



中国布鲁氏菌病的防控

刘文兴, 步志高*

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所, 动物疫病防控全国重点实验室, 哈尔滨 150069

* 联系人, E-mail: buzhigao@caas.cn

收稿日期: 2023-06-29; 接受日期: 2023-10-13; 网络版发表日期: 2023-12-12

黑龙江省自然科学基金面上项目(批准号: C2015068)和天津市农业科技成果转化与推广项目(批准号: 201704050)资助

摘要 布鲁氏菌病(简称布病)是由胞内寄生的布鲁氏菌引起的一种重要人兽共患传染病, 呈世界性分布, 中东和亚洲地区流行严重, 中国也不例外. 革兰氏阴性的布鲁氏菌入侵宿主后, 定植于巨噬细胞, 逃避宿主免疫系统, 造成慢性感染; 可感染人、多种家畜和野生动物, 引致相似的临床症状与病理损伤. 布病不仅危害动物和人类健康, 而且影响经济发展与社会稳定, 甚至威胁到国家安全. 加强布病的科学研究与综合防控, 既有经济学和公共卫生学意义, 也是国家安全战略的重要内容之一. 传染病防控, 既遵循“消灭传染源、保护易感宿主和切断传播途径”三个基本原则, 又是一项系统工程; 其中, 良好的监测、可靠的诊断和安全有效的疫苗尤为重要. 中国自1950年始, 建立了科研队伍对布病进行调查与研究, 开展联合攻关, 分阶段、有步骤地采取综合防控措施, 取得丰硕成果的同时, 也积累出经验与教训; 制定并更新了布鲁氏菌病诊断技术的行业和国家标准, 相继有布鲁氏菌cELISA, iELISA和胶体金的抗体检测试剂盒(试纸条)获得新兽药证书; 同时也是独立自主成功研制布鲁氏菌弱毒疫苗的国家, 相继有布鲁氏菌常规弱毒疫苗(M5, S2和M5-90)和基因缺失活疫苗(A19-ΔVirB12, M5-90Δ26和BA0711)批准使用. 这些研究成果的推广应用为布鲁氏菌有效控制和最终净化提供科技支撑.

关键词 布鲁氏菌病, 人兽共患, 疫苗, 诊断, 防控

布鲁氏菌属为 α -变形菌纲(α -proteobacteria)中的成员, 由一类兼性厌氧、胞内寄生的革兰氏阴性病原菌组成, 多数能感染包括牛、羊、猪、鹿、犬等哺乳动物和人在内的多种宿主, 且具宿主偏嗜性, 定植于巨噬细胞、特化上皮细胞和网状内皮组织. 感染哺乳动物, 通过侵害生殖系统, 引致母畜流(早)产、不孕不育和产奶量下降, 以及公畜睾丸炎和个体瘦弱为特征. 而人通过接触患病动物及其产品, 或接触被其污染环境而感染, 表现发热、乏力、孕妇流产、男性睾丸炎等病症, 严重影响生殖健康和生活质量, 甚至丧失其

劳动、生育能力^[1]. 临床上, 由布鲁氏菌引发的疾病称为布鲁氏菌病(布病, 又称地中海热或波状热), 未及时治疗可发展成慢性感染^[2]. 因其能造成重大经济损失和卫生公共危害, 《中华人民共和国动物防疫法》规定其为需严格控制、实施扑灭和防止扩散的二类传染病, 世界动物卫生组织(World Organisation for Animal Health, WOAH)将其列为B类传染病^[1].

人间布病在中东、中亚和地中海国家均广泛流行, 但因临床症状不典型, 容易被误诊; 即便如此, 全球每年仍约有50万例人间布病病例发生^[1]. 人间布病最

引用格式: 刘文兴, 步志高. 中国布鲁氏菌病的防控. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 1713–1721

Liu W X, Bu Z G. Prevention and control of brucellosis in China (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 1713–1721, doi: [10.1360/SSV-2023-0131](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0131)

有效解决办法就是控制布病在动物中的流行。因此加强布病的科学研究和综合防控具有重要意义。

传染病防控, 必须遵循“消灭传染源、保护易感宿主和切断传播途径”三原则, 也是一项综合施策的系统工程。因此, 良好的监测、可靠的诊断和安全有效的疫苗对根除或控制布病至关重要^[3]。

1 布病病原简述

布鲁氏菌是革兰氏阴性球杆菌, 通常单个存在, 也可成对或成团存在, 长为0.6~0.5 μm, 直径为0.5~0.7 μm。布鲁氏菌不运动, 无荚膜或芽孢, 观察不到两极着色。布鲁氏菌不是真的能够抗酸, 但在弱酸性环境下能够抵抗脱色, 因此在改良的基尼氏染色中呈红色^[1]。根据该菌在生化、染色、噬菌体、宿主等特性上的差异, 目前主要分为6个经典种及其19个生物型^[4], 包括马耳他或羊种(*B. melitensis*)、流产或牛种(*B. abortus*)、猪种(*B. suis*)、沙林鼠种(*B. neotomae*)、绵羊附睾种(*B. ovis*)和犬种(*B. canis*)布鲁氏菌; 此后相继有10个新发现的种或型, 并有学者将它们已知的自然宿主和对人

