

布鲁氏菌非典型菌株及R型菌株 鉴定分类的研究*

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所

尚德秋 鲁齐发 武素怀 李元凯 李兰玉 姜淑贤 程尧章 崔春槐

提要 本文报告了用布氏菌常规鉴定法、六大群噬菌体裂解试验和氧化代谢检查对17株非典型及R型菌株进行综合鉴定分类研究；并建立和采用4株布氏菌系列McAb和S型牛、羊、猪种布氏菌的OMP的SDS-PAGE图谱用于非典型布氏菌分类之中。

通过实际鉴定菌株证明，采用常规鉴定方法、六大群噬菌体裂解分型和氧化代谢试验的综合鉴定可以对大多数非典型和R型菌株定种定型。

首次对利用布氏菌系列McAb和布氏菌OMP图谱鉴定非典型及R型菌株进行探索，并为利用这两种方法鉴定这两类菌株的可能性提供了依据。

关键词 布鲁氏菌 非典型菌株

所谓非典型菌株系指用常规鉴定布氏菌分类方法不能定种定型的菌株。近10年来，国内外分离非典型布鲁氏菌株以及受各种因素影响变异菌株越来越多〔1~4〕，它们大约占分离菌株的10~30%。由于这些菌株不能在分类表上找到合适位置，不仅表明在布氏菌分类鉴定理论上有一定缺陷，更重要的是严重影响对布病疫区分类的判定。从而不能对此采取合理的有效的预防和控制措施。因此，对此类菌株的正确鉴定分类就成为亟待解决的问题。为探索解决此难题的途径，我们采用了晚近分到的布氏菌的六大群噬菌体〔5~7〕、氧化代谢〔8〕和常规鉴定分类的综合分析对非典型和R型菌株进行鉴定分类研究。

近年来，国际上已注意了对布鲁氏菌外膜进行分析〔9~11〕。因为布鲁氏菌的菌种不同，其外膜蛋白的SDS-PAGE电泳图谱可能有一定差别。与此同时，80年代初已建立了布鲁氏菌单克隆抗体技术〔12〕，已用于布鲁氏菌的抗原分析〔13〕。为探索布氏菌非典型及R型菌株新的鉴定途径，我们建立了系列单克隆和进行

布氏菌外膜蛋白(OMP)图谱分析。其结果发现，它们在鉴定非典型和R型菌株中具有良好前景。

材料和方法

一、布鲁氏菌综合鉴定分型试验：

1.待检菌株：83062 83063 80320 80325
80326 80345 80346 80360 80366 80368
80369 83064 85007 85008 85009 87059
88036。这些菌株由新疆、甘肃、内蒙、吉林、青海、广西等省区提供。系由绵羊、岩羊、黄羊、牛、牦牛、鹿、犬和人中分到的菌株。

2.已知菌株：16M、544A、1330S和RM 6/66系本室冻干保存的标准株。

3.布鲁氏菌噬菌体及裂解试验：Tb、Wb、Fi、BK₂、R、R/O、R/C和Iz均由英国Weybridge实验室提供，本所实验室增殖、保存。裂解试验按Corbel等介绍方法进行〔6, 14, 15〕。

4.氧化代谢试验：氧化代谢的基质是L-

*本课题由国家自然科学基金资助

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-核糖、D-半乳糖、D-木糖、L-阿拉伯糖。

布氏菌分解消耗基质的呼吸商[$QO_2(N)$]大于50判为阳性。本研究氧化代谢方法及计算均按杨莲芬等〔8,16〕介绍的方法进行。

5. 常规鉴定布鲁氏菌方法〔16〕：菌落形态，涂片柯氏染色镜检， CO_2 需求， H_2S 产生，A、M、R的单项血清凝集试验，三胜黄素变异试验，硫堇、复红染料抑菌试验。

6. 布氏菌DNA同源性检查及DNA中G+C mol%的测定：DNA的 T_m 值测定及G+C mol% 计算和采用液相复性速率分子杂交法检测DNA同源性按吴从雅等介绍的方法进行〔17〕。

二、系列单克隆建立及菌型鉴定：

1. 菌株：16M M₅ Ether 544A 1330S RM6/66 *ovis* 63/290 104M Tulya 292 B3196菌株系本室冻干菌株。86015 86018 88001 86061 86062 86030 87058 88019 88030 系从广东、广西、湖北、浙江、内蒙和辽宁等地的犬、牛、羊中分到的菌株。

