

BRUCELLOSIS

王积禄

主编

谈克毅

布氏杆菌病

6.7

甘肃民族出版社

94
R516.7
1
2

布氏杆菌病

王积禄 谈克毅 王基扶 编著
李应寿 党同喜

XK914P102



3 0109 4824 2

甘肃民族出版社
GANSU NATIONALITIES PUBLISHING HOUSE



C 054352

(甘)新登字第02号

布氏杆菌病

王积禄 波克毅 王基扶 编著
李应寿 党同春

甘肃民族出版社出版
(兰州第一新村81)

甘肃省新华书店发行 兰州新华印刷厂印刷

开本787×1092毫米1/32 印张7.25 字数148,000

1993年5月第1版 1993年5月第1次印刷

印数: 1—500

ISBN 7-5421-0213-3/R·30 定价: 3.20元

序 言

布氏杆菌病是人、畜共患的主要传染病之一，在我国牧区和农区普遍存在，造成的经济损失非常严重，国家业已列为重点防治病之一。

本书的主要编著者从事传染病的诊断、防治均已数十年之久，尤擅长于布氏杆菌病的诊治，具有丰富的实践经验。多年来，编著者深感欲控制和消灭国内的布氏杆菌病，首先需提高专业技术人员的素质和业务能力，改进诊断技术及防治效果，实乃当务之急。布氏杆菌病被发现已有一个多世纪，国内外有关本病的文献繁多，但国内尚少有人作过系统全面的整理，加之实际的防治经验总结，更是寥寥无几。为了满足人医、兽医、防疫、诊断、教学、科研人员和基层同志的求知欲望和工作参考，此本专业参考书实有一定的价值。

该书共分为十个方面进行了布氏杆菌病的叙述，包括布氏菌的生物学性状、分类、种型间鉴别、免疫性、微生物学和血清学诊断、预防和治疗等。取材内容比较丰富新颖，解说透彻，特别是病原、免疫机理、诊断方面，搜罗了许多最新文献中的精华，并系统地作了阐述。

众所周知，要研究布氏菌的特点，首先对布氏菌要进行正确的分类，这对分析布氏杆菌病的流行病学、制定防治措施等，都具有十分重要的作用。该书对世界卫生组织推荐的分类型鉴定方法也作了介绍。在诊断方法中，也介绍了近年来引

人注目的虎红平板试验，具有特异、敏感和快速等优点，已被英、美、法、澳等国列为人、畜布氏杆菌病常规方法之一，此种诊断方法也被国内人、兽医专家所肯定。

该书还编进了十一个附录，载有各种血清学诊断反应的操作方法等，可供从事布氏杆菌病诊断、防治工作者的参考。

农业部兽医生物制品规程委员会委员 王灿成
农业部兰州兽医生物药品厂监察室主任

前 言

布氏杆菌病（以下简称布病）是人、畜共患的一种传染病。在我国的农牧区，布病对人民的健康和畜牧业的发展，危害甚大。建国后，党和政府非常重视布病的防治工作，建立专业机构，培训技术人员，制定防制措施，从而取得了显著成绩。截止目前为止，全国已有半数以上的疫区县（市）达到控制布病的标准。当前，为适应四个现代化建设的需要，必须大力发展畜牧业，而防治布病则是一项很重要的工作。为了更好地配合各地布防工作的开展，我们编写的这本《布氏杆菌病》一书，可供医务工作者和畜牧兽医人员参考。本书在内容和论述上，突出了实际应用知识，比较系统的介绍了常用实验诊断方法，内容上力求编入较新材料。本书在编写过程中，得到甘肃省畜牧厅、兰州市科学技术协会的大力支持，谨此致谢。