是否致病性进行了总结(表1)。

病原学上, 对上述6个经典种有更多的研究。布鲁氏菌属基因高度同源, 故有人提出其来源同为马耳他种的假说^[2]。在感染性或致病力上, 对人畜危害严重的主要是马耳他种、猪种和流产种布鲁氏菌, 其中马耳他种最强。不同种布鲁氏菌大多既有交叉感染宿主的能力(多宿主易感性), 又表现明显的宿主偏嗜性(危害趋向性)。例如, 马耳他种对人、羊高度易感, 引致的危害也最为严重; 流产种对牛高度易感, 危害严重, 但对人的易感性及危害性相对较轻; 猪种对猪、人均高度易感, 危害也较为严重, 对牛虽能建立感染, 但几乎不形成危害; 绵羊附睾种对绵山羊才有致病性; 犬种一般仅感染犬并造成危害。

流产种、猪种、马耳他种和沙林鼠种布鲁氏菌为光滑型, 而绵羊附睾种、犬种布鲁氏菌为粗糙型, 且在毒力、致病性上光滑型一般要高于粗糙型布鲁氏菌。光滑型细菌表面脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)O-外侧链表达完整, 菌落光泽度好, 45度折射光下呈蓝绿色, 不被结晶紫染色。粗糙型细菌表面LPS O-外侧链表达不完整, 菌落表面发干, 颗粒性强, 呈黄白色, 能被

表 1 布鲁氏菌种或型的自然宿主及其对人的致病性

Table 1 Natural hosts of *Brucella* species or forms and their pathogenicity to humans

序号	细菌种或型	自然宿主	对人的致病性
1	<i>B. melitensis</i> (马耳他或羊种): 1, 2, 3型	绵羊、山羊、骆驼	有、高
2	<i>B. abortus</i> (流产或牛种): 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9型	牛、驼鹿、野牛	有、高
3	<i>B. suis</i> (猪种): 1, 2, 3, 4, 5型	猪、兔、驯鹿、	有、高
4	<i>B. canis</i> (犬种)	犬(家养犬、野狗)	有、中
5	<i>B. ovis</i> (绵羊附睾种)	绵羊	无
6	<i>B. neotomae</i> (沙林鼠种)	沙林鼠	无
7	<i>B. ceti</i> (鲸型)	鲸类动物	有、低
8	<i>B. pinnipedialis</i> (鳍型)	鳍类动物	有、低
9	<i>B. microti</i> (田鼠种)	红(赤)狐、普通田鼠	无
10	<i>B. inopinata</i> (歧见玛瑙宝螺种, 又名意外布鲁氏菌)	目前未知(从病患者身上意外分离2株*)	有、高
11	<i>B. papionis</i> (狒狒种)	非人灵长类动物	无
12	<i>B. vulpis</i> (赤狐种)	红(赤)狐	无
13	<i>Brucella</i> NFXXXX	澳大利亚老鼠	无
14	<i>B. unnamed</i>	蓝点鲳	无
15	<i>B. inopinata-like</i> 09RB8471	非洲牛蛙和大眼树蛙	无
16	<i>Brucella</i> UK8/14	白色树蛙	无

“”：一株分离于乳房感染伤口的植入物中, 另一株来自1名慢性破坏性肺炎的患者身上

结晶紫染色. 实验证明, 光滑型布鲁氏菌在宿主体内驻留(生存)时间长, 不易被免疫系统清除, 会引发较强的免疫反应. 因此, 目前研制成功并临床应用的兽用疫苗多以光滑型布鲁氏菌为亲本的减毒活疫苗, 同时为保证疫苗的免疫效力, 规定在疫苗生产过程中其变异的粗糙型菌落数量控制在5%以内.

布鲁氏菌经呼吸道、消化道、生殖系统黏膜以及损伤的皮肤, 通过接触或食入含有细菌(具传染性)的分泌物、体液、尸体及污染的肉、奶而建立感染. 感染家畜, 特别是已感染马耳他种的绵羊和山羊, 是人间布病最主要的感染来源, 但人与人(人际间)的水平传播几乎不会发生. 布鲁氏菌主要通过流产胎儿体液、羊水或者通过母乳垂直传播给后代. 流产胎儿和胎盘中定植的细菌数高达 $10^9 \sim 10^{10}$ CFU/g. 猪种、马耳他种和犬种布鲁氏菌主要以性传播方式进行垂直传播. 猪种和犬种布鲁氏菌还可以通过尿液、乳汁和黏膜向外界分泌. 犬种布鲁氏菌在粪便排泄物中也被发现. 母犬流产后可持续排菌4~6周, 在阴道分泌物中细菌含量高达 10^{10} CFU/mL. 通常情况下感染猪种、犬种布鲁氏菌的动物要比感染流产种、马耳他种布鲁氏菌的动物排毒时间更长.