2. 布鲁氏菌LPS制备及超声波提取抗原均按文献〔16,18〕介绍方法进行。

3. 牛种菌104M株的“15McAb”和羊种菌16M的“58McAb”，犬种菌RM6/66株的“犬McAb”和绵羊附睾种菌的“绵羊McAb”按鲁齐发等〔18〕介绍方法进行。

4. 血清学试验：耶尔森氏菌0:9型菌体抗原和鞭毛抗原凝集试验及大肠杆菌的凝集试验均按常规试验进行。

布鲁氏菌的凝集试验及RBPT和ELISA试验按文献〔16〕介绍进行。

三、布鲁氏菌OMP提取及图谱分析：

1. 菌株：羊1型菌：Rev-1 16M 57066 57144；羊2型菌：57013 57080 59011；羊3型菌：58055 57009 58032；猪1型菌：S₂ 1330 57079 58053；猪3型菌：57040 62006 63035；

牛1型菌：104M 57092 63031，均系本室冻干保存菌株。

2. 提取OMP流程：用超声波破碎抗原，核酸酶及溶菌酶消化，继之以乙二胺四乙酸二钠及Triton X-100 提取，此流程均按武素怀等〔19〕介绍的方法进行。

3. SDS-PAGE：上述各操作步骤均留样品进行检测，按Laemmli法〔20〕进行电泳及染色。

结 果

一、对非典型菌株及R型菌株综合鉴定分型结果：

1. 对17株非典型和R型菌株的鉴定分类状况：结果见表1。从表1可见，17株非典型和不同程度变异的菌株用综合鉴定分析，在现有的分类表中都确定了合适的种或型。

2. 综合判定举例：表1中85008号菌株用常规鉴定法，根据对染料抑菌状况类似牛1型和牛4型菌；根据因子血清反应情况类似于羊3型和牛7型菌；根据Tb噬菌体裂解试验类似于牛种菌。因此，按常规鉴定方法既不能定种，又不能定型。对此非典型菌株进一步采用氧化代谢试验和六大群噬菌体裂解分析。其结果证明，氧化代谢特点是典型的牛种菌，噬菌体裂解是粗糙的牛种菌特征。

鉴于此，可以肯定85008号株为粗糙型牛种菌；常规鉴定中因子血清的特征性大于染料抑菌的表现。故该菌株为变异深刻的牛7型菌。

3. 部分非典型及R型菌株的DNA同源性及G+C mol%分析：结果见表2。从表2可见，待检菌的DNA中G+C mol%皆在布氏菌属范围之内〔26〕。待检菌与同种菌的DNA同源率稍高于异源菌。同时也表明，用DNA同源性及G+C的百分比只能在定属中有一定的意义，在定种定型中实用价值不大。

二、布氏菌系列单克隆(McAb)在鉴定分型中的意义：

17株非典型型和R型菌株综合鉴定分类状况

表1

菌株号	常规鉴定										噬菌体裂解 (RTD)							氧化代谢试验 [QO ₂ (N)]						结果								
	二氧化碳			硫化氢			染料抑菌1:				因子血清		三胜黄素		S型		R型		S.R		一组				二组			三组				
	5万	10万	5万	10万	5万	10万	A	M	R	Tb	Wb	Fi	Bk ₂	R	R/OR/C	Iz	L	L	L	L	DL	DL	L		L	L	D	D	D	D	D	
标准菌株	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	羊种1型菌
16M	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	牛种1型菌	
544A	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	猪种1型菌	
1330S	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	犬种菌		
RM6/66	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	羊种1型菌		
80320	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	羊种1型菌		
80325	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	羊种1型菌		
80326	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	羊种1型菌		
80345	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	变异羊种1型菌		
80346	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	变异种羊种菌		
80360	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	变异3/6型牛种菌		
80366	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R型羊种2型菌		
80368	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	变异羊种1型菌		
80369	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	变异羊种1型菌		
83062	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	变异深刻羊种菌		
83063	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	变异深刻羊种菌		
83064	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	变异深刻羊种菌		
85007	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	变异牛种1型菌		
85008	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	变异牛种7型菌		
85009	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	变异牛种1型菌		
87059	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	犬种菌		
88036	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	羊种3型菌		

