

我国布鲁氏菌病诊断方法应用及思考

刘佳音^{1,2} 姜海¹

¹中国疾病预防控制中心传染病预防控制所, 传染病预防控制国家重点实验室, 感染性疾病协同诊治协同创新中心, 北京 102206; ²包头医学院公共卫生学院 014040

通信作者: 姜海, Email: jianghai@icdc.cn

【摘要】 布鲁氏菌病是一个全球的公共卫生问题, 其诊断方法的研究仍然是热点领域之一。本文将对中国、美国 and WHO 布鲁氏菌病诊断标准进行比较。对我国目前布鲁氏菌病的主要检测方法及现阶段分子生物学检测进展进行阐述, 并对各种诊断方法的特点进行比较。虽然我国已经建立了较完整的诊断体系, 但是到目前为止仍没有一种既简单又快速, 且灵敏度和特异度都很高的检测方法, 这需要进行进一步研究, 为以后完善我国布鲁氏菌病诊断标准提供科学依据。

【关键词】 布鲁氏菌病; 诊断标准

基金项目: 国家科技重大专项 (2018ZX10712-001)

Application and thinking of diagnostic methods of brucellosis in China

Liu Jiayin^{1,2}, Jiang Hai¹

¹ State Key Laboratory for Infections Disease Prevention Control, Collaborative Innovation Center for Diagnosis and Treatment of Infectious Disease, National Institute for Communicable Disease Prevention and Control, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China; ² School of Public Health, Baotou Medical College, Baotou 014040, China

Corresponding author: Jiang Hai, Email: jianghai@icdc.cn

【Abstract】 Brucellosis is a global public health problem, and the research on its diagnostic methods is still one of the hot fields. This article compares the diagnostic criteria of brucellosis of China, the United States and World Health Organization. The main detection methods of brucellosis in China and the current progress of molecular biological detection are described, and the characteristics of different diagnostic methods are compared. Although a relatively complete diagnostic system has been established in China, up to now, there is still no simple and rapid detection method with high sensitivity and specificity, indicating that further studies are needed to provide scientific evidence for the improvement of the diagnosis criteria of brucellosis in China.

【Key words】 Brucellosis; Diagnostic criteria

Fund program: National Science and Technology Major Project of China (2018ZX10712-001)

布鲁氏菌病(布病)是世界上流行最广泛的人兽共患病之一, 但却因为其不典型的临床症状成为了最容易被忽视的 7 种疾病之一^[1-2]。目前已经有 12 种布鲁氏菌被报道, 其中引起人类感染的最常见的布鲁氏菌包括羊种、牛种和猪种, 其中羊种布鲁氏菌毒力最强^[2]。据报道, 叙利亚为发病率最高的国家, 其次为蒙古国、伊拉克等^[2]。在 2005-2016 年的布病病原检测数据显示, 羊种布鲁氏菌占到 74%, 为我国的优势菌种^[3]。在一些皮毛加工厂(剥牛皮、羊

皮)、肉类加工厂、屠宰厂等布鲁氏菌可以经过受损的皮肤和黏膜进入人体引发感染; 食用未经高温彻底消毒的肉制品和奶制品后, 布鲁氏菌可以经过消化道进入人体而引发疾病^[1-2, 4]。目前全世界 170 多个国家和地区存在布病的流行, 虽然每年新报告人间患者约为 50 万例, 但实际的发病率却比报道的高 15~25 倍, 每年造成的经济损失高达 30 亿美元^[5]。我国是畜牧业大国, 主要分布在内蒙古自治区、西藏自治区、青海省等北方地区, 多以牛羊为主。随着畜牧业

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200516-00734

收稿日期 2020-05-16 本文编辑 万玉立

引用本文: 刘佳音, 姜海. 我国布鲁氏菌病诊断方法应用及思考[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(1): 160-163. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200516-00734.