2 中国布病流行的历史与现状

布病自传入中国并流行, 历史上危害极为严重. 1949年后, 布病被列为二类法定传染病, 防治得到了高度重视. 20世纪六七十年代起对高危人群和家畜进行疫苗接种, 发病率大幅下降, 取得了举世瞩目的布病稳定控制期^[5,6]. 但自90年代起, 随着畜牧业迅猛发展和养殖规模不断扩大, 居民消费需求旺盛和生活水平改善提高, 家畜及其产品市场流通频繁, 出现了重养轻防的急功近利现象, 和存在布病防控主体责任不清、基层防疫队伍不足或不稳定、饲养管理和疫病防控水平参差不齐、生物安全意识薄弱等诸多现实, 没能保持和巩固好难得的“黄金10年”积极成果, 导致布病重新肆虐, 目前仍处于高位流行的严峻态势^[7]. 其流行特点表现: 一是流行区域以北方为主, 逐渐向南方扩展. 二是流行范围扩大, 阳性报告病例的省市数量增多. 三是个体感染率逐年有所波动, 仍处高位流行态势. 四是体现在产业、职业、性别和年龄上的差异.

1952~1982年期间对3050万头家畜(羊、牛、猪)和457万份人的血清样品进行调查的结果显示, 布病感染阳性率分别为41.27%和8.43%; 1982~1990年期间对4920万头家畜(牛、羊、猪)和788万人的血清样品进行该病调查, 感染阳性率分别已降至0.55%和0.75%; 1991~2001年期间对220万份人的血清进行流行病学调查, 结果显示感染阳性率由90年代初期的0.35%升至后期的3.57%, 同时每年的人新发病例数增加3~6倍. 布病在中国的流行, 总体以马耳他种菌株为主的混合感染, 但随时(时间)空(地域)变化呈现不同特点. 1980年之前, 流行株*B. melitensis*, *B. abortus*和*B. suis*分别为65%, 25%和10%; 1980~1990年, 三者分别变化为30%, 40%和20%; 90年代的统计结果, *B. melitensis*又升至80%, 重居主导地位, 而*B. abortus*和*B. suis*分别为10%和不足1%的占比; 另外, 犬类感染*B. canis*病例增加, 东部、东南部地区和东北、西北地区的感染率分别达12%和40%. 其流程度与地域高度相关, 其中半牧或纯牧省区(三北及西藏、河南等)最为严重, 人感染率高达14%, 其他省区则在1%~5%范围内. 流行还呈现显著的职业特点, 其感染率由高到低的顺序依次为: 畜牧业者和兽医(19%~20%)、肉品屠宰加工和毛皮业者(11%~12%)、农民(约为5%)和学生(低于1%). 总之, 近年来, 中国人间和畜间布病流行, 总体上仍处于高位态势^[8~10].

3 近年来中国人间布病流行趋势

据国家布病监测系统统计, 中国有约4.0亿人受到布病威胁, 1955~2021年累计有854711人感染布病(当年新发病例, 下同), 死亡170人. 期间, 1979年之前中国人布病发病率相对稳定, 仅在1957~1963年和1969~1971年这两时段出现发病高峰; 1979年始发病率显著下降; 1995年后发病率持续上升, 2014年达到一个高峰, 此后略微回落, 仍高位运行; 2019年再度回升, 2021年达到近10年的历史最高水平, 发病率4.95/10万, 形势相当严峻(图1A和B)^[9](来源<https://data.stats.gov.cn/easyquery.htm?cn=C01>〈国家数据中心. 人间布鲁氏菌流行数据〉).

2006~2016年全国累计报告人间布病418591例, 北方病例占99.3%; 2017~2021年累计为237549例, 其中

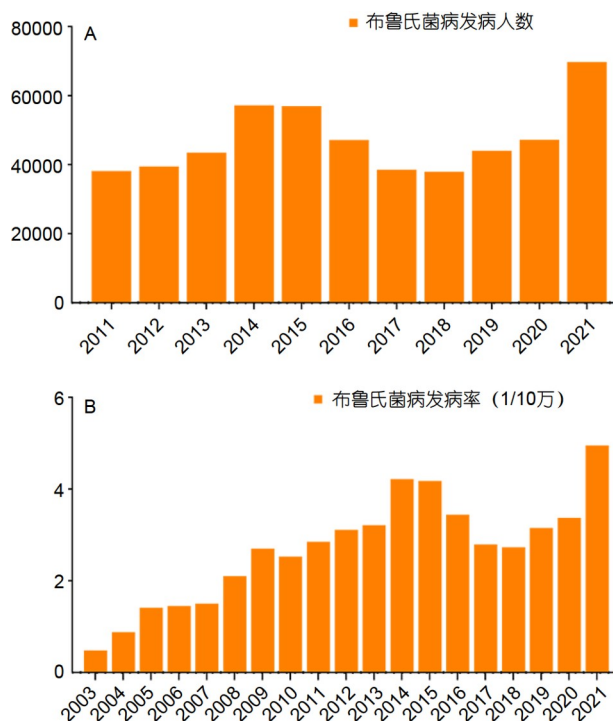


图1 近年来中国人间布鲁氏菌病发病情况。A: 2011~2021年人间布鲁氏菌病发病人数(新发病例); B: 2003~2021年人间布鲁氏菌病发病率(1/10万)