注: 丙-丙氨酸 天-天门冬酰胺 阿-阿拉伯糖 半-半乳糖 谷-谷氨酸 鸟-鸟氨酸 瓜-瓜氨酸 赖-赖氨酸 核-核糖 木-木糖

表2 非典型及R型布氏菌的DNA同源性及G+C mol%分析

待检菌株	综合鉴定结果	T _m 值 °C	G+C mol%	DNA同源性		杂交率比较
				Va+Vb	%	
80345	变异羊1型菌	77.4	57.3	80345+羊M28	92.3	羊>牛
				80345+牛544A	90.6	
85007	变异牛1型菌	77.4	57.3	85007+牛544A	96.7	牛>犬
				85007+犬RM6/66	89.3	
85008	变异牛7型菌	77.3	57.1	85008+牛544A	101.7	牛>犬
				85008+犬RM6/66	89.3	
85009	变异牛1型菌	77.5	57.6	85009+牛544A	96.7	牛>犬
				85009+犬RM6/66	89.5	
87059	犬种菌	77.1	56.6	870059+犬RM6/66	95.5	犬>牛
				870059+牛544A	93.5	
88036	羊3型菌	77.4	57.3	88036+羊M28	92.3	羊>牛
				88036+牛544A	87.5	

用不同种布氏菌免疫BALB/C小鼠，取其脾细胞与小鼠骨髓瘤细胞SP2/O进行融合，共选出4株不同特异性布氏菌McAb（表3）。从表3可见，4株布氏菌McAb各有其特异性反应谱。如果与未定种型布氏菌进行反应，出现或不出现反应就可以缩小鉴定范围；再与其他几种鉴定方法结合综合判定，对非典型及R型菌株可以作出较准确判定。

表3 4株布氏菌McAb的特点

免疫菌株	McAb株	抗体类型	ELISA滴度(1:)	与不同种型布氏菌反应谱
104M死菌	15McAb	IgG ₃	12800	与羊 ₃ 、牛 ₁ 、 ₃ 、猪 ₁ 型菌反应
16MLPS	58McAb	IgG ₁	409600	与羊 ₁ 、羊 ₃ 、牛 ₄ 、 ₅ 型菌反应
RM6/66	犬McAb		12800	与犬种、绵羊附睾种菌反应
63/290	绵羊McAb		12800	与绵羊附睾种和犬种菌反应

三、不同种布氏菌 OMP 的 SDS-PAGE 图谱分析:

