



动态

布鲁氏菌病防治基础研究现状与展望

高彦辉^①, 赵丽军^①, 孙殿军^①, 顾爱华^②, 张作文^②, 董尔丹^{②*}^① 中国疾病预防控制中心地方病控制中心, 哈尔滨 150081;^② 国家自然科学基金委员会医学科学部, 北京 100085

* 联系人, E-mail: donged@nsfc.gov.cn

收稿日期: 2014-03-04; 接受日期: 2014-03-17; 网络版发表日期: 2014-06-04

国家自然科学基金(批准号: 81342001)资助项目

doi: 10.1360/N052013-00064

摘要 布鲁氏菌病(简称布病)是由布鲁氏菌属细菌侵入机体引起的人畜共患传染病。近年来, 布病疫情在世界范围内呈反弹趋势, 我国尤甚。进入 2000 年以后, 人间布病在我国成为报告发病数上升速度最快的传染病之一, 令我国布病防治形势严峻。为了明确我国布病防治工作的现状和需求、最新研究现状和研究动态以及面临的挑战和机遇, 深入研讨分析我国布病防治研究中的重大科学和关键技术问题, 凝练和提出今后我国布病防治研究发展中亟需关注、解决的重要基础科学问题, 在国家自然科学基金委员会资助下, 由中国疾病预防控制中心地方病控制中心主办, 哈尔滨医科大学、中国疾病预防控制中心传染病预防控制所和内蒙古地方病防治研究中心共同协办, 于 2013 年 6 月 21 日召开了由来自全国布病防治与基础研究领域专家共同参加的“布鲁氏菌病防治基础研究发展战略研讨会”。会议在我国布病疫情最重的省份内蒙古自治区呼和浩特市召开, 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所、军事医学科学院疾病预防控制中心、石河子大学、中国兽医药品监察所等 19 家从事布病防治与基础研究的科研院所、高等院校、疾病防治机构的 40 余位专家参加了此次会议。现结合文献资料以及本次会议的内容, 对国内外布病流行现状、研究进展, 以及影响我国布病防治的亟需解决的科学问题和建议作一综述。

关键词布鲁氏菌病
流行现状
防治
基础研究

布鲁氏菌病(简称布病)是一种细菌性人畜共患传染病, 是我国乙类法定报告传染病。布鲁氏菌首次由英国军医 Bruce 于 1887 年在马尔他岛发现, 布病曾遍布全世界。目前, 我国除澳门和台湾疫情未知外, 所有的省级单位均已经报告发现布病病例^[1]。进入 21 世纪, 布病在世界范围内呈现反弹趋势, 处于再度肆虐状态。这一现象的出现固然

与全球大流通时代的到来有密切关系, 同时也表明防控技术和策略没能及时适应布病新的流行特点, 没能达到理想的控制效果。认清布病流行特点、基础研究现状以及亟需解决的科学问题和防治关键技术问题, 将为今后我国布病防治的基础研究指明方向, 从而为有效控制我国布病流行提供重要的技术支撑。

引用格式: 高彦辉, 赵丽军, 孙殿军, 等. 布鲁氏菌病防治基础研究现状与展望. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 628–635

Gao Y H, Zhao L J, Sun D J, et al. Status and perspective of basic research related to the prevention and control of brucellosis. SCIENTIA SINICA Vitae, 2014, 44: 628–635, doi: 10.1360/N052013-00064

1 布鲁氏菌基本特征

布鲁氏菌(*Brucella*)简称布氏菌,是胞内寄生的一种革兰氏阴性菌.布氏菌为球杆菌或短杆菌,大小为 $0.6\sim 1.5\times 0.5\sim 0.7\ \mu\text{m}$,无鞭毛,不形成芽孢,一般无荚膜,不产生外毒素,有毒性较强的内毒素(脂多糖).布氏菌细胞膜是一个三层膜的结构,最外层膜含有脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、蛋白质和磷脂层^[2].根据 LPS 是否含有 O 链,将布鲁氏菌分为光滑型(smooth, S)和粗糙型(rough, R) 2 种.布氏菌从发现至今的 100 多年时间里,先后分离到近万株细菌.依据宿主偏好性的不同,1985 年,世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将布鲁氏菌属分为 6 个经典种,分别为羊种、牛种、猪种、犬种、沙林鼠种和绵羊附睾种,根据生物学特性,羊种分为 1, 2, 3 型,牛种分为 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9 型,猪种分为 1, 2, 3, 4, 5 型^[3].布氏菌侵袭力强,可以通过皮肤、黏膜直接接触感染,也可以通过消化道和呼吸道感染.不同种类的布氏菌表现的致病力也不相同,这除了与菌体本身的成分相关外,还与宿主的状态有关系.据报道,布氏菌可以感染 60 多种动物,除家畜外,野生的哺乳动物、啮齿类、鸟类、鱼类等都可作为布氏菌的宿主^[4].目前,在我国流行的主要是羊、牛、猪种布鲁氏菌,其中以羊种最为多见,病情较重,并发症较多.

