ℃,5 min)。模板量为 2 μl,共 25 μl 反应体系。BCSP31-PCR 引物:上游引物 B4:5'-TG-GCTCGGTTGCCAATATCAA-3'(位置:789~809);下游引物 B5:5'-CGCGCTTGCCTTTCAGGTCTG-3'(位置:1012~992)。PCR 产物在 1.5% 琼脂糖上电泳后,凝胶成像系统进行观察,以 Marker DL2000 为分子量标准,目的片段大小为 224 bp。

1.2.5 AMOS-PCR 扩增参数为:第一步预变性(94 ℃,4 min);第二步变性(95 ℃,1 min)、退火(60 ℃,1 min)、延伸(72 ℃,1 min),循环 30 次;第三步末循环(72 ℃,5 min)。模板量为 2 μl,共 25 μl 反应体系。AMOS-PCR 引物:IS711(转座因子):5'-TGCCGATCACTTAAGGGCCTTCAT-3';A(Abortus,牛种):5'-GACGAACGGAATTTTCCAATCCC-3';M(Melitensis,羊种):5'-AAATCGCGTCCTTGCTG-GTCTGA-3';O(Ovis,绵阳附睾种):5'-CGGGTTCTG-GCACCATCGTCG-3';S(Suis,猪种):5'-GCGCG-GTTTTCTGAAGGTTTCAGG-3'。扩增 PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,以 Marker DL2000 为分

子量标准,片段大小为 498 bp 可鉴别为牛种 1、2、4 型,片段大小为 731 bp 可鉴别为羊种 1、2、3 型,片段大小为 961 bp 可鉴别为绵羊附睾种,片段大小为 285 bp 可鉴别为猪种 1 型。

1.2.6 16S rRNA-PCR 扩增参数为:第一步预变性(95 ℃,5 min);第二步变性(95 ℃,30 s)、退火(52 ℃,30 s)、延伸(72 ℃,1 min),循环 30 次;第三步末循环(72 ℃,10 min)。模板量为 3 μl,共 50 μl 反应体系。16S rRNA-PCR 引物:上游引物 F:5'-AGTTTGATCCTGGCTCAG-3';下游引物 R:5'-GTATTACCGCGGCTGCTG-3'。PCR 反应产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,以 Marker DL2000 为分子量标准,目的片段大小为 522 bp。

1.2.7 测序分析 16S rRNA 基因 PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,目标位置条带(522 bp)的阳性产物送武汉天一辉远生物科技有限公司进行序列测定。GenBank 数据库下载已报道的布鲁氏菌各型别的代表菌株序列,通过软件 DNA Star(v7.1)进行正反向拼接,聚类比对工具(Clustal W)和分子进化遗传分析软件(molecular evolutionary genetics analysis, MEGA 7.0)进行序列比对分析。

1.3 流行病学数据收集与统计分析

1.3.1 数据收集 本研究的流行病学资料源于亳州市人民医院门诊部诊断的布病疑似患者及亳州市疾控中心对本地区从事牛羊养殖等重点人群进行抽样检查的对象。

1.3.2 统计学处理 采用描述性流行病学方法分别对研究人群的性别、年龄、发病时间、职业、地区分布等差异进行统计分析;采用 WPS Office 2021 和 GraphPad 软件整理数据并绘制图表,运用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 亳州市布病血清学阳性患者基本情况

2.1.1 阳性患者检出时间分布情况 2020—2022 年亳州市血清学检测共检测血液样本 698 份,确诊为阳性者 66 份,阳性检出率为 9.46%,不同年份布病阳性检出率差异无统计学意义($P > 0.05$),不同月份布病阳性检出率差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。全年中除 1 月份外均有阳性患者检出,3~7 月检出患者数最多,占比 56.1%(见图 1)。

2.1.2 布病阳性患者地区分布情况 亳州市不同地区人群布病阳性检出率差异有统计学意义($P <$

0.05), 辖区中阳性患者数最多、阳性检出率最高的均为谯城区, 其次为利辛县。见表 2。

表 1 不同时间阳性患者检出情况 [n(%)]
Tab.1 Identification of positive patients
at various time intervals [n(%)]