限于编者的业务水平，加之时间仓卒，书中定有许多不妥之处，敬请读者不吝指正。

编 者

目 录

一、布氏杆菌的发现和分型.....	(1)
二、分布与危害性.....	(4)
三、病原.....	(5)
(一)形态、染色和培养特性.....	(5)
(二)生化反应.....	(12)
(三)氧化代谢试验.....	(12)
(四)布氏杆菌属酶活性的检查.....	(15)
(五)噬菌体裂解试验.....	(21)
(六)染料抑菌试验.....	(28)
(七)单价特异性血清A和M凝集试验.....	(29)
(八)布氏杆菌的生物型别鉴定的其它方法.....	(32)
(九)布氏杆菌的变异与检查方法.....	(35)
(十)抵抗力.....	(42)
(十一)致病力.....	(43)
(十二)布氏杆菌脱氧核糖核酸(DNA)的同源性.....	(43)
(十三)布氏杆菌属的细菌素.....	(44)
四、流行病学.....	(46)
(一)贮存宿主与传染源.....	(46)
(二)传染途径.....	(50)
(三)季节性.....	(50)
(四)易感性.....	(50)
(五)布氏杆菌的转移.....	(51)
(六)野生动物宿主和在自然界的分布.....	(52)

(七) 家畜布病的自然流行周期.....	(54)
五、发病机制.....	(54)
六、临床症状.....	(57)
(一) 人.....	(57)
(二) 家畜.....	(65)
七、免疫机理.....	(68)
(一) 布病免疫与畜种、品种、年龄的关系.....	(68)
(二) 传染免疫与传染后免疫.....	(69)
(三) 免疫反应.....	(71)
1、细胞免疫.....	(71)
2、体液免疫.....	(73)
(四) 布病的免疫病理.....	(79)
八、诊断.....	(80)
(一) 人布病的诊断.....	(80)
1、临床诊断要点和依据.....	(80)
2、实验诊断.....	(81)
3、变态反应试验.....	(97)
4、细胞免疫反应的T、B淋巴细胞检查方法.....	(99)
5、临床鉴别诊断.....	(104)
(二) 家畜布病的诊断.....	(106)
1、细菌学诊断.....	(106)
2、血清学诊断.....	(114)
3、全乳环状反应.....	(131)
4、变态反应试验.....	(131)
5、阴道粘液凝集试验.....	(131)
6、其它试验.....	(131)
7、结肠炎耶尔辛氏菌O:9引起的交叉反应.....	(131)
8、引起流产的其它常见病.....	(133)
九、预防.....	(147)

(一) 加强家畜的饲养管理·····	(147)
(二) 定期检疫·····	(147)
(三) 畜产品的无害处理·····	(148)
(四) 消毒·····	(148)
(五) 培育健康幼畜·····	(149)
(六) 净化地区和受威胁地区的预防措施·····	(150)
(七) 家畜的免疫接种·····	(151)
1、布氏杆菌猪型二号菌苗 (S_2 苗)·····	(151)
2、布氏杆菌羊型五号菌苗 (M_5 苗)·····	(153)
3、 M_590 号布氏菌弱毒菌苗·····	(158)
4、 MB_{32} 号弱毒菌苗·····	(158)
5、国外常用的几种畜用菌苗·····	(159)
(八) 人布病的预防措施·····	(162)
十、治疗·····	(163)
(一) 病人的治疗·····	(163)
(二) 病畜的治疗·····	(170)

附录:

一、人布氏杆菌病的诊断和治疗效果判定试行标准·····	(171)
二、家畜布氏杆菌病试管凝集反应技术操作规程及判定标准·····	(174)
〔附〕标准布氏菌血清的国际单位·····	(180)
三、家畜布氏杆菌病平板凝集反应技术操作规程及判定标准·····	(181)
四、家畜布氏杆菌病补体结合反应技术操作规程及判定标准·····	(185)
五、乳牛布氏杆菌病全乳环状反应技术操作规程及判定标准·····	(195)
六、羊布氏杆菌病变态反应技术操作规程及判定标准·····	(196)
七、布氏杆菌测毒法·····	(197)
八、布氏杆菌的活菌数测定·····	(203)
九、布鲁氏菌病诊断方法、疫区判定和控制区考核标准·····	(205)
十、防治布氏杆菌病暂行办法·····	(211)
十一、家畜布氏杆菌病弱毒苗使用暂行办法·····	(215)