Figure 1 The incidence of human brucellosis in China in recent years. A: Number of human brucellosis cases (new cases) of china from 2011 to 2021; B: incidence of human brucellosis of china from 2003 to 2021 (1/0.1 million)

2021年高达69676例。全国没有人间病例报告的省(自治区、直辖市)情况, 2006年有8个, 2010年为4个, 2016年只有1个。2019年全国报告新发病例44036个, 发病率3.15/10万, 与2018年比, 分别增长了16.05%和15.43%; 发病率前6位为内蒙古(55.8/10万)、宁夏(32.6/10万)、新疆(16.6/10万)、黑龙江(11.5/10万)、山西(9.3/10万)和甘肃(6.8/10万), 占全国总数的68.4%; 发病率上升的省份有20个(内蒙古、青海、辽宁、河北、西藏、云南、广东、福建、湖南、四川、重庆、浙江、广西、天津、陕西、海南、河南、甘肃、山西、宁夏), 下降的有11个(新疆、吉林、山东、黑龙江、安徽、北京、江西、上海、湖北、江苏、贵州); 报告病例以男性为主, 男女比例为2.49:1, 青壮年居多; 85.93%(32609例)的病例年龄介于20~65岁之间^[10]; 布病报告病例以农、牧民为主, 分别占报告病例的78.00%和5.64%; 发病人群除了养殖和兽医从业人员外, 青少年发病率有所升高。

4 近年来中国畜间布病流行趋势

据《兽医公报》, 2006~2020年全国共累计报告畜间布病发病总数超50万余例。期间, 2011年发病数为峰值125030例; 发病动物主要为绵羊和牛, 绵羊发病数于2012年为峰值81906只; 2015年全国报告畜间布病流行严重地区的15个省, 监测阳性率同比上升0.38%; 据对布病重点地区22个县248个定点场群的监测与流行病学调查, 牛羊个体阳性率分别达到3.1%和3.3%, 群体阳性率分别达到29%和34%; 病原流行病学调查, 羊种重新成为优势流行菌株, 危害严重。2017年3月, 农业部将布病列为强制免疫疫病; 根据流行程度, 将中国31个省(自治区、直辖市)和1个兵团分为划分为3类, 按类实施不同的防控措施。I类为16个流行严重地区, 包括北京、天津、河北、山西、陕西、内蒙古、辽宁、吉林、黑龙江、山东、河南、甘肃、青海、宁夏、新疆和新疆生产建设兵团。II类15个为流行地区, 包括上海、江苏、浙江、安徽、福建、江西、湖北、湖南、广东、广西、重庆、四川、贵州、云南和西藏。III类为非流行地区, 仅有海南省为无畜间疫情省份。

由于动物病情、病史必须借由人来描述或了解、诊断花费考量成本效益、畜主与兽医或主管部门的利益诉求存在博弈(前者从自身、多考虑效益, 后者从疫病防控、多考虑公益)、常规疫苗接种干扰血清学诊断、病原学诊断有限资源(专业、费时和费钱, 实验室条件)与超大规模(以亿计)家畜个体诊断(检测、监测)的海量需求不可调和的矛盾等诸多因素, 动物布病个体确诊难度成为无法跨越的现实障碍, 势必会造成畜间布病流行统计数据不能完全反映实时状态。但引发人间布病的根源终归是畜间布病的传染来源, 两者的流行趋势存在正相关, 因此结合同期的人间布病流行统计数据进行分析, 不影响其流行态势的总体研判。结果表明, 近年来家畜布病新发病例维持较高水平, 畜间布病处于高位流行, 也体现了上述4个流行特点。

5 中国布病研究和防制已有的基础和优势

中华人民共和国成立初始, 组织卫生和兽医人员, 成立相应机构, 从事布病防控和研究工作。老一辈科研

人员在基础极为薄弱、工作和防护条件不足的情况下, 重点在血清检测、病原分离、诊断技术及疫苗研究上卓有成效地开展了大量工作, 取得了一批世界水平的研究成果^[6,11~13].

目前已从人、羊、牛、猪、犬、鹿、马、骆驼等家畜及黄羊、岩羊、黄鼠、黄胸鼠等野生动物检出布鲁氏菌, 分离出菌的样品有血液、关节液、滑囊液、骨髓、脑髓液、胸液、淋巴结、乳汁、脓汁、胆汁、尿、阴道分泌物等20余种, 另外从牧区水塘水和羊毛中也检出过布鲁氏菌. 一般地, 人的血液、关节液、滑囊液和骨髓等, 羊的流产羔、胎盘和死羔等, 牛的流产犊、乳汁等, 猪的流产仔猪、胎盘等, 这些新鲜组织或样品, 分菌成功率较高. 据不完全统计, 从50年代起, 中国分离并鉴定的人类和各种动物的布鲁氏菌至少在3500株以上. 中国兽医微生物保藏中心正式保藏的布鲁氏菌标准参考株、分离株、疫苗株共计有*B. melitensis* 109株、*B. abortus* 135株、*B. suis* 47株以及*B. ovis*和*B. canis*各1株. 其中, 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所也是羊种强毒株M28、弱毒疫苗株(M5, M5-90和M5-90Δ26)的菌种保藏单位^[11,14].