Variable	Number of test (n = 698)	Number of positive (n = 66)	Positive rate(%)	χ^2 value	P value
Year					
2020	223(31.95)	19(28.79)	8.52	1.712	0.425
2021	250(35.82)	21(31.82)	8.40		
2022	225(32.23)	26(39.39)	11.56		
Season					
Spring(Mar to May)	63(9.03)	21(31.82)	33.33	127.773	<0.001
Summer(Jun to Aug)	46(6.59)	19(28.79)	41.30		
Autumn(Sept to Nov)	573(82.09)	21(31.82)	3.66		
Winter(Dec to Feb)	16(2.29)	5(7.58)	31.25		

表 2 不同地区阳性患者检出情况 [n(%)]
Tab.2 Identification of positive patients
across various regions [n(%)]

Region	Number of tests (n = 698)	Number of positive patients (n = 66)	Positive rate (%)	χ^2 value	P value
Qiaocheng district	263(37.68)	46(69.70)	17.49	59.176	<0.001
Lixin county	72(10.32)	12(18.18)	16.67		
Guoyang county	156(22.35)	7(10.61)	4.49		
Mengcheng county	138(19.77)	1(1.52)	0.72		
Outside the jurisdiction	69(9.89)	0	0		

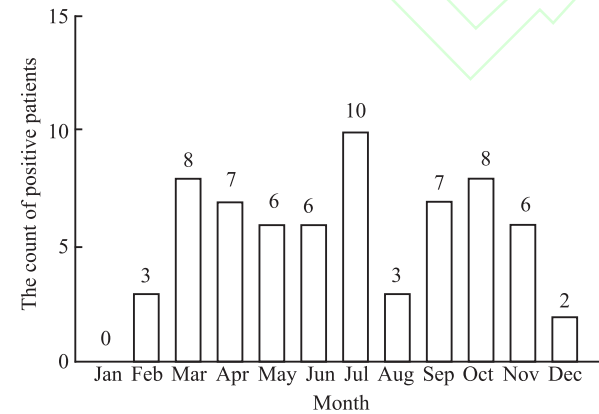


图 1 不同月份阳性患者数量

Fig.1 The count of positive patients across various months

2.1.3 布病阳性患者职业分布情况 从阳性患者数量上观察, 从事饲养工作人数最多, 其次是从事屠宰的人员。从阳性检出率方面观察, 以从事屠宰的人员检出率最高, 其次为农民。不同职业人群布病阳性检出率差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

2.1.4 布病阳性患者年龄与性别分布情况 患者最小年龄 11 岁, 最大年龄 72 岁, 51 ~ 60 岁之间阳性患者数量最多。不同性别和不同年龄组人群的阳性检出率差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4、图 2。

表 3 不同职业阳性患者检出情况 [n(%)]
Tab.3 The identification of positive patients across
various occupational groups [n(%)]

Occupation	Number of tests (n = 698)	Number of positive patients (n = 66)	Positive rate (%)	χ^2 value	P value
Sheep breeder	392(56.16)	43(65.15)	10.97	49.929	<0.001
Slaughter of sheep	20(2.87)	8(12.12)	40.00		
Farmer	20(2.87)	6(9.09)	30.00		
Veterinarians and mut- ton mongers	23(3.30)	4(6.06)	17.39		
Other	243(34.81)	5(7.58)	2.06		

表 4 不同年龄和性别阳性患者检出情况 [n(%)]
Tab.4 Identification of positive patients categorized
by age and sex [n(%)]

Variable	Number of tests (n = 698)	Number of positive patients (n = 66)	Positive rate (%)	χ^2 value	P value
Age				6.394	0.172
<30 years	78(11.17)	6(9.09)	7.69		
31 ~ 40 years	105(15.04)	13(19.70)	12.38		
41 ~ 50 years	175(25.07)	9(13.64)	5.14		
51 ~ 60 years	239(34.24)	26(39.39)	10.88		
>60 years	101(14.47)	12(18.18)	11.88		
Gender				1.102	0.294
Male	512(73.35)	52(78.79)	10.16		
Female	186(26.65)	14(21.21)	7.53		

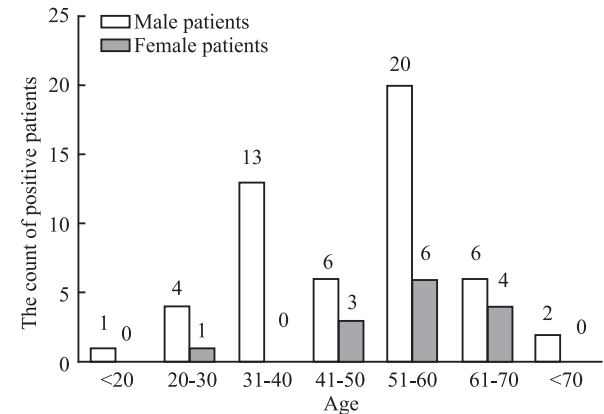


图 2 各年龄组不同性别阳性患者数量

Fig.2 Demographic distribution of positive patients
stratified by sex across distinct age group