的迅速发展,我国牲畜饲养量逐渐增加,畜牧产品的流通速度加快,使布病扩散速度增快,流行范围也不断扩大,成为我国重要的公共卫生问题之一。近年来,布病的诊断已成为热点领域。尤其在低收入国家,寻找一种既快速又准确的诊断方法,这不仅是临床上正确诊断的前提,也是控制布病流行的有力证据^[6]。本文对中国、美国 and WHO 布病诊断标准进行比较。对我国目前布病的主要检测方法及现阶段分子生物学检测进展进行阐述,并对各种诊断方法的特点进行比较。

一、中国、美国 and WHO 布病患者定义与分类的比较

WHO、美国 CDC 和中国 CDC 分别制定的布病诊断标准,从患者定义、分组、诊断方法试管凝集试验(SAT)的最低抗体滴度等方面存在差异。关于 SAT 最低抗体滴度方面,中国将抗体滴度定为 1:100,WHO 和美国 CDC 将抗体滴度定为 1:160^[6]。根据 WHO 的标准又结合我国的实际情况,在实验室初筛中加入了胶体金免疫层析试验(GICA)、ELISA 以及布鲁氏菌培养物涂片革兰染色,在实验室确诊中加入了补体结合试验^[7]。美国 CDC 诊断标准中包含了

PCR 方法,但 WHO 并未将其纳入诊断标准中。PCR 方法对于实验人员、场所要求和价格方面均高于其他检测方法,这也是我国和其他发展中国家目前未将其纳入诊断标准的原因之一。本文希望通过 WHO、美国 CDC 和中国 CDC 的布病患者定义与分类的比较(表 1)和多种检测方法特点的对比(表 2),发现国内外布病诊断标准中的差异,为新修订的诊断标准提供补充依据。

二、布病检测方法的应用

布鲁氏菌的分离培养一直是布病实验室诊断感染的金标准,但是由于实验时间长,生物安全风险高,不适合普遍使用。目前我国使用最广泛的血清学检测方法为虎红平板凝集试验(RBT)和 SAT。随着对布病诊断技术研究的深入,许多改良的传统检测方法和新方法不断出现。例如微量凝集试验(MAT)就是在试管凝集试验的基础上改进的一种抗体检测方法,它具有微量、简便且同时可以检测多个样品的能力,可以满足在布病流行地区进行筛查的目的^[17]。还有免疫捕获凝集技术(Brucellacapt)、荧光偏振试验(FPA)、间接酶联免疫吸附试验(iELISA)等新技术逐渐被开发利用。

表 1 中国、美国 and WHO 布病患者定义与分类比较^[6-8]

患者分类	中国	美国	WHO
疑似患者	流行病学史+发热、多汗、肌肉和关节疼痛乏力、肝、脾、淋巴结肿大等临床表现	流行病学史+发热、头痛、虚汗、寒战、关节痛、体重减轻、全身酸痛、抑郁等临床表现+试管凝集试验或微量凝集试验滴度≥1:160 或 PCR 从临床样本中检测到布鲁氏菌 DNA	流行病学史+发热、大量出汗、疲劳、厌食、体重减轻、头痛、关节痛和全身酸痛等临床表现
临床诊断患者	符合疑似患者条件+实验室初筛:①虎红平板凝集试验阳性;②胶体金免疫层析试验阳性;③ELISA 阳性;④布鲁氏菌培养物涂片革兰染色检出疑似布鲁氏菌	有明确的流行病学史或符合实验室假定患者条件、无实验室确定诊断证据	符合疑似患者条件+实验室推测诊断:①虎红平板凝集试验阳性;②试管凝集试验阳性
确诊患者	符合疑似患者条件或临床诊断患者条件+实验室确诊:①从患者血液、骨髓、其他体液及排泄物等任一种病理材料培养物中分离到布鲁氏菌;②试管凝集试验滴度为 1:100++ 及以上,或者患者病程持续一年以上且仍有临床症状者滴度为 1:50++ 及以上;③补体结合试验滴度为 1:10++ 及以上;④抗人免疫球蛋白试验滴度为 1:400++ 及以上	临床标本培养和鉴定为布鲁氏菌或急性期和恢复期间隔≥2 周时间采集的血清标本布鲁氏菌抗体滴度升高≥4 倍	符合疑似患者条件+实验室确诊:①从血液或者其他临床标本中分离到布鲁氏菌;②基于虎红平板凝集试验和试管凝集试验检测到的凝集抗体与抗体结合的推定经 ELISA 和抗人免疫球蛋白试验阳性

表 2 布病血清学检测和细菌培养方法的比较^[4,9-16]