一、布氏杆菌的发现和分型

布氏杆菌病（以下简称布病）是由布氏杆菌引起的人、畜共患的传染—变态反应性疫病。

在布氏杆菌未被发现前，1814年Burnet对布病曾作过简单的叙述。1860年，Worston对布病进行了系统的描述，根据病的临床特点和尸体病理剖检变化，提出将布病作为一种独立的传染病，称为地中海弛张热或胃热。其后，许多研究者把布病患者表现的长期不规则热型、多汗、关节炎、神经肌肉疼痛和容易复发等特征作为临床诊断的主要依据。1887年，英国医生布鲁氏(Bruce)从死于地中海弛张热的尸体脾脏涂片上，在显微镜下见到了微小细菌体，同时在病人脾脏穿刺培养中也看到同样微生物。当时，布病在地中海马耳它(Malta)岛上流行，故又称为人的马耳它热，经过调查，人患布病因喝布病山羊奶所致。1887年，布鲁氏首先分离培养出布氏菌纯培养物，命名为马耳它细球菌，即羊种布氏杆菌(*Br. melitensis*)。1898年，布鲁氏将分离出的细菌与病人的血清在玻板上混合，发现了凝集现象，而与健康人血清不发生凝集，遂将此特异凝集现象称为玻板凝集反应。同年，瑞特(Wright)和赛胞(Semple)提出了布病试管凝集反应方法。1907年，丹麦学者斑格(Bang)从流产母牛的流产物中分离培养到牛流产杆菌即牛种布氏杆菌(*Br. abortus*)。1909年和1914年，匈牙利学者胡捷拉(Hutyra)和

美国人朝姆 (Traum) 分别从传染性早产死去的仔猪脏器中分离培养出猪流产杆菌即猪种布氏杆菌 (Br. Suis)。当时, 这三种流产杆菌彼此间的关系尚不清楚, 直到1918年, 伊万 (Evans) 对马耳它细球菌和牛流产杆菌进行研究后, 发现两者的形态、培养特性有相似之处, 而且在血清学反应上出现交叉反应。1920年, 买耶尔 (Meyer) 根据两者间的共同属性而归入同一菌属, 称为布氏杆菌属。1929年, 郝德逊 (Huddleson) 根据细菌的初代培养对二氧化碳的需要、硫化氢产生量的测定和对阿尼林染料的敏感性, 将马耳它细球菌、牛流产杆菌和猪流产杆菌分别定名为羊型、牛型和猪型布氏杆菌。1953年, 布德 (Buddle) 与包伊斯 (Boyes) 在新西兰从患附睾炎的种公绵羊中分离到绵羊附睾种布氏杆菌 (Br. oris)。同年, 席蒙 (Simmons) 与哈尔 (Hall) 从澳大利亚的种公绵羊中也分离培养到同样的菌株。1956年, 斯陶勒尔 (Stoenner) 和拉赤年 (Lachnian) 从美国西部沙漠森林野鼠中分离培养出沙林鼠种布氏杆菌 (Br. Neotomae)。1966年, 卡尔米哈 (Carmichal) 在美国从母猎犬的流产胎儿中分离培养到犬种布氏杆菌 (Br. Canis)。

1957年, 郝德逊根据布氏杆菌菌株对天竺鼠的残余毒力、初代培养对二氧化碳的需要、硫化氢的产生量、尿素酶的活力、过氧化氢酶的量、阿尼林染料的敏感性和糖发酵等试验, 将布氏杆菌属分为三个型和七个生物型: 即羊型布氏杆菌的一个生物型, 牛型和猪型布氏杆菌各有三个生物型。其后, 买耶尔 (Meyer) 等应用氧化代谢试验与噬菌体裂解试验, 证明各型内都有独立的代谢类型, 并且每个生物型内的氧化代谢也不同, 故可应用一系列浓度的氨基酸和碳水化