2.2 培养及鉴定结果 通过对 66 名阳性患者的随访,成功采集了其中 33 人的血液样本,置于双相血培养瓶 37 ℃ 培养 1~2 周,有 10 份血样本显示有菌生长,参与菌种鉴定的 10 名患者中,7 人来自谯城区、2 人来自涡阳县、1 人来自利辛县。其中 7 人从事养殖工作,2 人从事宰羊和处理羊肠衣,1 人卖羊肉。男性 9 人,女性 1 人。其中 3 人年龄在 25~38 岁之间,另外 7 人年龄在 40~56 岁之间。经微生物鉴定仪鉴定脯氨酸芳胺酶 (proline arylamidase, Pro-A)、氨基乙酸芳胺酶 (glycine arylamidase, GlyA)、酪氨酸芳胺酶 (tyrosine arylamidase, TyrA) 及尿素酶 (urease, URE) 均阳性,说明均为羊种布鲁杆菌。

2.3 BSCP31-PCR 扩增结果 10 株布鲁氏菌分离菌株 BSCP31-PCR 扩增产物经 GelBox-200 系统电泳、成像,以 DL2000DNA Ladder 为分子量标准,均在 223 bp 位置出现特异性条带 (图 3),判断为目的的扩增片段。

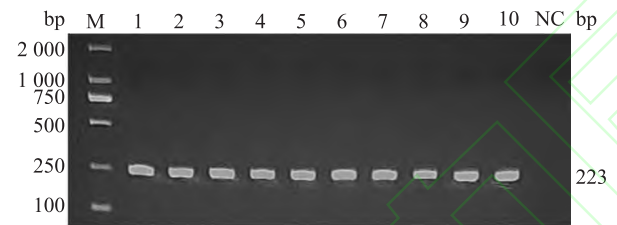


图 3 10 株布鲁氏菌菌株 BSCP31-PCR 扩增结果
Fig. 3 Outcomes of BSCP31-PCR amplification for ten *Brucella* strains

M: Marker; 1~10: Outcomes of BSCP31-PCR amplification for ten *Brucella* strains; NC: Negative control group

2.4 AMOS-PCR 扩增结果 10 株布鲁氏菌分离菌株 AMOS-PCR 扩增产物经 GelBox-200 系统电泳、成像,以 DL2000DNA Ladder 为分子量标准,均在 731 bp 位置出现特异性条带 (图 4),该结果证明,本次分离的 10 株布鲁氏菌均为羊种布鲁氏菌。

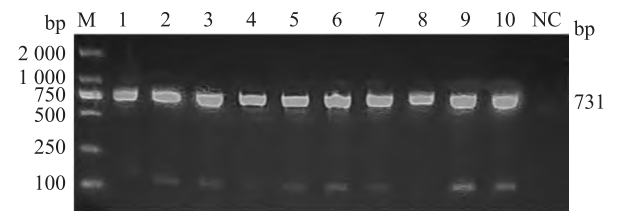


图 4 10 株布鲁氏菌菌株 AMOS-PCR 扩增结果
Fig. 4 Outcomes of AMOS-PCR amplification of ten *Brucella* strains

M: Marker; 1~10: Outcomes of AMOS-PCR amplification for ten *Brucella* strains; NC: Negative control group

2.5 16S rRNA-PCR 扩增结果 10 株布鲁氏菌分离菌株 16S rRNA-PCR 扩增产物经 GelBox-200 系统电泳、成像,以 DL2000DNA Ladder 为分子量标准,均在 522 bp 位置出现特异性条带 (见图 5),说明目的片段得到有效扩增,且位置正确,条带清晰,适合测序。

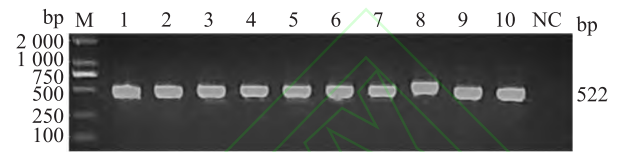


图 5 10 株布鲁氏菌菌株 16S rRNA-PCR 扩增结果
Fig. 5 Outcomes of 16S rRNA-PCR amplification of ten *Brucella* strains

