

综 述

犬种布鲁氏菌病国外研究现状

中国预防医学中心流行病学微生物学研究所

李元凯 尚德秋

自1966年Carmichael报告[1]在200例流产的Beagle狗中首次分离到培养和生化特性与布鲁氏菌属的菌相似的细菌以来,对犬种布鲁氏菌病进行了比较广泛的研究,并对该种疾病在经济和公共卫生等方面影响的重要性进行了调查。对本病研究较多的国家有美国、日本、德国、墨西哥、秘鲁和阿根廷等。尤其是美国对狗和人间的犬种布鲁氏菌病流行情况进行了大量的调查,并建立了犬种布鲁氏菌病血清学、细菌学的诊断和分离培养方法。同时对犬种布鲁氏菌病的临床症状、体征、病理变化、治疗和预防等方面都进行了研究[2~6]。

我国在这方面几乎是处于空白状态,只是最近1~2年才从美国引进的Beagle狗中分离出犬种布鲁氏菌,同时还证实我国的土种狗中也有犬种布鲁氏菌病的流行[7]。为了引起我国布鲁氏菌病防治科研工作者的重视,现将国外犬种布鲁氏菌病研究现状予以回顾。

犬种布鲁氏菌的特性

在形态学上,犬种布鲁氏菌与其他布氏菌一样也是革兰氏阴性杆菌。生长所要求的营养条件较其他布氏菌不甚苛刻,它可在多种培养基上生长,如在Albimi肉汤或琼脂、胰蛋白胨琼脂培养基、血液琼脂、胰酶-大豆琼脂及肝琼脂培养基上均能生长良好。初代分离该菌需要48~72小时,经转种传代后,48小时生长非常丰满。在培养过程中需氧,不需二氧化碳,而在二氧化碳条件下生长受到抑制。在固体培养基表面上,生长的集落是粘着、不透明的。在肉汤中生长时呈粘液状或丝状。该菌不运动,在电镜下观察无荚膜[8]。

从新分离的培养物中,经多次传代后可得到有毒的(颗粒粘液状)和低毒的(光滑粘液状)变种[3]。该菌具有与R型布氏菌株相同的凝集原性,但没有S型菌的表面抗原[9]。此菌没有牛种布氏菌那种用醚水很容易提取的LpS(脂多糖),这一点可以解释被该菌感染的动物为什么很少有发烧和其它中毒症状[4]。通过免

疫扩散试验证明,犬种布氏菌水溶性抗原与其他布氏菌是相似的。从流产狗中分离到的犬种布氏菌在碱性复红、硫堇上生长情况和尿素酶的产生等特性与猪种布氏菌是相似的[9]。

犬种布氏菌能产生丰富的尿素酶。在染料抑菌试验中,该菌在1:50000的硫堇上生长,在1:50000复红上不长。仅在墨西哥分离的5株犬种布氏菌在复红上生长。不产生 H_2S ,能还原硝酸盐为亚硝酸盐。初代分离的培养物总是粗糙型(R)或粘液型(M),在液体培养基中形成粘液状沉淀。它能氧化D-核糖, D-葡萄糖, L-精氨酸, DL-瓜氨酸, DL-鸟氨酸, L-赖氨酸。对赤藓醇氧化作用不稳定。不氧化L-丙氨酸, L-天门冬素, L-谷氨酸, L-阿拉伯糖, D-半乳糖。除上述与猪种布氏菌相似的特点外,其他特点足以与牛种、羊种、猪种及绵羊副睾种,沙林鼠种布氏菌相区别。该菌不被Tb噬菌体所裂解。而被R/C噬菌体裂解形成融合性噬斑。

根据气相色谱分析表明,犬种布氏菌与其他布氏菌是非常相似的[10]。从犬种布氏菌提取的DNA,经核苷酸序列分析证明也与其他布氏菌十分相似,这就更有力地证明该菌是属于布氏菌属[11]。

犬种布鲁氏菌病的流行病学

在美国自1966年以后,陆续调查发现,几乎各地都有犬种布鲁氏菌病流行。至1968年底,在38个州中有800只以上的狗都感染此病[12]。在日本的岐阜和滋贺地区,1976~1977年调查了1186条狗,对犬种布鲁氏菌病血清凝集滴度大于1:320的狗进行剖杀,取各种脏器和体液进行分离培养,结果证实犬种布氏菌检出率为2.8%。此外在德国、巴西、墨西哥等国也都从人和犬中分离到犬种布氏菌。

由于诊断犬种布氏菌病的血清学方法和判定标准的不统一,致使在世界各地的人群中血清检出率差异很大。美国和德国检出率低于0.4%,在墨西哥的墨西哥市,用血清试管凝集试验和琼脂糖凝胶免疫扩散

