



中国牛传染性胸膜肺炎的消灭

辛九庆*, 潘巧, 李媛

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: xinjiuqing@caas.cn

收稿日期: 2023-07-27; 接受日期: 2023-10-09; 网络版发表日期: 2023-12-13

牛传染性胸膜肺炎(contagious bovine pleuropneumonia, CBPP)又称“牛肺疫”,是由丝状支原体丝状亚种(*Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*, *Mmm*)引起的一种牛属动物烈性传染病。以肺小叶间淋巴管浆液-渗出性纤维素性炎和浆液纤维素性胸膜炎为特征。牛肺疫感染后临床上表现为一种渐进性过程,一般分为超急性、急性、慢性,有时也表现为亚临床感染。自然感染的潜伏期长短不一,最长可达207天,最短只有5天,这主要和宿主健康状态、病原载量有关^[1]。人工感染通常采用气管接种*Mmm*低代次液体培养物或者气溶胶,但复制出与自然发病相一致的临床症状和病理变化比较困难。该病被世界动物卫生组织(World Organisation for Animal Health, WOAH)列为必须报告传染病^[2],中国将其列为一类动物传染病。

丝状支原体丝状亚种(*Mmm*)属于支原体科(Mycoplasmataceae)——支原体属(*Mycoplasma*)成员。与细菌不同的是,*Mmm*无细胞壁,它的最外层是荚膜、黏附结构与黏附相关蛋白,内层为三层结构的细胞膜,故其形态呈现高度多样化,且易实现一种形态到另一种形态的迅速转化^[3]。菌体在高倍显微镜下呈丝状、环状、分枝状等多种形态,最常见的是球状。菌体直径很小,仅125~250 nm,能够通过0.22 μm的滤器。*Mmm*革兰氏染色呈阴性,吉姆萨和瑞氏着色效果较好。其基因组为双链环状DNA,且G+C含量很低,一般小于

30%^[4]。一些*Mmm*菌株已经完成了其全基因组的测序,结果显示不同菌株基因组间的多样性很低^[5]。例如,分离株Ben-1的基因组与标准菌株PG1的总体同源性为99.88%,Ben-1株的基因组由1145921 bp的单个染色体组成,共鉴定出1043个编码蛋白的基因,其中有335个编码其他*Mmm*分离株中保守的假性蛋白^[6]。*Mmm*对一些常见的消毒剂以及紫外线、加热、酸碱环境等较敏感,一些抗菌药物(如大环内酯类抗生素、四环素类抗生素、氟喹诺酮类抗生素)也可抑制其生长,但*Mmm*对青霉素、醋酸铊、磺胺类抗生素等药物会产生很高的耐药性^[7]。

1 牛肺疫的流行造成了巨大的经济损失

牛肺疫是起源于欧洲的一种非常古老的疾病。19世纪后半叶,该病随着牛只贸易的进行逐渐传入美国、澳大利亚及非洲,20世纪初传入亚洲^[1]。目前牛肺疫仍然在非洲撒哈拉以南地区呈地方性流行,给当地的畜牧业生产造成了严重的经济损失;一些亚洲国家由于没有有效的监测数据,流行情况不明^[8]。但据内部资料显示,巴基斯坦旁遮普省的流行率达到8%。

对历史流行的*Mmm*代表性菌株进行分子流行病学分析显示,中国流行的*Mmm*菌株属于非洲-澳大利亚群^[9]。牛肺疫在中国流行达70年之久,给农业生产和

引用格式: 辛九庆, 潘巧, 李媛. 中国牛传染性胸膜肺炎的消灭. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 1820-1824

Xin J Q, Pan Q, Li Y. The eradication of contagious bovine pleuropneumonia in China (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 1820-1824, doi: 10.1360/SSV-2023-0162