近些年又鉴定到 4 个新种型布氏菌, *B. microti*(田鼠型)、*B. pinnipediae*(鳍型)、*B. ceti*(鲸型)以及 *B. inopinata*(分离自人体)^[3].这些新种型的发现,使人们对布氏菌的感染范围又有了新的认识.

2 国内外布病流行现状

人感染布鲁氏菌后在临床上表现为数日乃至数周发热(包括低热)、多汗、乏力、肌肉和关节疼痛等,多数患者出现淋巴结、肝、脾和睾丸肿大等可疑症状及体征^[5],严重影响人的健康.此病发病早期不易与其他发热性疾病相鉴别,如在急性期治疗不彻底,病情极易转为慢性,相当一部分患者病程可达数年甚至几十年,严重者常年卧床不起,丧失劳动能力.布病对畜牧业也构成了极大的危害,患病母畜常出现流产、不孕,公畜出现睾丸炎,导致家畜繁殖能力和生产能力下降,并影响畜产品的质量和安全.据调查,吉林省洮南市、黑龙江省龙江县 2000~2006 年每年由

布病造成的经济损失约为 1638.65 万元^[6];广西 10 年间因布病造成经济损失达 1491.8 万元,新疆 10 年间损失达 1.1 亿元^[7].

2.1 国外布病流行现状

世界上大多数国家有过布病流行,如今报道有布病发生的国家和地区达到 170 多个^[8,9].有些国家和地区经过数十年努力,向世界宣布已经消除了布病,包括海峡群岛、挪威、瑞典、芬兰、丹麦、瑞士、捷克斯洛伐克、罗马尼亚、英国、荷兰、日本、奥地利、卢森堡、塞浦路斯、保加利亚、澳大利亚和加拿大等^[10].进入 21 世纪,布病在世界范围内呈现回升趋势.据调查,不同国家之间以及同一个国家的不同地区,布病的发病率有很大变化.据报道,位于北非和中东地区的埃及各地区的年发病率为 18~70/10 万,伊拉克各地区年发病率为 52.3~268.8/10 万,沙特阿拉伯全国年发病率为 137.61/10 万,位于西欧的德国全国年发病率为 0.03/10 万,意大利全国年发病率为 1.4/10 万,希腊各地区年发病率为 4.00~32.49/10 万,中亚的吉尔吉斯斯坦全国年发病率为 88/10 万,中南部拉丁美洲阿根廷的地区年发病率为 12.84/10 万,墨西哥的地区年发病率为 25.69/10 万,北美的美国各地区为 0.02~0.09/10 万^[11].

2.2 我国布病流行现状

当前中国布病疫情与全世界一样,呈再度肆虐状态.20 世纪 80 年代,我国布病曾经得到有效控制,但是由于没有完全认识到布病出现新的流行因素和防控工作的艰巨性、复杂性,放松了疫情控制工作,进入 90 年代,布病疫情出现反弹,尤其是 2000 年以后,人间布病成为报告发病数上升速度最快的传染病之一^[1].1992 年的全国报告新发病例 219 例,以后逐年增加,2011 年达到 42264 例,发病率为 3.18/10 万.随着布病疫情的上升,波及的范围逐年扩大,截至 2012 年,我国除澳门和台湾疫情未知外,所有的省级单位均已经报告发现布病病例.我国布病的主要流行区在华北、东北和西北地区,但既往鲜有病例的南方也不可忽视,不仅有与北方相同的羊种菌引起的病例,还有因牛种菌、猪种菌引起不同体征的感染者、患者,使我国布病疫情复杂化.

我国人间布病发病率的升高与动物间布病疫情的严重化有密切的关系,自 2000 年开始,国内兽医

部门检出的布病阳性畜呈现出逐年增加趋势。我国国家动物疫病布病监测计划中, 将布病防控实行区域化管理, 根据畜间疫情未控制县(羊阳性率 $\geq 0.5\%$ 或牛阳性率 $\geq 1\%$ 或猪阳性率 $\geq 2\%$)所占比例, 结合人间病例发生情况, 将全国划分为 3 个区域, 即一类地区、二类地区和净化区。一类地区未控制县数占总县数的 30% 以上, 包括北京等 15 个省份和新疆兵团; 二类地区未控制县数占总县数 30% 以下, 包括江苏等 15 个省份; 海南省无疫情发生为净化区。但近年, 海南亦有人感染布病病例的出现^[12]。