方法	适用范围	灵敏度	特异度	对检测人员及实验场所的要求	是否适用于大规模检测	操作难易
布鲁氏菌的分离培养	布病诊断金标准	低	高	高	否	复杂
试管凝集试验	用于确诊	一般	高	高	否	较复杂
半胱氨酸凝集试验	鉴别人工免疫和自然免疫	一般	高	高	否	较复杂
虎红平板凝集试验	布病检测初筛	高	较低	低	是	简便
酶联免疫吸附试验	布病检测初筛和检测布病患者标本中 IgG、IgM 和 IgA 抗体	较高	较高	高	是	简便
荧光偏振试验	用于动物布病普查,近几年作为诊断人类布病的快速检测方法	较高	较高	低	是	简便
抗人免疫球蛋白试验	用于布病确诊和检测慢性布病中的非凝集类抗体 IgG	一般	高	高	否	复杂
补体结合试验	用于确诊	低	高	高	否	复杂
胶体金免疫层析试验	布病检测初筛	较高	较高	低	是	简便

这些试验不仅时间短、操作简便,准确率也比传统试验好。最常用的分子生物学方法为 PCR 和环介导等温扩增试验(LAMP)等。其中 PCR 在诊断布病和布鲁氏菌鉴定方面有较大的优势。LAMP 是近几年新兴的一个试验方法,具有快速、灵敏的特点,对实验器材、场所、人员要求均不高,是近几年研究的热点。

1. 布病各检测方法特点的比较:免疫学检测方法虽然是我国的常用方法,但如果抗体未产生或者其滴度没有达到诊断标准,例如当布病患者从急性期转为慢性期或反复发作期,体内的布鲁氏菌会从吞噬细胞中慢慢转入靶器官中,血清中的布鲁氏菌减少,如果此时只用血清学检测可能会导致漏诊。若错过了最佳的确诊与治疗时机,疾病就会转为慢性期,最后导致迁延不愈^[16,18]。这也是许多临床症状疑似但血清学检测阴性的原因之一。所以对于临床症状疑似血清学检测却是阴性的患者应与细菌学检测联用以减少漏诊^[18]。RBT 一开始是用于动物布病筛查,后因其高度的灵敏性被用于人类布病的初筛中。但它的特异度较低,因此出现阳性的患者要再次经过 SAT 检测才可以被确诊,所以在检测过程中 RBT 一般会与 SAT 联用。WHO 发行的布病诊断标准中,如果要确诊经 RBT、SAT 检测的布病患者,还应采用灵敏度和特异度更高的 ELISA 和 Coomb's 检测阳性方可确诊。虽然 SAT 是我国实验室使用最广泛的试验,也是用于布病确诊的试验,但因其操作复杂,血清用量大,在现场检测中会受到限制。朱明东等^[19]应用了 GICA、斑点金免疫渗滤法和 SAT 3 种方法,对不同布病流行地区的人群的阳性率进行了比较,结果发现 3 种检测方法差异无统计学意义而在不同流行地区 GICA 检测结果阳性率差异有统计学意义,且 GICA 与 SAT 对于重疫区和非疫区人群的阳性符合率与阴性符合率均在 94% 以上。基于 GICA 相对于 SAT 检测方法简便、血清用量少、灵敏度、特异度高等特点,在布病流行地区有极高的应用前景。

2. 布病分子生物学检测的进展:布病诊断的金标准是从患者血液、骨髓或其他体液及排泄物等任意一种材料培养物中分离得到布鲁氏菌,但是这个过程需要在生物安全二级或三级实验室中完成。由于布病血清学检测存在空窗期,存在漏诊现象,所以分子生物学技术的发展正好填补了这个空白。

(1)PCR:陈俊杰等^[20]应用 PCR 技术对 82 份试管凝集滴度 $<1:100$ 且布病相应症状未持续一年患者的外周血淋巴细胞中 DNA 进行检测,结果显示全血淋巴细胞布鲁氏菌核酸检测阳性为 50 份,血清布鲁氏菌核酸检测阳性为 15 份。在与血清学检测结果的比较中发现 SAT 阴性组布鲁氏菌核酸 DNA 检测率最高为 73.1%,这个结果证明全血外周血淋巴细胞核酸布鲁氏菌 DNA 可以作为血清学检测阴性患者的补充试验。

(2)LAMP:在 2000 年 Notomi 等^[21]研发了 LAMP,该方法比普通的 PCR 技术灵敏度和特异度更高,而且操作简便,对于布病临床诊断和布病的病原学诊断具有非常实用的价

值。谢文萍等^[22]发现布鲁氏菌 LAMP 实时浊度法和实时荧光定量法的灵敏度均高于普通 PCR,最低检测样品浓度为 436 fg/ μ l,而普通 PCR 灵敏度的检测最低限为 4.36 pg/ μ g。LAMP 实时浊度法和实时荧光法虽然能直接、准确地判断结果,但是需要特定的仪器设备,费用很高。