国民经济造成了极大损失。

1949年新中国刚刚成立时,牛肺疫主要在内蒙古、黑龙江、新疆等地发生,累计发病3059头,死亡998头。在以后的十年时间里,牛肺疫快速蔓延到辽宁、吉林、青海、山东等12个省份的377个县,累计发病274750头,死亡93371头。其中1959年为流行高峰,四川、内蒙古、青海、新疆等地发病和死亡最为严重(图1)。进入20世纪60年代后,由于没有有效的疫苗,牛肺疫的流行仍然非常严重。在内蒙古、山西、陕西、西藏、青海等11省份的356个县累计发病171746头,死亡62400头。以河南安阳为例,1958年从内蒙古牧区引进了已经感染牛肺疫牛而导致整个地区11个县70个村的996头牛发病,造成610头牛死亡,死亡率61.4%,经济损失110万元。此外,当时其他省区还有446496头牛由于出现明显的牛肺疫临床症状而不能进行农业生产,这对当时主要依靠畜力开展生产活动的农业造成了巨大损失^[10]。

2 牛肺疫弱毒疫苗的研制

欧美等发达国家在消灭牛肺疫策略上主要采取两种办法:一种是以英国和美国为代表的通过扑杀感染牛和阳性牛来彻底消灭该病^[11],但这种方法的代价过于昂贵,不适用于发展中国家;另一种办法是以澳大利亚为代表的采取疫苗免疫和扑杀感染牛的方法^[8]。

20世纪50年代,中国采取的牛肺疫控制措施是高密度接种弱毒疫苗、检疫隔离、扑杀阳性牛和疑似牛三者相结合。1953年,东北人民政府农业部兽医研究所(中国农业科学院哈尔滨兽医研究所前身)吴庭讯等人将*Mmm*通过液体培养基连续传代致弱,研制出弱毒疫苗。但该疫苗因安全性不好、免疫效力不稳定,以及保存期过短等原因,不能达到控制牛肺疫流行的目的^[12]。由于缺乏安全有效的疫苗,中国于1950年开始对牛肺疫血清学阳性牛和疑似牛进行扑杀,1952~1962年期间共扑杀牛肺疫病牛76705头^[9],这给当时的中国政府带来极大的财政负担。因此找到一种经济负担小并适合中国当时国情的牛肺疫防治方法势在必行。

面对这个重大需求,兽医科学家们需要打破传统思维模式,积极创新,突破时代思维的局限开展科研攻关。中国农业科学院哈尔滨兽医研究所(哈兽研)是新中国最早成立的预防兽医学研究机构,针对牛肺疫

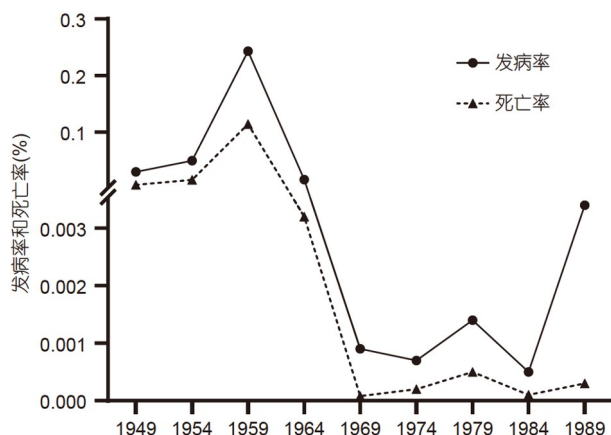


图1 1949~1989年中国牛肺疫发病率和死亡率(引自参考文献^[10])

Figure 1 The number of cases and deaths of CBPP in China from 1949 to 1989 (reproduced from ref. ^[10])

流行广泛、危害严重的实际情况,由吴庭讯研究员带领团队担负起牛肺疫疫苗的研制工作。他们创新性地利用异体动物强迫感染技术,成功研制出了牛肺疫兔化弱毒疫苗(1958年)、牛肺疫兔化-绵羊适应菌苗(1959年),以及牛肺疫Ⅱ系兔化-藏系绵羊适应菌苗(1966年,由哈兽研和青海省畜牧兽医研究所联合研制)等三种疫苗。此外,兰州兽医研究所利用哈兽研培育的第155代兔化牛肺疫弱毒菌种,研制出了牛肺疫兔化藏系绵羊化冻干菌苗(1963年)^[13]。这些成就在相当长的时间内都具有极高的科学意义和重要的推广价值,其中,牛肺疫弱毒菌苗获全国科学大会奖(1978年),牛肺疫兔化弱毒疫苗和兔化绵羊适应菌苗获国家技术发明奖三等奖(1999年)。

