

DEFINITION

Die Brucellose ist eine bakterielle Zoonose, die direkt oder indirekt von infizierten Tieren, vornehmlich Wiederkäuern und Schweinen, auf den Menschen übertragen wird. Umgangssprachlich ist die Erkrankung aufgrund ihres remittierenden Charakters auch als *undulirendes Fieber* bekannt, andere, in Deutschland gebräuchliche Synonyme sind Bang-Krankheit, Mittelmeer- oder Maltafieber. Obwohl die Brucellose meist als akute febrile Erkrankung verläuft, kann ihre klinische Manifestation sehr variabel sein und typische Symptome, die zur Diagnosestellung führen, können fehlen. Daher muss die klinische Diagnose in der Regel durch bakteriologische und/oder serologische Untersuchungen ergänzt werden.

ÄTIOLOGIE

Die humanpathogene Brucellose wird durch die Bakteriengattung *Brucella* hervorgerufen, von der man aufgrund von Genanalysen annahm, dass sie nur eine einzige Spezies, nämlich *Brucella melitensis* mit einer Reihe von biologischen Varianten mit unterschiedlicher Wirtspräferenz umfasst. Diese Klassifizierung wurde aufgrund detaillierter Unterschiede in der chromosomalen Struktur und der Wirtspräferenz revidiert. Die traditionelle Einteilung in unterschiedliche Spezies wird heutzutage wegen dieser chromosomalen Unterschiede wieder favorisiert, unter anderem auch, weil dieses Klassifikationschema die epidemiologischen Aspekte der Infektion berücksichtigt. Das Klassifikationssystem unterscheidet *Brucella melitensis* (Mittelmeerfieber, Maltafieber), die häufigste Ursache von symptomatischen Infektionen beim Menschen, deren Reservoir Schafe, Ziegen und Kamele darstellen; *Brucella abortus* (Bang-Krankheit), die in der Regel von Rindern oder Büffeln übertragen wird; *Brucella suis*, ein Bakterium, welches in der Regel durch Schweine übertragen wird. Es gibt zudem eine enzootische Variante von *B. suis* bei Rentieren und Karibus und eine weitere bei Nagetieren; *Brucella canis*, die am häufigsten von Hunden übertragen wird. Die Spezies *Brucella ovis*, die Erkrankungen der Geschlechtsorgane bei Schafen hervorruft, und *Brucella neotomae*, die bei Wüstennagetieren vorkommt, konnten nicht eindeutig dem Formenkreis der humanpathogenen Brucellosen zugeordnet werden und gelten als reine Zoonosen. Zwei neue Spezies, *B. ceti* und *B. pinnipedialis*, wurden vor kurzem bei Meeressäugern identifiziert, darunter Robben und Delfine. In der Literatur ist mindestens eine im Labor erworbene Infektion mit einer dieser Spezies beim Menschen beschrieben, außerdem sind auf natürlichem Weg erworbene apparente Infektionen beim Menschen beschrieben. Da die Infektion unter Meeressäugern weit verbreitet zu sein scheint, werden möglicherweise weitere Fälle zoonotischer Infektionen beim Menschen identifiziert werden können. Andere neu beschriebene Spezies sind die aus Erdmäusen isolierte *Brucella microti* und das bei einer Patientin mit Brustimplantat isolierte Bakterium *Brucella inopinata*. Weitere neue Stämme wurden bei verschiedenen Tierarten beschrieben, bei Pavianen, Füchsen, Fröschen und einer Reihe von Nagern, sodass die Gattung *Brucella* vermutlich in den nächsten Jahren weiter erweitert wird. Außerdem wird inzwischen angenommen, dass Brucellen eng mit der Gattung *Ochrobactrum* verwandt sind, zu der Umweltbakterien gehören, die gelegentlich opportunistische Infektionen auslösen. Genombasierte Untersuchungen konnten den Lauf der Evolution von freilebenden Mikroorganismen hin zu äußerst erfolgreichen intrazellulären Krankheitserregern aufzeigen.

Brucellen sind kleine, gramnegative, kapsellose, nicht sporenbildende, unbewegliche, kokkoide Stäbchenbakterien. Sie können aerob auf peptonhaltigen Medien bei 37 °C kultiviert werden, wobei das Wachstum einiger Arten durch Kohlendioxid-supplementierung beschleunigt werden kann. In vivo sind Brucellen fakultativ intrazellulär. Sie reagieren empfindlich auf Sonnenlicht, ionisierende Strahlung und moderate Hitze, können durch Kochen und Pasteurisieren abgetötet werden, sind aber unempfindlich gegenüber Trockenheit und Kälte. Ihre Unempfindlichkeit gegenüber Trockenheit ermöglicht den Brucellen, als Aerosole stabil zu sein und erleichtert die aerogene Übertragung.

Brucellen können bis zu 2 Monate in Weichkäse aus Ziegen- oder Schafsmilch überleben und bis zu 6 Wochen in trockener Erde nach Kontamination mit infiziertem Urin, Vaginalsekret oder fetalem/plazentarem Gewebe. Sie überdauern mindestens 6 Monate in feuchter Erde und Jauche, sofern diese kühl und dunkel gelagert werden. Brucellen werden leicht durch die üblichen Desinfektionsmittel bei sachgemäßer Handhabung abgetötet, sind aber bei niedrigen Temperaturen oder außerordentlicher Kontamination unempfindlicher.

EPIDEMIOLOGIE



Die Brucellose ist eine Zoonose, deren Prävalenz und Inzidenz eng mit der bei Haus- und Nutztieren korrelieren. Sie ist weltweit verbreitet, mit Ausnahme einiger weniger Länder, in denen sie in ihrem tierischen Reservoir ausgerottet werden konnte. So gelten die Rinder-, Schaf- und Ziegenbestände in Deutschland als amtlich frei von *B. abortus* und *B. melitensis*. Bei der im Rahmen der Meldepflicht dem RKI gemeldeten Fällen handelt es sich in der Regel um importierte Fälle. Die globale Prävalenz der menschlichen Brucellose ist aufgrund der schwierigen Diagnosestellung, mangelnder Meldesysteme und inadäquater Surveillancesysteme unbekannt. Unlängst wird die hohe Inzidenz der Brucellose in Indien und Teilen Chinas zunehmend erkannt, ebenso die in die Länder Ozeaniens importierten Fälle, wie z. B. die Fidschi-Inseln. In Europa korreliert die Inzidenz der humanen Brucellose invers mit dem Bruttoinlandsprodukt und sowohl in den westlichen Industriestaaten als auch in Entwicklungsländern steht sie in Zusammenhang mit Armut in ländlichen Gebieten und unzureichendem Zugang zum Gesundheitssystem. Das Versagen von tierärztlichen Kontrollprogrammen aufgrund von Konflikten oder aus ökonomischen Gründen trägt weiter zum (Wieder-) Auftreten der Erkrankung bei, wie sich aktuell in einigen östlichen Mittelmeerstaaten zeigt.

