

布魯氏菌病

Brucellosis

R516.7
SCE

102421

宁夏人民出版社

布 鲁 氏 菌 病

主 编

孙承恩 马恒之 殷善述

宁 夏 人 民 出 版 社

(银川市解放西街105号)

编 者

孙承恩	马恒之
殷善述	黄 健
马 丁	李碧波
戚汉君	史丕裕
白林秀	崔景庭

布鲁氏菌病 主编： 孙承恩 马恒之 殷善述

宁夏人民出版社出版

(银川市解放西街105号)

宁夏新华书店发行 内蒙古卫生厅三环印刷厂印刷

开本：787×1092 16/1 印张：21.25 字数：545千字

1985年10月第一版第一次印刷 印数：00,001—8,000

统一书号：14157·40

定价：4.65元

前 言

本书第一版由“九三”学社宁夏筹委会出版，出版后得到全国布防专家们和专业人员的关怀与支持，并提出了许多宝贵意见。我们根据这些意见，又进行了修改与补充。并积极筹备第二版的印刷。在第二版的筹备中，不仅又得到“九三”学社宁夏筹委会多方面的帮助和支持同时宁夏地方病防治所、宁夏兽医防疫总站、内蒙地方病防治研究所、内蒙畜牧兽医总站、新疆畜牧兽医总站、农牧渔业部兽医药品监察所、卫生部生物制品检定所等单位提供了丰富的资料，并给予指导。宁夏区党委防治地方病领导小组付组长——刘伦秀同志，在百忙中对本书进行了审阅，对此我们一并表示感谢。

在第二版的编写中，我们一方面接受了全国布防专家、学者和专业人员提出的指导性建议；同时还特别邀请了农牧渔业部兽医药品监察所殷善述付研究员，卫生部生物制品检定所黄健主任等6人参加了编写。但由于时间仓促，难免还有许多不妥、乃至错误之处，敬请各位专家、学者和同行继续给予指导。我们表示热忱谢意。

目 录

第一章 布鲁氏菌病病原学

第一节	历史概况	(1)
第二节	病原分类	(1)
第三节	布鲁氏菌的种和属的特性	(2)
第四节	布鲁氏菌的抗原结构和毒力	(9)
第五节	布鲁氏菌的变异	(11)
第六节	布鲁氏菌噬菌体	(12)
第七节	布鲁氏菌的抵抗力	(17)
第八节	布鲁氏菌的致病力	(18)
第九节	布鲁氏菌的实验室检查方法	(19)
第十节	布鲁氏菌和其它革兰氏阴性菌的鉴别	(39)
第十一节	布鲁氏菌的浓度测定	(41)

第二章 布鲁氏菌病的免疫

第一节	特异性免疫	(48)
第二节	布鲁氏菌的抗原	(54)
第三节	变态反应	(57)
第四节	非特异性免疫	(59)

第三章 布鲁氏菌病的免疫诊断

第一节	抗原与抗体反应	(62)
第二节	凝集反应	(63)
第三节	沉淀反应	(84)
第四节	补体和补体结合试验	(88)
第五节	酶联免疫吸附试验 (ELISA)	(97)
第六节	放射免疫测定	(109)
第七节	细胞免疫功能的测定	(114)

第四章 人类布鲁氏菌病的流行病学

第一节	布鲁氏菌病的流行概况	(133)
第二节	人类布鲁氏菌病的传染源	(141)

第三节	布鲁氏菌病的传播因子和传播途径	(146)
第四节	人对布鲁氏菌的感受性	(150)
第五节	布鲁氏菌病的流行病学特徵	(150)
第六节	布鲁氏菌病的流行病学調查	(157)

第五章 人类布鲁氏菌病的临床和治疗

第一节	病因与发病机理	(162)
第二节	布鲁氏菌的临床表现和病理变化	(168)
第三节	布鲁氏菌病的诊断和鉴别诊断	(175)
第四节	布鲁氏菌病的临床分类	(178)
第五节	布鲁氏菌病的治疗	(181)
第六节	关于其它型布鲁氏菌病	(188)

