

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2024.05.10

我国已上市动物布鲁氏菌病活疫苗的概况及 新型疫苗研究方向

唐新月¹, 朱小洁¹, 武翠香², 彭小薇¹, 李俊平^{1*}

(1. 中国兽医药品监察所(农业农村部兽药评审中心), 国家/ WOA/ FAO 布鲁氏菌病参考实验室, 北京 102600;

2. 内蒙古自治区巴彦淖尔市动物疫病预防控制中心, 内蒙古巴彦淖尔 015000)

[收稿日期] 2024-01-19 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2024) 05-0082-07 [中图分类号] S859.79

[摘要] 布鲁氏菌病(布病)是由布鲁氏菌引起的重要人畜共患传染病, 严重危害公共卫生安全。疫苗免疫是预防布病的重要措施之一。目前我国已经获批上市的布鲁氏菌病疫苗共有七种, 分别是 S2 株、M5/M5-90 株、M5-90 Δ 26 株、Rev. 1 株、A19 株、A19 Δ VirB12 株和 BA0711 株。对上述疫苗的背景、免疫程序、基因组及保护力等方面进行系统阐述, 旨在为动物布鲁氏菌活疫苗选用提供指导, 并针对现有疫苗的优缺点, 展望未来研发安全、高效、可鉴别诊断、不感染人的新型疫苗方向。

[关键词] 布鲁氏菌病; 活疫苗; 新型疫苗

A Comprehensive Overview of Approved Animal Brucellosis Live Attenuated Vaccines in China and Novel Vaccine Research Direction

TANG Xin-yue¹, ZHU Xiao-jie¹, WU Cui-xiang², PENG Xiao-wei¹, LI Jun-ping¹

(1. National/WOA/FAO Reference Laboratory for Brucellosis, China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 102600, China;

2. Inner Mongolia Autonomous Region Bayannur Animal Epidemic Disease Prevention Control Center, Bayannur 015000, China)

Corresponding author: LI Jun-ping, E-mail: lijunping03@163.com

Abstract: Brucellosis, a severe zoonotic infectious diseases affecting humans and animals in China, poses a significant public health security challenge globally. The incidence of brucellosis in human is closely associated with animal cases. Therefore, implementing effective control measures against brucellosis in livestock is vital for disease management in China. Vaccination has proven to be an effective intervention strategy. So far, China has approved seven brucellosis vaccines: S2 strain, M5/M5-90 strain, M5-90 Δ 26 strain, Rev. 1 strain, A19 strain, A19 Δ VirB12 strain and BA0711 strain. This article offers a comprehensive overview of the vaccines, including their background, usage, immunization conditions, vaccine genomes, and protective efficacy. Moreover, this study delves into the potential advancements in the development of novel vaccines that are safe,

作者简介: 唐新月, 硕士研究生, 从事人畜共患病研究。

通讯作者: 李俊平。E-mail: lijunping03@163.com

efficient, capable of differential diagnosis, and non-infectious to individuals. By thoroughly examining the strengths and weaknesses of current vaccines, the research aims to offer valuable insights for the successful implementation of vaccination programs and provide a foundation for future vaccine innovation.

Key words: brucellosis; live vaccine; novel vaccine

布鲁氏菌病(布病)是由布鲁氏菌(*Brucella* spp.)引起的一种全球流行的人兽共患传染病,该病严重危害全球畜牧业和人类健康的发展,被世界卫生组织(WOAH)列为法定必须通报的疫病,属于我国优先防制的重大动物疫病^[1,2]。布鲁氏菌可通过消化系统、呼吸系统及受损的皮肤黏膜等途径传播^[3]。猪、牛、羊、犬、鹿和骆驼等是布鲁氏菌的主要易感动物^[4]。动物感染布鲁氏菌后主要表现为发热、精神沉郁、滑囊炎、跛行等症状;母畜表现为流产、死胎、不孕、乳腺炎等;公畜可见睾丸炎和附睾炎等^[5]。患病的人常表现为间隙发热、多汗、不孕、关节炎和肝炎等,并可能伴随中枢神经系统和心血管系统等并发症,严重可致患者丧失劳动动力^[5-7]。