Selbst in den Industrieländern ist die tatsächliche Inzidenz der Brucellose bei Haus- und Nutztieren vermutlich 10- bis 20-mal größer, als die gemeldeten Fälle es annehmen lassen. Die bovine Brucellose war in vielen Regionen der Erde Gegenstand von Kontrollprogrammen und konnte so in den Viehbeständen u. a. Australiens, Neuseelands, Bulgariens, Kanadas, Zyperns, Großbritanniens (inklusive der Kanalinseln), Japans, Luxemburgs, Rumäniens, Skandinaviens, der Schweiz, der Tschechischen und der Slowakischen Republik ausgerottet werden. Die Inzidenz konnte in den USA und in den meisten Ländern Westeuropas auf ein Minimum reduziert werden, während es in anderen Teilen der Erde größere regionale Unterschiede bezüglich der Inzidenz gibt. Die Eradikationsversuche von *B. melitensis* aus Schaf- und Ziegenbeständen hingegen waren weit weniger erfolgreich. Diese Versuche basierten vorwiegend auf Impfprogrammen, welche unter den wechselnden ökonomischen und politischen Bedingungen nur unzureichend etabliert werden konnten. In einigen Ländern, wie z. B. Israel, kam es zu bedrohlichen Ausbrüchen von *B. melitensis* in den Rinderbeständen. In den Mittelmeerländern, in West-, Zentral- und Südasien, in einigen Ländern des afrikanischen Kontinents sowie in Süd- und Zentralamerika stellt die Infektion durch *B. melitensis* nach wie vor ein bedeutendes Problem für das jeweilige öffentliche Gesundheitssystem dar. Im Jahr 2014 wurden dem Robert Koch-Institut im Rahmen von § 7 Abs. 1 IfSG47 (2013 und 2012: je 28 Fälle) Infektionen mit Brucellose übermittelt, wobei es sich bei der überwiegenden Zahl der Erkrankungen um importierte Fälle handelte. Diese wurden zu einem großen Teil in der Türkei erworben.

Die Brucellose des Menschen ist in der Regel mit einer beruflichen oder häuslichen Exposition gegenüber infizierten Tieren oder deren Produkten assoziiert. Bauern, Schaf- und Ziegenhirten, Tierärzte, Arbeiter der Schlachthöfe und der Fleisch verarbeitenden Industrie zählen in Endemiegebieten zu den beruflich exponierten Gruppen. Familienmitglieder (inklusive Kinder) von in der Tierhaltung beschäftigten Personen können ebenfalls als Risikogruppe betrachtet werden, obwohl es unter diesen Bedingungen häufig schwierig ist, eine Lebensmittelinfektion von einer Schmierinfektion zu unterscheiden. Eine

weitere Risikogruppe stellen Labormitarbeiter, die mit bakteriellen Kulturen oder infektiösen Proben arbeiten, dar. Reisende und Menschen, die in Städten leben, infizieren sich in der Regel durch den Verzehr von kontaminierten Speisen. Krankheitsfälle in Ländern, die die Brucellose erfolgreich eradiziert haben (wie z. B. Deutschland), sind in aller Regel im Ausland erworben. Zu den häufigsten Infektionsquellen gehören Milchprodukte, insbesondere Weichkäse, unpasteurisierte Milch und Speiseeis sowie unter besonderen Umständen auch rohes Fleisch und Knochenmark. Auch Infektionen durch Kosmetika, die fetale Bestandteile enthalten, sind beschrieben worden. Eine Übertragung von Mensch zu Mensch ist extrem selten, ebenso eine Infektion durch Bluttransfusionen oder Gewebetransplantation. Obwohl die Brucellose eine chronische intrazelluläre Infektion ist, gibt es keinen Hinweis auf eine erhöhte Prävalenz oder kompliziertere Verläufe bei immunsupprimierten oder HIV-Patienten.

Eine Brucelleninfektion kann durch orale Aufnahme, die Inhalation von infektiösen Aerosolen oder durch mukosale oder perkutane Exposition erworben werden. Akzidentelle Injektionen mit den Impfstämmen von *B. abortus* (S19 und RB51) und *B. melitensis* (Rev 1) können ebenso eine Erkrankung hervorrufen. Mit *B. melitensis* und *B. suis* wurden in der Vergangenheit in einigen Ländern biologische Waffen entwickelt, die gegebenenfalls auch im Rahmen bioterroristischer Aktivitäten missbraucht werden könnten (Kap. 261e). Diese Möglichkeit sollte im Falle eines plötzlichen unerklärlichen Ausbruchs der Erkrankung bedacht werden.