第六章 祖国医学论布鲁氏菌病

第一节	祖国医学对布鲁氏菌病的病因、病理认识	(191)
第二节	祖国医学对布鲁氏菌病的诊断	(191)
第三节	祖国医学对布鲁氏菌病的论治	(192)
第四节	中医对布鲁氏菌病的争鸣	(196)
第五节	各地对布鲁氏菌病治疗方法介绍	(197)

第七章 人类布鲁氏菌病的预防

第一节	国际上采用的主要防制措施	(202)
第二节	我国采用的防制措施和防制效果	(203)
第三节	两种防制布病技术措施和效果的研究	(203)
第四节	其它技术措施和组织措施(切断传播途径)	(205)
第五节	畜群和人群的菌苗特异性免疫	(208)
第六节	布鲁氏菌病的疫情监测	(212)

第八章 家畜布鲁氏菌病的流行病学

第一节	家畜布鲁氏菌病在世界各地的流行情况	(232)
第二节	家畜布鲁氏菌病的流行特点和经济意义	(240)
第三节	动物的易感性和自然传染循环环节	(243)
第四节	家畜布鲁氏菌病的传播因子和传播途径	(247)
第五节	影响本病发生、发展的因素	(249)

第六节 关于家畜布鲁氏菌病的自然周期.....	(250)
-------------------------	-------

第九章 家畜布鲁氏菌病

第一节 发病机制.....	(251)
第二节 家畜布鲁氏菌病的病理变化.....	(253)
第三节 各种家畜布鲁氏菌病的临床表现.....	(264)
第四节 家畜布鲁氏菌病的实验室诊断.....	(270)
第五节 布鲁氏菌病与其它有流产症状疾病的鉴别.....	(288)
第六节 家畜布鲁氏菌病的治疗.....	(291)

第十章 家畜布鲁氏菌病的防制

第一节 家畜布鲁氏菌病的防制原则.....	(292)
第二节 畜用疫苗和预防接种问题.....	(293)
第三节 各种家畜布鲁氏菌病的具体防制办法.....	(309)

附录:

附件(一) 防治布氏杆菌病暂行办法.....	(313)
附件(二) 人布鲁氏菌病的诊断和治疗效果判定试行标准.....	(315)
附件(三) 家畜布鲁氏菌病试管凝集反应技术操作规程及判定标准.....	(317)
附件(四) 家畜布鲁氏菌病平板凝集反应技术操作规程及判定标准.....	(320)
附件(五) 家畜布鲁氏菌病补体结合反应技术操作规程及判定标准.....	(322)
附件(六) 乳牛布鲁氏菌病全乳环状反应技术操作规程及判定标准.....	(329)
附件(七) 羊布鲁氏菌病变态反应技术操作规程及判定标准.....	(330)
附件(八) 布病疫区(以县为单位)鉴定和考核暂行规定.....	(331)
附件(九) 布鲁氏菌病试验室制度.....	(332)

第一章 布鲁氏菌病病原学

第一节 历史概况

自1887年Bruce从死于“马尔他热”的英国士兵脾脏中分离出羊种布鲁氏菌以后，在近一百年的时间里，先后分离到近万株细菌，已将其分为6个种20个生物型。目前就病原学本身所涉及的内容，如：分类、菌型、形态、培养特性、抗原结构、毒力以及噬菌体等，都已进行较深入的研究。下面我们就病原的发现历史上几个重大事件作一扼要的叙述。

1887年英国Bruce首先发现羊种布鲁氏菌 (*Br. millitensis*)。

1897年丹麦Bang由流产母牛的羊水中分离到牛流产杆菌，即牛种布鲁氏菌 (*Br. abortus*)。

1914年美国Traum从传染性流产猪胎儿中分离到猪种布鲁氏菌 (*Br. suis*)。

1920年由Meyer将牛、羊、猪三种菌同归于布鲁氏菌属。

1953年在新西兰由Buddle从患有绵羊睾丸炎的公羊中分离到绵羊副睾种布鲁氏菌 (*Br. ovis*)。

1956年美国Stoenner和Lachman在美国西部沙漠森林野鼠中分离到沙林鼠种布鲁氏菌 (*Br. Neotomae*)。

1966年由Canmichael从猎犬中分离到犬种布鲁氏菌 (*Br. Canis*)。

第二节 病原分类

1927年首先由Huddleson提出根据最初的三种菌初代培养对 CO_2 的需要， H_2S 的产量和对阿尼林染料的敏感程度，提出牛、羊、猪三个型别的分类方案，奠定了今天分类的基础。