M: Marker; 1~10: Outcomes of 16S rRNA-PCR amplification for ten *Brucella* strains; NC: Negative control group

2.6 序列检测分析 16S rRNA-PCR 扩增阳性产物送武汉天一辉远生物科技有限公司进行测序,测序结果通过 DNA Star 软件进行正反向拼接,Clustal W 和 MEGA 7 进行序列分析。与 GenBank 数据库下载的已报道的羊种布鲁氏菌 ZHU 株 (CP069385.1) B29 株 (CP035794.1) RM57 株 (CP044343.1) VB12455 株 (CP044986.1) 以及牛种布鲁氏菌 clpP 株 (CP044339.1) 猪种布鲁氏菌 2011017258 株 (CP017012.1) 犬种布鲁氏菌 2009004498 株 (CP016973.1) 黑龙江立克次体 054 株 (AF178037) 的 16S rRNA 基因序列进行比对,结果显示安徽省亳州市 10 株布鲁氏菌分离菌株均与羊种布鲁氏菌亲缘关系较近,进化树显示在同一分枝上 (见图 6)。

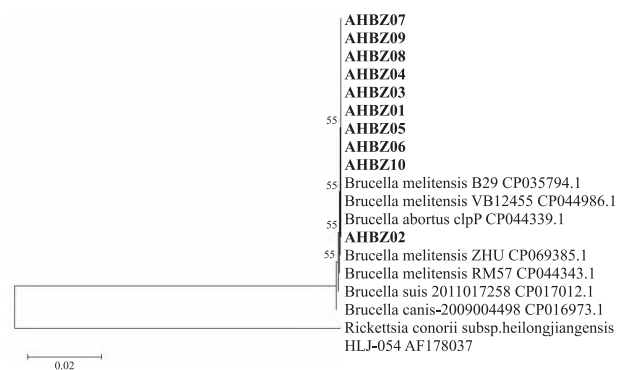


图 6 10 株布鲁氏菌菌株 16S rRNA 基因序列系统进化分析
Fig. 6 Phylogenetic analysis of 16S rRNA gene sequences from ten *Brucella* strains

AHBZ01-AHBZ10: Ten *Brucella* strains were isolated in this study; Phylogenetic trees were constructed utilizing the neighbor-joining method, accompanied by bootstrap resampling conducted 3 000 times.

3 讨论

布病的发生和传播不仅与气候、地理环境等自然环境因素联系紧密,而且与经济、文化、宗教、贸易等社会经济因素密切相关^[7-9]。安徽省亳州地区拥有养殖羊牛等牲畜的传统,布病散发病例不断出现。采用血清学检测仅能检测到阳性患者,病菌溯源追踪则受到局限,目前国内运用 16S rRNA 基因测序对布鲁氏菌的研究并不多见^[4-5]。本研究在血清学检测的基础上,进一步运用 16S rRNA 基因测序技术开展对亳州市布病的分子溯源分析,以及时掌握布鲁氏菌的菌型分布及感染风险。

本研究发现亳州市与附近的确山县、徐州市、平顶山市相比,布病的阳性患者人数相对较少^[10-12],除去发病率低的原因外,也可能是因为本地区的布病监测点只设在市本级主城区,造成地理位置偏远的县区患者选择就近去医疗水平较高的其他地市就医,因此部分患者未能纳入本次分析;还有可能是本地区医疗机构可能存在漏诊或误诊^[13]及患者对布病认知不足没有及时就医等情况。亳州市地处淮河以北,属于温带季风气候,冬季气候较为寒冷,布病发病多集中于 3~7 月份,此结论与确山县^[10]、平顶山市^[12]的研究结果一致。亳州市辖区内谯城区和利辛县两地的患者数及检出率明显高于其他地区,原因可能是这两地从事牛羊养殖、屠宰加工、贩卖的散户较多,工作时有徒手接触牲畜分娩过程中产生的分泌物及污染物等高风险行为,增加了布病感染的概率^[14-15]。本研究中患病者多数从事养殖工作,这与徐州市、确山县、平顶山市研究结果一致^[10-12],但研究中发现阳性检出率最高的职业是从事活羊屠宰的人员,其次是养羊的农民,推断从事活羊屠宰者可能更容易被病菌感染,提示防控部门应加强对从事活羊屠宰者的监测。