中国是世界上少数几个独立自主、成功研制布鲁氏菌弱毒疫苗的国家. 布鲁氏菌为细胞内寄生病原, 一般只能采用减毒活疫苗诱导特异的细胞免疫反应才能产生理想的免疫保护. 20世纪60~70年代, 成功研发了布鲁氏菌羊种五号苗(M5)和猪种S2减毒活疫苗^[11], 90年代推出了M5-90疫苗; 21世纪相继有基因缺失活疫苗(A19-ΔVirB12, M5-90Δ26和BA0711株)批准使用.

M5弱毒苗于1962年研制成功, 1964年开始中试, 系采用生物I型马耳他种M28强毒株, 经鸡体连续传代致弱. M5疫苗的安全性、有效性等各项指标均达世界先进水平, 还可喷雾吸入接种, 对怀孕母羊安全, 一年的有效保护期. 1971年前后开始在中国流行地区每年以几千万头份对牛、羊进行大面积免疫, 无不良反应现象, 因畜间感染率和临床流产率的下降, 其产仔率和成活率有了明显提高, 极大地促进了当地畜牧业发展; 同时人间新发布病随之减少, 保障了当地居民的健康, 很多地区达到了稳定控制的国家考核标准. 当时流行菌株以羊种为主, M5菌苗的广泛使用, 为人、畜间布病的有效控制发挥极其重要作用, 为此, 卢道纯等人于1991年荣获国家技术发明二等奖. S2弱毒苗由猪源强毒株(1952年分离于内蒙古)经连续传代

致弱而成, 中试始于60年代末, 70年代也开始正式用于羊布病防控. 可饮水给苗, 同样对怀孕母羊安全, 保护期长达2~3年. 80年代中期, S2被英国、法国、德国、西班牙、土耳其等国引入, 通过对*B. ovis*攻毒保护的比较试验, 证明S2免疫保护效果优于经典的Rev.1弱毒疫苗株^[8].

针对高危人群, 中国曾用引进的弱毒疫苗进行大规模接种并取得成功. 其中, BA19的亲本株为S19, 从苏联1956年引进, 次年小规模试用, 皮下接种, 保护期6~9个月, 保护率约为60%~80%. 1965年起使用104M疫苗(苏联50年代研制), 皮肤针刺接种, 保护期12个月, 保护率为90%. 因均存在过敏反应, 故当时疫情下降并稳定后, 不再使用.

6 改革开放后布病疫苗与诊断试剂的研究进展

6.1 羊种M5-90弱毒菌苗

(1) M5-90菌株培育及菌种命名. 为提高M5菌种的稳定性, 将M5菌种(已传鸡体187代)继续传至257代, 其培养物经0.1%黄色素处理后, 继续在9~10日龄的鸡胚成纤维细胞(chicken embryo fibroblast, CEF)上进行传代培养. 同时电子显微镜观察发现, 传代菌种的细菌能侵入细胞浆, 并随传代次数增加, 表现为适应性增强、增殖速率加快和传代接种菌量可降低; 用黄色素对收获的各代培养物进行变异检查, 菌落均保持光滑. 用豚鼠脾含菌量法对间隔10代的培养物进行毒力测定, 结果保持稳定. 收获经CEF培养90代的培养物, 作为疫苗生产用菌种, 并将该低毒菌株命名为M5-90^[15].

(2) M5-90菌种鉴定. 通过细菌菌落生长及形态观察、生化试验(结晶紫染色、二氧化碳(CO₂)、硫化氢(H₂S)、单因子A或M血清、碱性复红或硫堇、黄色素), 结果表明菌种M5-90株仍为羊种生物I型光滑型细菌, 符合其亲本株M5菌种的一般生物学特性. 利用单相、双相凝胶电泳及高效液相色谱分析菌种抗原成份, 结果M5-90菌种在电泳图谱上各特异蛋白条带(抗原组份)的分子大小、等点电与M5菌种一致, 两者抗原组份的主峰也相似, 表明两者在抗原结构上基本一致, 但与M28菌种有明显区别.

(3) M5-90菌种的稳定性与安全性. M5-90菌种通过胰蛋白琼脂连续传代、选取代次培养物进行豚鼠脾

含菌量法测毒, 利用易感动物或本种宿主动物进行毒力返强试验(连续对孕山羊传代试验、通孕山羊培养物继续通豚鼠传代试验), 以及接种现场孕羊、孕牛后进行分菌及豚鼠脾含菌量法测毒试验, 结果表明M5-90菌种的毒力比亲本M5菌种更低, 更稳定性, 不存在返强现象(表2和3)^[15~17].

(4) M5-90菌种的效力评价. 利用M5-90菌种培养物按规定剂量进行小鼠感染试验、豚鼠免疫攻毒保护试验、绵羊或山羊免疫攻毒保护试验、布病流行地区临床免疫接种等系列试验, 通过易感动物(小鼠、豚鼠)和本种宿主动物(绵羊、山羊、牛)对M5-90菌种进行了免疫效力评价, 表明M5-90菌种疫苗安全有效、无不良临床反应^[15,17,18].