IMMUNITÄT UND PATHOGENESE

Die Exposition gegenüber Brucellen löst sowohl eine humorale als auch eine zellvermittelte Immunantwort aus. Die Mechanismen einer protektiven Immunität bei der humanen Brucellose sind denen im Tierexperiment vergleichbar, dennoch sollten solche Verallgemeinerungen zurückhaltend interpretiert werden. Die Immunantwort auf eine Infektion und ihre Manifestation sind von der Virulenz, der Erkrankungsphase und der Spezies abhängig. So sind Unterschiede zwischen *B. abortus* und *B. suis* hinsichtlich ihres Eintritts in die Zellen und ihrer nachfolgenden Kompartimentierung und Prozessierung in der Zelle beschrieben worden. Obwohl extrazelluläre Brucellen mittels bakterizider Mechanismen und Erleichterung der Phagozytose durch polymorphkernige Phagozyten antikörpervermittelt dezimiert werden, kann eine Antikörperantwort allein die Infektion nicht beseitigen. Organismen, die von Makrophagen und anderen Zellarten aufgenommen werden, können zu einer persistierenden intrazellulären Infektion führen. Die wichtigsten Schlüsselzellen sind Makrophagen. Bakterielle Mechanismen, die zur Unterdrückung der intrazellulären Abtötung und der Apoptose der befallenen Zelle führen, haben sehr große intrazelluläre Bakterienpopulationen zur Folge. Oponisierte Bakterien werden aktiv von neutrophilen Granulozyten und Monozyten phagozytiert. Bei diesen und anderen Zellen verläuft die initiale Anheftung der Bakterien über spezifische Rezeptoren, wie Fc, C3, Fibronectin und mannosebindende Proteine. Oponisierte Bakterien triggern im Gegensatz zu nicht opsonierten Bakterien einen oxidativen Burst innerhalb der Phagozyten. Nicht opsonierte Bakterien werden über ähnliche Rezeptoren in die Zelle aufgenommen, jedoch wesentlich ineffizienter. Einige Stämme gelangen über Lipidbrücken in die Zellen. Weiche Lipopolysaccharide (LPS), β -zyklisches Glucan und vermutlich ein Invasion-Attachment-Protein (IalB) sind in diesen Prozess involviert. Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF- α) wird früh im Rahmen der Infektion produziert und stimuliert seinerseits zytotoxische Lymphozyten und Makrophagen, die intrazelluläre Brucellen abtöten (vermutlich vorwiegend durch die Produktion von reaktivem Sauerstoff und Stickstoffintermediaten) und die Infektion beseitigen. Dennoch können virulente Brucellen die TNF- α -Antwort unterdrücken. Die Kontrolle der Infektion ist dann von der Aktivierung der Makrophagen und der Interferon- γ (IFN- γ)-Antwort abhängig. Zytokine wie Interleukin (IL) 12 fördern die Produktion von IFN- γ , das seinerseits die T_H1 -Antwort fördert und die Aktivierung von Makrophagen stimuliert. Inflammatorische Zytokine, wie IL-4, IL-6 und IL-10, können die protektive Immunantwort herunterregulieren. Wie bei anderen intrazellulären Infektionen nimmt man an, dass die initiale Replikation der Brucellen in den Zellen des Eintrittspfortes nächstgelegenen Lymphknotens vonstattengeht. In der Folge kommt es durch hämatogene Aussaat zu einer chronischen lokalisierten Infektion an nahezu allen Organen, wengleich das retikuloendotheliale System, der Bewegungsapparat und der Urogenitaltrakt am häufigsten

betroffen sind. Bei einer Brucelleninfektion können sowohl akute als auch chronische inflammatorische Antworten ablaufen und die lokale Reaktion im Gewebe kann als granulomatöse Entzündung mit und ohne Nekrosebildung und Verkäsung imponieren. Ebenso kann es insbesondere bei chronischen lokalisierten Infektionen zur Abszessbildung kommen.

Die die Pathogenität bestimmenden Faktoren von Brucellen und die Mechanismen, die zu den verschiedenen Manifestationen einer Brucellose führen, sind bis heute nicht vollständig verstanden. Die Überlebensstrategien dieses Organismus beruhen auf mehreren Prozessen, die letztlich zu einer „versteckten“ Infektion führen, die keine Abwehrreaktion des angeborenen Immunsystems auslöst und den Brucellen das Überleben in monozytären Zellen ermöglicht. Das Brucella-Lipopolysaccharid, das eine ungewöhnliche O-Ketten- und Core-Lipid-Zusammensetzung aufweist, besitzt eine relativ geringe Endotoxinaktivität und spielt eine Schlüsselrolle als Pyrogen und bei der Abwehr von Phagozytose und antibakterieller Serumaktivität im nicht immunen Wirt. Man nimmt an, dass das LPS darüber hinaus eine Rolle bei der Unterdrückung der Verschmelzung von Lysosomen und Phagosomen besitzt sowie bei der Verteilung der aufgenommenen Bakterien in die Vakuolen des endoplasmatischen Retikulums, wo schließlich die intrazelluläre Replikation abläuft. Spezifische Exotoxine konnten nicht isoliert werden; es konnte aber ein Typ-IV-Sekretionssystem (VirB), das das intrazelluläre Überleben und einen Austausch des Bakteriums mit der Wirtszelle steuert, identifiziert werden. Im Falle von *B. abortus* kann dieses System extrazellulär aktiviert werden. Im Gegensatz hierzu wird es bei *B. suis* nur im Rahmen des intrazellulären Wachstums (durch einen niedrigen pH) aktiviert. Brucellen produzieren dann ein säurestabiles Protein, das das Überleben des Bakteriums in Phagosomen erleichtert und seine Resistenz gegenüber reaktiven Sauerstoffintermediaten verstärkt. Auch ein Typ-III-Sekretionssystem mit modifizierten flagellaartigen Strukturen wird vermutet, konnte aber noch nicht bestätigt werden. Virulente Brucellenstämme sind gegenüber Defensinen resistent und produzieren eine Kupfer-Zink-Superoxiddismutase, die die Resistenz gegenüber reaktiven Sauerstoffintermediaten ebenfalls verstärkt. Ein hämolysinartiges Protein kann die Freisetzung von Brucellen aus infizierten Zellen auslösen.

KLINISCHES BILD

In der Regel verursacht eine Brucellose anhaltendes Fieber, welches mit ausgeprägtem Schwitzen und insbesondere mit Nachtschweiß assoziiert sein kann. In entsprechenden Endemiegebieten kann es durchaus schwierig sein, eine Brucellose von anderen Fieberursachen abzugrenzen. Im 19. Jahrhundert konnten aber bereits zwei typische Merkmale erkannt werden, die eine Brucellose von anderen tropischen Fieberursachen wie Typhus oder Malaria unterscheiden: (1) Unbehandelt weist das Fieber im Rahmen einer Brucelleninfektion einen undulierenden Charakter auf und persistiert über Wochen, bevor es zu einer afebrilen Periode kommt, die wiederum von einer erneuten febrilen Phase gefolgt sein kann. (2) Das Fieber bei einer Brucellose ist in über der Hälfte der Fälle von einer muskuloskelettalen Symptomatik begleitet.

Die klinischen Syndrome, die durch die verschiedenen Spezies hervorgerufen werden, sind durchaus vergleichbar, wengleich *B. melitensis* mit aggressiveren und akuterer Verläufen assoziiert wird und *B. suis*-Infektionen häufiger fokale Abszesse verursachen. Infektionen durch *B. abortus* können schleichend beginnen und neigen eher zur Chronifizierung. Infektionen mit *B. canis* hingegen gehen oft mit akuten gastrointestinalen Symptomen einher.