1957年Huddleson又提出分为七个生物型的方案。1961年Mayer又建议将氧化代谢和牛种布鲁氏菌噬菌体Tibilis作为分类方法，因而在1962年举行的第八届国际微生物学会议上，布鲁氏菌命名委员会把布氏菌分为三个种，15个生物型，即牛种布鲁氏菌有9个生物型，羊种和猪种各有3个生物型。

到1970年由于新的菌被发现，不能用上述分类包括进去，故在国际细菌命名会上将布鲁氏菌分为6个种19个生物型。

1972年又将猪种增加1个粗糙型，而成为目前实际应用的6个种20个生物型。(见下表1-1)

布鲁氏菌各种的生物I型为种的代表性株(标准株)，这些株在美国、英国和中国都有固定的编号(见表1-2)。

关于布鲁氏菌属鉴定所采用的标准,在国际微生物分类委员会介绍的方法中有详细说明,在鉴定时首先对菌株形态、培养、代谢及血清学特性检查,而对非典型株要根据测定脱氧核糖核酸嘌呤——嘧啶碱基的构成和核酸的顺序,用电泳图谱测定,用酚醋酸提取的可溶性蛋白的电泳图谱,以及对细胞色素a₁c₁中的吸收光谱和测定与参考株是否有共同的细胞内抗原成份存在才能确定,另外,测定脂肪酸甲酯可作为辅助性鉴定方法。

噬菌体裂解试验和氧化代谢试验均用于布鲁氏菌种的鉴定,噬菌体对布鲁氏菌的裂解是特异的,可作为种的鉴定。而对CO₂的需求对染料的敏感性,H₂S的产生,尿素酶的活性和单相特异因子血清的凝集反应检查,都是常规方法,不仅作为种的鉴别,对生物型的鉴别也是有意义的。

第三节 种和属的特性

布鲁氏菌是微小无动力的球杆菌,或短杆菌,革兰氏染色阴性,形态为棒状或表面稍突起。其宽为0.5—0.7μm,长为0.6—1.5μm,电子显微镜下见到羊种菌为明显的球杆状,而牛、猪种为短杆状。形态不是固定不变的,当环境因素变化时,如牛种菌在人体内或新鲜培养物中,为球形。而在陈旧培养物中,可见到很多杆形形态。

涂片检查多为单个排列,很少见有成对,短链状或串状排列,不形成荚膜、芽胞或鞭毛,但有人认为在不良条件下可形成荚膜样物质或荚膜样结构,这些物质证明是由多糖和少量的蛋白质组成。

布鲁氏菌可被碱性染料着色,革兰氏染色为阴性,姬姆莎染色呈红色,它比其它菌更难被阿尼林染料染色,这是由于布鲁氏菌对该染料的吸附过程较缓慢的缘故。因此柯兹罗夫斯基(1936)建议延长标本与染料接触时间,用加温方法促使着色,并用两种染料先后染色以鉴别其它菌。

布氏菌为需氧菌,但很多菌株需要CO₂(5—10%)环境,尤其在初代分离时,最适生长条件为PH6.6—7.4,最适培养温度为36—37°C。它生长缓慢,尤其从机体刚分离出来的最初几代。

布鲁氏菌具有完整的营养需求,但不液化明胶,不凝固牛乳,不产生胰凝乳素,可使硝酸盐还原成亚硝酸盐。可产生H₂S。在液体培养基中不形成菌膜。

在琼脂平板上生长的布鲁氏菌菌落为无色透明、圆形、表面光滑和隆起均质样,在菌落中央常有细小颗粒。最初菌落为透明状,以后渐混浊。在培养条件改变时,菌体和菌落都可发生改变,可以见到粘液样菌落。

一、羊种布氏菌:

不需要CO₂,在蛋白胨培养基上不产生H₂S,或产量极微,通常能在含有碱性复红或硫黄的培养基上生长,分解尿素,光滑型菌株与M、A或A和M单相特异性抗血清发生凝集(与生物型有关),不被常规稀释度或10⁴(×RTD)稀释度的Tb噬菌体裂解。

