

# 在国内首次分离出狗种布鲁氏菌的报告

尚德秋<sup>1</sup> 程尧章<sup>1</sup> 李兰玉<sup>1</sup> 舒家模<sup>2</sup> 张三思<sup>2</sup> 李元凯<sup>1</sup> 曹 珩<sup>1</sup>

自1966年Carmichael等在美国第一次从猎犬中分到狗种布鲁氏菌(*B·canis*菌)后<sup>[1,2]</sup>,相继在德国、巴西、墨西哥、阿根廷等都有报道<sup>[3]</sup>。初期,人们认为*B·canis*仅感染Beagle狗,后来逐渐地看到*B·canis*对狗的品种没有选择性<sup>[3]</sup>。1976年Brown等观察指出,野狗的感染率明显地高于观赏狗<sup>[4]</sup>。

*B·canis*不仅感染狗造成狗的布鲁氏菌病流行<sup>[5]</sup>,而且也能引起小范围的人群中感染<sup>[6~8]</sup>。因此,近年来*B·canis*菌感染所致的布鲁氏菌病引起了人们的关注。但在我国迄今尚未见有关*B·canis*情况的报道。

于1983年初,上海第一医学院实验动物部从美国进口38只Beagle狗,后经日本兽医应用在日本制成的狗种布氏菌抗原先后几次检查,发现在Beagle狗中有对犬种布氏菌抗原呈阳性血清反应的狗存在。但阳性率波动较大(5.2~72%)。因此,于1983年11月我们与有关实验动物部科技人员一起对该部狗场的部分狗进行了血清学调查和细菌分离。现将调查结果报告如下。

## 材料和方法

一、狗种布鲁氏菌凝集抗原的制备:按文献介绍的方法制备<sup>[10]</sup>。制备的凝集抗原经涂片镜检无杂菌,用比浊法将菌液制成300亿/毫升的菌悬液,放4℃冰箱内备用。通过玻片凝集试验证明,该抗原与抗S型布鲁氏菌血清混合时无凝集反应,与抗R型布鲁氏菌血清作用时出现凝集。使用时抗原液1:20稀释,浓度为15亿/毫升。

二、试管血清凝集试验方法:所用凝集抗原有①S型布鲁氏菌的试管凝集抗原,系长春

生物制品所生产。②狗种布氏菌试管凝集抗原是中国预防医学中心流行病学微生物学研究所布氏菌病研究室制备。③日本北里所制的狗种布氏菌抗原和日本铃木制的狗种布氏菌抗原均由上海第一医学院实验动物部提供。

除从极少数狗取血浆作凝集反应外,绝大多数的凝集试验均用血清,按常规方法进行试管凝集试验。

三、分离布氏菌:经多次血清检查,对试管凝集试验呈效价>1:160的狗进行解剖,分离布氏菌。以无菌技术解剖后取肝、脾、心血、尿、骨髓、颌下淋巴结、肠系膜淋巴结、后腹壁淋巴结、乳汁、子宫、卵巢、附睾、睾丸、前列腺,经研磨后接种布氏琼脂培养基上,在37℃下培养,隔日观察一次,记录结果,从长出的菌落数多少判定生长程度。

四、布氏菌菌型鉴定:布氏菌菌型鉴定按常规方法<sup>[11]</sup>进行。检查项目有:集落形态、CO<sub>2</sub>需要、H<sub>2</sub>S产生、因子血清A、M凝集,抗R血清凝集试验、硫堇、复红染料抑菌试验、尿素酶活性测定、布氏菌噬菌体裂解试验(用噬菌体Tb、Wb、Fi、BK<sub>2</sub>、R、R/O、R/C)。

鉴定用参考菌株:*B·abor* 544、*B·melit* 16、*B·suis* 1330、*B·canis Mex*及RM666、被检菌株“草狗”7、B22。

## 结 果

### 一、用各种抗原检查狗的血清反应:

1.用不同的犬种菌抗原检查Beagle狗血清的凝集反应比较:现将结果列入表1。从表

1 中国预防医学中心流行病学微生物学研究所

2 上海第一医学院

1 可见，流研所制抗原两次检查吻合性好，效价波动不大；两种日本抗原两次检查吻合性较差，且效价变化较大。

表 1

用不同抗原检查Beagle狗血清的凝集反应比较

抗 原	第一次 检查			第二 次(间 隔 5 天)			吻 合 情 况		
	检 查 数	阳 性 数	效 价 范 围	检 查 数	阳 性 数	效 价 范 围	阳 性 吻 合 数	不 吻 合 - → +	不 吻 合 + → -
流研所制(中国)	43	2	80~320	43	3	40~640	2	1*	0
北 里 制(日本)	43	16	20~2560	43	8	80~320	4	4	12
铃 木 制(日本)	26	4	20~1280	22	3	320	1	2	1