Die Inkubationszeit variiert zwischen einer Woche und mehreren Monaten, wobei das Fieber und die anderen Symptome sowohl akut als auch schleichend einsetzen können. Neben Fieber und starkem Schwitzen werden die Patienten zunehmend apathisch und wirken erschöpft, leiden unter Appetit- und Gewichtsverlust. Darüber hinaus haben sie unspezifische Myalgien, Kopfschmerzen und Schüttelfrost. Zusammenfassend passt das klinische Bild einer Brucellose häufig in eine der nachfolgend beschriebenen Symptomenkomplexe: (1) eine fieberhafte Erkrankung, die dem Typhus ähnelt, aber weniger schwer verläuft; (2) Fieber bei einem kleinen Kind, gepaart mit einer akuten Monarthritis, typischerweise der Hüfte oder des Knies; (3) lang anhaltendes Fieber, Leistungsabfall und Schmerzen im Lendenwirbelsäulenbereich und in den Hüftgelenken bei einem älteren Menschen. So würde in Endemiegebieten (z. B. in weiten Teilen des Mittleren Ostens) ein Patient, der mit Fieber und eingeschränktem Gehvermögen

vorstellig wird, bis zum Beweis des Gegenteils als an Brucellose erkrankt angesehen werden.

Diagnostische Hinweise ergeben sich aus der Anamnese des Patienten: Reisen in Endemiegebiete, Anstellung in einem diagnostischen mikrobiologischen Labor, der Verzehr unpasteurisierter Milchprodukte (inklusive Weichkäse), Tierkontakt, die versehentliche Inokulation von veterinärmedizinischen Brucella-Vakzinen sowie eine positive Familienanamnese in Endemiegebieten (die sich in 50 % der Fälle findet).

Bei den meisten Patienten finden sich fokale Manifestationen mit muskuloskelettalen Schmerzen und Beschwerden im Bereich der Extremitäten und des Achsenskeletts (~40 % der Fälle). Eine Osteomyelitis betrifft in der Regel die lumbalen und unteren thorakalen Wirbel und nur selten die zervikalen und oberen thorakalen Wirbelsäulenabschnitte. Eine septische Arthritis manifestiert sich am häufigsten an den Kniegelenken, den Hüft- und Iliosakralgelenken, den Schultern und den Sternoklavikulargelenken. Dabei kommen sowohl Mon- als auch Polyarthritiden vor; darüber hinaus kann eine septische Arthritis von einer Osteomyelitis begleitet sein.

Neben den häufigsten Ursachen einer Wirbelkörperosteomyelitis und einer septischen Arthritis zählt die Tuberkulose zu den wichtigsten Differenzialdiagnosen. Diese Tatsache hat auf die Therapie und die Prognose der Erkrankung eine entscheidende Auswirkung, zumal mehrere Antibiotika, die in der Behandlung einer Brucellose eingesetzt werden, auch für die Therapie einer Tuberkulose geeignet sind. Die septische Arthritis im Rahmen einer Brucellose beginnt schleichend mit einer kleinen perikapsulären Erosion. An den Wirbelkörpern finden sich zunächst typischerweise im anterioren Bereich der Deckplatte gelegene Erosionen, die im Verlauf schließlich sklerosieren und den gesamten Wirbelkörper betreffen können. Im weiteren Verlauf bilden sich anterior gelegene Osteophyten aus, während eine Destruktion des Wirbelkörpers und eine Beeinträchtigung des Rückenmarks selten sind und eher für eine Tuberkulose sprechen (Tab. 194e-1).

Andere Organe können im Rahmen der Erkrankung in ähnlicher Weise wie bei Typhus abdominalis beteiligt sein. So leidet etwa ein Viertel der Patienten unter einem trockenen Husten, in der Regel ohne Auffälligkeiten im thorakalen Röntgenbild, wengleich auch eine Pneumonie, ein Pleuraempyem, eine intrathorakale Lymphadenopathie oder Lungenabszesse auftreten können. Kulturen aus Sputum oder Pleuraergüssen sind bei Erkrankungen, die gut auf die Standardtherapie ansprechen, selten positiv. Ein Viertel der Patienten entwickelt eine Hepatosplenomegalie und 10–20 % haben eine signifikante Lymphadenopathie. In diesen Fällen müssen in die Differenzi-

aldiagnose Erkrankungen wie die infektiöse Mononukleose, die Toxoplasmose und Zytomegalievirusinfektionen, die HIV-Infektion und die Tuberkulose einbezogen werden. Bis zu 10 % der Männer weisen eine Epididymoorchitis auf, die von Mumps und chirurgischen Krankheitsbildern, wie der Hodentorsion, abgegrenzt werden muss. Darüber hinaus können auch eine Prostatitis, eine Entzündung der Samenbläschen, eine Salpingitis und eine Pyelonephritis zum Bild einer Brucellose gehören. Es kann zu einer erhöhten Rate an Fehlgeburten kommen, obwohl eine Teratogenität bislang nicht beobachtet werden konnte und die Abortrate beim Menschen im Vergleich zu Nutztieren wesentlich niedriger ist.

Häufig kommt es zu neurologischen Manifestationen mit Depressionen und Lethargie, deren Ausmaß weder dem Patienten noch seinem behandelnden Arzt bis zum Zeitpunkt einer erfolgreichen Therapie bewusst sein kann. Ein kleiner Teil der Patienten entwickelt eine lymphozytäre Meningoenzephalitis, die einer Neurotuberkulose, einer atypischen Leptospirose oder einer nicht infektiösen Meningoenzephalitis gleichen kann und durch intrazerebrale Abszesse, eine Hirnnervenbeteiligung oder eine Ruptur mykotischer Aneurysmen verkompliziert werden kann.

Eine Endokarditis tritt in 1 % der Fälle auf und betrifft in der Regel die Aortenklappe. Jeder Teil des menschlichen Körpers kann in eine Abszedierung oder Inflammation einbezogen werden, besonders häufig sind es die weibliche Brust und die Schilddrüse. Unspezifische makulopapulöse Hautausschläge und andere Hautmanifestationen sind selten und werden, selbst wenn sie auftreten, nur selten vom Patienten wahrgenommen.

DIAGNOSTIK

Da das klinische Bild einer Brucellose unspezifisch ist, muss sich die Diagnose auf eine potenzielle Exposition, eine mit der Erkrankung zu vereinbarende klinische Manifestation und entsprechende Laborkonstellationen stützen. Routinelaboruntersuchungen sind in der Regel unauffällig, obwohl die Transaminasen und der Bilirubinwert erhöht sein können. Die periphere Leukozytenzahl ist bei einer relativen Lymphozytose meist normal oder etwas erniedrigt. Ebenso kann eine milde Anämie nachweisbar sein. Eine Thrombozytopenie sowie eine disseminierte intravaskuläre Koagulation mit erhöhten Fibrinogenspiegeln und dem Nachweis von Spaltprodukten können sich ebenfalls entwickeln. Die Blutsenkungsgeschwindigkeit und das C-reaktive Protein sind in aller Regel normal, können aber erhöht sein.