布鲁氏菌的种和生物型的特性表

表 1-1

种	生物型	对CO ₂ 的需要	H ₂ S的产生	在染料中的生长				凝集反应			噬菌体分裂 10 ⁴ × RTD	代谢试验			常见的宿主	
				硫		复	红	单相血清抗A	粗血清抗M	谷氨酸		鸟氨酸	核糖	赖氨酸		
				1:2.5万	1:5万											1:10万
羊种	1	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	山羊、绵羊
	2	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	" " " "
	3	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	" " " "
	1	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	" " " "
	2	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	牛
牛种	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
	4	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
	6	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
	7	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
猪种	8	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	"
	9	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	"
	1	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	猪
	2	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	猪
	3	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	猪、野兔
沙林鼠种 绵羊副种 犬种	4	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	猪
	5	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	野鼠
	种	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	野鼠
	种	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	沙漠森林鼠
	种	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	公绵羊
犬种	种	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	犬

表 1—2

布鲁氏菌属各种生物型代表性菌株名称和国家编号

种	生物型	代 表 性 菌株名称	国 家 编 号		
			中 国	(ATCC) 美 国	(NCTC) 英 国
羊	1	16M	55210	23456	10094
	2	6319	55228	23457	10508
	3	EFher	55229	23458	10509
牛	1	544A	55212	23448	10093
	2	86/8/59	55230	23449	10501
	3	Tulya	55231	23450	10502
	4	293	55237	23451	10503
	5	B3196	55232	23452	10504
	6	870	55238	23453	10505
	7	63/75	55233	23454	10506
	8	—	—	—	—
	9	C68	55234	23455	10507
猪	1	13305	55213	23444	10316
	2	Thomser	55235	23445	10516
	3	686	55239	23446	10511
	4	40	55240	23447	—
沙 林 鼠		5 K 33	55224	23459	10084
绵 羊		63/290	55225	25840	10512
犬		RM6/66	55226	33365	—

ATCC (The American Type Cultures Collection)

美国标准菌株贮藏中心

NCTC (The National Collection of type Culture)

英国国家标准菌株贮藏中心

牛种布鲁氏菌：通常生长需要5—10%的CO₂，特别是初次分离时，需高浓度CO₂。通常分解尿素，产生中等量的硫化氢，但有些株不产生H₂S，在复红培养基上生长，有的株也能在硫堇培养基上生长，而有些可被两种染料所抑制，常以A抗原为主，光滑型或中间型培养物可被Tb噬菌体裂解。

猪种布鲁氏菌：需氧，产生大量的H₂S或不产生H₂S，不需要CO₂，能迅速水解尿素，能在硫堇培养基上生长。但通常被复红抑制，有些菌株可在两种染料培养基上生长，光滑型菌株通常与A单相特异性抗血清发生凝集，而有些菌株可以与M或A和M单相特异因子血清凝集，这取决于不同生物型。光滑型菌株不被Tb噬菌体所裂解，而只能部分地被10⁴RTDTb噬菌体裂解。

沙林鼠种布鲁氏菌：不需要CO₂，产生H₂S，能迅速分解尿素，在碱性复红培养基上不生长，但能在硫堇培养基（1：5万）中生长，光滑型菌株，有A表面抗原，有与A血清凝集，光滑型菌株能被RTD的Tb噬菌体完全裂解。

绵羊付宰种布鲁氏菌：需5—10%CO₂环境中生长，不产生H₂S，粗糙型布氏菌，不与A、M因子血清凝集，但可与粗糙型血清凝集。

犬种布氏菌：不需要CO₂，能迅速水解尿素，不产生H₂S，通常还原硝酸盐，但有些则否，可在硫堇培养基中生长，但在复红培养基中不生长。初代分离为粗糙型菌，或粘液型，不与A、M因子血清凝集，但能与粗糙型抗血清凝集，与绵羊付宰种等粗糙型抗血清发生交叉凝集反应，不被Tb噬菌体裂解。