另外, 近年我国发生过多起非正常的布病公共卫生事件^[1]。各方面的数据综合表明, 我国目前布病疫情影响区域呈扩散趋势, 防控形势非常严峻。我国布病的流行与检疫制度不健全, 传染源流动频繁; 淘汰病畜难度大, 传染源长期存在; 人、畜布病防治专业队伍匮乏; 各级政府重视程度不够, 防治经费投入不足; 布病防治知识宣传力度不到位, 个人防护意识差等各方面的原因有关^[13~15]。

3 国内外布病防治研究进展

3.1 国内外布病防治策略

根据全球布病防控方案实际执行状况和成功经验, 无论是已经成功净化甚至根除布病的加拿大、新西兰和澳大利亚, 还是近年来被欧盟确认为无布病国家, 如瑞典、丹麦、芬兰、德国、奥地利、荷兰、比利时、卢森堡、挪威等, 以及亚洲经济比较发达的日本、新加坡, 还有刚刚净化畜群, 即将根除布病的美国, 都是通过检疫-扑杀-补偿等防控方案控制住了布病的流行。布病在发展中国家流行严重, 但发展中国家经济欠发达, 检疫-扑杀-补偿等防控方案难以实施, 因此只能采取疫苗免疫接种和适时检疫-扑杀-补偿措施相结合的防控策略^[15,16], 我国现阶段动物布病采取的便是这种防控策略。

最近, 我国布病疫情的反弹已受到各级政府和有关部门的高度关注。2012 年 5 月, 国务院办公厅印发了新中国成立以来第一个指导全国动物疫病防治工作的综合性规划《国家中长期动物疫病防治规划(2012~2020 年)》(国办发(2012)31 号), 规划中把布病列为优先防治的二类动物疫病, 提出了全国布病防

治的 2015 和 2020 年的阶段性目标, 确定了布病防治的原则是预防为主, 综合防控; 因地制宜, 分类指导; 依靠科学、依法防治。同年, 卫生部、农业部联合下发了“关于进一步加强布鲁氏菌病防治工作的通知”(卫办疾控发(2012)54 号)。按照相关规划和文件的要求, 我国人间布病的防治主要采取了控制传染源、宣传教育、监测和病例治疗等综合防治措施。近年来, 我国为控制人间布病的流行开展了以下防治工作: (i) 国家级的布病监测。覆盖全国 19 个省份、21 个国家级监测点, 开展了人间疫情发现和报告、爆发疫情监测、人间疫情的主动搜索等工作; (ii) 通过中央财政转移支付项目开展防治工作。2012 年在全国 31 个省(区)和新疆生产建设兵团开展布病常规监测、高危人群筛查、职业人群防治干预、疫情流行病学调查处置、病例治疗督导; (iii) 实施了多层次的干预试点项目。2006 年至今, 世界银行、中华人民共和国科学技术部、农业部、中国疾病预防控制中心等在内蒙古、黑龙江、吉林、新疆、山西、北京等地开展了布病防治的干预试点项目。

3.2 布病疫苗应用

布鲁氏菌病疫苗分为人用疫苗和畜用疫苗。目前, 我国及个别国家用于人接种的疫苗是活菌苗 BA-19 和 104M, 以后者为主。BA-19 是 1951 年前苏联研制的疫苗, 1956 年引入我国, 翌年在人群中应用^[17]。我国于 1965 年正式使用 104M 进行皮肤划痕免疫^[1]。但人用疫苗的免疫效果并不理想, 接种前需进行变态反应试验, 阴性反应者才能接种, 接种后血清抗体阳转率有限, 免疫时效短, 一般为 1 年, 但又不宜多次接种, 仅限于在高危人群中选择性使用^[18]。

目前, 世界范围内广泛应用的畜用布鲁氏菌病疫苗有 2 种, S19 和 Rev.1。有些国家在使用自己研制的疫苗, 如中国的 S2 和 M5 活疫苗, 俄罗斯的牛种布鲁氏菌 82 活疫苗; 美国、南美部分国家使用 RB51。RB51 是一种粗糙型疫苗株, 可以提供与 S19 相当的保护力, 相比之下, 又可鉴别免疫牛和自然感染牛, 是当前北美应用最为广泛的疫苗, 已被美国、墨西哥、智利等国家作为替代 S19 的官方疫苗, 由于知识产权等方面的原因, 至今我国尚未成功引进 RB51 疫苗株^[19]。