1. 布氏菌OMP基本谱带: 检查20株牛、羊、猪种布氏菌的OMP谱带,为阐述方便起见,根据分子量人为地分为5个区段(图1)。

第1区段: 分子量9.7K以上。此区段内牛、羊、猪种布氏菌均有分子量相同、谱带数一致,但其强度及粗细都各异的一组谱带。

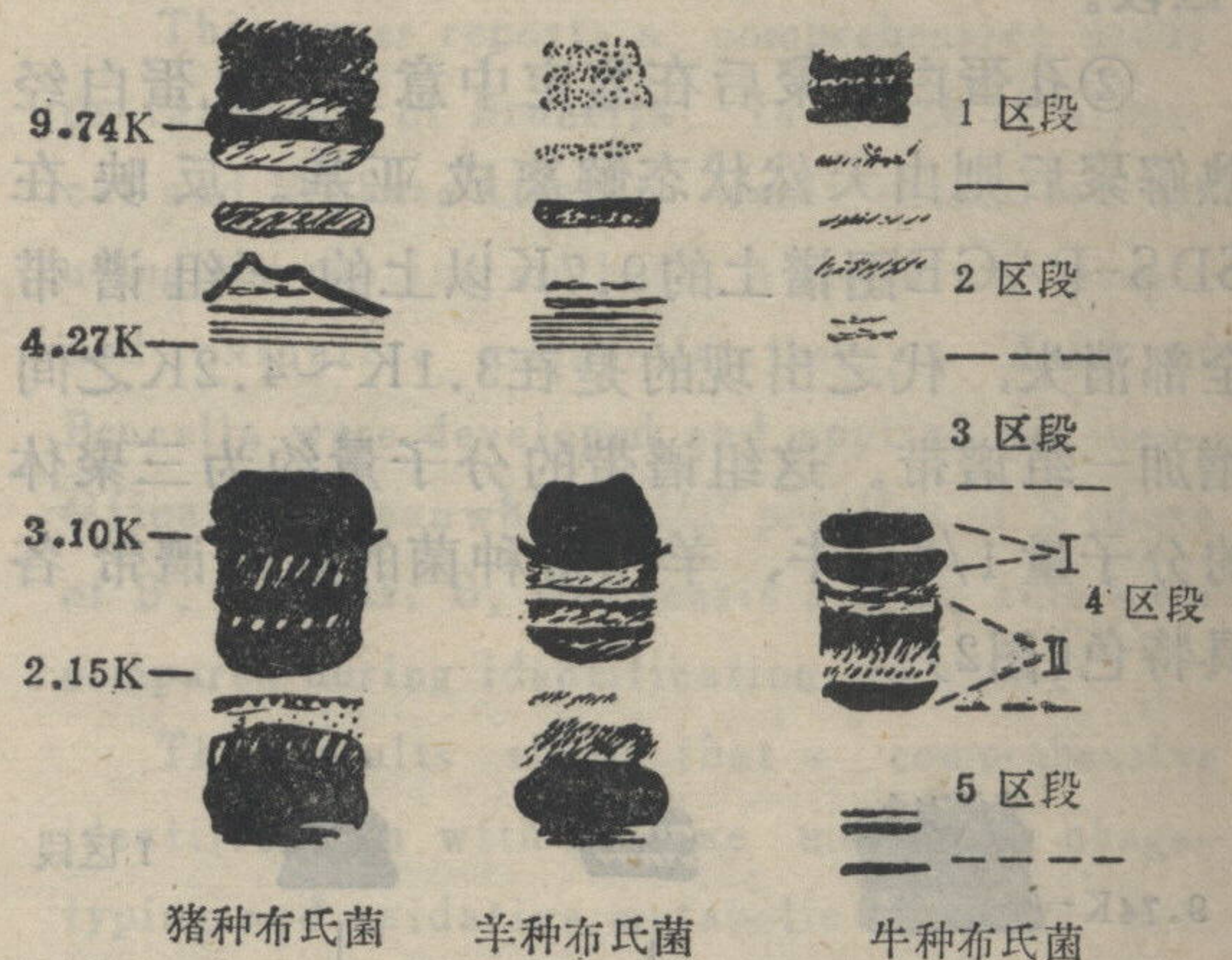


图1 光滑型牛、羊、猪布氏菌OMP的SDS-PAGE 模式图谱比较

第2区段: 分子量在4.2~9.7K之间。此区段内只有一组(5条线)分子量为4.2K左右的谱带极为清晰,虽细而密,但彼此并不融合。此外,此区段的其他谱带均着色较浅,朦胧不清。

第3区段: 分子量在3.1K~4.2K之间。此区段电泳谱带,牛、羊、猪三种布氏菌各异(后述)。

第4区段: 此区段内包括两种类型的谱带。第一种类型分子量约在2.7K~3.1K之间,它是一条宽而长,又弥散的谱带。第二种类型谱带的分子量在2.7K~2.2K之间。这是为牛、羊、猪三种布氏菌所共有。

第5区段: 分子量在1.4K以下。此带亦为

三种布氏菌所共有。

2.牛、羊、猪三种布氏菌OMP的谱带差异:

①牛、羊、猪三种布氏菌OMP之一——孔蛋白的差别:在低温条件下,该蛋白对SDS具有抗性,呈三聚体的天然状态存在。反映在SDS-PAGE图谱上呈分子量大于9.7K以上的一组谱带。牛、羊、猪三种布氏菌孔蛋白的三聚体谱带分子量相同,谱带数一致,但强度不同。猪种菌孔蛋白谱带粗且深;羊种菌细而浅,牛种菌孔蛋白谱带虽深但带型没有猪种菌宽。三种谱带形式可以明显加以区别,见图1第1区段。

②孔蛋白解聚后在鉴定中意义:孔蛋白经热解聚后则由天然状态解离成亚基。反映在SDS-PAGE图谱上的9.7K以上的一组谱带全部消失,代之出现的是在3.1K~4.2K之间增加一组谱带。这组谱带的分子量约为三聚体的分子量1/3。牛、羊、猪种菌的这组谱带各具特色(图2)。