上述试验(实验)结果表明, M5-90菌种是一株理想的疫苗生产用菌种, 毒力比M5更低、更稳定, 具有M5菌种的一般生物学和良好免疫保护的特性. 通过与山西省畜牧厅家畜防治站、新疆石河子地区兽医站等单位协作, 在布病流行区的现场累计用苗255万头份以上, 使该区域的布病得到有效控制.

表 2 M5-90通孕山羊试验

Table 2 Pregnant goats infected with attenuated *Brucella* vaccine M5-90

代次	试验羊数	生产情况(羊数)		分得接种菌羊数	用豚鼠测量每克脾含菌量(万)	试验年份
		正产	流产			
1	10	6	4	0	—	1979~1980
1	24	14	10	2	0.5~1.6	1980~1981
2	6	2	4	1	2.3	1982~1982
3	33	30	3	2	1.0~2.1	1982~1983
4	11	9	2	1	11	1983~1984
5	20	18	2	2	0.73~1.2	1984~1985

表 3 不同代次通孕山羊培养物继续通豚鼠传代的结果

Table 3 Guinea pigs infected with cultures from different passages of pregnant goats vaccinated with attenuated *Brucella* vaccine M5-90

通孕山羊代次	通豚鼠不同代次, 每克脾含菌量(万)				
	1	2	3	4	5
1	0.16	5.44	0.50	3.70	7.15
2	1.40	4.00	6.30	3.70	1.30
3	0.70	0	9.00	0.75	2.00
4	11.0	0.50	1.00	0.50	0.90
5	4.00	0.60	0	0.40	2.20

6.2 布鲁氏菌基因缺失活疫苗

国内外经验表明, 畜间布病流行和个体感染达到一定程度, 仅靠血清学检测和剔除阳性的防控策略难以奏效, 须采取与疫苗免疫相结合的综合防控措施. 疫苗接种可显著降低畜群(尤其羊群)的个体感染(发病)率, 有效阻断病原传播, 为控制畜间、人间布病流行和建立净化畜群创造条件. 常规(传统)布病疫苗诱导动物产生的抗体, 无法从技术上与自然感染动物的抗体加以区分, 从而干扰了流行病监测. 因此, 研制能用于区分疫苗免疫和自然感染的布鲁氏菌基因缺失活疫苗是一种理想选择. 目前国内获得该类新兽药证书的基因缺失活疫苗分别是适用牛的A19-ΔVirB12株疫苗和适用羊的M5-90Δ26株疫苗^[14].

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所始终以国家重大需求为己任, 瞄准国际前沿, 先后从科学技术部、农业农村部、哈尔滨市、中国农业科学院等单位获得累计近2000万元计十余项各类项目资金的支持, 在M5和M5-90疫苗深厚研究基础上, 接续3代人的奋斗, 坚持

在布病新型标记疫苗创制与诊断试剂研发上辛勤耕耘 18 载。即基于 M5-90 疫苗菌株遗传背景清晰、致弱毒力稳定, 具有良好免疫保护, 以及布鲁氏菌 BP26 蛋白是标记疫苗理想靶蛋白的特性, 利用重组基因技术开展了布鲁氏菌基因缺失活疫苗及其鉴别诊断试剂盒研究, 创制出布鲁氏菌基因缺失活疫苗 M5-90Δ26 株, 并于 2022 年获得了三类新兽药证书。

6.3 布病诊断试剂

为了切实推进和最终实现中国布病防控目标, 布病诊断试剂的完善提高和自主研发必不可少。在已有布鲁氏菌平板凝集抗原、试管凝集抗原和补体结合抗原规程制造及国家标准检测方法基础上, 近 20 年内国内相继有布鲁氏菌 cELISA, iELISA 抗体检测试剂盒和布鲁氏菌抗体胶体金检测试纸条获得新兽药证书或生产批文^[19,20]。

7 总结与展望

回顾和总结中国布病防治历史, 大概经历几个阶段^[5]。

1950~1963 年为初期流行阶段, 个体动物感染率 3.0%~24.6%, 采取建立机构, 培训人员, 建立诊断方法, 研发疫苗、探索免疫途径, 普查疫情, 有限地区防治措施。

1964~1976 年为研究+防控阶段, 个体动物感染率 3.1%~35.6%, 采取局部地区免疫, 检验方法、效果评价基础上, 初步确立疫苗预防为主综防措施。

1977~1988 年为免疫为主阶段, 个体动物感染率 0.4%~1.8%, 采取大范围免疫, 制定“全国布病防治规划”, 确定家畜免疫为主综防措施。

1989~2001 年为稳定控制阶段, 个体动物感染率 0.04%~0.8%, 采取分类指导; 采取检疫+淘汰、家畜免疫为主综防措施; 人间“三早”措施。

2002~2016 年为重新肆虐并高位流行、攻坚克难阶段, 个体动物感染率 2.6%~40.0%, 采取检疫+淘汰, 溯源灭点, 家畜免疫为主综防措施。《国家中长期动物疫病防治规划(2012—2020 年)》中被列为优先防治的人兽共患病之一; 农业部/卫生计生委印发《国家布