※布鲁氏菌属分类的最新动向

1982年在美国波士顿召开了第13届国际微生物学会议，同时也召开了布鲁氏菌分类学分会。与会代表介绍了一些近期研究的布鲁氏菌分类学资料。大会对此作了讨论，并提出建议。在分类学上主要有以下几个问题：

二、猪种布鲁氏菌新生物型的建立

Vershilova (1980) 首先报导：在苏联高加索北部山麓某些鼠类中分离到的菌种，由Taran等人作了研究。初步证明为布鲁氏菌。而主要的生物学特性与猪种布鲁氏菌相似。Corbel等(1982)对澳大利亚和苏联从啮齿类动物中分离的这类菌种性质作了比较观察。指出这类菌种与已知的布鲁氏菌生物型在某些方面是有区别的。了解这类菌种的目的，在于研究它们对引起家畜和人群感染，是否作为一种潜在的自然疫源菌，作者对其提取物经聚丙烯酰胺圆盘电泳证明：其蛋白成份和牛种、羊种、猪种布鲁氏菌无差别。免疫电泳证明其与标准菌种有内源性共同抗原。澳大利亚菌种（下称澳种）与单相A血清凝集，苏联菌种（下称苏种）与M血清凝集。用分群噬菌体作裂解试验，均符合于猪种布鲁氏菌的裂解图相。氧化代谢试验表明：它们与猪3型菌相近。澳种对1：50000复红也能生长。概言之澳种是适于啮齿动物的，一般特性与猪3型菌稍有变异的布鲁氏菌。而苏种与各生物型都不一致，并对其流行区啮齿动物有较强的毒力。作者认为可列入猪种布鲁氏菌的一个新生物型菌种。Vershilova等(1982)将这类菌种三株菌制成

LPS。与已知的猪种S40、羊种M565和牛种A99的LPS在化学组成、理化特性和免疫活性等方面作了对比。证明这三株菌与猪种布鲁氏菌(S40)更为相近。作者推想认为是猪种的一个新生物型,作者还将1959—1981年间收集的66株这类菌种作了常规以外的其他一些试验。如对派洛林(B)沙黄(T)、龙胆紫和结晶紫染料的抵抗力试验;分群噬菌体裂解的敏感性试验以及氧化代谢的测定等。它们的特性表现为:除与猪种布鲁氏菌相近的特性外,其与M血清凝集、对派洛林、沙黄、龙胆紫和结晶紫高度敏感,尿素酶活性低,可氧化L—天冬酰胺、L—谷氨酸、L—精氨酸、L—赖氨酸、DL—鸟氨酸、DL—瓜氨酸、D—葡萄糖、D—木糖、i—赤藓醇、D—核糖。不氧化侧金盏花醇、L—阿拉伯糖、D—半乳糖和L—丙氨酸。为此作者认为这类菌种应作为猪种布鲁氏菌的一个新生物型。在1982年第13届国际微生物学会布鲁氏菌分类学分会上,大家一致同意将这类菌种列为猪种布鲁氏菌的第5生物型。

三、某些猪种布鲁氏菌对染料的抵抗力

Corbel等(1982)从英国兽医中心实验室菌种库中,得到25株布氏菌。这些菌株来自阿根廷的14株,哥伦比亚的6株,其他来自别的国家。菌株绝大部分从人血培养获得,少量从家畜中分离。以标准菌种为对照,对这25株菌作了全面检定。除一般常规检查外,还作了氧化代谢测定、分群噬菌体裂解试验,对派洛林、孔雀绿、甲基紫、硫堇和沙黄等染料抑菌试验。由一般试验结果证明:这25株菌属于布鲁氏菌,对噬菌体的敏感图相,和有着很强的尿素酶活性,可判定为猪种布鲁氏菌。氧化代谢测定结果,亦与此相符。再从产生 H_2S 的强度可定为猪1型菌。但它们对复红、孔雀绿、甲基紫和沙黄(大部分菌种)对染料是有抵抗力的,在这方面和猪1型菌不同。作者建议将这类菌种列为一个新的生物型,或修改猪1型菌的定义。但1982年布鲁氏菌分类学分会上建议:在鉴定菌种时,应把对染料有抵抗力的猪1型菌于分类表的脚注下注明。