在全球范围内,人间布病的流行趋势总体呈现下降态势。2013年至2022年,我国人间及畜间布病病例多年处于高位。在此流行态势下,疫苗免疫成为防控布病的重要手段。农业农村部最新发布的《畜间布鲁氏菌病防控五年行动方案(2022-2026年)》中指出“人病兽防,关口前移”是基本原则,制定了免疫指标和实行强制免疫政策。目前我国已经批准上市的布鲁氏菌病疫苗共有7种,本文主要对我国已上市疫苗的菌株背景、免疫程序、基因组及保护力等进行系统概述,以期对田间免疫选择提供指导。

1 我国上市的布病疫苗

1.1 S2株 1952年,中国兽医药品监察所专家从进口母猪流产胎儿中分离出一株猪种布鲁氏菌,历时7年人工致弱为S2株^[8,9]。S2疫苗株是我国使用最多的一种疫苗,安全性和免疫保护能力较好,可用于接种猪、牛和羊,是全球唯一可用于免疫猪的布病弱毒疫苗。S2株疫苗能通过口服免疫途径为猪、牛和羊提供良好的免疫保护,其优势在于口

服免疫不会导致母畜流产。

Di等^[10]对S2株的全基因组进行测序后与猪种1330株进行比较,发现二者之间存在59个开放阅读框(ORFs)的差异,推测与S2株毒力下降可能相关的因素包括外膜自转运蛋白OmaA和EryD的翻译提前终止、布鲁氏菌生长必需基因及毒力相关基因的突变。Zhu等^[11]使用 1×10^5 CFU/只剂量的S2疫苗株对BALA/c小鼠进行免疫,结果在免疫后4周脾脏细菌被完全清除;免疫8周后,分别用 2×10^4 CFU/只剂量的M28株、2308株和S1330株进行皮下注射攻毒,30天后脾脏分菌显示S2株的保护率分别为80%、100%、80%。此外,不同地区、不同年龄和不同生理状态的羊群,口服S2株疫苗,均未出现不良反应,而对羊肌肉注射免疫会出现怀孕羊流产等症状^[12,13]。另有研究显示,S2疫苗通过阴道喷注对羊群进行免疫的效果也较好,不会导致怀孕羊流产的同时可激发高水平免疫抗体^[14]。

1.2 M5/M5-90株 M5株在我国使用的疫苗中毒力最强^[15],是1962年中国农业科学院哈尔滨兽医研究所专家从羊体内分离的羊种1型布鲁氏菌(M28强毒株)经过鸡传代致弱衍生而来。M5株易毒力返强和突变,遂在鸡体内传187代后又在鸡胚成纤维细胞上传90代,育成M5-90株,提高了疫苗的稳定性^[16]。该疫苗可选择皮下注射、滴鼻或口服方式免疫羊和3~8月龄奶牛,不能用于妊娠母畜及种公畜。孙晶晶等^[17]通过比较M5株皮下注射和口服免疫诱导产生的细胞因子水平,结果显示皮下注射免疫效果更好。

Wang等^[18]对M28亲本株和M5-90株基因组比较后发现M5-90株存在74个DNA片段的插入和缺失,在编码延伸因子EF-Tu的*tuf1*和*tuf2*基因中,*tuf2*基因序列大量突变;通过缺失或过表达*tuf2*基因证明其在M5-90毒力减弱中起重要作用。

用。对 1~5 不同月龄的羔羊免疫后发现, M5-90 株对低月龄羔羊的副作用更明显, 对其生长性能影响较大^[19]。

1.3 M5-90Δ26 株 M5-90Δ26 疫苗株是中国农业科学院哈尔滨兽医研究所专家以 M5-90 菌株为亲本构建的 *bp26* 基因缺失株。疫苗可通过腿部皮下注射的接种方式用于健康羊, 但妊娠期母畜及公畜禁止使用。研究表明, *bp26* 基因缺失对亲本株的生物学特性基本无影响, 且小鼠残余毒力和抵抗 544 株、M28 株的保护力与 M5-90 株无明显差异^[20]。Li 等^[21] 用 1×10^6 CFU/只剂量的 M5-90 株和 M5-90Δ26 株免疫小鼠 5 周后, 以相同剂量的 16M 株进行攻毒, 结果显示, 两种疫苗免疫后的小鼠脾脏分菌数明显低于空白对照组, 且 M5-90Δ26 株对小鼠的保护效果优于 M5-90 株。用 M5-90Δ26 株免疫布鲁氏菌抗体阳性、阴性、流产严重和怀孕的羊群, 发现免疫后流产羊只减少, 羔羊在出生后三个月内可以检测到母源抗体^[22]。