鲁氏菌病防治计划(2016~2020 年)》。在当地党委、政府领导下, 各级畜牧兽医、卫生计生等部门密切合作, 认真落实监测、检疫、消毒、扑杀和无害化处理等综合防治措施, 推广布病防治试点经验, 防治工作取得积极成效, 对迅速遏制疫情上升态势起到了积极作用。

2017 年至今为巩固成效、依法科学防治阶段。为进一步做好全国布病防治工作, 有效控制和净化布病, 根据《中华人民共和国动物防疫法》、《中华人民共和国传染病防治法》等法律法规, 制定了《2017 年国家布鲁氏菌病防治计划》, 开始对布病流行严重的一类区进行强制免疫, 采取人畜同步、分区防治、分类指导、稳步推进的综合防控措施。此后, 农业农村部制定了《全国畜间人兽共患病防治规划(2022~2030 年)》和《畜间布鲁氏菌病防控五年行动方案(2022~2026 年)》, 强调“人病兽防、关口前移”原则; 坚持预防为主, 实施依法、科学防治; 建立完善“政府领导、部门协调, 社会参与”防治机制。按照《国家动物疫病强制免疫指导意见(2022~2025 年)》每年发布含有布病强制免疫的《国家动物疫病免疫技术指南》。

布病防控是一项复杂的系统工程, 其中人的因素起最终决定作用。只有人才能对布病发生或流行的“每个地区”、“每个阶段”、“每个环节”、“每项任务”和“每种技术手段(疫苗或诊断试剂)”等方面的利弊因素进行科学分析、综合研判并求出最佳方案; 同时执行者唯有保持辩证和系统的思维与行为方式, 才能落实好布病防控中规定的内容, 达到预期成效与目标。例如, 目前的血清学方法不能对常规弱毒疫苗的免疫抗体与野毒感染产生的抗体加以区分; 而基因缺失活疫苗的推广使用, 需结合现有的血清学检测方法, 配套使用敏感特异的鉴别诊断试剂盒, 才能起到既安全保护又能鉴别诊断的双重功效。总之, 布鲁氏菌虽是人兽共患的危险因子, 但是该病可防可控。只要借鉴国内外成功的历史经验, 提高生物安全和风险防范意识, 对布病综合防控再认识, 依靠科技、依法联防联控, 做到经费、人员与制度保障, 抱有“信心贵如金”的决心攻坚克难, 人人秉持“细节决定成败、落实才是根本”的操守, 相信“有效控制和净化布病”会早日实现。

参考文献

- 1 Seleem M N, Boyle S M, Sriranganathan N. Brucellosis: A re-emerging zoonosis. *Vet Microbiol*, 2010, 140: 392–398