\* 1 : 40效价

良好，效价变化不大；两种日本抗原吻合性较差，效价波动较大。

表 2 两次检查Beagle狗同一份血清的结果比较

抗 原	检 查 数	阳 性 数	效 价 波 动	阳 性 吻 合 数	不 吻 合 数
流研所制(中国)	8	2	1个滴度	2	0
北 里 制(日本)	11	8	2~5个滴度	4	4
铃 木 制(日本)	8	4	1~6个滴度	0	4

3. 用不同抗原检查中国草狗血清的结果比较：用三种抗原检查10只中国草狗，用中国制抗原查出1只草狗血清阳性（7号狗），用日本抗原查出4~5只狗阳性。

4. 用S型凝集抗原检查不同种狗血清的比较：用S型试管凝集抗原共检查38份Beagle狗血清。除1份血清呈1:20阳性反应外，其余全部为阴性。

两只狗（草狗7号、Beagle狗22号）血清对犬种菌抗原呈阳性反应，用光滑(S型)布氏菌凝集抗原检查结果见表3。从表3中可见，S型(光滑型)抗原检查结果与中国抗原检查的效价差别十分明显。血清与血浆的反应结果相近。

5. 培养布鲁氏菌阳性的两只狗的血清反应比较：从草狗7号、Beagle狗22号分离到2株细菌，用不同种抗原多次检查其血清，结果列入表4中。从表4可见，流研所制抗原检查两只狗的血清试验结果重复性是好的；日本两种抗原对Beagle22号狗重复性差。

2. 用不同抗原两次检查同一份血清的结果比较：将其结果列于表2。从表2所见，同一份血清两次检查结果说明流研所抗原吻合性

表 3 用不同抗原检查两只狗的血清、血浆反应比较

抗 原	效 价 (1: )			
	草 狗 7 号		Beagle 狗 22 号	
	血 清	血 浆	血 清	血 浆
流研所	640	640	640	640
光 滑	80	20	—	—
北 里	1280	1280	20	—
铃 木	2560	1280	20	—

表 4 培养布氏菌阳性狗的几次血清反应

狗 号	检 查 次 数	不 同 抗 原 检 查 结 果		
		流 研 所 (中 国)	北 里 (日 本)	铃 木 (日 本)
Beagle22	第 1 次	1 : 320	—	1 : 20
	第 2 次	1 : 320	1 : 40	—
	第 3 次	1 : 320	1 : 320	1 : 320
	第 4 次	1 : 640	1 : 20	1 : 20
草狗7号	第 1 次	>1 : 320	>1 : 320	>1 : 320
	第 2 次	1 : 640	1 : 1280	1 : 2560

二、解剖观察及分离布氏菌：我们对用流研所制的狗种布氏菌凝集抗原检查时对血清反应超过1:160的2只狗，作了解剖观察和细菌分离。

1. 解剖时动物大体解剖观察：

Beagle狗22号：脾脏比正常的约增大1倍，质软、颜色正常，其他组织脏器未见明显异常。

草狗7号：脾脏约增大1倍，质软、表面有紫灰色小结节，肠系膜淋巴结、领下淋巴

结、后腹壁淋巴结增大约2~3倍，有出血点，子宫、卵巢有明显的炎症表现，其他脏器未见异常。

2. 分离布鲁氏菌：解剖时以无菌技术取各脏器、组织进行布氏菌分离，其结果列表5中。从表5可见，草狗7号出菌广泛，而且长出早；Beagle狗22号出菌稍晚，主要在淋巴结和生殖系统。

表5 各脏器分离布氏菌结果

狗号	肝	脾	心	尿	骨	领下	肠系膜	后腹壁	睾丸	附前	乳房	卵巢	注
	脏	脏	血液	髓	淋巴结	淋巴结	淋巴结	淋巴结	淋巴结	腺	汁	宫	巢
Beagle 22	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	7~10天 分出菌
草狗 7号	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4~5天 分出菌

注：+、#、表示分出菌的数量多少

三、分离的布氏菌的鉴定：将分出的2株菌通过形态检查及血清学鉴定证明是属于布鲁氏菌。又通过各种检查方法证明，这2株布氏菌是犬种布鲁氏菌。检查结果列于表6。从表6可见，草狗7号和Beagle狗22号的结果与B·canis标准株RM666相似，只是Beagle22号株对复红的反应不稳定，近于B·canis株Mex。在复红抑菌的反应上草狗7号与Beagle22号有微小差异。

## 讨 论

通过本调查表明，我们按国际通用方法[10]制备的B·canis菌试管凝集抗原是稳定和特异的，而且优于日本制的两种抗原。我国制的B·canis抗原检查未明血清的重复性好，滴定点清楚，与布氏菌分离及有关病理改变相吻合。

从Beagle狗22号和中国草狗7号分离微小球菌，经鉴定证明是狗种B·canis布鲁氏菌。草狗7号株在硫堇、复红培养基中生长情况与猪种布鲁氏菌相似，这与Meyer的报道[9]是一致的，此菌与其他R型布鲁氏菌具有共同性抗原（表6）。