Bp26 蛋白在布鲁氏菌中高度保守, 并可刺激保护性 T 细胞产生迟发型变态反应^[23], 是一种可产生抗体的优势抗原^[24]。根据该产品说明书, 动物接种 M5-90Δ26 后, 虎红平板凝集试验可呈阳性; 免疫后 15~180 日, 以 Bp26 蛋白为诊断抗原可区分疫苗免疫与野毒感染。但有研究显示 Bp26 蛋白产生的抗体具有细菌种属特异性, 不同动物对相同菌株产生的 Bp26 抗体水平存在差异, 因此该鉴别检测方法仍有待优化和充分验证^[25,26]。

1.4 A19 株 A19 疫苗株于 50 年代由中国兽药品监察所从苏联引进。将 A19 株和 S19 疫苗株进行序列比对, 结果显示 A19 疫苗株 *ery* 基因部分缺失, 应为 1956 年前未经过赤藓糖醇筛选的原始 S19 菌株^[27]。A19 株是目前我国用于牛群免疫的主要疫苗, 常规剂量皮下注射主要接种 3~6 月龄犊牛, 但对配种前 2~3 个月以内的母牛加免时需低剂量 (约 1/60 头份) 接种。

王姝懿等对 A19 株进行全基因组测序, 发现该菌株存在一个序列编号为 *orf03152* 的基因能够影响焦磷酸异构酶表达并导致抗生素耐药, 可能影响

对布鲁氏菌病的治疗^[28]。Wang 等^[29] 将 A19 与牛种 9-941 株的全基因组序列进行比对, 发现 A19 基因组中存在一个 63 bp 序列的缺失与 ABC 转运体渗透酶有关; 此外, 还有如 *YPA*、*adhD*、*ddrA*、*oppA* 和 *hitB* 等毒力基因的微小突变参与 A19 衰减的分子机制。程君生等^[30] 使用豚鼠对 S2 株、M5 株和 A19 株进行毒力测定, 发现 A19 株的毒力介于其他两株之间。

1.5 A19-ΔVirB12 株 A19-ΔVirB12 疫苗株是以 A19 菌株为亲本构建的 *virB12* 基因缺失株, 通过皮下注射接种牛, 但不可用于孕畜及种公畜。有研究显示该疫苗的免疫保护率达 80%~100%^[31]。根据产品说明书该疫苗接种后 15~180 日, 以 VirB12 蛋白为靶抗原可区分疫苗免疫与野毒感染。

VirB12 蛋白是布鲁氏菌 IV 型分泌系统 (T4SS) 中一个表面定位蛋白, 与 VirB9、VirB10、VirB11、TolB 和 Nuol 蛋白存在相互作用, 可能在复制、持续感染宿主和细胞间相互作用中承担一定功能^[32]。VirB12 蛋白具有良好的免疫原性, 能诱导部分免疫反应, 小鼠免疫后血清中 VirB12 特异性总 IgG 的水平在第 56 天时达顶峰, 在 70 天后仍能检测到^[33]。Yang 等^[34] 通过实验证实, 缺失 *virB12* 基因不影响 A19 在小鼠体内的复制能力, 且诱导小鼠产生显著的细胞免疫应答。

1.6 Rev. 1 株 羊种弱毒疫苗株 Rev. 1 是 1953 年美国科学家在链霉素抗性培养基上对羊种布鲁氏菌野毒株连续传代, 随后在无链霉素抗性培养基上进行二次筛选所获得^[35,36], 其疫苗于 2023 年在我国注册上市。Rev. 1 株疫苗采用眼结膜接种方式, 适用于 3~6 月龄或配种前 2 个月的羊, 但怀孕羊禁用。在国外, Rev. 1 疫苗株被广泛用于常规免疫, 欧洲等国家也采用该疫苗进行免疫防控, 但已根除羊种布鲁氏菌病的国家禁用^[37]。

Divon 等^[38] 将 Rev. 1 株与羊种强毒参考菌株 16M 进行全基因组序列比较, 发现 Rev. 1 株基因组中存在多处基因突变, 涉及布鲁氏菌入侵、增殖、胞内寄生和环境应激等方面, 可能导致 Rev. 1 株毒力下降。有研究表明使用 Rev. 1 株免疫小鼠 45 天和