2.1 兔化弱毒疫苗的研制

1956年开始,吴庭讯研究员带领团队利用从牛肺疫病牛肺脏中分离到的*Mmm*菌株(命名为本-1株)人工感染家兔,再将分离物接种兔胸腔并连续传代至470代。研究结果显示,当本-1株通过兔体传代45代后已经适应兔体,分别使用191代和204代兔胸腔渗出液胸腔接种易感牛,并连续在牛体内传两代,皆未从实质脏器中分离到本-1菌,表明其已经丧失对牛的致病力。

为了评估牛肺疫兔化弱毒的免疫效果,利用胸腔渗出液制成的弱毒疫苗(10^9 CCU/mL)对黄牛臀部肌肉接种(2 mL/头)或尾尖皮下接种(1 mL/头),可以有效抵

抗*Mmm*强毒株(牧 I 株)的攻击, 保护率达100%, 而对照组牛全部发病。牛肺疫兔化弱毒疫苗免疫持续期试验表明, 在免疫后28个月仍有100%的保护率^[12]。

2.2 兔化绵羊适应菌苗和兔化藏系绵羊适应菌苗的研制

20世纪60年代, 中国兔保有量较少且兔胸腔渗出液产出量较低。为了大面积推广和应用弱毒疫苗, 吴庭讯研究员及其团队从1957年开始, 将*Mmm*本-1株第85代兔胸腔渗出液通过胸腔接种健康绵羊, 在72小时后收集胸腔渗出液并连续传代, 利用33~53代的绵羊胸水稀释液制成兔化绵羊适应菌苗。该疫苗实验室内免疫攻毒保护率达100%, 免疫期长达27个月^[13]。

为了研制适用牦牛的弱毒疫苗, 从1959年开始, 该研究团队与青海畜牧兽医研究所合作。他们继续利用155代兔胸腔渗出液感染藏系绵羊并在体内传代, 然后使用第76~150代藏系绵羊胸腔渗出液制成兔化藏系绵羊适应菌苗。该疫苗的实验室试验免疫保护率达100%, 免疫期长达1年^[13]。

2.3 兔化藏系绵羊化冻干菌苗的研制

兰州兽医研究所利用哈兽研培育的第155代兔化牛肺疫弱毒, 通过藏系绵羊接种继代, 研制出了牛肺疫兔化藏系绵羊菌苗。该疫苗对牦牛安全有效, 免疫期达到2年以上^[10]。随后, 兰州兽医研究所又利用真空冻干技术, 成功研制出兔化藏系绵羊化弱毒冻干菌苗并进行了小批量生产应用^[13]。

2.4 通过异体动物传代制成的弱毒疫苗的优点

通过异体动物传代研制成功的以上弱毒疫苗具有以下优点: (i) 适于现地直接生产。20世纪60年代, 中国还不具备冷链运输体系, 疫苗的运输保存成为最大的难题。牛肺疫兔化弱毒疫苗和牛肺疫兔化-绵羊适应菌苗使用冻存的兔胸腔渗出液和绵羊胸腔浸出液作为种毒, 在当地分别直接接种兔和绵羊, 获得胸腔浸出液后生产疫苗, 解决了疫苗运输和保存的难题。(ii) 疫苗使用操作简便, 安全有效。当时研制成功的弱毒疫苗可不对牛进行检疫即可全面接种, 从而节约了大量的人力、物力、财力。(iii) 疫苗可做臀部肌肉接种, 不需要保定牛只。(iv) 安全性好, 野外免疫试验保护率达到95.7%。(v) 疫苗产量大、成本低廉, 减轻了政府和牧