In Körperflüssigkeiten wie Liquor und Gelenkpunktat lassen sich eine Lymphozytose und ein erniedrigter Glukosespiegel nachweisen. Erhöhte Spiegel von Adenosinaminase (ADA) eignen sich nicht zur Abgrenzung einer tuberkulösen Meningitis, da sie auch bei einer Brucellose vorliegen können. In Biopsaten aus Lymphknoten oder der Leber können nicht verkäsende Granulome nachweisbar sein, ohne dass säurefeste Stäbchen gefunden werden (Abb. 194e-1). Radiologische Veränderungen bei Knochenbeteiligung sind erst spät im Verlauf der Erkrankung nachweisbar und weit weniger ausgeprägt als die einer Tuberkulose oder einer septischen Arthritis anderer Ätiologie. Die Skelettszintigrafie ist sensitiver als die herkömmliche Röntgen-

TABELLE 194e-1 Röntgenuntersuchung der Wirbelsäule: Differenzierung zwischen Brucellose und Tuberkulose

	Brucellose	Tuberkulose
Lokalisation	U. a. lumbal	Dorsolumbal
Vertebrae	Diskontinuierlicher oder kontinuierlicher Befall	Kontinuierlicher Befall
Diszitis	Spät	Früh
Wirbelkörper	Lange intakt	Früher Verlust der Morphologie
Kompression des Spinalkanals	Selten	Häufig
Epiphysitis	Anterosuperior	Generell: obere und untere Bandscheibenregion, zentral, subperiostal
Osteophyten	Anterolateral (Papageienschnabel)	Ungewöhnlich
Deformitäten	Selten Keilbildung	Anteriore Keilbildung, Gibbus
Heilung	Sklerose, gesamter Wirbelkörper	Variabel
Paravertebraler Abszess	Klein, gut lokalisiert	Häufig, mit Verlust des Processus transversus
Psoasabszess	Selten	Gelegentlich

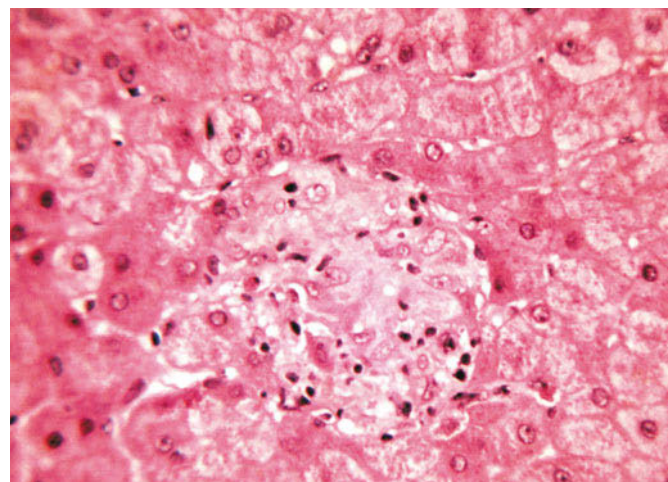


Abbildung 194e-1 Leberbiopsat eines Patienten mit Brucellose. Dargestellt ist ein nicht verkäsendes Granulom. (Aus Mandell's Atlas of Infectious Diseases, Vol II, in DL Stevens (ed): Skin, Soft Tissue and Joint Infections, Fig. 5–9; mit frdl. Genehmigung.)

diagnostik und deckt auch lange nach erfolgreicher Therapie noch Veränderungen im Bereich der Knochen auf.

Die Isolierung von Brucellen aus Blut, Liquor, Knochenmark, Gelenkflüssigkeit und Gewebeproben gelingt in 50–70 % der Fälle und bestätigt die Diagnose. Kulturen (unter Raumluft und mit 10 % Kohlendioxid angereichert) sollten über 6 Wochen bebrütet werden. Die Konzentration und Lyse der Buffy-coat-Zellen vor Ansetzen der Kulturen kann die Nachweisrate erhöhen. Moderne, nicht radiometrische Kulturverfahren, wie BACTEC, ergeben in der Regel nach 7–10 Tagen ein positives Ergebnis, sollten jedoch über mindestens 3 Wochen bebrütet werden, bevor ein negatives Ergebnis angenommen wird. Alle Kulturverfahren sollten unter hohen Sicherheitsvorkehrungen, wie für gefährliche Pathogene üblich, durchgeführt werden. In deutschen Laboratorien erfordern Arbeiten mit Brucellen Sicherheitsvorkehrungen nach Risikogruppe 3 gemäß Biostoffverordnung, TRBA 100 bzw. Richtlinie 2000/54/EG. Bereits beim Umgang mit potenziell erregertem Material sind besondere Vorsichtsmaßnahmen erforderlich. *Brucella* ssp. können bei Verwendung der in diagnostischen Laboren häufig gebrauchten Identifikationsteststreifen als *Agrobacterium*, *Ochrobacterium* oder *Psychrobacter* (*Moraxella*) *phenylpyruvicus* fehldiagnostiziert werden. In den letzten Jahren hat die Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation mit Flugzeitanalysator-Massenspektrometrie (MALDI-TOF-MS) sich als aussagekräftige Methode in der bakteriellen Diagnostik erwiesen. Aufgrund der relativen Homogenität der klassischen *Brucella*-Spezies ist ihre Identifizierung unterhalb der Gattungsebene schwierig, obwohl weitere Verbesserungen der Diagnostik die Unterscheidung der einzelnen Spezies in Zukunft ermöglichen könnten. Der Stellenwert der MALDI-TOF-MS in der Routinediagnostik wird von solchen Verbesserungen abhängen. Es wurden jedoch bereits Fälle bekannt, in denen Isolate aus Blutkulturen durch MALDI-TOF-MS falsch zugeordnet wurden. Weitere detaillierte Auskünfte zur Brucellendiagnostik in Deutschland erteilt das Nationale Referenzlabor in Jena.