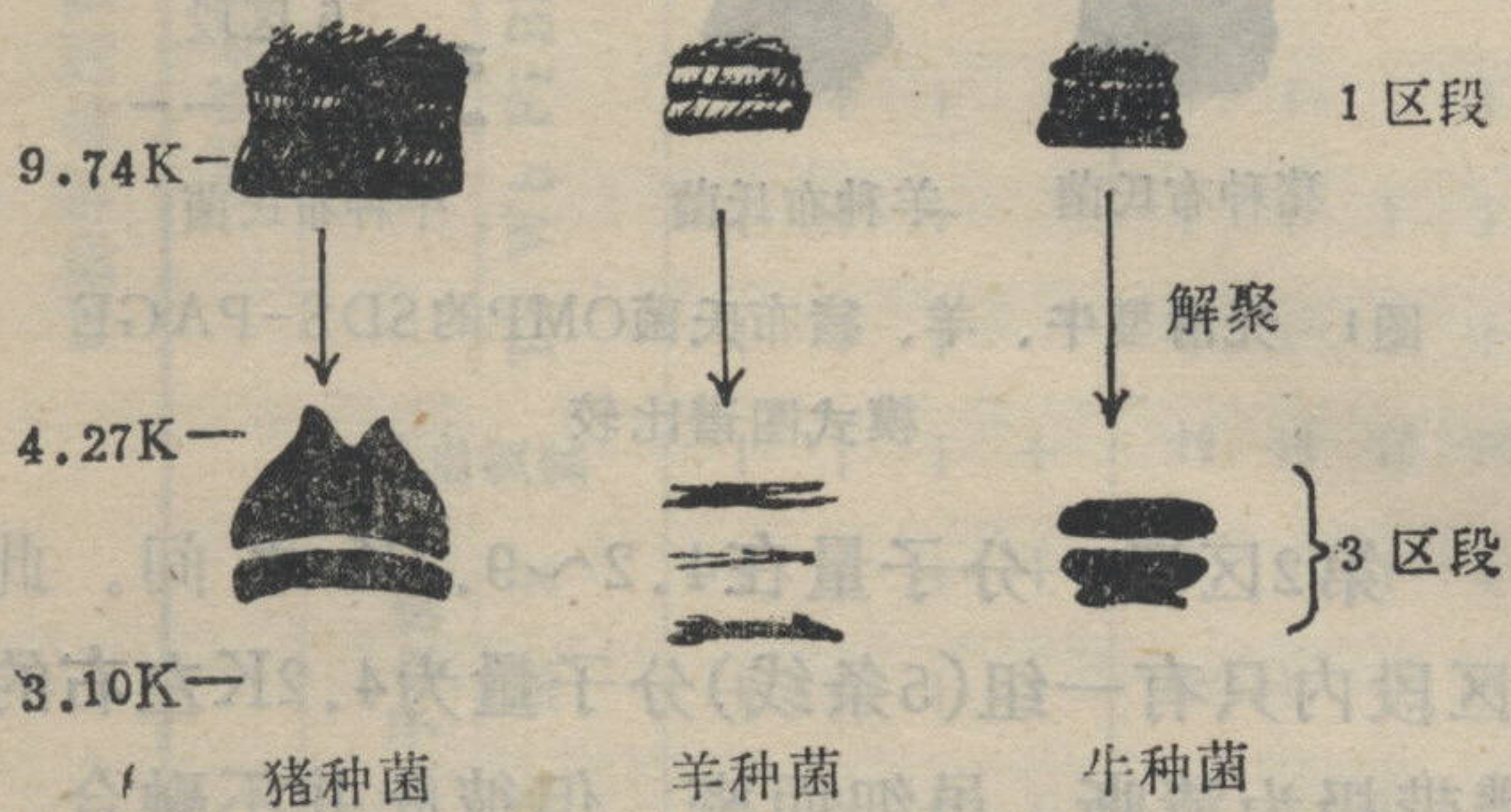


图2 S型牛、羊、猪种菌第1区段热解聚后第3区段条带比较模式图

猪种菌孔蛋白亚基呈靠近4.2K的两条谱带。它们多为上宽下窄,个别情况两谱带近似等量。两谱带相距极近。

羊种菌孔蛋白的亚基同样出现在3.1K~4.2K之间。与猪种菌不同的是有的菌株出现两条,有的出现3条谱带。除个别菌株外,均不呈上宽下窄现象,而且最下边谱带靠近3.1K。