- 2 Cutler S J, Whatmore A M, Commander N J. Brucellosis—new aspects of an old disease. *J Appl Microbiol*, 2005, 98: 1270–1281
- 3 Cutler S, Whatmore A. Progress in understanding brucellosis. *Vet Rec*, 2003, 153: 641–642
- 4 Hull N C, Schumaker B A. Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. *Infect Ecol Epidemiol*, 2018, 8: 1500846
- 5 Shang D Q, Xiao D L, Yin J M. Epidemiology and control of brucellosis in China. *Vet Microbiol*, 2002, 90: 165–182
- 6 Shang D Q. Chinese brucellosis control for 50 years (in Chinese). *Chin J Epidemiol*, 2000, 21: 55–57 [尚德秋. 中国布鲁氏菌病防制50年. 中华流行病学杂志, 2000, 21: 55–57]
- 7 Shang D Q. The brucellosis is back and why (in Chinese). *Chin J Contr Endem Dis*, 2001, 16: 100–104 [尚德秋. 布鲁氏菌病再度肆虐及其原因. 中国地方病防治杂志, 2001, 16: 100–104]
- 8 Hu S, Bu Z G. General Situation and research progress of brucellosis (in Chinese). *Chin J Anim Husband Vet Med*, 2003, 12: 9–11 [胡森, 步志高. 布氏杆菌病概况及其研究进展. 畜牧兽医科技信息, 2003, 12: 9–11]
- 9 Chen L P, Zhang M, Li X S, et al. The prevalence of brucellosis in our country (in Chinese). *China Anim Health Respect*, 2018, 35: 1–5 [陈礼朋, 张淼, 李新生, 等. 我国人畜间布鲁氏菌病流行状况. 中国动物检疫, 2018, 35: 1–5]
- 10 Jiang H, Kan B. Current status, progress and suggestions regarding prevention and control of brucellosis in China (in Chinese). *Chin J Epidemiol*, 2020, 41: 1424–1427 [姜海, 阚颀. 我国布鲁氏菌病防控现状、进展及建议. 中华流行病学杂志, 2020, 41: 1424–1427]
- 11 Jiang S Q. A Handbook of Brucellosis (in Chinese). Beijing: People's Medical Publishing House, 1986 [姜顺求. 布氏菌病防治手册. 北京: 人民卫生出版社, 1986]
- 12 Mao K R. Advances in animal Brucellosis control (in Chinese). *Chin J Vet Drug*, 2003, 37: 37–40 [毛开荣. 动物布鲁氏菌病防治研究进展. 中国兽药杂志, 2003, 37: 37–40]
- 13 Jiang H, O'Callaghan D, Ding J B. Brucellosis in China: history, progress and challenge. *Infect Dis Poverty*, 2020, 9: 55
- 14 Hu S, Zheng X H, Wang J L, et al. Development of a mutant *Brucella melitensis* as vaccine in mice (in Chinese). *Chin J Prevent Vet Med*, 2009, 31: 583–586 [胡森, 郑孝辉, 王加兰, 等. 马耳它布鲁氏菌bp26基因缺失株的构建及鉴定. 中国预防兽医学报, 2009, 31: 583–586]
- 15 Harbin Veterinary Institute. Culture of *B. melitensis* attenuated vaccine strain M5-90 (in Chinese). Internal information, 1990 [哈兽研. 布氏杆菌M5-90的培育. 内部资料, 1990]
- 16 Song Z X, Zhu H C, Hu Z W, et al. Safety test of *B. melitensis* attenuated vaccine strain M5-90 on pregnant sheep in Xinjiang (in Chinese). *Chin J Prevent Vet Med*, 1988, 43: 17–18 [宋之先, 朱鹤赐, 胡振武, 等. 布氏杆菌羊种M5-90弱毒菌苗对新疆孕绵羊的安全性试验. 中国畜禽传染病, 1988, 43: 17–18]
- 17 Chen N C, Shi H W, He C L, et al. Two-year immune period test of *B. melitensis* attenuated vaccine strain M5-90 on sheep and goats (in Chinese). *Chin J Prevent Vet Med*, 1988, 42: 11–13 [陈乃昌, 施宏武, 赫崇礼, 等. 布氏杆菌M5-90弱毒菌苗对绵羊、山羊两年免疫期试验. 中国畜禽传染病, 1988, 42: 11–13]
- 18 Chen N C, Shi H W, He C L, et al. Three-year immune period test of *B. melitensis* attenuated vaccine strain M5-90 on native Shanxi yellow cattle (in Chinese). *Chin J Prevent Vet Med*, 1989, 45: 15–16 [陈乃昌, 施宏武, 赫崇礼, 等. 布氏杆菌M5-90菌苗对山西土种黄牛三年免疫期试验. 中国畜禽传染病, 1989, 45: 15–16]
- 19 Wong J L, Hu S, Gao H X, et al. Development of a competitive ELISA for detection of antibodies against smooth *Brucella* (in Chinese). *Vet Sci China*, 2009, 9: 803–809 [王加兰, 胡森, 高红霞, 等. 光滑型布鲁氏杆菌抗体竞争ELISA检测方法的建立. 中国兽医科学, 2009, 9: 803–809]
- 20 Liu W X, Hu S, Qiao Z J, et al. Expression, purification, and improved antigenic specificity of a truncated recombinant bp26 protein of *Brucella melitensis* M5-90: a potential antigen for differential serodiagnosis of brucellosis in sheep and goats. *Biotech App Biochem*, 2011, 58: 32–38

Prevention and control of brucellosis in China

LIU WenXing & BU ZhiGao

National Key Laboratory for Animal Disease Control and prevention, Harbin Veterinary Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150069, China

Brucellosis is a significant zoonotic infectious disease caused by intracellular *Brucella*. It is prevalent worldwide, particularly in the Middle East and Asia, and China is no exception. Upon invading the host, the Gram-negative *Brucella* efficiently colonizes macrophages, evading the host's immune system and inducing chronic infections in humans, various domestic animals, and wild lives, and finally leading to comparable clinical symptoms and pathological lesions. This not only poses a threat to animal and human health but also profoundly impacts economic development and social stability, even posing a potential threat to national security. Strengthening scientific research and implementing integrated prevention and control measures for brucellosis hold significant importance for both the economy and public health, forming a crucial component of the national security strategy. The prevention and control of infectious diseases rely on the foundational principles of "Eliminating the source of infection, protecting susceptible hosts, and severing transmission routes." Among which, robust monitoring, reliable diagnosis, and the development of safe and effective vaccines hold particular significance. Since 1950, China has established scientific research teams dedicated to investigating and researching brucellosis, jointly addressing key challenges, implementing comprehensive prevention and control measures in a staged and systematic manner, which leads to fruitful outcomes and the accumulation of valuable experience and insights. Notably, we have formulated and updated industry and national standards for brucellosis diagnostic techniques, culminating in the development of *Brucella* CELISA, IELISA, and colloidal gold test kits (strips), all of which have secured new veterinary drug certifications. Simultaneously, China has achieved a significant breakthrough by independently developing the *Brucella* attenuated vaccine. The conventional attenuated *Brucella* vaccines (M5, S2, and M5-90) and gene-deleted live vaccines (A19-ΔVIRB12, M5-90Δ26, and BA0711) have been approved and utilized. The widespread adoption and application of these research findings provide crucial scientific and technical support for effectively controlling and ultimately eradicating *Brucella*.

brucellosis, zoonosis, vaccines, diagnosis, prevention and control

doi: [10.1360/SSV-2023-0131](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0131)