表 1—3 待检菌与标准菌对各染料的抵抗力比较

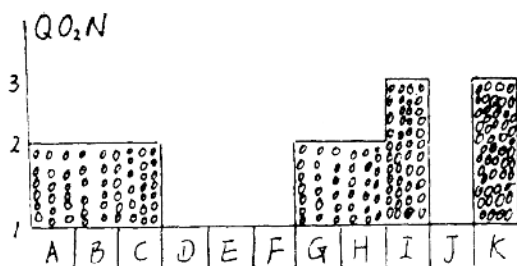
猪 种 菌	硫堇	复红	派洛林	孔雀绿	甲基红	硫堇兰	沙黄
1 型 菌	+	-	+	-	-	+	-
2 " "	+	-	+	-	±	+	±
3 " "	+	+	+	-	±	+	±
4 " "	+	-	+	-	+	+	±
待检菌(25株)	+	+	+	+	-	+	+
	(25/25)	(25/25)	(25/25)	(24/25)	(1/25)	(25/25)	(15/25)
							(10/25)

四、牛种3和6型菌并为牛3/6型菌

Tolari等(1982)从乍得、塞内加尔、意大利、土耳其、埃及、印度、南罗德西亚、英国等收集到87株布氏菌种。这些菌种大部份是从牛体中分离的。除按常规法进行试验外,还作了补充试验。选用其中6个菌,提取蛋白成份,经聚丙烯酰胺圆盘电泳测定,其与牛种布氏菌的蛋白成份完全一致。选用其中9个菌种,氧化代谢测定的结果,亦和牛种布氏菌基本相同。全部菌种的一般特性,与牛3型或牛6型菌是一致的。即生长时不需 CO_2 、对硫堇和复红都有抵抗力,能与单相A血清凝集,不与M或R血清凝集,全部菌种能被Tb、Fi、Wb、BK₂、R和R/O的噬菌体(RTD)所裂解,但不被R/C株裂解;此外,对沙黄、甲基紫、孔雀绿等染料亦有抵抗力。所有菌种对fucidin、framycetin, Carbeniclin等药物敏感。按WHO原来规定的判定为牛3和牛6型菌的标准是:对 CO_2 的需要, H_2S 的产生和1:25,000硫堇的抑菌作用。但这87株菌中无一需要 CO_2 ;作者自1968年以来保存的被认为牛3型的菌种计有324株,需要 CO_2 的仅62株(19%)。说明以是否需要 CO_2 作为生物型鉴别的标准并不可靠。另外, $\text{H}_2\text{S}(-)$ 的菌株仅3.4%,对硫堇敏感的为17.2%,亦说这些条件不足以作为划分生物型的标准。由此表明牛3型和6型的生物学特性是相似的,故可不必分为两个生物型,考其历史原因,可能过去的分型试验仅就局部地区少量菌种鉴定结果所确定的,很明显,现在这类菌种在非洲传播很广,牛3和牛6型无严格差别。在1982年的分类学会议上同意将此两个生物型合并为一个型——称之为3/6型。