牛种菌孔蛋白解聚后的亚基几乎为等量,

且为极靠近的两条谱带。

在我们第一篇报告中〔19〕已注意到了溶菌酶作用的敏感区,此区恰与本文描述第3区段相对应。

通观未解聚的三聚体谱带强度及解聚后亚基两条谱带间隔位置上的差异,则可明显地分辨出猪、羊、牛种布氏菌的谱带差异。故在布氏菌的鉴定分类上有一定意义。

讨 论

现在有大量非典型布氏菌株存在〔21〕,其原因可能是:①外界因素影响布氏菌变异〔22〕。

②原本在自然界就存在,而现有分类表中不能包括的种或型。如猪5型〔23〕,犬种菌中可能有两个型〔24〕。用现有的常规鉴定分类项目,尽管可以把大多数布氏菌株定种定型,但不能对全部菌株,尤其对上述两类菌株难于准确分类。故从理论上和实际需要上都应扩大和发展布氏菌的鉴定技术。

毫无疑问,现有的氧化代谢试验和六大群噬菌体裂解检查,充实和发展了布氏菌鉴定方法。根据不同种布氏菌对十几种基质利用状况分为三组:第一组(L-丙氨酸、L-天门冬酰胺、L-谷氨酸),第二组(DL-鸟氨酸、DL-瓜氨酸、L-赖氨酸),第三组(L-阿拉伯糖、D-半乳糖、D-核糖、D-木糖)。羊种菌和绵羊附睾种布氏菌利用第一组基质。牛种菌和沙林鼠种菌利用第一和第三组基质。猪种菌和犬种菌利用第二和第三组基质。

六大群布鲁氏菌噬菌体在RTD浓度下的裂解谱〔25,26〕是:第1群(Tb等)噬菌体能裂解S型牛种菌;第2群(Fi等)能裂解S型牛种菌和沙林鼠种菌;第3群(Wb等)能裂解S型牛种菌、猪种菌和沙林鼠种菌;第4群(BK₂)能裂解S型牛种、猪种、羊种和沙林鼠种菌;第5群R噬菌体能裂解R型牛种菌、R/O噬菌体能裂解S型牛种菌和绵羊附睾种菌、R/C能裂解R型牛种菌和犬种菌;第6群Iz噬菌体能裂解S型和M型牛种、沙林鼠种、羊种和猪种菌,及R

型羊种和猪种菌。

由于不同种型布氏菌含抗原量和质的差异，我们建立具有A、M和R抗原的不同特点的布氏菌单克隆抗体株。与此同时，我们又对近20株牛、羊、猪种布氏菌的OMP的图谱进行了分析，并清楚表明不同种布氏菌OMP既相似又有差别。

综上所述，根据布氏菌常规鉴定方法、噬菌体裂解试验、氧化代谢分型特点和系列单克隆抗体与不同抗原结合特性等，确定布氏菌非典型和R型菌株的分类是完全可能的。其流程如图3所示。