本研究测序结果显示羊种布鲁菌在本地区传播中处于优势地位,与韩腾伟、谢群等人^[4-5]研究结果一致。流行病学调查资料显示,10 名参与菌种鉴定患者均为亳州市本地居民,均从事羊的养殖、屠宰及售卖工作,鉴于菌株的进化树显示在同一分枝上,推断该菌应为在本地区养殖的牲畜中传播的羊种布鲁氏菌,提示防控部门应继续加强对本地区羊养殖群体的关注。

由于 VITEK2 微生物自动鉴定仪检测布鲁氏菌易出现误鉴定并存在种属鉴定的局限性^[16],本研究仅将其鉴定结果用于纯化菌株,以提高基因组 DNA

提取的准确性。16S rRNA-PCR 操作过程易受污染,影响结果准确性,本研究同时采用 BCSP31-PCR 与 AMOS-PCR 做比对试验,验证了 16S rRNA 方法进行分子溯源分析的有效性。

针对本研究结果,亳州市今后布病防控应重点关注散养牲畜的农户和从事宰羊、售卖羊肉的个体商户,在每年开展重点人群监测时针对性开展健康教育,发病高峰期前发布防病警示,以提高重点人群自我防护能力;引导养殖户重点选用羊种布鲁菌疫苗对牲畜接种;加强对牲畜的来源、销售去向的管控,防范染疫动物向本地输入。

本研究的不足之处在于分离的菌株量少,仅能初步分析亳州市布病主要流行区域的分子遗传特征,试验方法中采用煮沸法提取 DNA 模板可能降低检测结果的阳性率,以及 16S rRNA-PCR 扩增产物较短,可能影响结果的准确性等,以上问题将在后续研究中进一步解决。

参考文献

- [1] Liu B, Liu G, Ma X, et al. Epidemiology, clinical manifestations, and laboratory findings of 1,590 human brucellosis cases in Ningxia, China[J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1259479. doi: 10.3389/fmicb.2023.1259479.
- [2] Yu X, Fang M, Li Y, et al. Epidemiological characteristics and spatio-temporal analysis of brucellosis in Shandong province, 2015–2021[J]. *BMC Infect Dis*, 2023, 23(1): 669. doi: 10.1186/s12879-023-08503-6.
- [3] Sun Z X, Wang Y, Li Y J, et al. Socioeconomic, meteorological factors and spatiotemporal distribution of human brucellosis in China between 2004 and 2019—a study based on spatial panel model[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2023, 17(11): e0011765. doi: 10.1371/journal.pntd.0011765.
- [4] 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): 1001–7. doi: 10.13350/j.cjpb.210903.
- [4] Han T W, Lin D H, Chen Z P, et al. Species identification and analysis of the molecular characteristics of *Brucella* strains isolated from humans in Fujian, China in 2018–2019[J]. *J Pathog Biol*, 2021, 16(9): 1001–7. doi: 10.13350/j.cjpb.210903.
- [5] 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): 463–7. doi: 10.12138/j.issn.1671-9638.20233719.
- [5] Xie Q, Hu L, Yuan H X, et al. Epidemiological characteristics and species identification of isolated strains of human brucellosis in Chenzhou city in 2021[J]. *Chin J Infect Contr*, 2023, 22(4): 463–7. doi: 10.12138/j.issn.1671-9638.20233719.
- [6] 中华人民共和国卫生部. 布鲁氏菌病诊断标准[S]. 中华人民