(3)核酸恒温扩增-免疫层析技术:张慧慧等^[23]对 29 例就诊患者进行全血与血清核酸提取,将布鲁氏菌核酸样本应用核酸恒温扩增-免疫层析技术进行检测。全血核酸的扩增阳性率为 55.2%,血清核酸的扩增率为 23.1%,两者差异有统计学意义。在对 93 例首次就诊的急性早期布病患者核酸恒温检测法与 SAT 检测法的符合率分析发现两个试验的符合率为 63.4%。实验结果表明核酸恒温扩增-免疫层析技术对急性早期的布病患者具有较高的临床应用价值,全血的核酸扩增率远高于血清的核酸扩增率。此技术不需要变性过程只需要恒温扩增后经过 15 min 便可肉眼观察检测结果,简便快捷且特异度高,是一类适用于基层诊断的实验。

(4) microRNA (miRNA) 的应用:miRNA 是一类约为 22 个核苷酸大小的非编码单链 RNA,它因为在肿瘤中的重要作用被人们所熟知。miRNA 表达的改变与很多疾病相关,参与病原体感染中宿主的固有免疫和获得性免疫应答过程^[24]。在郑源强等^[24]对布病患者与健康志愿者血清中与固有免疫相关的 14 种 miRNA 表达情况的研究中发现,与健康志愿者相比布病患者血清中 14 种 miRNA 中有 13 种下调,5 种 miRNA 表达明显降低,分别为 miR-122、miR-145a、miR-155、miR-301a、miR-164a。Zhang 等^[25]对 73 例布病患者与 65 例对照组血清样本中 miRNA 浓度差异性表达进行研究,结果有 3 个明显上调,后经 qRT-PCR 检验布病患者与对照组比较 miR-103b 上调最明显,且差异有统计学意义,ROC 曲线下面积为 0.741。虽然现在对于细菌感染后血清中 miRNA 表达的研究较少,但是在以上研究中可以看出布鲁氏菌感染后血清中 miRNA 的表达会发生变化,5 种明显下调与 1 种明显上调的 miRNA 具有潜在的研究价值,在以后的研究中有可能作为布病的辅助诊断标准。

三、总结

我国最新版《布鲁氏菌病诊断》(WS/T 269-2019)与 2007 版相比删除了实验室初筛中的平板凝集实验和皮肤过敏试验,增加了 GICA、ELISA 和布鲁氏菌培养物涂片革兰染色这 3 个试验。并将布鲁氏菌的核酸检测加入了新诊断标准中^[7,26]。MAT 试验作为美国 CDC 布病诊断标准中的实验在中国也有所研究,其具有的微量、简便、同时可以检测多个样品的能力是它独有的优点^[9]。但应该进行多中心大样本的试验评价,使其早日写入诊断标准中。此外,诊断标准中还应增加各期布病患者最佳的诊断方法及其辅助方法,如检测疑似患者时 Brucellacapt 与 iELISA 这两种方法联用会减少漏诊率^[10];急性早期布病患者进行诊断时应使用核酸恒温扩增-免疫层析技术进行辅助诊断;慢性期布病患者应联合应用 IgG ELISA 和 Coomb's 进行诊断^[17]。对布鲁氏