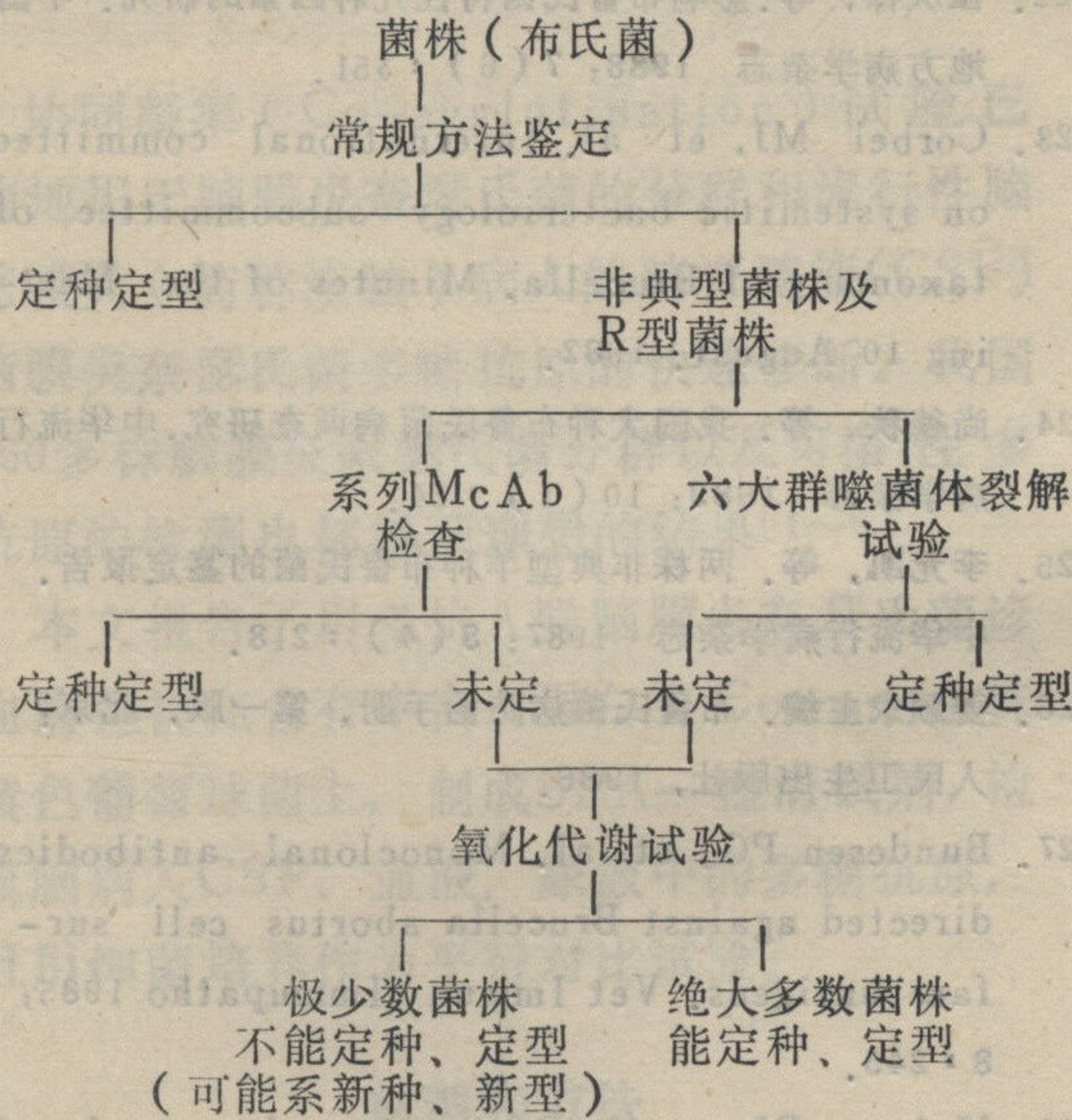


图3 布氏菌鉴定分类程序

目前，布氏菌的McAb绝大多数用于诊断和鉴别诊断的目的〔12,27~29〕，只是在1988年始有人用布氏菌McAb对布氏菌A和M抗原进行鉴定〔30〕。迄今国内外仍无建立系列布氏菌McAb用布氏菌的分类。我们建立和采用布氏菌系列单克隆抗体进行鉴定分类可以说是大胆尝试，并取得了明显进展。当然，尚须建立更多的具有明显差异的布氏菌McAb株，巩固、充实和发展它在布氏菌定种定型上的地位。

我们另一个探索是用布氏菌OMP图谱定种型的研究。其结果发现，牛、羊、猪种布氏菌

的OMP图谱既相似，又有区别，而且有稳定规律。这就展示了利用不同种布氏菌的OMP的图像鉴定布氏菌种的可能性。尽管我们的工作取得了突破性进展，在一定程度上超出了现有的国际上的报告〔9~11〕，但是仍须建立更多种型布氏菌标准图谱，方能在鉴定非典型菌株中发挥作用。

A Study on Identification of Atypical and R Phase Strains of Brucella Shang De-qui, et al., Institute of Epidemiology and Microbiology, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing

This paper reports a comprehensive study on taxonomy of Brucella. In which 17 atypical and R phase strains were identified by using the routine methods, 6 groups of phages and oxidative metabolic tests, 4 McAb of Brucella were developed and applied for identification. Meanwhile OMP profiles of S phase of B. abortus, B. melitensis and B. suis were compared during identification of them.

The results show that a comprehensive identification with routine methods, phage-typing and oxidative metabolic tests are able to determine these strains if they are species or biotypes.

Several strains of Brucella McAb and OMP profiles of Brucella were firstly applied for identification of atypical and R strains, and provided some possibility in the application of identification of Brucella by using these two methods.

Key words Brucella Atypical strains

参考文献

1. Darla R Ewalt, et al. Atypical isolates of Brucella abortus from Canada and the United States characterized as dye sensitive with M antigen dominant. J Clin Microb 1987; 25(4): 698.
2. Corbel MJ, et al. Taxonomic studies on some atypical strains of Brucella suis. Brit Vet J 1984; 140(1): 34.