- 共和国卫生部国家卫生行业标准 WS 269 – 2019, 2019.
- [6] Ministry of Health of the People's Republic of China. Diagnostic criteria for brucellosis [S]. National Health Industry Standard of the Ministry of Health of the People's Republic of China WS 269 – 2019, 2019.
- [7] Al J R. Scenario of pathogenesis and socioeconomic burden of human brucellosis in Saudi Arabia[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2021, 28 (1): 272 – 9. doi: 10.1016/j.sjbs.2020.09.059.
- [8] Chen H, Lin M X, Wang L P, et al. Driving role of climatic and socioenvironmental factors on human brucellosis in China: machine-learning-based predictive analyses[J]. *Infect Dis Poverty*, 2023, 12(1): 36. doi: 10.1186/s40249 – 023 – 01087 – y.
- [9] Zhang N, Fang X Y, Zhou W Z, et al. Epidemiological characteristics and temporal-spatial clustering analysis on human brucellosis in Jiangsu Province, 2006 – 2021[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 20024. doi: 10.1038/s41598 – 023 – 46690 – z.
- [10] 王永生. 河南省确山县疑似布鲁氏菌病患者血清抗体检测结果分析[J]. *疾病预防控制通报*, 2024, 39(1): 49 – 51, 56. doi: 10.13215/j.cnki.jbyfkztb.2306025.
- [10] Wang Y S. Analysis of detection results of serum antibody from suspected brucellosis patients in Queshan county, Henan province [J]. *Bull Dis Contr Prev China*, 2024, 39(1): 49 – 51, 56. doi: 10.13215/j.cnki.jbyfkztb.2306025.
- [11] 高 雪, 余峰玲, 祝雯雯, 等. 2774 例布鲁氏菌病疑似病例的血清学监测分析[J]. *中国校医*, 2021, 35(5): 337 – 40.
- [11] Gao X, Yu F L, Zhu W W, et al. Serological surveillance of 2774 suspected cases of brucellosis[J]. *Chin J Sch Dr*, 2021, 35(5): 337 – 40.
- [12] 张育英, 郭建沂, 丁江伟. 2020—2022 年平顶山市布鲁菌病血清学检测分析[J]. *中国地方病防治*, 2023, 38(3): 218 – 20.
- [12] Zhang Y Y, Guo J Y, Ding J W. Serological detection and analysis of brucellosis in Pingdingshan city from 2020 to 2022[J]. *Chin J Contr Endem Dis*, 2023, 38(3): 218 – 20.
- [13] Qin S, Lv D, Duan R, et al. Case report: a case of brucellosis misdiagnosed as coronavirus disease 2019/influenza in China[J]. *Front Public Health*, 2023, 11: 1186800. doi: 10.3389/fpubh.2023.1186800.
- [14] Shi C, Wang L, Lv D, et al. Epidemiological, clinical and laboratory characteristics of patients with *Brucella* infection in Anhui province, China[J]. *Infect Drug Resist*, 2021, 14: 2741 – 52. doi: 10.2147/IDR.S319595.
- [15] 刘胜萍. 一起布鲁菌病暴发疫情的调查分析[J]. *安徽医科大学学报*, 2011, 46(7): 705 – 6. doi: 10.3969/j.issn.1000 – 1492.2011.07.026.
- [15] Liu S P. Investigation and analysis of an outbreak of brucellosis [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2011, 46(7): 705 – 6. doi: 10.3969/j.issn.1000 – 1492.2011.07.026.
- [16] 梅小燕, 黄 静, 温小云. VITEK2 Compact 微生物自动鉴定仪对布鲁氏菌误鉴定的原因及局限性[J]. *医学食疗与健康*, 2021, 19(19): 205 – 6.
- [16] Mei X Y, Huang J, Wen X Y. Causes and limitations of misidentification of *Brucella abortus* by the VITEK2 compact automated microbiological identifier[J]. *Med Diet Health*, 2021, 19(19): 205 – 6.

Epidemiological surveillance and molecular profiling of brucellosis in Bozhou city, Anhui province

Kang Xiaodong^{1,2}, Wang Jun³, Qian Shusheng², Wang Xiangying², Tang Yunfei²,
Huai Xuefei², Jiang Dongdong², Liu Zhengxiang², Liu Yan¹

(¹*Dept of Microbiology, Anhui Medical University, Hefei 230032*; ²*Laboratory of Microbiology, Bozhou Center for Disease Control and Prevention, Bozhou 236800*; ³*Laboratory of Microbiology, Anhui Center for Disease Control and Prevention, Hefei 230601*)

Abstract Objective To illuminate the distribution of brucellosis patients and the epidemic typologies as well as the genetic attributes of brucellosis in Bozhou City, Anhui Province, thereby furnishing a substantive foundation for formulating efficacious prevention and control strategies for this disease within the region. **Methods** The rose bengal plate agglutination test (RBPT) and the tube agglutination test (TAT) were conducted on a total of 698 blood samples that had been collected. Epidemiological data of the tested subjects were meticulously collected, followed by statistical analyses of the obtained results. The genomic DNA of positive bacterial strains was cultured and extracted. Molecular identification and typing of the isolated strains were executed through 16S rRNA sequencing. Sequence alignment was conducted employing Clustal W and MEGA 7, with comparisons made against the outcomes of AMOS-PCR and BCSP31-PCR. **Results** A total of 66 positive samples were detected through serological assays, with a positive rate of 9.46%. The demographic cohort demonstrating the highest detection rate primarily comprised individuals engaged in live sheep slaughtering. The 16S rRNA gene sequencing on ten positive strains disclosed