我国动物用疫苗仍以传统的光滑型疫苗为主,

主要是猪 2 号疫苗(S2)、羊 5 号疫苗(M5)和牛 19 号疫苗(S19)。这些疫苗为我国在“八五”和“九五”期间有效控制布病提供了重要保障,但同时也存在关键技术缺陷影响其广泛使用^[16]。(i) 毒力较强、安全性较差,疫苗活菌在动物体内残存时间较长,接种 S19 和 M5 疫苗的怀孕动物可能流产、乳用动物排菌期长,公畜生殖系统受损害的风险较高,食品公共安全隐患较大;(ii) 缺乏鉴别诊断标记,疫苗接种动物与自然患病动物无法鉴别,法定检疫措施严重受阻。此外,根据国家动物布病防疫技术规范,这些疫苗只能用于疫区动物免疫,且禁止接种怀孕动物、泌乳动物和种公畜,这样势必造成群体中免疫动物、易感动物和自然感染动物长期共存,患病动物无法识别,疫情仍然呈可能扩散的混乱状态。

4 国内外布病的基础研究概况

4.1 布病的病原学研究基础

(i) 抗原特性。布鲁氏菌的外膜包括脂多糖(LPS)、外膜蛋白(outer membrane protein, OMP)和磷脂层,其中 LPS 和 OMP 是布鲁氏菌的主要抗原。LPS 的 O 链是暴露于 S 型布鲁氏菌表面最多的一种抗原结构,它是一条线形长链,到目前为止,发现 O 链表面有 7 个不同的抗原位点,7 种抗原决定基在所有 S 型布鲁氏菌的分布具有不均一性^[20]。目前检测布鲁氏菌最常用的血清学方法,如虎红平板凝集实验(rose bengal plate agglutination test, RBPT)、标准试管凝集实验(standard tube agglutination test, SAT)和补体结合实验(complement fixation test, CFT)均是基于检测细胞膜上 LPS 的抗体,而这个抗体在疫苗株和毒力株中是一样的,因此无法鉴别疫苗接种和自然感染。OMP 被认为是布鲁氏菌表面的潜在抗原,尤其是在无 O 链的 R 型布鲁氏菌表面。根据分子质量大小,布鲁氏菌表面的主要 OMP 被分为 7 类。Bp26(Omp28)、Omp25 和 Omp31 等是近年来研究的热点外膜蛋白,在血清学诊断、新型疫苗的研制上表现出很好的应用前景。另外,IV 型分泌系统相关蛋白——Vir B12、胞质蛋白等也是近年来研究的热点布鲁氏菌免疫原性蛋白^[21]。

(ii) 基因组特征。除猪种布鲁氏菌 3 型 686 株含 1 条染色体外,其余布鲁氏菌中都含 2 条染色体。大染色体约 2.1 Mbp,含一个复制起始区;小染色体

约 1.2 Mbp,含一个质粒复制功能区^[22]。国内外对布鲁氏菌 DNA 的 G+C 摩尔百分比的测定表明,其含量为 55%~59%。布鲁氏菌种间 DNA 的 G+C 摩尔百分比波动较少,成为布鲁氏菌属与其他菌属相区别的特点之一。随着基因组测序技术的发展,从 2002 年第一株布鲁氏菌羊种 16M 株的基因组序列被公布后,大量布鲁氏菌株的测序已经完成。比较各菌株间序列一致性很高,但存在缺失、插入、倒置和移位等现象。中国军事医学科学院的科研人员利用羊种布鲁氏菌和猪种布鲁氏菌的基因构建了全基因组芯片,对 19 株不同亚型布鲁氏菌和 4 株疫苗株进行分析,成功鉴定了 25 个差异区域^[23]。不同布鲁氏菌株基因组之间差异区域的发现为分析布鲁氏菌毒力差异和宿主特异性提供了遗传学基础,亦为自然感染菌与疫苗株的基因鉴别诊断方法奠定了基础。

4.2 布病致病机制的研究

布鲁氏菌是一种胞内寄生菌,感染的靶细胞主要是巨噬细胞与胎盘滋养层细胞,也可在树突状细胞中生长繁殖^[24]。它的致病机制以胞内生存为主要特征。与其他致病性病原微生物不同,布鲁氏菌不具备经典的毒力因子。到目前为止,人们已经鉴定分离了一些布鲁氏菌的毒力相关因子,如脂多糖、外膜蛋白、IV 型分泌系统、BvrR/BvrS 双组分系统、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶等应激反应蛋白,以及密度感应系统等其他毒力因子^[25]。LPS、OMP 和 IV 型分泌系统等是布鲁氏菌引起免疫应答的主要抗原,同时也与细菌的毒力密切相关。

(i) 脂多糖。布鲁氏菌脂多糖(LPS)的毒性和诱发免疫能力比大肠杆菌低几百倍,但布鲁氏菌 LPS 的 O 链能够抑制其寄生的吞噬细胞发生凋亡,以此逃脱宿主的免疫监视。布鲁氏菌 LPS 刺激宿主产生的较小的生物反应被认为是布鲁氏菌在吞噬细胞内存活的原因之一^[26]。