3. 崔庆禄, 等. 布鲁氏菌羊和牛种突变株的研究. 内蒙古地方病防治研究 1988; 1: 33.
4. 姜继春, 等. 哲里木盟布鲁氏菌种型特点的初步分析. 内蒙古地方病防治研究 1987; 3: 12.
5. 尚德秋, 等. 国外引进的布鲁氏菌噬菌体增殖试验观察. 中国地方病学杂志 1983; 2: 69.
6. Corbel MJ. Recent advances in Brucella-phage research. Vet Bull 1984; 54 (2~3): 65.
7. Таран ИФ, и Др. Сравнительное Изучение Спектра Лигического Действия Бактериофагов Тб, WВ, F₁, Вк₂ U R На различные Виды Рода Brucella. ЖМЭИ 1983; 2: 48.
8. 杨莲芬, 等. 布鲁氏菌氧化代谢的初步观察. 中华流行病学杂志 1981; 2(3): 185.
9. Verstrete DR, et al. Outer membrane proteins of Brucella abortus; isolation and characterization. Infect Immu 1982; 35: 979.
10. Verstrete DR, et al. Comparison of sodium dodecyl sulzate polyacrylamide gel electrophoresis profiles and antigenic relatedness among outer membrane proteins of 49 Brucella abortus strains. Infect Immu 1984; 46: 182.
11. Douglas JT, et al. Porins of Brucella species. Infect Immu 1984; 44 (1): 16.
12. Patricia JH, et al. Development of monoclonal antibodies to Brucella cell surface antigens. Monoclonal Antibodies Against Bacteria 1989; 2: 92.
13. Rosalind Q, et al. A monoclonal antibody specific for the A antigen of Brucella Spp. J Gener Microb 1984; 130 (9): 2285.
14. Corbel MJ, et al. The Brucella-phages their properties characterization and applications. ministry of agriculture, fisheries and food. CVL. 1983.
15. 李元凯, 等. 布鲁氏菌噬菌体不同增殖法的比较及在布鲁氏菌属分类鉴定中的应用. 中国地方病学杂志 1985; 4(2): 130.
16. 中国医学科学院流行病学微生物学研究所布病室. 布鲁氏菌病实验研究技术. 1983: 15.
17. 吴从雅, 等. 布鲁氏菌DNA同源性研究报告. 中华流行病学杂志 1989; 10(特刊6号): 60.
18. 鲁齐发, 等. 布鲁氏菌单克隆抗体制备及应用于布鲁氏菌种型鉴定研究. 中国地方病防治杂志 1988; 布病增刊: 44.
19. 武素怀, 等. 布鲁氏菌外膜蛋白研究 I. 提取外膜蛋白过程中牛-104M布鲁氏菌的SDS-PAGE 图谱动态变化. 中华流行病学杂志 1989; 10(特刊6号): 8.
20. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assemble of the head of bacteriophage T₄. Nature 1970; 227: 680.
21. Verger MJ, et al. Caracteristiaues De 273 Souches De Brucella abortus Dorigine Africaine. Dev Biol Stand 1983; 56: 63.
22. 崔庆禄, 等. 影响布鲁氏菌特性几种因素的研究. 中国地方病学杂志 1988; 7(6): 351.
23. Corbel MJ, et al. International committee on systemitic bacteriology subcommittee of taxonomy of Brucella. Minutes of the Meeting 10 August, 1982.
24. 尚德秋, 等. 我国犬种布鲁氏菌病调查研究. 中华流行病学杂志 1989; 10(1): 24.
25. 李元凯, 等. 两株非典型羊种布鲁氏菌的鉴定报告. 中华流行病学杂志 1987; 8(4): 218.
26. 姜顺求主编. 布鲁氏菌病防治手册, 第一版, 北京, 人民卫生出版社, 1986.
27. Bundesen PG, et al. Monoclonal antibodies directed against Brucella abortus cell surface antigens. Vet Immun Immunopatho 1985; 8: 245.
28. Holman PJ, et al. Derivation of monoclonal antibodies against Brucella abortus antigens. Vet Immunol 1983, 4: 603.
29. 卢景良, 等. 羊型布鲁氏菌单克隆抗体的研究 I. M₂₈ ID₂ C-1杂交瘤株的建立. 家畜传染病 1984; 4: 4.
30. Douglas JT, et al. Use of monoclonal antibodies to identify the distribution of A and M epitopes on smooth Brucella species. J Clin Microb 1988; 26(7): 1353.
(1989年3月13日收稿, 同年6月15日修回)