表6

菌株	硫化氢产生		二氧化碳需要		因子		抗R血清		嗜菌体裂解		RTD		R/O		R/C			
	2.5万	5万	5万	10万	5万	10万	A	M	Wb	Fi	BK <sub>2</sub>	10 <sup>4</sup> *	RTD	10 <sup>4</sup>	RTD	10 <sup>4</sup>	RTD	10 <sup>4</sup>
16M	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
554A	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
1330S	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
RM666	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
草狗7号	-	-	-	-	±*	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
Beagle22号	-	-	-	-	±*	+	±*	±*	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-

注：\*±是表示不稳定，\*10<sup>4</sup>是表示10<sup>4</sup>RTD，+是表示反应阳性或被噬菌体裂解，-表示反应阴性或未被噬菌体裂解。

应当指出的是，虽然从Beagle狗22号分出的B·canis与从草狗7号分出的菌主要特征一致，对在复红培基中的抑菌反应却有一定差别。草狗7号菌与RM666菌表现一致，在复红培基中不生长；而Beagle22号菌对复红的抑菌反应表现不稳定，而B·canis Mex株能在复红培基中生长。这一点说明22号与从墨西哥分出的5株(即表6中标记角花的)B·canis菌相似<sup>[3]</sup>。这是否提示，在B·canis布鲁氏菌种中有不同生物型，有待深入研究。

从两株B·canis布鲁氏菌的特征及有关狗的内脏及组织病变的分析中提示：上述两种狗中的感染不是来自同一传染源。两个菌株对复红抑菌的敏感性具有微小的差别：草狗7号表现的病变较广泛、陈旧，其血清的布氏菌效价高，进入狗场的时间短；Beagle狗病变较轻，其血清效价低。这些特点可能说明，草狗7号的感染来源不是Beagle狗，而在我国产的草狗中已有B·canis感染的存在。为证实此点，应进一步作深入的动物病的流行病学调查。

### 摘要

本文用我国自制的B·canis菌抗原对上海第一医学院实验动物部饲养的国外进口的“Beagle”狗和少数我国草狗作了血清学调查。结果表明，我国自制

的狗布氏菌抗原较日本制的两种诊断用抗原稳定、特异性好以及试验重复性好。报告了在我国首次从Beagle狗和中国草狗中分出狗种B·canis布鲁氏菌。

### ABSTRACT

This paper reports that sera of 38 Beagle dogs and a few Chinese breed dogs from The Experimental Animal Department of Shanghai Medical College were performed with a number of specific Brucella canis antigens. Results showed that Brucella canis antigen prepared in the Brucella Laboratory of The Institute of Epidemiology and Microbiology, Beijing, China Was stable, specific and repeatable well. Furthermore, two strains of Brucella canis were isolated and identified in China from a Beagle dog No 22 and a Chinese breed dog 7.

### 参考文献

1. Carmichael LE et al: Cornell Vet 58, 579, 1968.
2. Carmichael LE et al: J Am Vet Med Asso, 152, 605, 1968.
3. Carmichael LE et al: WHO/Bruc/80, 361.
4. Brown J et al: Am J Pub Heal, 66, 889, 1976.
5. Hall WH: J Infect Dise 124/6, 615, 1971.
6. Morisset R et al: Lancet, 2, 1000, 1969.
7. Fredrickson LE et al: J Am Vet Med Asso, 165, 987, 1974.
8. Sivenson RM et al: Ann Int Med, 76, 435, 1972.
9. Meyer ME: Am J Vet Res, 30 1751, 1969.
10. 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，3，1982。
11. 中国医学科学院流行病学微生物学研究所布鲁氏菌病研究室：布鲁氏菌病实验研究技术，1983。

## 黑龙江省流行性出血热疫区鼠类携带病毒抗原情况

刘学礼\* 范恩家\* 韩起\* 刘仲玉\* 李庆学\* 魏桂珍\* 崔凤仪\* 王淑坤\*  
林树波\* 陶清晨\* 张惠丽\* 刘颜山△ 夏洪波△ 郑洪秀△ 孟庆海\*

为查清我省流行性出血热(EHF)疫区鼠类携带EHF病毒抗原情况，我们于1982年11月至1983年4月在五常三河屯林业局东方红林场、引龙河农场、牡丹江农场管理局农场等三个疫区共捕鼠491只，包括黑线姬鼠、小家鼠、大林姬鼠、棕背䶄、鼩鼱、红背䶄、褐家鼠、巢鼠、东方田鼠、黑线仓鼠、花鼠等12种，取其肺组织做冷冻切片，用间接免疫荧光法和阻

断试验检查，查出黑线姬鼠阳性率三个捕获点分别为1.79%、2.5%和6.1%；小家鼠为1.89%；棕背䶄为1.16%；褐家鼠为5.6%；东方田鼠为2.6%；黑线仓鼠为12.5%；巢鼠为2.0%。其中黑线姬鼠为优势鼠种，巢鼠带毒为国内首次发现。

\* 黑龙江省卫生防疫站

△ 牡丹江农场管理局卫生防疫站