合物定量法鉴别各型布氏杆菌。1962年，第八届国际微生物学会议布氏杆菌命名委员会根据各国对布氏杆菌的分类研究成果，即依据布氏杆菌初代培养物对二氧化碳的需要、硫化氢的产生、染料抑菌试验、噬菌体裂解试验、氧化代谢试验、特异性单价血清试验（Stableforth和Jones二氏）和贮存宿主，将布氏杆菌分为三个型和15个生物型，即牛型布氏杆菌有9个生物型，羊型和猪型布氏杆菌各有3个生物型。

1970年，世界卫生组织布病专家委员会把绵羊附睾种、沙林鼠种和犬种布氏杆菌都列为布氏杆菌属分类中的独立种，并把从苏联北方鹿、阿拉斯加和加拿大等地由驯鹿中分离出的*Br. rangiferi*列为猪种布氏杆菌的第4生物型，从而充实了1962年布氏杆菌属分类方案中的菌型内容，特别参照了氧化代谢试验、对牛种布氏杆菌Tb噬菌体裂解试验和抗粗糙型（R型）布氏杆菌血清学试验等，将布氏杆菌属分为六个种和19个生物型。1972年，苏联的他兰（ТараH）又在猪种布氏杆菌中增加了生物型5（粗糙型）。

目前，国际上将布氏杆菌属分为6个种和20个生物型：其中羊种布氏杆菌有1、2、3生物型；牛种布氏杆菌有1、2、3、4、5、6、7、8和9生物型；猪种布氏杆菌有1、2、3、4和5生物型；绵羊附睾种、沙林鼠种和犬种布氏杆菌各有一个生物型。同时，也确定各个种的生物型1为其代表性菌株：即羊种布氏杆菌16M；牛种布氏杆菌544A；猪种布氏杆菌1330S；绵羊附睾种布氏杆菌63/290；沙林鼠种布氏杆菌5 K33；犬种布氏杆菌RM6/66。

二、分布与危害性

布氏杆菌病分布于全球。根据国际卫生组织疫情统计资料：凡是有畜牧业的国家，几乎都存在人的布病，例如，1969年，苏联的布病新发病人为8421例，占整个动物性传染病的23.8%，1970年病人为6894例，1971年为5970例；蒙古人民共和国仅有110万人和两千多万头牛、羊，人布病的发病率为125/10万；1926~1939年、1951~1958年和1961~1996年，人布病发生的国家分别为27国、69国和70国，患病人数分别为64993人、174845人和111631人。其中，欧洲诸国中以意大利、西班牙、法国和希腊等国严重。亚洲各国中以伊朗、蒙古等国最严重。美洲各国中以阿根廷、秘鲁、墨西哥和美国较严重。大洋洲国家中以澳大利亚和新西兰较严重。在非洲国家中，人的布病疫情，尚不完全清楚。

在我国的《内经》、《金匱要略》、《伤寒论》、《温病条辨》等古医书中，都有类似布病临床体征的描述。从本世纪初以来，1905年Boone氏于重庆曾报告两例布病病人。1916年，福建也发现一例马耳他热患者。1925年，在河南发现4名印度侨民感染布病，并从患者血液中分离到羊种布氏杆菌。1932、1936与1949年，谢少文曾在北京地区报告29例布病病人。1938年，日本人广木彦吉在白城子也发现了布病病人。在40年代，沈阳、内蒙古、长沙、哈尔滨、天津和兰州等地，都有人布病病例的报道。