(ii) IV 型分泌系统。IV 型分泌系统是继 LPS 之后发现的又一个布鲁氏菌的关键致病力因子。它是一个含有 12 个可跨越细菌被膜的多蛋白复合物家族,由同一个启动子调控。IV 型分泌系统的主要作用是:建立分泌通道,在吞噬细胞内诱导吞噬小体酸化,形成酸性繁殖环境,有效地防止吞噬了布鲁氏菌的吞噬小体与溶酶体的融合,从而阻止布鲁氏菌被消化,使其能在吞噬细胞中寄生^[24]。

(iii) 外膜蛋白. 外膜蛋白(OMP)处于布鲁氏菌菌体最外层的外膜上, 在稳定细菌外膜结构、适应胞内外环境、抵抗胞内杀菌机制等方面起着重要作用. 研究表明, 布鲁氏菌侵入巨噬细胞后, Omp25 的表达抑制了巨噬细胞 TNF- α 的产生, 可能通过对 TNF- α 分泌途径的特异性修改, 使巨噬细胞的杀伤作用与抗原提呈功能部分丧失, 最终逃避宿主的免疫监视^[24,27].

虽然人们已经鉴定分离了多种布鲁氏菌毒力相关因子, 然而要完全解读布鲁氏菌的致病机制尚有一段路程. 目前, 布鲁氏菌分子致病机制的相关研究内容涉及毒力相关基因及致病机制、毒力相关蛋白及其功能、免疫及免疫逃逸机制、感染扩散及维持机制等方面. 所有研究都是从某一角度解释布鲁氏菌感染、致病作用和免疫及其逃逸机制, 因布鲁氏菌在整个机体感染增殖过程中需要多种毒力因子的协同作用, 所以布鲁氏菌分子致病机理研究目前只是冰山一角, 布病防控基础研究任重道远^[16].

5 我国布病防治基础研究中存在的问题

5.1 亟需解决的科学问题

(1) 布鲁氏菌的致病机制. 明确布鲁氏菌分子致病机制对于设计、研发布鲁氏菌病治疗用新型药物以及安全、有效、无副作用的新型疫苗具有重要意义. 然而, 目前人们对布鲁氏菌致病机制的认识还很少. 今后研究的重点应在于: (i) 通过布鲁氏菌效应蛋白及其互作靶标筛选鉴定, 解读胞内转运、致病作用、免疫逃逸或持续性感染机制; (ii) 通过布鲁氏菌基因功能研究平台建立, 全面筛选鉴定布鲁氏菌胞内外生存必需基因、细胞吸附/侵入相关基因, 以及宿主主体内或胞内物理性、化学性和生物性因子耐受相关基因, 解读布鲁氏菌基因功能和持续性感染机制.

(2) 布鲁氏菌的流行病学分型. 布鲁氏菌属内种型繁多, 各种型间宿主倾向性、生物型性状、毒力强度、临床表现、流行特征等方面各不相同, 布鲁氏菌的鉴定分型对流行病学调查溯源和布鲁氏菌病防控计划的制定具有现实意义. 布鲁氏菌的分型系统主要有表型分型系统和基因分型系统 2 类^[28]. 国际公认的布鲁氏菌鉴定方法为表型分型方法, 但该法费时费力、易受主观意识影响、缺乏准确性, 且潜在感

染风险. 而且, 由于布鲁氏菌的变异, 也会遇到一些非典型株而无法将其分型的问题. 因此, 实际工作中布鲁氏菌的分离鉴定工作开展得还不够多. 基于现代分子生物学技术的基因分型系统可以解决上述问题, 在快速、简便、准确地诊断布鲁氏菌病的同时, 能在一定程度上鉴定布鲁氏菌的种型. 今后, 应突出分子生物学检测技术, 如 PCR 及其各种衍生技术在布鲁氏菌的病原学检测和分型中的作用, 扩大病原学检测的范围和数量, 描绘出我国布鲁氏菌的地理流行病学特征.

5.2 关键技术的研究

布病防控的关键技术主要包括检测技术和免疫技术 2 类.

(i) 新型快速诊断技术的研究、标准化与应用. 布病的诊断是布病研究的重点和难点. 我国法定的人、畜布病诊断涉及的技术方法有: 用于初筛的平板凝集实验(plate agglutination test, PAT)或虎红平板凝集试验、全乳环状试验(milk ring test, MRT, 仅限于乳牛), 血清学检查的试管凝集试验、补体结合试验和抗人球蛋白试验(antiglobulin test, AGT, 用于人), 以及病原菌的分离, 奶牛的布病诊断还可以用 PCR 法检测病原^[5,29,30]. 但病原菌的分离需要的时间长、培养要求条件苛刻, 技术复杂, 检出率低, 同时对实验人员的健康安全构成极大的威胁. 传统的血清学方法存在假阳性和假阴性的现象, 尚不能鉴别人工免疫和自然感染^[31]. 随着科学技术的发展, 一些新的免疫学和分子生物学布病诊断技术得到发展, 如间接酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、竞争 ELISA、补体结合 ELISA、胶体金技术、荧光偏振试验以及各类的核酸诊断技术等, 这些方法各具特色, 但都存在一定的局限性^[31,32], 需要对这些新的诊断技术的敏感性、特异性以及在布病防治、监测中的应用价值进行综合评价. 到目前为止, 尚没有一种独立的确诊布病的方法, 布病的确诊大多是几种方法相结合, 开发特异、灵敏、且能鉴别自然感染与疫苗免疫的诊断方法仍是目前亟待解决的问题^[32]. 另外, 各种诊断技术在大范围的推广与应用之前, 尚需制备标准化的配套诊断试剂和标准物质, 以及建立相应的标准化操作流程.