试验,检查300多人份血清样品,阳性率达13%,野狗的血清检出率为28%。秘鲁和阿根廷也报道过类似结果。

在犬中的感染情况

犬种布氏菌首次是从Beagle狗中分离得到,其他种的狗对犬种布氏菌也很敏感[12]。虽然有的狗没有表现出病态,但在它们之间已互相传染着,尤其是同一窝狗传染更快。在感染的狗中常见有持久性的菌血症,甚至可维持1年或更长[14]。感染可能是在产仔后的狗中传播,也可能通过性交传播。虽然可以从感染公狗的精液、前列腺、副睾和尿中很容易地分离到布氏菌,但它不能很快地感染非怀孕的母狗。

狗感染了犬种布氏菌后,常常是没有明显的发热反应。怀孕母狗大约在怀孕50天发生流产或死胎。感染早期可能表现淋巴结肿大和脾大。公狗感染后出现副睾炎、阴囊皮肤炎,睾丸萎缩和不育[11,12]。曾报道在实验性和自然感染的犬中,随着感染时间的拖长可以导致前房眼色素层炎[6],复发性眼葡萄膜炎。并从前房液中可分离到犬种布氏菌。

感染犬种布氏菌的公狗(Beagle狗),超过3个月就可产生血清抗体,它可以凝集正常狗的精子。感染4~6个月的狗凝集滴度最高,10个月后精子凝集滴度降低。在慢性感染狗的精液中也有抗体存在,亦可引起正常精子的凝集,用加热(56°C1小时)或2-巯基乙醇处理精液后,其凝集精子能力消失。当将精液、精子和2个溶血单位的补体混合时,精子不活动。将能使精子凝集的精液经Sephadex G200层析时,前两个吸收峰精子凝集滴度最高,该部分为IgA。

持续4个月菌血症的狗,用从狗睾丸提取的可溶性提取物作皮肤试验,可引起迟发性皮肤过敏反应。正常狗不产生此反应。睾丸萎缩的狗有非常严重的皮肤变态反应。上述的各种免疫反应,可能是引起感染犬种布氏菌公狗不育的原因[15]。

犬种布氏菌最重要的传染方式是通过流产后的胎盘组织和阴道分泌物,流产后数周,大量细菌从阴道粘液中排出。被感染的小狗可能是死产或体质很弱,可在几小时或几天内死亡。即使幸运存活下来的“健康”小狗,也有淋巴结肿大,还可能有菌血症存在[16]。在公狗的副睾和前列腺中可能长期隐藏细菌,所以在性交时可能引起感染[6]。

人感染犬种布氏菌的现状

在人群中感染此菌,估计比公开报道的数字要多得多。到1980年,已报道的仅有24例病人,其中美国18例。墨西哥、巴西、阿根廷培养阳性的有6例[13]。在美国的这18例中,有8例(44%)同狗有接触,另外有8例(44%)与职业有关,其中6名是实验室工作人员、1名兽医、1名动物饲养员。再有2例感染的原因不清。概括地说,人的感染是与传染源密切地接触有关。

人感染此病后的临床症状是多种多样的。突出症状是发烧、寒战、不适、体重减轻,还有头疼、关节痛、淋巴结肿大等[9,10,14,16]。患者血清试管凝集试验效价在1:100以上(抗原用B.Canis制备的)和琼脂糖凝胶免疫扩散试验也是阳性。在上述18例患者中有16名患者,从血液中分离出犬种布氏菌。

Muntord曾对有两例与狗接触有关的非实验室感染的病例,进行了详细地临床观察和流行病学调查[16]。值得注意的是作者在报告的讨论中提出,应用常规牛种布氏菌制备的抗原,对某些患者进行试管凝集试验,其结果为阴性,而用B.Canis制备抗原做试管凝集试验效价可达1:200或更高。所以在诊断布氏菌病人时,应考虑到应用其他R型抗原作凝集试验,这样更有助于诊断。

人感染此病的途径仍是不清楚的,可能与接触感染犬的尿、精液、阴道分泌物,流产胎儿等有关。有人曾用患有犬种布氏菌病,处在菌血症时期的2只狗体上的15只跳蚤分离B.Canis来说明传播媒介的作用,结果为阴性。

犬种布氏菌病的治疗

由于目前治疗犬种布氏菌病没有确实有效的治疗方法,所以治疗犬种布氏菌感染与其他种布氏菌感染相似,首选药物是四环素族,如土霉素、四环素。延长四环素的疗程,更有利于患者恢复健康。有人曾对犬种布氏菌做过药敏试验,证实犬种布氏菌对四环素族、链霉素、卡那霉素等的药物敏感性都很高,而对多粘菌素B,杆菌肽等均不敏感,而且还证实约有24%的犬种布氏菌对红霉素、苯氧乙基青霉素、新霉素,新生霉素等都有抗药性。联合使用抗生素效果会更好。