菌临床核酸标本的研究,有利于解决布病空窗期问题,减少漏诊;在现场检测和布病流调现场时 FPA、LAMP、GICA 等试验更适用。miRNA 作为一个新兴领域,近几年成为了研究的热点,布鲁氏菌感染人体后血清中 miRNA 的表达水平可以作为诊断的标志物。许多分子生物学检测灵敏度、特异度很高,但是价格昂贵,今后应多进行改良试验,使价格降低,更适用于基层的布病防控工作,作为布病诊断的补充实验。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Xu NN, Wang W, Chen FZ, et al. ELISA is superior to bacterial culture and agglutination test in the diagnosis of brucellosis in an endemic area in China[J]. BMC Infect Dis, 2020,20:11. DOI:10.1186/s12879-019-4729-1.
- [2] Hull NC, Schumaker BA. Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine[J]. Infect Ecol Epidemiol, 2018, 8(1): 1500846. DOI: 10.1080/20008686.2018.1500846.
- [3] 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. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2018.03.005.
- [4] Cui BY, Jiang H. Surveillance data of brucellosis in China, 2005-2016[J]. Dis Surveill, 2018, 33(3): 188-192. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2018.03.005.
- [5] Avijgan M, Rostamnezhad M, Jahanbani-Ardakani H. Clinical and serological approach to patients with brucellosis: A common diagnostic dilemma and a worldwide perspective[J]. Microb Pathog, 2019, 129: 125-130. DOI:10.1016/j.micpath.2019.02.011.
- [6] 陈礼朋,张森,李新生,等. 我国人畜间布鲁氏菌病流行状况[J]. 中国动物检疫, 2018, 35(10): 1-5. DOI: 10.3969/j.issn.1005-944X.2018.10.001.
- [7] Chen LP, Zhang M, Li XS, et al. Prevalence status of brucellosis among humans and animals in China[J]. China Anim Health Inspect, 2018, 35(10): 1-5. DOI: 10.3969/j.issn.1005-944X.2018.10.001.
- [8] Rubach MP, Halliday JEB, Cleaveland S, et al. Brucellosis in low-income and middle-income countries[J]. Curr Opin Infect Dis, 2013, 26(5): 404-412. DOI: 10.1097/QCO.0b013e3283638104.
- [9] 国家卫生健康委员会. WS/T 269-2019 布鲁氏菌病诊断[S]. 北京:中国标准出版社,2019.
- [10] National Health Commission. WS/T 269-2019 Diagnosis for brucellosis[S]. Beijing:China Standard Press,2019.
- [11] Cakan G, Bezirci FB, Kacka A, et al. Assessment of diagnostic enzyme-linked immunosorbent assay kit and serological markers in human brucellosis [J]. Jpn J Infect Dis, 2008,61(5):366-370. DOI:10.1007/s002330010127.
- [12] 王慧飞,宗鹏,徐磊,等. Brucellcapt、RBT、SAT、iELISA 四种血清学检测方法对布鲁氏菌病检测价值的比较研究[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(4): 672-675, 641. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.04.015.
- [13] Wang HF, Zong P, Xu L, et al. Comparison of four serological detection methods of brucellcapt, RBT, SAT and iELISA in the detection of brucellosis[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2019, 19(4): 672-675, 641. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.04.015.
- [14] Konstantinidis A, Minas A, Pournaras S, et al. Evaluation and comparison of fluorescence polarization assay with three of the currently used serological tests in diagnosis of human brucellosis[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2007, 26(10):715-721. DOI:10.1007/s10096-007-0363-8.
- [15] Yohannes M, Gill JPS, Ghatak S, et al. Comparative evaluation of the Rose Bengal plate test, standard tube agglutination test and complement fixation test for the diagnosis of human brucellosis[J]. Revue Sci Tech, 2012, 31(3):979-984. DOI:10.20506/rst.31.3.2175.
- [16] Gómez MC, Nieto JA, Rosa C, et al. Evaluation of seven tests for diagnosis of human brucellosis in an area where the disease is endemic[J]. Clin Vaccine Immunol, 2008, 15(6):1031-1033. DOI:10.1128/0142-0363.2008.15.6.1031-1033.
- [17] Al Dahouk S, Nöckler K. Implications of laboratory diagnosis on brucellosis therapy[J]. Exp Rev Anti-Infect Ther, 2011,9(7):833-845. DOI:10.1586/eri.11.55.
- [18] 王玉玲,王可,张俊哲,等. 布鲁氏菌病 6 种血清学检测方法
- [19] 的临床应用比较[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2014, 37(5): 318-320. DOI:10.16408/j.1004-9770.2014.05.017.
- [20] Wang YL, Wang K, Zhang JZ, et al. Comparison of six kinds of brucellosis serological tests in clinical application [J]. Chin J Front Health Quar, 2014, 37(5): 318-320. DOI: 10.16408/j.1004-9770.2014.05.017.