(ii) 新型理想疫苗的研制. 布病疫苗分为畜用

疫苗和人用疫苗. 目前尚无许可的人用疫苗, 需要研制安全有疗效的人用疫苗, 用于保护高危职业人群和生活在布病高发区域的居民. 我国目前应用的传统畜用疫苗 S2, S19 和 M5 存在关键的技术缺陷, 如毒力较强、安全性较差、干扰诊断等. 一些新型动物疫苗的研发是目前研究的热点, 主要包括对现有活疫苗的改造、新弱毒疫苗菌株的筛选、标记疫苗、粗糙型疫苗、核酸疫苗、重组亚单位疫苗等^[19,33]. 特异性分子标记疫苗可鉴别人工接种免疫和自然感染的动物, 给动物的检疫、运输、宰杀带来了方便. 构建分子标记疫苗最常用的方法是构建布鲁氏菌毒力基因的缺失突变株, 如外膜蛋白缺失标记, 其优点是易保持免疫原性, 难点是标记蛋白需与感染血清表现一致才有鉴别诊断价值. 粗糙型疫苗能够在一定程度上提供对光滑型布鲁氏菌的免疫保护, 而又不干扰临床检测, 通过体外或体内连续传代, 可以得到粗糙型的变异菌株, 也可以通过分子生物学的方法突变或删除与光滑型菌脂多糖合成相关的基因来获得粗糙型突变株. 粗糙型疫苗的优点是彻底解决血清学鉴别诊断, 缺点是不易获得理想的免疫原性. 考虑到人畜共患病活疫苗在运输、存储及使用安全性等方面的因素, 以及可能出现的毒力返强等弱点, 核酸疫苗可以解决上述问题, 包括 DNA 疫苗和 RNA 疫苗. 重组亚单位疫苗一般以诱生体液免疫为主, 对于细胞内感染为主的布鲁氏菌, 其能达到的保护效果还需进一步探讨. 核酸疫苗和重组亚单位疫苗目前仅处于理论研究阶段.

(iii) 疫苗免疫和感染的鉴别技术. 鉴别二者是当前的技术难题. 虽然经病原学检测后再利用经典鉴定方法和分子生物学技术可以轻易地鉴别流行菌株和疫苗菌株, 但很明显这种策略并不适用于基层大范围的监测与筛查. 近年来通过对口服 S2 疫苗免疫程序的改进, 可以一定程度上降低对感染诊断的干扰, 使得综合防控措施得以有效开展^[34]. 此外, 一些新的布病诊断技术, 如胶体金技术、核酸诊断等方法可以进行免疫和感染的鉴别诊断^[32,35,36], 需加快此类检测技术和诊断试剂的研究. 如前所述, 采用新型的抗体消失快的标记疫苗、粗糙型疫苗, 亦有望解决这一难题, 需要加速这些具有应用前景的新型疫苗的研究.

6 对我国布病防治基础研究的建议

在我国布病的防治过程中, 在采取强化政府领导、各部门密切合作、加大防治经费投入、开展监测、强化健康教育、加强专业技术队伍建设等综合性防治措施的同时, 还要积极地开展布病的研究工作.

(1) 建立合作平台, 开展联合攻关. 布病研究的滞后已经严重影响了我国人畜布病的综合防治, 为了尽快解决布病研究中的重大科学和关键技术问题, 急需国家各有关部门, 尤其卫生和农业部门建立全国布病防治研究机构的合作平台以及布鲁氏菌基础研究资源共享平台, 人间和畜间布病研究相结合, 开展多家单位的联合攻关, 发挥各自的技术优势, 争取获得重大基础研究和关键技术的突破.

(2) 进一步加强布病基础研究. 开展系统病原学分子生物学鉴定标准化流程研究, 建立中国布鲁氏菌分子生物资源库, 建立中国布鲁氏菌基因组信息研究分析技术平台, 开展中国布鲁氏菌全基因组信息资源研究, 开展布鲁氏菌毒力基因、耐药基因应用性研究, 以及影响布鲁氏菌功能蛋白质组研究, 开展布鲁氏菌在不同机体内感染能力方面的研究.