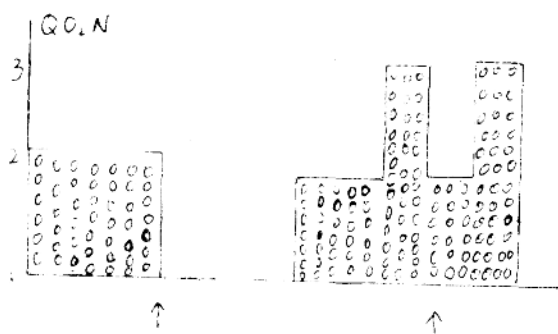
五、异型牛种布氏菌

Verger等(1984)自1976年以来,收集了从非洲分离的273株菌。这些菌种在塞内加尔分离的213株,多哥的30株,其余是由另一些国家中分离的。绝大多数从当地牛体中分离。对这些菌株就其形态学、生化特性、对噬菌体的敏感性、血清凝集试验等检定,证明属于布氏菌。而269株为牛3/6型,另4株为牛1型(摩纳哥2株,塞内加尔1株,卢旺达1株)。但多哥、塞内加尔和肯尼亚菌株有两个方面表现出与正常布氏菌不同的特性。即氧化代谢的图相和生长特点不同。作者将细菌在氧化代谢试验中,就其对基质的耗氧量分为三级水平:1级, $\text{QO}_2\text{N} < 100$; 2级, $100 = \text{QO}_2\text{N} < 200$; 3级, $\text{QO}_2\text{N} > 300$ (QO_2N = 每毫克氮每小时消耗氧的微升数)。各生物型的牛种标准菌种,其氧化代谢试验图相为:对L-精氨酸、DL-鸟氨酸、L-赖氨酸和L-木糖的 QO_2N 值为1级;对L-谷氨酸、L-丙氨酸、L-天冬酰胺、L-阿拉伯糖和D-半乳糖的 QO_2N 值为2级;对D-核糖和赤藓醇的 QO_2N 值为3级与此相比,多哥、塞内加尔、肯尼亚菌种的氧化代谢试验中图相不同之处是对4个基质的耗氧量有明显差别。即对L-天冬酰胺、L-阿拉伯糖和D-半乳糖不氧化,而却能2级氧化D-木糖。另外,卢旺达菌种也有两处不同。即不氧化天冬酰胺和2级氧化D-木糖。而摩纳哥菌种则与标准牛种菌的图相完全一致。详见下图。

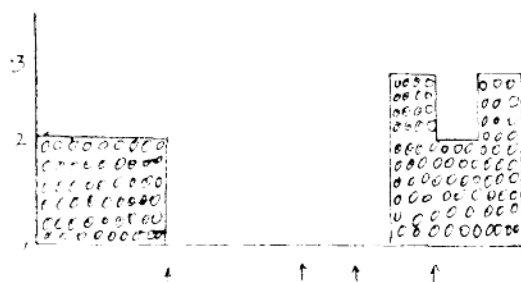


标准牛种菌

- A L-谷氨酸
- B L-丙氨酸
- C L-天冬酰胺
- D L-精氨酸
- E DL-鸟氨酸
- F L-缬氨酸
- G L-阿拉伯糖
- H L-半乳糖
- I D-核糖
- J D-木糖
- K esd-赤藓醇



产氢达菌种



多哥塞内加尔菌种

QO_2N ($\mu lO_2/mgN/h$)

- 1 $QO_2N < 100$
- 2 $100 \leq QO_2N < 300$
- 3 $QO_2N \geq 300$

图: 1—1 不同菌种氧化代谢的不同图像

这类菌种的另一个特点是：菌种培养在常用的培养基上生长缓慢。从观察生长动态的结果表明：其缓慢性是由于细菌在对数生长期和生长率图相方面，与标准菌种A544相比，有着显著的量的不同。细菌对数生长期，与细菌分裂到一定量时，细胞建造基质中间物和形成相应酶类所需的时间相关。在这方面，与标准菌种A544相反，其对数期主要受培养基营养成分丰富与否的支配。即培养基营养愈差，细菌对数生长期越长，这可能是极度缺乏酶或辅酶而影响细菌的生长，因在细胞分裂时，首先必须合成构造细菌化学组合所需要的大量酶类，即使用营养丰富的培养基，多哥菌种80—26株的对数生长期仍稍长于标化菌种A544的对数期，这也表明多哥菌种所含酶类是不足的。特异生长率 (Specific growth rate) 与细菌对数生长期相关，发现多哥80—26株的最大生长率为A544株的一半，但尚不知多哥菌种在这方面具有重要的是什么样的内在特性。

在1982年的分类学分会上，大家认为这类菌种的差异性不足以证明不属牛种布氏菌，故此作为牛种菌的种的定义目前无需修改。

表 1 - 4 标准菌与多哥菌生长参数比较

菌种	培养基	生长参数		
		对数期	特异生长率	倍量生长
牛种布氏菌 A544	TSPYS	2.4	0.27	2.57
	TSPY			
	TSP			
牛种布氏菌 80—26	TSPYS	2.8	0.14	4.95
	TSPY	6.4		
	TSP	14.4		

第四节 布鲁氏菌的抗原结构和毒力

(参见布鲁氏菌特异性免疫的抗原节)