家畜的布病，流行的范围更广，几乎遍及世界各国，据

不完全统计，在160个国家中，就有123个国家（占78.3%）有布病发生，但各国的流行情况和布氏杆菌菌种的型别分布有所不同。

在我国，1936年内蒙古王爷庙押木营子村的109头牛中，有21头流产，从流产牛的胎儿中分离到两株牛种布氏菌。同年，日本人北野正次等在吉林省白城子曾对羊群作过布病调查，感染率达33%。1946年，个别城市的奶牛场中发现过牛的布病。在50年代，个别省曾发现猪的布病。1982年，新疆首次发现由绵羊附睾种布氏菌引起种公羊的附睾炎病。1985年，上海发现由犬种布氏菌引起狗的布氏杆菌病。

布病的危害性甚大，主要是影响人民的健康、阻碍畜牧业的发展以及造成严重的经济损失。在防治布病的工作中，要花费巨大的财力和物力，人患布病后，出现低烧、乏力、腰腿疼痛，生育障碍，病程较长，且反复发作，影响劳动和工作，甚至丧失劳动力，孕妇患者也可能发生流产。孕畜（尤其第一胎）患布病后，大批发生流产，部分母畜长期不孕。

三、病 原

（一）形态、染色和培养特性

布氏杆菌为革兰氏阴性的球杆菌或短杆菌。通常呈单个排列，有时成对或小堆存在。菌体长0.5—2微米，宽0.4—0.7微米。不形成芽胞、荚膜和鞭毛，也不运动。为化学有机质营养菌，呼吸代谢，生长时需要维生素B₁、烟草酸和生物素，泛酸钙能刺激生长，不需要氯化血红蛋白（X因子）和

辅酶 I (V 因子即磷酸吡啶核苷酸)。菌体内含有细胞色素 C。布氏杆菌为哺乳动物的寄生菌和致病菌，宿主范围十分广泛。菌体中脱氧核糖核酸 (DNA) 内的鸟嘌呤——配对——胞嘧啶 (G + C) 的含量约为 56—58 克分子%。

常用的鉴别染色方法为柯兹洛夫斯基法：将流产胎儿的胃内容物、羊水、胎粪或胎衣或母畜阴道分泌物等制成涂片，自然干燥，火焰固定后，用 2% 沙黄水溶液*加热染色（发生小气泡为度）两分钟，晾干，用蒸馏水冲洗一分钟，用 0.5% 孔雀绿水溶液**染色一分钟，再用蒸馏水冲洗，待干，用油镜检查（需在 40 分钟内），布氏杆菌染为红色，其它杂菌染为绿色。

第二种染色方法是改良萁尔—尼尔逊 (Ziehl—Neelsen) 氏法，此法适用于胎膜和流产胎儿胃内容物的涂片染色。在流产后的数天内，所制的阴道拭子抹片也可用此染色法，待抹片晾干后，在火焰上固定，置萁尔—尼尔逊的石炭酸复红原液（硷性复红 1 克，溶于 10 毫升的无水乙醇中，再加 5% 石炭酸溶液 90 毫升）的 1 : 10 稀释液中，染色 10 分钟，经蒸馏水冲洗后，在 0.5% 醋酸液中处理 20—30 秒，再用蒸馏水冲洗，最后用 1% 美蓝溶液复染 20 秒，布氏杆菌染为红色，背景为蓝色。

第三种染色方法是改良考斯特尔 (Köster) 氏法：病料抹片晾干后，经火焰固定，用新配制的沙黄、氢氧化钾溶

* 2% 沙黄水溶液：吸取沙黄酒精饱和液（沙黄 3.41 克溶于 95% 酒精 100 毫升中）2 毫升，加蒸馏水 98 毫升。

** 0.5% 孔雀绿水溶液：吸取孔雀绿酒精饱和液（孔雀绿 7.32 克溶于 95% 酒精 100 毫升中）0.5 毫升，加蒸馏水 99.5 毫升。

液（沙黄饱和水溶液两份与一个当量的氢氧化钾溶液五份混合）染色1分钟，蒸馏水冲洗后，用0.1%石炭酸液处理两次（在10—20秒内），再用蒸馏水冲洗，在1%石炭酸、美蓝液中复染半分钟，布氏杆菌被染成桔红色，背景为蓝色。

