

# 首次从牛体中分离的犬种布鲁氏菌的鉴定报告

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 李元凯 尚德秋 李兰玉 程尧章 鲁齐发  
新疆维吾尔自治区温泉县兽医站 陈 彪 新疆维吾尔自治区兽医防疫总站 阎守敦

**摘要** 应用犬种布鲁氏菌抗原调查犬种布鲁氏菌病时，发现在牛群中有R-RBPT, R-SAT阳性反应牛，且效价最高达1:640<sup>+</sup>，并从1头牛的脾脏中首次分离出B. Canis菌。

**关键词** 布鲁氏菌病 R-虎红玻片凝集试验 R-试管凝集试验

我国自1984年首次从进口的Beagle狗和我国土种狗中分离到B. Canis菌株后〔1〕，引起广泛重视，在短短的几年中，许多省份都陆续报道了人、畜间犬种布鲁氏菌病流行病学调查的情况，并证实在土种狗中存在B. Canis的感染〔2~4〕。调查中还发现，在犬种布鲁氏菌病流行严重地区，多种家畜受到犬种布鲁氏菌感染，除狗以外，还从奶牛、黄牛、水牛、猪、兔、鼠等动物血清中，检测到犬种布鲁氏菌抗体〔5〕，但均未分离到B. Canis菌。我们在进行犬种布鲁氏菌病调查中，发现牛群有非光滑型布鲁氏菌感染，应用犬种布鲁氏菌抗原进行R-SAT，最高凝集效价在1:640<sup>++</sup>，经细菌学分离，结果在牛体中首次分离到犬种布鲁氏菌。现将结果报告如下：

## 材料与方法

一、抗原制剂：R-RBPT、R-SAT抗原，由中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所布病研究室制备。S-SAT抗原，为成都兽药厂生产，批号8603。

二、血清凝集试验：应用R-RBPT和R-SAT，对照以S-SAT检查，方法详见参考文献〔6〕。

三、细菌分离：对1头R-SAT阳性的牛（效价为1:320<sup>++</sup>），无菌剖检肝、脾、骨髓、肠系膜淋巴结、颌下淋巴结、肾脏等脏器及尿液等，接种于胰蛋白胨琼脂上，37℃培养，隔

日观察一次，记录结果，从长出菌落的多少判定生长程度，培养三周后中止。

四、布鲁氏菌菌型鉴定：对所分离到的疑似布鲁氏菌进行集落形态、革兰氏染色、柯氏染色检查，初步认为是布鲁氏菌后，再进行CO<sub>2</sub>需要、H<sub>2</sub>S产生、因子血清（A.M.R）凝集、三胜黄素凝集、硫堇及复红染料抑菌试验、尿素酶活性测定、布鲁氏菌R-特异噬菌体裂解试验（R,R/O, R/C）、氧化代谢试验和毒力测定。

鉴定用参考菌株：牛种布鲁氏菌544A，羊种布鲁氏菌16M，猪种布鲁氏菌1330S，犬种布鲁氏菌RM6/66和牛种R型布鲁氏菌B1119（R）。

## 结 果

一、血清学检查：应用上述血清学方法，对某县的50头牛进行了检查。结果有11头牛R-SAT凝集效价在1:80<sup>++</sup>以上，其中1头为1:640<sup>++</sup>。

二、解剖观察及布鲁氏菌分离：1头有临床症状的母牛，为2岁土种，其临床症状如下：体温40.5℃，右前肩关节肿大，不能行走。经颈静脉采血、分离血清，分别用R、S布鲁氏菌试管凝集抗原作凝集试验，其R-SAT效价为1:320<sup>++</sup>，S-SAT为阴性。

1. 大体解剖观察：上述母牛经解剖观察，主要病理变化为肝肿大，脾脏有白色结节，肠

系膜淋巴结质地变脆，其他脏器也有某些病理变化。

2. 细菌分离情况：分别以无菌技术取各脏器进行细菌分离，结果仅肝(+)、脾脏(+)为阳性；肾脏、骨髓、肠系膜及颌下淋巴结、

尿液均为阴性。

三、分离菌鉴定：所分离的菌株经形态检查和血清学鉴定，证明为布鲁氏菌后，再应用常规方法进行鉴定，结果如表1。

从表1可见，分离菌为犬种布鲁氏菌，且

表1 从牛体中分离的布鲁氏菌的菌型鉴定结果

菌 株	CO <sub>2</sub> 需要	H <sub>2</sub> S 产生	染料抑制试验					因 子 血 清 A M	抗 R 血 清	三 胜 黄 素	尿 素 酶 活 性	噬菌体裂解试验 (RTD)						种 别	
			硫 堇		复 红							S-特异噬菌体			R-特异噬菌体				
			2.5万	5万	10万	5万	10万					Tb	Wb	Fi	Bk <sub>2</sub>	R	R/O		R/C
16M	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+		羊	
544A	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+			牛	
1330S	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+			猪	
B1119(R)	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	±				+	-	单牛(R)	
RM6/66	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+				单*	-	+	犬
温牛脾*	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+				单	-	+	犬

\*为新分离的菌株；#为形成单个噬斑

与犬种菌国际标准株RM6/66的各项试验均一致。因该株菌是从牛体中检获的，又是自然R型菌，为此我们用粗糙型牛种布鲁氏菌B1119(R)作为对照，结果无论是染料抑制试验、