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) aus peripherem Blut eignet sich hervorragend, um eine Bakteriämie oder ein Rezidiv zu diagnostizieren und eine „chronische Brucellose“ auszuschließen. Sie ist wahrscheinlich wesentlich sensitiver als Blutkulturen und birgt ein niedrigeres Infektionsrisiko als kulturelle Verfahren. Neuerdings werden relativ oft Nukleinsäureamplifikationstechniken zur Brucellose-diagnostik angewandt, obwohl bislang keine standardisierte Methode existiert. Primer für die Spacerregion zwischen den Genen, die für die 16S- und die 23S-ribosomale RNS (*rrs-rrl*) kodieren, für verschiedene Gene, die das äußere Membranprotein kodieren, für die Insertionssequenz IS17 und für das Protein BCSP31 gelten als sensitiv und spezifisch. Geeignete Materialien für die PCR-Analyse sind Blut- oder Gewebeproben.

Serologische Verfahren liefern häufig das einzig positive Laborergebnis bei einer Brucellose. Im Rahmen der akuten Erkrankung kommt es zu einer frühen IgM-Antwort, die von einer IgG- und einer IgA-Antwort gefolgt ist. Sämtliche Antikörper können mittels Agglutinationsverfahren (nach Gruber-Widal) nachgewiesen werden, wobei verschiedene Methoden zur Verfügung stehen (Plattenagglutinationstest, Mikroagglutinationstest usw.). Bei der Mehrheit der Patienten sind in einem frühen Stadium der Erkrankung Agglutinine nachweisbar. Mit dem Fortschreiten der Erkrankung kommt es zu rückläufigen IgM-Titern, während sich die Avidität und die Zusammensetzung der Subklassen von IgG und IgA verändern. Dies resultiert häufig in verminderten oder nicht mehr messbaren Agglutinititern. Dennoch lassen sich die Antikörper mit alternativen Testverfahren, wie der Komplementbindungsreaktion, dem Coombs-Test und dem Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) nachweisen. Einen klar definierten Grenzwert im Sinne eines diagnostischen Titers gibt es nicht, sodass die serologischen Ergebnisse immer in Zusammenschau mit der Klinik und der Expositionsanamnese zu sehen sind. In Endemiegebieten oder bei beruflicher Exposition sind Agglutinititer von mehr als 1 : 320 bis 1 : 640 als diagnostisch zu werten, während in Nichtendemiegebieten Titer von mehr als 1 : 160 als signifikant angesehen werden. Eine Wiederholungsuntersuchung nach 2–4 Wochen kann oftmals einen Titeranstieg aufzeigen.

In den meisten Zentren wird der Standard-Agglutinationstest (SAT) als wesentliches Verfahren der serologischen Diagnostik angesehen, obwohl einige Untersucher den Rose-Bengal-Test bevorzugen, der bis dato jedoch nicht für die Diagnostik beim Menschen validiert worden ist. Anti-*Brucella*-IgM-Schnelltests sind in der Diagnostik ei-

ner akuten Brucellose hilfreich, sind aber weniger sensitiv, wenn die Symptome bereits seit mehreren Monate bestehen. In Endemiegebieten haben mehr als 90 % der Patienten mit einer akuten Bakteriämie SAT-Titer von wenigstens 1 : 320. In manchen Zentren werden auch andere Screening-Tests verwendet.

Antikörper gegen die O-Kette im Lipopolysaccharid, dem dominanten Antigen der Brucellen, können durch alle konventionell erhältlichen Testverfahren nachgewiesen werden, solange sie die glatten Oberflächenantigene von *B. abortus*-Zellen verwenden. Da es zwischen *B. abortus* und *B. melitensis* bzw. *B. suis* zu Kreuzreaktionen kommen kann, ist eine Wiederholung dieser Tests mit den jeweils spezifischen Antigenen nicht von Vorteil. Kreuzreaktivität besteht darüber hinaus mit den O-Ketten einer Reihe von gramnegativen Bakterien, wie *Yersinia enterocolitica* O:9, *Escherichia coli* O157, *Francisella tularensis*, *Salmonella enterica* Gruppe N, *Stenotrophomonas maltophilia* und *Vibrio cholerae*. Im Gegensatz dazu gibt es keine Kreuzreaktionen mit den Oberflächenantigenen von Brucellen wie *B. canis* und *B. ovis*. Serologische Tests zum Nachweis einer dieser beiden Spezies müssen mit den jeweiligen Antigenen hergestellt sein.

Nach Impfung mit dem attenuierten Lebendimpfstamm von *Brucella abortus*, RB51, ist die serologische Standarduntersuchung negativ. Die meisten Proteinantigene sind bei allen Brucellenstämmen gleich, einige davon haben sie mit der *Ochrobacterium*-Spezies gemein. Der Immunoblot mit Proteinextrakten ist als differenzialdiagnostischer Test empfohlen, bislang ist jedoch kein validiertes Verfahren erhältlich.

Der Lebendimpfstoffstamm RB51 gegen *B. abortus* führt nicht zu einer Antikörperbildung, die in serologischen Untersuchungen mit Antigenen von glatten Brucellenstämmen nachweisbar sind. Diese Tatsache muss berücksichtigt werden, wenn serologische Verfahren zur Diagnose oder Verlaufskontrolle von Infektionen nach akzidenteller Exposition gegenüber dem Impfstoff eingesetzt werden. In Deutschland ist der Impfstoff weder in der Veterinär- noch in der Humanmedizin zugelassen.

BEHANDLUNG: BRUCELLOSE

Die antimikrobielle Therapie der Brucellose sollte die Behandlung der Infektion, die Beseitigung ihrer Symptome und die Verhinderung eines Rezidivs zum Ziel haben. Fokale Manifestationen können eine spezifische Intervention in Kombination mit einer prolongierten und angepassten antibiotischen Therapie erfordern. Darüber hinaus muss in jedem Fall eine Tuberkulose ausgeschlossen werden. Wenn dies nicht möglich ist, sollte zur Vermeidung einer Resistenzentwicklung unter der Annahme einer Tuberkulose eine antituberkulöse Monotherapie (z. B. mit Rifampicin) vermieden oder aber ein komplettes antituberkulöses Therapieregime verordnet werden.