(3) 重视防治技术研究, 用于指导防治实践工作. 主要是布病的新型快速诊断技术, 新型理想的人用、畜用疫苗, 以及疫苗免疫和感染的鉴别诊断方面的成果转化. 另外, 利用中国布鲁氏菌生物资源库和全基因组信息资源库, 从基因组水平开展布鲁氏菌的遗传进化研究, 以及布鲁氏菌毒力、耐药及疫情动态变化的研究, 直接用于分析和控制布病疫情.

(4) 加大并保持布病科研经费的长期投入. 目前, 我国布病的防治形势非常严峻, 涉及与防治密切相关的基础研究问题和关键技术问题颇多, 应该加强研究经费的投入, 并且这些研究问题不是短时间能够解决的. 建议国家设立重点或重大研究项目, 支持布病的科研攻关, 根据研究进展, 可以连续滚动资助, 为我国布病防治提供科学与技术的支撑.

布鲁氏菌病是一种可以防治的人畜共患传染病, 世界上已经有多个国家成功根除了布病, 20 世纪 80 年代, 我国也曾有效地控制了布病的流行. 在认清现阶段我国布病的流行特征、防治现状以及存在的科学与技术问题的基础上, 相信在各级政府坚强领导下, 在各有关部门的支持下, 经过全国人、畜布病防治、科研机构的共同努力, 我国布病疫情一定会得到有效的控制.

参考文献

- 1 崔步云. 关注中国布鲁杆菌疫情发展和疫苗研究. 中国地方病学杂志, 2012, 31: 355–356
- 2 胡剑飞, 崔步云, 关平原, 等. 布鲁氏菌外膜蛋白的研究进展. 疾病监测, 2010, 25: 380–389
- 3 钟志军, 于爽, 徐杰, 等. 布鲁菌进化和分类学研究进展. 中国兽医学, 2011, 31: 1228–1235
- 4 成岩, 白靓, 张树军. 我国布鲁氏菌感染的研究现状及展望. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2012, 27: 343–346
- 5 布鲁氏菌病诊断标准. 中华人民共和国卫生部, WS268-2007
- 6 刘凤岐, 王大力, 王季秋, 等. 全国布氏菌病干预试点县布氏菌病经济损失调查. 中国地方病防治杂志, 2008, 23: 424–425
- 7 万遂如. 人兽共患病的危害、流行原因与防控对策. 中国畜牧兽医学学会家畜传染病学分会第六届理事会第二次会议暨教学专业委员会论文集. 中国畜牧兽医学学会家畜传染病学分会, 2006. 15–22
- 8 王国栋, 刘书梅. 国内外牛布鲁氏菌病防治研究进展. 安徽农学通报, 2013, 19: 134–137
- 9 陈丹, 柳晓琳, 刘孝刚. 布鲁氏菌病流行趋势及其防治措施的研究进展. 中国地方病防治杂志, 2011, 26: 26–28
- 10 范伟兴, 狄栋栋, 黄保续. 发达国家根除家畜布病的主要措施. 中国动物检疫, 2013, 30: 68–70
- 11 Dean A S, Crump L, Greter H, et al. Global burden of human brucellosis: a systematic review of disease frequency. PLoS Negl Trop Dis, 2012, 6: e1865
- 12 翁勇, 闫秀娟. 四例布鲁氏菌病流行特征分析. 海南医学, 2013, 24: 2626–2627
- 13 周艳彬, 柳晓琳. 布鲁氏菌病的流行、发病原因及防治进展. 辽宁医学院学报, 2010, 31: 81–85
- 14 李宏伟, 刘欣, 王晓霞. 浅谈布氏杆菌病的流行原因与防治. 吉林畜牧兽医, 2012, 8: 54–55
- 15 范伟兴, 狄栋栋, 田莉莉. 当前家畜布鲁氏菌病防控策略与措施的思考. 中国动物检疫, 2013, 30: 64–66
- 16 吴清民. 动物布鲁氏菌病防控技术研究对策. 兽医导刊, 2010, 3: 21–23
- 17 尚德秋, 刘秉阳. 布鲁氏菌病学. 北京: 人民卫生出版社, 1989. 409–431
- 18 杨丽娟. 新疆绵羊种布鲁氏菌 80/019 株 *omp31* 基因的克隆与表达. 硕士学位论文. 石河子: 石河子大学, 2005. 7
- 19 丁家波, 冯忠武. 动物布鲁氏菌病疫苗应用现状及研究进展. 生命科学, 2013, 25: 91–99
- 20 梅建军, 石慧英, 王兴龙. 布鲁氏菌表面抗原研究进展. 动物医学进展, 2005, 26: 13–18
- 21 杨星雅, 崔步云. 布鲁氏菌免疫原性蛋白研究进展. 中国人兽共患病学报, 2012, 28: 155–158
- 22 钟志军, 于爽, 徐杰, 等. 布鲁氏菌比较基因组学研究进展. 中国人兽共患病学报, 2011, 27: 346–350
- 23 钟志军, 于爽, 徐杰, 等. 布鲁氏菌减毒活疫苗株的比较基因组学研究. 中国人兽共患病学报, 2012, 28: 555–560
- 24 董炳梅, 王金良, 唐娜, 等. 布鲁氏菌的致病机制与细胞免疫机制研究进展. 中国人兽共患病学报, 2012, 28: 635–639
- 25 乔凤. 外膜蛋白 Omp25 在布鲁氏菌菌毒力及免疫保护作用中的作用研究. 博士学位论文. 长春: 吉林大学, 2009. 7–11
- 26 Fernandez-Prada C M, Zelazowska E B, Nikolich M, et al. Interactions between *Brucella melitensis* and human phagocytes: bacterial surface O-Polysac-charide inhibits phagocytosis, bacterial killing, and subsequent host cell apoptosis. Infect Immun, 2003, 71: 2110–2119
- 27 顾超慧, 崔步云, 关平原. 蛋白质组学在布鲁氏菌病研究中的应用. 疾病监测, 2009, 24: 373–378
- 28 赵振祥, 崔步云, 郝素珍. 布鲁氏菌分种分型研究进展. 中国媒介生物学及控制杂志, 2007, 18: 172–175
- 29 动物布鲁氏菌病诊断技术. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, GBT 18646-2002
- 30 奶牛布氏菌病 PCR 诊断技术. 中华人民共和国农业部, NY/T 1467-2007
- 31 李博, 易新萍, 李金平, 等. 布鲁氏菌病监测和诊断技术的研究进展. 兽医导刊, 2010, 3: 27–31
- 32 王秀丽, 蒋玉文, 毛开荣, 等. 布鲁氏菌病实验室诊断方法的研究进展. 中国兽药杂志, 2011, 45: 37–42
- 33 邓丽芳, 黄亚宁, 罗雯. 布鲁菌病疫苗研制进展. 陕西农业科学, 2012, 2: 130–134
- 34 毛开荣. 动物布氏菌病的诊断. 兽医导刊, 2011, 9: 50–52
- 35 赵洪进, 屠益平, 沈素芳. 布鲁氏菌病实验室诊断技术的研究进展. 中国动物检疫, 2013, 30: 82–85
- 36 张付贤, 王英超, 王兴龙. 布鲁菌鉴别诊断方法的研究进展. 中国生物制品学杂志, 2008, 21: 1026–1029