民的经济负担。每只绵羊产生胸水制成的牛肺疫兔化绵羊适应菌苗可免疫牛50000余头, 这样的疫苗产量和成本为大面积免疫接种创造了积极条件。

3 牛肺疫的流行在中国得到有效控制

从20世纪60年代开始, 相继在中国大范围使用上述几种疫苗, 其中牛肺疫兔化弱毒疫苗和牛肺疫兔化-绵羊适应菌苗适用于6月龄以上的黄牛和奶牛, 成为中国防治牛肺疫中主要使用的疫苗。据统计, 1952~1986年, 天津等12个省(市)、自治区共免疫接种2300万头牛^[10]; 到1989年, 全国共计接种7451.1万头牛, 其中接种最多的是西藏自治区(1940万头牛), 其次是内蒙古自治区(1745万头牛)。牛肺疫兔化-藏系绵羊适应菌苗主要适用于牦牛, 在青海和西藏等地进行了大规模的应用接种, 其中仅西藏自治区就接种了1940万头份。牛肺疫疫情在全国范围内呈现快速下降的趋势, 到1965年, 全国发病牛减少到25000头, 死亡2000头。进入20世纪70年代, 除新疆、云南、四川、山西、陕西等5个省份还发现5516头发病牛(死亡1986头)以外, 其他地区的牛肺疫疫情已基本得到了控制^[10]。

1980年以后, 牛肺疫在全国的流行趋势进一步减弱, 只在新疆、西藏、云南、四川、甘肃等5个省份发现病牛2489头, 死亡1338头。1989年, 在新疆扑杀了最后一头牛肺疫感染牛后, 全国再也没有发现过牛肺疫病例(未发表), 因此农业部(现为农业农村部)于1992年决定全面停止牛肺疫疫苗的免疫接种。

4 中国获得牛肺疫国际无疫认证, 得到国际社会的广泛认可

1992年中国停止使用所有种类牛肺疫疫苗接种以后, 农业部开始在全国范围内开展牛肺疫流行病学监测。哈兽研吴玉祥研究员领导的团队利用自行研制的牛肺疫微量凝集诊断技术(该技术获得1994年农业部科技进步奖二等奖), 经过4年的血清学监测和屠宰场检测, 未发现牛肺疫感染牛。1996年, 农业部对内宣布中国消灭了牛肺疫。但由于当时政治经济条件的限制, WOAH并没有承认中国无疫状况。

2001年, 农业部制定了《牛传染性胸膜肺炎监测方案》, 并于2002年11月批准建立了国家牛传染性胸

膜肺炎参考实验室(依托于哈兽研)。该实验室在牛传染性胸膜肺炎诊断、预防、控制和扑灭方面开展了深入的应用和基础研究: 研制出牛传染性胸膜肺炎竞争ELISA抗体检测试剂盒^[14], 并完全替代进口试剂盒用于流行病学检测; 建立了符合WOAH标准的病原学诊断技术; 明确了中国*Mmm*流行菌株的分子特征, 并据此明确了中国牛传染性胸膜肺炎的传入路径^[5]; 系统阐明了牛传染性胸膜肺炎弱毒疫苗菌株不同代次遗传演化规律; 通过全基因组数据分析标注了35个与免疫保护相关的膜蛋白, 为进一步研制新型疫苗奠定了良好的基础^[6]。

根据对全国牛肺疫历史资料调查与分析的结果, 国家牛传染性胸膜肺炎参考实验室实行重点监测和一般监测相结合的原则, 确定了内蒙古、四川、吉林、新疆、河南、黑龙江、山西、云南、山东、宁夏、青海、西藏、河北等13个省份为重点监测区域, 其他省份为一般性监测区域。在辛九庆研究员的带领下, 国家牛传染性胸膜肺炎参考实验室团队于2002~2007年在全国范围内进行流行病学监测。在重点监测区域的13个省份共采集牛血清155802头份、可疑肺脏样品356个, 并利用WOAH推荐的血清学和病原学检测方法进行了检测^[8]。经复核检验, 结果全部为阴性。根据WOAH无疫认证要求, 国家牛传染性胸膜肺炎参考实验室于2010年11月接受了WOAH专家组现场考核, 获得了考核专家的一致认可。在2011年5月召开的WOAH年会上, 中国获得WOAH颁发的牛传染性胸膜肺炎无疫认证证书(图2)。该项工作于2014年获得黑龙江省科学技术奖三等奖。截至2023年, 全世界共有中国、美国、澳大利亚等25个国家获得国际无牛肺疫认证(<https://www.woah.org/en/disease/contagious-bovine-pleuropneumonia/#ui-id-2>)。



图2 2011年5月中国获得世界动物卫生组织颁发的牛肺疫无疫认证证书

Figure 2 In May 2011, China was awarded a CBPP-free certification from WOAH

[pleuropneumonia/#ui-id-2](https://www.woah.org/en/disease/contagious-bovine-pleuropneumonia/#ui-id-2)).