Frühe Erfahrungen mit einer Streptomycinmonotherapie konnten zeigen, dass es darunter häufig zu Rezidiven kam, sodass sich eine Zweifachtherapie mit Streptomycin und einem Tetracyclin (in der Regel Doxycyclin) etabliert hat. Diese Form der Therapie ist nach wie vor die effektivste, jedoch kann es – gemäß den lokalen und nationalen Leitlinien hinsichtlich einer Rifampicin-Therapie bei Infektionen, die nicht durch Mykobakterien hervorgerufen sind – andere Empfehlungen geben. Bei den in vivo wirksamen antimikrobiellen Substanzen lässt sich die tatsächliche Wirksamkeit meist durch einen In-vitro-Test abschätzen. Allerdings sind zahlreiche *Brucella*-Stämme in vitro gegenüber einer ganzen Reihe von antimikrobiellen Substanzen wie den Betalaktamen sensibel, die therapeutisch unwirksam sind. Auch der Einsatz von Fluorchinolonen wird trotz guter In-vitro-Wirksamkeit und Leukozytenpenetration der meisten Substanzen dieser Klasse kontrovers beurteilt. Für die unzureichende Wirksamkeit dieser Medikamente ist vermutlich ein zu niedriger pH-Wert in den Vakuolen verantwortlich.

Die Therapiedauer einer akuten Brucellose (Krankheitsdauer < 1 Monat) des Erwachsenen ohne fokale Manifestationen beträgt 6 Wochen und beinhaltet wenigstens zwei antimikrobielle Substanzen. Komplexe Krankheitsbilder oder fokale Manifestationen sollten mindestens über 3 Monate behandelt werden. Die Therapieadhärenz ist dabei von großer Wichtigkeit, da sich nahezu alle Fälle eines Therapieversagens auf mangelnde Compliance zurückführen lassen. Sehr selten ist ein Therapieversagen auf eine Resis-

tenzentwicklung zurückzuführen, obwohl ein Therapiezentrum über zunehmende Resistenzraten gegenüber Trimethoprim-Sulfamethoxazol (TMP-SMZ) berichten konnte. Es gibt gute retrospektive Datenanalysen, die nahe legen, dass eine Zweifachtherapie über 3 Wochen einer Therapie über 6 Wochen bezüglich des Therapieerfolgs und der Rezidivrate bei Kindern nicht unterlegen ist. Dieses Ergebnis konnte bis zum heutigen Zeitpunkt jedoch noch nicht durch prospektive Studien belegt werden.

Als amerikanischer Goldstandard der Therapie einer Brucellose beim Erwachsenen gilt die Verabreichung von Streptomycin (750–1000 mg/d über 14–21 Tage i.v.) in Kombination mit Doxycyclin (2 × 100 mg/d über 6 Wochen). Klinische Studien und Beobachtungsstudien konnten zeigen, dass es unter diesem Regime in 5–10 % der Fälle zu einem Rezidiv kommt. Als Alternative (und Empfehlung der Weltgesundheitsorganisation) kann Rifampicin 600–900 mg/d in Kombination mit Doxycyclin (2 × 100 mg/d) über 6 Wochen eingesetzt werden. Unter Studienbedingungen konnte für dieses Regime eine Rezidiv- bzw. Therapieversagerrate von etwa 10 % ermittelt werden, die jedoch auf über 20 % außerhalb von Studien ansteigt, möglicherweise aufgrund einer verminderten Serumkonzentration und beschleunigten Ausscheidung von Doxycyclin durch die gleichzeitige Gabe von Rifampicin. Die Kombinationstherapie mit Rifampicin und Doxycyclin wird auch in Deutschland vom Robert Koch-Institut als Standardtherapie bei fehlenden Leitlinien empfohlen. Aufgrund des Wirkungsverlustes von Doxycyclin bei gleichzeitiger Gabe von Rifampicin ist ggf. eine Dosiserhöhung des Doxycyclins zu erwägen. Der Vorteil dieser Kombination liegt im Gegensatz zur Therapie mit Streptomycin/Doxycyclin in der oralen Verabreichung. Aufgrund der Studienlage mit besseren Therapieerfolgen unter der Streptomycin/Doxycyclin-Kombination ist auch diese Therapie in Deutschland empfehlenswert. Bei Kontraindikationen gegen Tetracycline (Schwangerschaft, Kindheit) kann alternativ eine Therapie mit hoch dosiertem TMP-SMZ durchgeführt werden (2 × 2- bis 3-fache Dosis in Abhängigkeit vom Körpergewicht).

Immer mehr Belege stützen die Gabe anderer Aminoglykoside als Streptomycin, wie Gentamicin (5–6 mg/kg/d über mindestens 2 Wochen), obwohl dieses Regime nicht von der US-amerikanischen Food and Drug Administration zugelassen ist. Eine kürzere Therapie führte bei Erwachsenen zu hohen Rezidivraten. Eine Therapie über 5–7 Tage mit Gentamicin in Kombination mit TMP-SMZ über 21 Tage ist vermutlich bei Kindern mit unkompliziertem Verlauf adäquat, allerdings sind noch prospektive Studien erforderlich, die diese Empfehlung bestätigen. Obwohl angenommen wurde, dass eine Therapie aus Ofloxacin oder Ciprofloxacin und Rifampicin über 6 Wochen beim Erwachsenen eine Alternative zu anderen sechswöchigen Kombinationstherapien darstellen könnte, waren die anfänglichen Erfahrungen mit Fluorchinolonen als Monotherapie enttäuschend. Die Ergebnisse einer umfangreichen Metaanalyse sprechen gegen den Einsatz von Fluorchinolonen als Kombinationstherapie der 1. Wahl und auch eine Konsensusgruppe (Ioannina-Gruppe) empfiehlt diese Substanzen nur im Rahmen gut angelegter klinischer Studien. Eine aktuellere Metaanalyse dagegen unterstützt den Einsatz der Fluorchinolone. Um ihren Stellenwert in der Standard-Kombinationstherapie endgültig zu beurteilen, ist eine prospektive Studie mit ausreichender statistischer Power notwendig. Die Dreifachtherapie aus Doxycyclin, Rifampicin und der anfänglichen Gabe eines Aminoglykosids war in einer Metaanalyse den Zweifachkombinationen überlegen. Das Dreifachregime sollte bei allen Patienten mit kompliziertem Verlauf sowie bei allen mit problematischer Compliance erwogen werden.

Signifikante neurologische Manifestationen einer Brucellose erfordern eine Therapie über 6–12 Monate, in der Regel mit der zusätzlichen Gabe von Ceftriaxon. Eine Brucellenendokarditis sollte mit mindestens drei Substanzen behandelt werden (einem Aminoglykosid, einem Tetracyclin und Rifampicin), wobei viele Experten zusätzlich Ceftriaxon oder ein Fluorchinolon als vierte Substanz hinzunehmen, um einen Herzklappenersatz nach Möglichkeit zu vermeiden. Die Behandlung sollte in der Regel über mindestens 6 Monate fortgesetzt werden, obwohl der klinische Endpunkt einer Behandlung kaum zu definieren ist. Im Falle einer Infektion von künstlichen Herzklappen bzw. eines künstlichen Gelenks ist in der Regel zusätzlich eine chirurgische Intervention nötig.