- [21] 王秀丽,蒋玉文,毛开荣,等. 布鲁氏菌病实验室诊断方法的研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2011, 45(11): 37-42. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1280.2011.11.011.
- [22] Wang XL, Jiang YW, Mao KR, et al. Research progress on laboratory diagnosis techniques on brucellosis[J]. Chin J Veter Drug, 2011, 45(11): 37-42. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1280.2011.11.011.
- [23] 刘熹,姜海,田国忠,等. 对 2004-2014 年人间布鲁氏菌病实验室检测方法的系统评价[J]. 中华地方病学杂志, 2015, 34(12): 920-925. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4255.2015.12.018.
- [24] Liu X, Jiang H, Tian GZ, et al. Systematic literature review of diagnostic test methods for human brucellosis used in China from 2004 to 2014[J]. Chin J Endemiol, 2015, 34(12): 920-925. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4255.2015.12.018.
- [25] 赵鸿雁,李积权,路殿英,等. 一种改良的布鲁氏菌病抗体微量凝集检测方法的建立与评价[J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(2): 149-152. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2018.00.236.
- [26] Zhao HY, Li JQ, Lu DY, et al. Establishment and evaluation of the modified microagglutination test for serologic diagnosis of human brucellosis[J]. Chin J Zoon, 2019, 35(2): 149-152. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2018.00.236.
- [27] 张江为,朱小丽. 血清学检验联合细菌学检验对布氏菌病患者的诊断价值[J]. 临床医学研究与实践, 2019, 4(9): 117-119. DOI:10.19347/j.cnki.2096-1413.201909046.
- [28] Zhang JW, Zhu XL. Diagnostic value of serological examination combined with bacteriological examination in patients with brucellosis[J]. Clin Res Pract, 2019, 4(9): 117-119. DOI:10.19347/j.cnki.2096-1413.201909046.
- [29] 朱明东,杨蓉,洪林娣,等. 胶体金免疫层析法在布鲁氏菌病不同流行地区的现场应用[J]. 疾病监测, 2008, 23(5): 274-276. DOI:10.3784/j.issn.1003-9961.2008.05.005.
- [30] Zhu MD, Yang R, Hong LD, et al. On-the-spot application of colloidal gold-immunochromatographic assay in various epidemic areas of brucellosis[J]. Dis Surveill, 2008, 23(5): 274-276. DOI:10.3784/j.issn.1003-9961.2008.05.005.
- [31] 陈俊杰,王占军,杨晓雯,等. 外周血淋巴细胞布鲁氏菌核酸 DNA 检测的实验研究[J]. 疾病监测, 2020, 35(5): 421-424. DOI:10.3784/j.issn.1003-9961.2020.05.012.
- [32] Chen JJ, Wang ZJ, Yang XW, et al. Experimental detection of DNA of Brucella in peripheral blood lymphocytes[J]. Dis Surveill, 2020, 35(5): 421-424. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2020.05.012.
- [33] Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA[J]. Nucl Acids Research, 2000,28(12):E63. DOI:10.1093/nar/28.12.e63.
- [34] 谢文萍,肇慧君,张琳,等. LAMP 技术快速诊断布鲁氏菌病的研究[J]. 生物技术通报, 2017, 33(3): 186-192. DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2017.03.027.
- [35] Xie WP, Zhao HJ, Zhang L, et al. Rapid diagnosis of brucella by loop-mediated isothermal amplification[J]. Biotechnol Bull, 2017, 33(3): 186-192. DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2017.03.027.
- [36] 张慧慧,刘凡瑜,姚燕,等. 核酸恒温扩增-免疫层析技术在布鲁氏菌病诊断中的应用[J]. 吉林大学学报:医学版, 2013, 39(2):410-413. DOI:10.7694/j.issn.1003-9961.2013.02.025.
- [37] Zhang HH, Liu FY, Yao Y, et al. Application of nucleic acid isothermal amplification-immunochromatographic test in diagnosis of brucellosis[J]. J Jilin Univ:Med Ed, 2013, 39(2): 410-413. DOI:10.7694/j.issn.1003-9961.2013.02.025.
- [38] 郑源强,于玖轩,韩新荣,等. 固有免疫功能相关的 microRNAs 在布鲁氏菌病患者中的表达情况[J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(9): 1253-1256. DOI:10.3969/j.issn.1000-484X.2016.09.002.
- [39] Zheng YQ, Yu JX, Han XR, et al. Expression pattern of innate immunity related microRNAs in human brucellosis [J]. Chin J Immunol, 2016, 32(9): 1253-1256. DOI:10.3969/j.issn.1000-484X.2016.09.002.
- [40] Zhang CP, Fu Q, Ding M, et al. Comprehensive analysis of differentially expressed serum microRNAs in humans responding to Brucella infection[J]. Ann Transl Med, 2019, 7(14):301. DOI:10.21037/atm.2019.05.74.
- [41] 中华人民共和国卫生部. WS 269-2007 布鲁氏菌病诊断标准[S]. 北京:人民卫生出版社, 2007.
- [42] Ministry of Health, PRC. WS 269-2007 Diagnostic criteria for Brucellosis[S]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007.