布鲁氏菌的抗原成份是复杂的，目前还不可能把它搞清楚。一方面是组成成份复杂，同时还由于这些抗原成份的抗原决定簇及其结构非常复杂，很难得到一种纯的物质，因而难以对其结构进行分析，自从1932年Wilson和Miles首先提出光滑型布鲁氏菌有M和A两种抗原成份，Olitzki1933年再次从血清学上证明A抗原对牛种菌有特异性和M抗原对羊种菌有特异性，并证明它们之间的比是牛种菌的M:A=1:20，羊种菌的M:A=20:1，猪种介于中间，但至今仍不太清楚A和M是一种什么样的物质结构。Miles

等人1939年提取一种具有特异性的抗原性物质,它是由磷脂(PL)、精氨酸一肽(AP)、含酪氨酸和色氨酸(S)成份组成的(PL、AP、S)。AP成份对动物有毒力,而且被认为是A和M抗原成份。

随着以后琼脂扩散和免疫电泳技术的应用,对各种方法提取的抗原进行分析测定,最多的可以看到9—11条沉淀线,用圆盘电泳甚至可以见到20条以上的区带,但不同作者,所得到的抗原和所显示的沉淀线,还没有人能将它们统一起来。

有的作者报道采用超声粉碎布鲁氏菌提取抗原,发现有两种抗原存在,一种为布鲁氏菌细胞壁上存在的抗原;另一种为糖脂多肽抗原(Glucide—lipide Polypeptide GLP)。Roux(1961)认为GLP和AP成份相似。这种东西具有毒力,但不引起豚鼠死亡,等等。相当一段时间以来,对抗原成份研究的文章,是比较多的,抗原名称也繁多,但比较多的看法认为,脂多糖抗原存在于凝集反应,半抗体试验,和补体结合试验中,而且用脂多糖抗原,可以从血清中将其特异性抗体吸收,同时也证明,粗糙型菌和光滑型菌细胞之间的唯一差别是前者缺乏光滑型菌的特异性脂多糖抗原,Daiz认为脂多糖存在于细胞表面,并认为它就是A+M抗原,另外还有一种各种菌都共同的胞浆中的一种多糖B,也可能与脂多糖前体有关,而脂多糖本身就是一种很复杂的物质。

另外,值得提出的是,现行的免疫学研究方法,所用的抗体(谱),不一定能完全和所研究的抗原相对应。例如:Daiz1965年报道他用已诊断的病人血清作凝胶扩散试验,26人中,21人查到抗体,且出现沉淀线数为5—11条不等。而出现沉淀线数并不和血清凝集反应平行。

相当多的作者在作抗原成份分析时,一般还要作毒力和免疫原性测定,根据现有材料来看,毒力和免疫原相伴随,似乎是可分的,但也相当难,若是可分的话,我们就有可能提取无毒成份作为菌苗的使用。

那么毒力到底是什么成份呢?笼统地讲毒力是与该菌的传染性、侵袭力、荚膜形成力、细菌的酶系统活性、形成毒素能力和内毒素等有关。目前已经知道,布鲁氏菌对完整的粘膜和皮肤的侵袭作用与布鲁氏菌产生透明酯酸酶有关,细菌可以很快扩散到其它部位,使引起一连串移行病变。Roux认为布氏菌细胞内存在一种有毒的脂类,牛、猪型的比羊型多,故牛、猪型菌能引起严重的局部反应而羊型菌的较轻。还有人在实验室观察过氧化氢酶与毒力的关系,他们认为,由于布鲁氏菌为严格的需氧菌,所以过氧化氢酶不仅仅是起着保护细菌本身抵抗过氧化氢作用,而且有助于细菌周围的氧能维持一定水平。现在已知道,布鲁氏菌是不产生外毒素的,只产生内毒素——存在于细胞壁的一种类脂多糖物质。内毒素有致热作用,影响血液循环,可导致休克,可使血液凝固,影响宿主的糖和脂类代谢降低机体的抵抗力,加重局部的炎症反应和全身感染作用。而小剂量的内毒素可刺激机体增加抗感染能力。看来,内毒素也不能完全解释布鲁氏菌的毒力,因为粗糙型菌和光滑型菌之间主要区别是细胞壁表面的脂多糖存在与否,已经知道的绵羊付宰种和犬种布鲁氏菌都是有毒力的菌,而且是粗糙型。