牛肺疫的消灭是中国动物疫病防控工作的又一重大突破, 是继牛瘟消灭后中国消灭的第二种烈性动物传染病。这两种疫病的消灭实践为中国开展其他重大动物传染病消灭和国际无疫认证工作提供了宝贵的经验, 对于提高中国在全球动物卫生领域的影响, 促进兽医工作的国际化发展具有重要意义。

参考文献

- 1 ter Laak E A. Contagious bovine pleuropneumonia. A review. *Vet Q*, 1992, 14: 104–110
- 2 Wu Y M, Shao G Q, Sun H M, et al. *Mycoplasma* (in Chinese). 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2022. 256–262 [吴移谋, 邵国青, 孙红妹, 等. 支原体学. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2022. 256–262]
- 3 Nicholas R A J, Bashiruddin J B. *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* (Small colony variant): the agent of contagious bovine pleuropneumonia and member of the "*Mycoplasma mycoides* cluster". *J Comp Pathol*, 1995, 113: 1–27
- 4 Westberg J, Persson A, Holmberg A, et al. The genome sequence of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC type strain PG1^T, the causative agent of contagious bovine pleuropneumonia (CBPP). *Genome Res*, 2004, 14: 221–227
- 5 Li Y, Xin J, Gao Y, et al. Strains of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* small colony type isolated in China between 1953 and 1960 show close similarity to strains of the Africa/Australia cluster. *Vet J*, 2009, 179: 137–141

- 6 Li Y, Wang Y, Wang R, et al. Changes in pathogenicity and immunogenicity of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* strains revealed by comparative genomics analysis. [Sci Rep](#), 2016, 6: 19081
- 7 Mitchell J D, Goh S, McKellar Q A, et al. *In vitro* pharmacodynamics of gamithromycin against *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* small colony. [Vet J](#), 2013, 197: 806–811
- 8 World Organisation for Animal Health. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals (in Chinese). 8th ed. Beijing: China Agriculture Press, 2022 [世界动物卫生组织. OIE陆生动物诊断试验与疫苗手册. 第八版. 北京: 中国农业出版社, 2022]
- 9 Xin J, Li Y, Nicholas R A J, et al. A history of the prevalence and control of contagious bovine pleuropneumonia in China. [Vet J](#), 2012, 191: 166–170
- 10 Department of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Ministry of Agriculture. Annals of Animal Diseases in China (in Chinese). Beijing: Science Press, 1992. 349–355 [农业部畜牧兽医司. 中国动物疫病志. 北京: 科学出版社, 1992. 349–355]
- 11 Di Teodoro G, Marruchella G, Di Provvido A, et al. Contagious bovine pleuropneumonia: a comprehensive overview. [Vet Pathol](#), 2020, 57: 476–489
- 12 Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences. Repertoire of Studies (Seventh Issue) (in Chinese). Harbin. 1981. 5–24 [中国农业科学院哈尔滨兽医研究所. 研究报告汇编(第七期). 哈尔滨. 1981. 5–24]
- 13 Gansu Veterinary Research Institute. Study on the lapinized and Tibetan sheepized attenuated lyophilized vaccine of contagious bovine pleuropneumonia (in Chinese). *Sci Agric Sin*, 1976, 3: 84–93 [甘肃省兽医研究所. 牛肺疫兔化藏系绵羊化弱毒冻干苗的研究. 中国农业科学, 1976, 3: 84–93]
- 14 Zeng J H, Xu Q Y, Sha W P, et al. Development and application of monoclonal antibodies against *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* (in Chinese). *Acta Vet Zoo Sin*, 2022, 53: 2290–2299 [曾金红, 徐青元, 沙玮萍, 等. 抗丝状支原体丝状亚种单克隆抗体的制备及初步应用. 畜牧兽医学报, 2022, 53: 2290–2299]

The eradication of contagious bovine pleuropneumonia in China

XIN JiuQing, PAN Qiao & LI Yuan

State Key Laboratory for Animal Disease Control and Prevention, Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150069, China

doi: [10.1360/SSV-2023-0162](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0162)