◇ 综 述 ◇

δ 阿片受体激动剂在疾病治疗中的新进展

郭方豪¹, 张乐莎²(安徽医科大学¹ 第一临床医学院、² 基础医学院生理学教研室, 合肥 230032)

摘要 阿片类药物是临床上常用药物, 主要作用于分布在中枢、外周神经元等处的不同亚型的阿片受体, 是治疗急性疼痛或癌痛的首选药物。δ 阿片受体(DOR)激动剂是一种以 δ 受体为目标受体的阿片类药物, 近年来因其对心脏、脑、肝脏等多器官的缺血/再灌注损伤改善作用及治疗精神和神经类疾病的潜力, 得到广泛关注。该文就 DOR 激动剂在多种疾病治疗中的机制研究进行综述, 并对其临床应用前景进行展望, 发现 DOR 激动剂对器官抗缺血/再灌注损伤的作用可能通过减少凋亡和线粒体损伤, 激活多种信号通路来实现; 此类药物亦表现出抗炎、抗抑郁和治疗神经退行性疾病的作用, 为 DOR 激动剂应用于相关疾病治疗提供新的视角。

关键词 DOR 激动剂; 缺血再灌注损伤; 心肌梗死; 脓毒症; 帕金森病; 抑郁症

中图分类号 R 971

文献标志码 A

阿片类药物已可以安全有效地应用于急性疼痛和癌痛的治疗^[1], 目前许多研究正显示出它在其他疾病治疗中的潜力^[2]。阿片类药物分为天然阿片类药物、半合成和合成阿片类药物^[3]。阿片类药物主要作用于三种阿片受体亚型, 即 μ、κ 和 δ 受体, 它们广泛分布于中枢和外周神经元^[4]。广为人知

的 μ 阿片受体激动剂, 如吗啡及其衍生物、芬太尼等已在临床用于镇痛^[5]。而近期的大量研究^[6]显示, δ 阿片受体(delta opioid receptor, DOR)激动剂在抗缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤和改善负面情绪方面有良好作用, 这引起了学者们的广泛关注。I/R 损伤发生在急性心肌梗死和缺血性脑卒中等严重疾病的发生发展过程中, 导致氧化应激、炎症等多种损害^[7]。寻找缓解 I/R 损伤的治疗药物是当务之急。近年来, 已有研究^[8]报道人工合成的 δ 阿片肽(D-丙 2, D-亮 5) - 脑啡肽([D-Ala², D-Leu⁵]-enkephalin, DADLE)具有抗 I/R 损伤的组织保护作用。另外, 研究^[9-11]报道 SNC80、KNT-127、

2025-02-12 接收

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(编号: 81903590); 安徽省高等学校科学研究项目重点项目(编号: 2023AH050639)

作者简介: 郭方豪, 男, 本科生

张乐莎, 女, 副教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: zhanglesha@ahmu.edu.cn

close phylogenetic affinities with *Brucella melitensis*. Moreover, the phylogenetic tree analysis indicated that these strains coalesced within the same branch, the findings were in alignment with the results obtained from BCSP31-PCR and AMOS-PCR assays. **Conclusion** *Brucella melitensis* assumes a predominant position in the transmission dynamics within this area, identifying individuals involved in sheep breeding, slaughtering, vending, and related occupations as high-risk groups. The outcomes of this study offer molecular biological substantiation for the distribution of brucellosis patients in this region, contribute to genotyping endeavors and tracing studies associated with the pathogen, and concurrently verify the efficacy of 16S rRNA molecular tracing.

Key words Brucellosis; pathogen surveillance; BCSP31-PCR; AMOS-PCR; 16S rRNA; *Brucella melitensis*

Fund programs Academic Funding Program for Top Talents in Colleges and Universities (No. gxbjZD2020058); Key Research and Development Program of Anhui Province for Yangtze River Delta Science and Technology Cooperation (No. 2022i01020022); Anhui Medical University Research Level Enhancement Plan (No. 2020xkjT003)

Corresponding author Liu Yan, E-mail: yliu16888@163.com