布氏杆菌属的细菌为需氧或微嗜氧菌。适宜的生长温度是34—37℃。微嗜酸性，在pH6.6—7.4的培养基中发育最好。从动物体初次分离培养时，牛种、绵羊附睾种布氏杆菌需在含有5—10%的二氧化碳条件下培养，方能生长，但在人工培养基上移植4—8代后，即可适应于普通的大气环境。

从动物体初次分离培养布氏菌时，生长较慢，猪种菌约需3—5天，牛种菌约需6—8天，羊种菌约需10—15天。布氏杆菌在液体培养基中培养时，呈均匀混浊生长，不形成菌膜，但在陈旧的培养基中，有时在管壁上呈环状生长，并略高于液体培养基的水平面，且培养基的pH变为硷性，此因布氏杆菌在繁殖生长过程中利用了培养基中某些氨基酸，使其脱掉氨基（ $-NH_2$ ）的结果。在甘油血清肝汤琼脂上，布氏杆菌生长良好，形成细小、湿润、圆形而隆起和边缘整齐的半透明菌落，菌落中央带有细小颗粒。对光观察时，菌落带有蓝绿色的闪光，培养日久，菌落中央变为棕色。菌落的直径为0.1—3毫米。用甘油血清肝汤作摇振培养时，经过6天，在培养基表面下5毫米左右牛种布氏菌呈带状生长，比较特征。在甘油血清肝汤中，布氏杆菌生长较好，初呈均匀混浊，日久在管底形成粘稠沉淀，摇振时不易散开，偶尔个别菌株可形成菌膜。在马铃薯斜面培养基上，布氏菌经培养4天形成黄色小菌落，培养21天后形成黄色菌苔。在三糖铁琼脂上，布氏菌虽能生长。但底部不变黄。在麦康盖琼脂上，布

氏菌不生长。布氏杆菌不产生外毒素，产生的内毒素对动物具有中等的毒性。

在检查布氏杆菌对二氧化碳的需要时，被检菌株需接种两个琼脂斜面，其中一管在普通空气中培养，另一管置含有5—10%二氧化碳的环境中培养，以观察其生长情况。此项试验应在初次分离布氏菌时进行，否则结果不可靠。

测定被检布氏菌硫化氢的产生量时，将待检的和标准对照菌株48小时的琼脂斜面培养物，用生理盐水制成每毫升含10亿菌体的菌悬液，以直径2毫米的铂金耳各取一环，分别接种在pH6.8的琼脂斜面上，将制备好的醋酸铅滤纸条*分别夹在接种各菌悬液培养基的棉塞与管壁之间，滤纸条与斜面保持平行以不接触到斜面为宜，棉塞不要过紧，滤纸条留在试管外部分约1—2厘米。置37℃温箱培养，经2、4、6天各观察一次，以毫米计算滤纸条下端发黑的长度。每次测毕需更换一次滤纸条。三次发黑的长度相加之和即为最后的判定结果。猪种布氏菌生物型1产生硫化氢的量最多，持续时间有的可达10天，滤纸条变黑可长达19—20毫米，生物型5产生中等量的硫化氢，而生物型2、3和4不产生硫化氢，有时生物型3产生极少量的硫化氢(0.5—1毫米)。牛种布氏菌生物型1—4和9产生中等量的硫化氢，滤纸条变黑部分达5—6毫米，生物型6和7的某些菌株产生少量的硫化氢，生物型5和8不产生硫化氢。羊种布氏菌各生物型均不产生硫化氢，但个别菌株，尤其生物型1有时产生极微量的硫化氢。沙林鼠种布氏菌可产生中等量的硫化氢，滤纸

*将普通滤纸剪成7—8×1厘米长的纸条，经高压或干烤灭菌，置10%醋酸铅水溶液中浸泡24小时，取出置大平皿中，在温箱中烤干，备用。