犬种布氏菌病的研究历史还比较短,因此对该病的许多问题仍处于探索阶段。犬种布氏菌特性,犬种布氏菌病在人、畜间分布、临床表现、预防措施等都

需要进行调查、研究并予以充实和解决。本文仅就犬种布氏菌病的某些问题予以概述。我们确信,经过国内外同道们共同努力,犬种布氏菌病的某些悬而未决的课题会得到进一步澄清,控制和根除此病指日可待。

参 考 文 献

1. Carmichael L E et al: J Am Vet Med Ass, 149: 1126, 1966
2. Nancy L H et al: J Am Vet Med Ass, 177: 168, 1980
3. Carmichael L E et al: Cornell Vet, 58: 579, 1968
4. Hall W H: J Inf Dise, 124 (6): 615, 1971
5. Anonymous: J Am Vet Med Ass, 149: 1126, 1966
6. Carmichael L E et al: WHO/Bruc, 80: 361, 1980
7. 尚德秋等: 中华流行病学杂志, 5 (6): 345, 1984
8. Jones L M et al: J Bac, 95 (5): 625, 1968
9. Meyer M E: J Vet Res, 30: 1751, 1969
10. Mitruka B M et al: App Mic, 70: 649, 1970
11. HoYer B H et al: J Bac, 96: 1783, 1968
12. Carmichael L E: J Am Vet Med Ass, 152: 605, 1968
13. Carmichael L E et al: Proc Us Livestock Sanit Ass, 71: 517, 1961
14. George L W et al: Am J Vet Res, 45: 274, 1984
15. Russell W C et al: J Am Vet Med Ass, 180: 132, 1982
16. Muntord R S: J Am Med Ass, 231: 1267, 1975

用协同凝集反应快速检测土拉菌

王 富* 史丕裕** 王炳全* 周新荣*

本文报告了1983年2月用协同凝集反应检测土拉菌的研究结果。

材料与方法: 10% SpA 稳定菌液; T₁₅/B土拉菌; T₁₅/B土拉菌免疫血清 (T₁₅/B抗血清); 特异性试验所用的15种常见细菌; 模拟新鲜标本——正常小白鼠肝脾的10%悬液将土拉菌稀释成不同浓度而成; 取模拟腐败标本——土拉菌感染的小白鼠肝、脾, 经48和72小时腐败后制成10%悬液, 稀释为不同含菌浓度而成; T₁₅/B土拉菌抗血清标记的SpA菌液 (T₁₅/B-SpA); 正常兔血清标记的SpA菌液 (正常血清-SpA)。

本试验协同凝集反应方法与常法相同。

结果: 以土拉菌和上述15种其它细菌分别与T₁₅/B-SpA作协同凝集反应, 只有土拉菌发生凝集。通过T₁₅/B-SpA与正常血清-SpA和T₁₅/B抗血清玻片凝集方法对土拉菌敏感性比较, 当菌浓度为10个/毫升时, 前者既可出现凝集, 后两种方法均无凝集现象。

T₁₅/B-SpA在新鲜脏器标本中检出土拉菌浓度为100个/毫升, 敏感性大大高于T₁₅/B-抗血清。T₁₅/B-SpA在腐败48和72小时的标本中均可检出浓度为100个/毫升的土拉菌。由此看来T₁₅/B-SpA法敏感性高于直接玻片凝集法, 且无非特异凝集。

* 中国人民解放军乌鲁木齐部队军事医学研究所

** 新疆维吾尔自治区畜牧厅兽医总站

《布鲁氏菌病防治手册》即将出版

由姜顺求、谢昕等同志主编或副主编的《布鲁氏菌病防治手册》将由人民卫生出版社于1985年下半年出版, 由各地新华书店发行。

该手册是为了满足广大卫生、畜牧兽医工作者从事布病防治科研工作迫切需要, 在总结国内外多年布病防治科研工作经验的基础上, 由中共中央地方病防治领导小组办公室组织人员编写的。该手册共分十章, 不仅讲述了布病一般理论知识, 而且详细地介绍了有关防治科研的具体操作技术和方法, 包括病原

学、流行病学、实验室诊断、动物布病、人类布病、免疫、免疫制剂、生物制品的制备和标化, 以及预防措施等, 并附有防治布病的法规、动物实验方法等五个附件。本手册既是广大卫生、畜牧兽医工作者从事防治科研工作所必不可少的指导性读物, 又是各级卫生、农牧院校和科研单位进行教学和研究的工具书。本书为32开本, 约30万字, 塑料贴面, 每册估价3.50元。如欲购者, 亦可直接向中地办 (沈阳) 订购。

中共中央地方病防治领导小组办公室 1985.1