尿素酶活性和噬菌体裂解试验，均不支持为粗糙型牛种布鲁氏菌。进而又进行了氧化代谢试验和毒力测定，结果如表2。

由表2可以看出，从牛脾中分离的布鲁氏

表2 从牛体中分离的布鲁氏菌氧化代谢试验及毒力测定结果

菌 株	氧 化 代 谢 试 验										毒 力 LD <sub>50</sub> (小鼠)
	L-丙氨酸	L-天门冬酰胺	L-谷氨酸	LD-鸟氨酸	LD-瓜氨酸	L-赖氨酸	D-半乳糖	D-木糖	D-核糖	i-赤藓醇	
16M	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	7×10 <sup>8</sup>
544A	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	
1330S	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
RM6/66	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	90×10 <sup>8</sup>
温牛脾	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	109×10 <sup>8</sup>

+为QO<sub>2</sub>(N)值>50；-为QO<sub>2</sub>(N)值<50

菌与RM6/66比较，除氧化L-丙氨酸外，其他基质的代谢结果均相符合。据文献报道[7]，有的犬种布鲁氏菌株亦可氧化L-丙氨酸。此外，经毒力测定，分离菌的毒力与RM6/66相差无几，而较强毒16M株的毒力低12~15倍。

### 讨 论

犬种布鲁氏菌病在狗中流行严重的地区，检查其他牲畜似乎都能查到该菌抗体。广西调查黄牛的感染率高达40% (R-SAT效价在1:80以上者)，水牛达53.9% [5]。虽然这样

的血清抗体滴度不能排除与其他细菌的交叉反应和非特异性凝集，但也可能是B. Canis感染所致。为了从细菌学方面加以证实，我们在家犬中有犬种布鲁氏菌病流行的地区，检测土种黄牛50头，血清凝集阳性11头，占检查总数的22%，最高效价达1:640<sup>+</sup>。剖检1头效价为1:320<sup>+</sup>的小母牛，分离、培养出B. Canis菌。

犬种布鲁氏菌在自然条件下转移到牛体上的现象，国内外至今尚未见报道。美国学者L. E. Carmichael曾断言：“犬种布鲁氏菌对肉用家畜的致病性及对鼠和猴子的毒力都很低，自然传播可能只是在犬中”〔8〕。我们从牛体中分离到犬种布鲁氏菌，说明毒力较低的B. Canis菌亦可发生转移。这可能由于犬和其他家畜同圈饲养，其他牲畜生活在被病狗流产排泄物污染环境所致。

这种宿主转移现象值得高度重视。有的学者认为，布鲁氏菌在不同宿主中转移的结果，常使布鲁氏菌发生变异，产生不同进化过程的型别，从而对人的致病性亦发生变化；同时，宿主转移增加了传染源种类，即增加了人群感染机会。因此，研究宿主的转移现象，对进一步研究犬种布鲁氏菌病的防治、制定控制对策，均有重要而实际的意义。

A Study on One Strain of Brucella Canis Isolated from A Cow at the First Time.

Li Yuankai et al., Institute of Epidemiology and Microbiology Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing.

This paper deals with a survey of brucellosis among 50 cattle by means of rough B. canis antigen serologically. Eventually there were 11 positive reactors (>1:80) with highest titre 1:640. One strain of B. canis was isolated and identified from the spleen of a reactor cow.

Key words Brucellosis R-RBPT R-SAT

### 参 考 文 献

1. 尚德秋, 等. 在国内首次分离出狗种布鲁氏菌的报告. 中华流行病学杂志 1984; 5(6): 345.
2. 尚德秋, 等. 五省区犬种布鲁氏菌病的调查报告. 中国地方病学杂志 1987; 6(3): 129.
3. 李元凯, 等. 某省首次发现犬种布鲁氏菌病的调查报告. 中国兽医杂志 1988; 14(2): 10.
4. 林锦光, 等. 福建省首次分离出犬种布鲁氏菌. 中国人兽共患病杂志 1987; 3(3): 30.
5. 黄志雄, 等. 广西犬种布鲁氏菌病调查研究. 广西医学 1987; 9(6): 289.
6. 中华人民共和国卫生部地方病防治局. 布鲁氏菌病国外资料选编. 北京, 1982; 35~54.
7. Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis Sixth Report Geneva world Health Organization 1986; 111.
8. Carmichael LE, et al. Brucellosis Caused by Brucella Canis an update of infection in animals in humans. WHO/Bruc 1980; 80: 361.

## 欢迎订阅《厌氧菌感染及检验技术》

《厌氧菌感染及检验技术》，是中国科学院微生物研究所、中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所与哈尔滨市卫生防疫站合编的特刊，由8个单位的18位专业技术人员分担执笔。主编：刘秉阳（中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所研究员）；审校：阎逊初（中国科学院微生物研究所研究员）。

本刊按照“新颖、全面、实用”的方针编著，内容分为总论、厌氧菌临床感染、厌氧细菌各论、厌氧菌检验技术四大部分，充分反映国内外对厌氧菌工作的研究进展，可供医疗、预防、兽医、生物制品、科研及教学等单位参考使用。16开本，约70万字，铅印半精装，附厌氧菌图谱，每册定价25.00元（邮费在内）。1988年12月由中华流行病学杂志出版特刊，即日开始征订。汇款请寄：黑龙江省哈尔滨市道里区红霞街64号，哈尔滨市卫生防疫站科技咨询服务公司王明祥。帐号：46211055，开户行：哈尔滨市道里区西十二办。