Status and Perspective of Basic Research of Prevention and Control of Brucellosis

GAO YanHui¹, ZHAO LiJun¹, SUN DianJun¹, GU AiHua², ZHANG ZuoWen² & DONG ErDan²

1 Center for Endemic Disease Control, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Harbin 150081, China;

2 Medical Science Department, National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085, China

Brucellosis is a kind of zoonotic infection caused by bacteria of *Brucella*. Epidemic of brucellosis rebounded worldwide especially in China in recent years. Since the beginning of the 21st century, human brucellosis has become one of the infectious diseases with the largest number of reported new cases, which puts great stress on the prevention and control of brucellosis in China. To make clear the status quo and requirement, the latest research development, and the potential challenges and opportunities of the prevention and control of brucellosis in China, the seminar about the development strategies of the basic research related to the prevention and control of brucellosis was held to thoroughly discuss the major scientific and critical technical issues, and to put forward the basic scientific issues that need urgent attention in the following practice of the prevention and control of brucellosis in China. This seminar was sponsored by National Natural Science Foundation of China, organized by Center for Endemic Disease Control, China CDC, and co-organized by Harbin Medical University, Institute for Communicable Disease Control and Prevention, China CDC, and Center for Endemic Disease Control and Prevention of Inner Mongolia. This seminar was held in Hohhot, Inner Mongolia Autonomous Region, the most affected province of brucellosis in China, on June 21st, 2013. More than 40 experts in the field of brucellosis basic research, prevention and control participated in the seminar, who were from 19 institutes of scientific research, colleges and universities, such as Institute for Communicable Disease Control and Prevention of China CDC, Institute of Disease Control and Prevention of Academy of Military Medical Sciences, Shihezi University, and China Institute of Veterinary Drug Control. On the basis of the literature and the contents of this seminar, this review summarizes the epidemic status and research development of brucellosis, and puts forward the issues and advices that need to be resolved urgently in the prevention and control of brucellosis.

brucellosis, epidemic status, prevention and control, basic research

doi: 10.1360/N052013-00064