Es gibt keine evidenzbasierte Empfehlung für eine Prophylaxe nach Kontakt mit Brucellen (z. B. im Labor), einer versehentlichen Injektion eines für die Tierhaltung vorgesehenen Lebendimpfstoffes oder nach Exposition mit absichtlich freigesetzten Brucellen. Die meisten Behörden empfehlen im Falle einer Exposition mit niedrigem Infektionsrisiko (z. B. im Rahmen eines Laborunfalls) eine Therapie mit Rifampicin plus Doxycyclin über 3 Wochen, nach relevanter Exposition gegenüber Aerosolen oder versehentlicher Injektion von erregerhaltigem Material eine Therapie über 6 Wochen. Diese Therapien werden jedoch nur schlecht toleriert, sodass eine Monotherapie mit Doxycyclin gegebenenfalls ersatzweise verabreicht werden kann. (In Großbritannien wird mittlerweile die Monotherapie als Standard empfohlen, nicht aber in den USA.) Nach Exposition mit dem Impfstamm RB51 sollte nicht Rifampicin, sondern Doxycyclin gegeben werden, da RB51 resistent gegenüber Rifampicin ist. Bei möglicher oder gesicherter Schwangerschaft sollte nach einer signifikanten Brucellenexposition ein Expertenrat eingeholt werden.

PROGNOSE UND NACHSORGE

Ein Rezidiv tritt bei 30 % der Patienten mit mangelnder Compliance auf. Idealerweise sollten Patienten deshalb über 2 Jahre weiter betreut werden, um sie gegebenenfalls mit dem gleichen therapeutischen Regime über einen längeren Zeitraum erneut behandeln zu können. Ein guter Allgemeinzustand und ein konstantes Körpergewicht sprechen in der Regel gegen ein Rezidiv und sind aussagekräftiger als serologische Untersuchungen. IgG-Antikörpertiter (durch Standard-Agglutinationstest nachweisbar) können bis über 2 Jahre nach erfolgreicher Therapie in einem diagnostischen Bereich liegen. Titer, die mittels Komplementbindungsreaktion nachgewiesen werden, fallen gewöhnlich innerhalb eines Jahres nach Therapie auf normale Level ab. Eine Infektion hinterlässt keine protektive Immunität, sodass Reinfektionen nach wiederholter Exposition möglich sind. Weniger als 1 % der Patienten verstirbt an einer Brucellose. Fatale Verläufe werden in Zusammenhang mit einer kardialen und selten bei neurologischer Beteiligung beobachtet. Trotz der niedrigen Letalität verläuft die Genesung nach einer Brucellose häufig langsam und führt zu einer lang anhaltenden Immobilität des Betroffenen.

Das Vorkommen einer chronischen Brucelleninfektion nach erfolgreicher Therapie wird kontrovers diskutiert. Bei Verdacht auf eine chronische Brucelleninfektion (v. a. bei Patienten mit beruflicher Exposition) sollten ein Münchhausen-Syndrom, das Chronic-Fatigue-Syndrom sowie andere Ursachen für exzessives Schwitzen wie chronischer Alkoholabusus und Adipositas ausgeschlossen werden. Die Möglichkeit, Brucellenantigen oder -DNS nachzuweisen, wird in Zukunft dazu beitragen, eine chronische Infektion zu diagnostizieren.

PRÄVENTION

Attenuierte Lebendimpfstoffe von Brucella-Stämmen wie *B. abortus*-Stämme 19BA oder 104M sind in einigen Ländern zum Schutz von Hochrisikopopulationen eingesetzt worden. Sie zeichneten sich aber nur durch eine zeitlich sehr begrenzte Wirksamkeit aus und waren durch eine hohe Inzidenz an Nebenwirkungen gekennzeichnet. Subunit-Impfstoffe wurden ebenfalls entwickelt, können aber derzeit nicht empfohlen werden. Das öffentliche Interesse im Rahmen der Bioterrorismusexpedite hat die Forschung auf diesem Gebiet erneut angeregt (**Kap. 261e**) und wird möglicherweise zu neuen Produkten führen. In Deutschland ist der Impfstoff weder in der Human- noch in der Veterinärmedizin zugelassen. In der Veterinärmedizin ist in Deutschland der Einsatz des Impfstoffes sogar verboten, Laborpersonal wird nicht die Impfung, sondern nach Exposition eine antibiotische Prophylaxe empfohlen. Das wichtigste Standbein der veterinärmedizinischen Prävention beruht auf dem nationalen Engagement, Tiere auf eine Brucellose zu testen und im Falle einer Infektion die betroffene Herde zu schlachten (mit einer entsprechenden Entschädigung der Besitzer). Darüber hinaus sind die Kontrolle des Tierhandels und eine aktive Immunisierung der Tiere angezeigt. Diese Maßnahmen reichen in der Regel aus, um Infektionen von Menschen zu verhindern. Werden diese Maßnahmen nicht befolgt, ist eine Pasteurisierung aller Milchprodukte vor dem Verzehr ausreichend, um eine Infektion des Menschen durch tierische Produkte zu verhindern. Alle Fälle einer Brucelleninfektion bei Mensch und Tier sollten umgehend den entsprechenden Gesund-

heitsbehörden gemeldet werden. In Deutschland ist jeder akute Fall einer Brucellose, mit direktem oder indirektem Nachweis von *Brucella* spp., nach § 7 Abs. 1 Nr. 4 des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) namentlich meldepflichtig. Zudem muss nach § 5 Abs. 1 in Verbindung mit Nr. 38 der Anlage 1 der 7. Berufskrankheiten-Verordnung bei begründetem Verdacht auf eine Brucellose als Berufskrankheit diese der Unfallversicherung bzw. der zuständigen Stelle des medizinischen Arbeitsschutzes angezeigt werden.

DANKSAGUNG

Die Autoren danken Dr. Adrian M. Whatmore für die Durchsicht des Manuskripts.

WEITERFÜHRENDE LITERATUR

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC): <http://www.cdc.gov/brucellosis/>

ROBERT KOCH-INSTITUT (RKI): <http://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/B/Brucellose/Brucellose.html>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO): <http://www.who.int/zoonoses/diseases/brucellosis/en/>