150 天后均能对不同种属的布鲁氏菌强毒株提供免疫保护^[36]。Ponsart 等^[39]发现,使用 Rev. 1 疫苗后野山羊产生的体液免疫水平和免疫时间高于家养山羊,但疫苗株在野山羊体内的存活时间较短。这表明不同品种羊群免疫 Rev. 1 株后产生的免疫反应可能存在差异。此外,羊种布鲁氏菌对羊和人的致病性较高,国外也有 Rev. 1 株感染人的报道^[40]。因此使用该疫苗时,需要注意做好生物安全防护措施。

1.7 BA0711 株 BA0711 株是中国农业大学吴清明教授以 2007 年从内蒙古海拉尔市的流产牛胎儿脾脏样品中分离出的一株牛源羊种 3 型布鲁氏菌强毒菌为亲本,构建的缺失编码冷休克蛋白 A (CspA)

基因的菌株^[41]。该疫苗采用皮下注射方式接种,适用于 2 月龄以上健康牛、绵羊和山羊。奶牛接种后可能会出现一过性产奶量下降的情况。

CspA 蛋白是代谢和毒力相关基因表达的重要调节因子,缺失 *cspA* 基因可以使布鲁氏菌毒力下降^[42]。研究表明,BA0711 株在 BALB/c 小鼠体内可存活 8 周,在反刍动物体内存活可达 6 周,并对不同种属的强毒株提供免疫保护。皮下接种该疫苗后,不会导致怀孕山羊、绵羊和奶牛发生流产^[41]。目前,在已注册的所有布鲁氏菌活疫苗中,仅有 BA0711 株和 S2 株可用于妊娠动物。

综上所述,各疫苗的免疫每头份活菌数、适用动物、接种方式和免疫剂量如表 1。

表 1 已上市布鲁氏菌病疫苗使用说明

Tab 1 Instructions for use of approved animal brucellosis vaccines

疫苗	活菌数(CFU/头份)	适用动物	接种方式	免疫剂量(只/头)
			口服	羊 1 头份 牛 5 头份 猪 2 头份,免疫 2 次
S2	$\geq 1 \times 10^{10}$	猪、牛、羊	皮下注射	山羊 0.25 头份 绵羊 0.5 头份 猪 2 头份,免疫 2 次
			肌肉注射	山羊 0.25 头份 绵羊 0.5 头份 猪 2 头份,免疫 2 次
			口服	羊 25 头份
M5/M5-90	$\geq 1 \times 10^9$	牛、羊	皮下注射	牛 25 头份 羊 1 头份
			滴鼻	羊 1 头份
M5-90 Δ bp26	$\geq 1.0 \times 10^9$	羊	皮下注射	1 头份
A19	$\geq 6 \times 10^{10}$	牛	皮下注射	1 头份
A19- Δ VirB12	$6 \times 10^{10} \sim 1.1 \times 10^{11}$	牛	皮下注射	1 头份
Rev. 1	$\geq 1 \times 10^9$	羊	眼结膜接种	1 头份
BA0711	$2 \times 10^9 \sim 3 \times 10^9$	牛、羊	皮下注射	山羊 1 头份 绵羊 1.5 头份 牛 10 头份

2 讨论

净化是布病防控的终极目标,疫苗免疫是重要手段。在我国当前无法严格控制动物移动的情况下,高流行地区进行免疫迫在眉睫。针对不同地区

具体的养殖特点和需求,应选择合适的疫苗进行免疫。例如 S2 株应用范围广,通过口服免疫副作用小且不引发流产,适用于多种养殖或经济动物及部分育种养殖场;A19 株可对牛群提供良好的保

护^[43],也可与 S2 株联合使用,极大程度降低了母牛的流产率^[44]; Rev. 1 株可通过免疫牛的乳汁排菌,不推荐用于牛群免疫^[45],且有研究表明免疫 Rev. 1 株的散养羊群可通过相互接触导致未免疫羊的感染,因此更适用于集中管理的羊群^[46]; M5 - 90Δbp26 株和 A19 - ΔVirB12 株则利于鉴别检测。同时目前我国上市的所有活疫苗均可感染人,虽然人感染疫苗株后一般不引起明显的临床症状,但因个体差异仍会引起不适。因此,在疫苗免疫中需做好个人防护。由于一些基层防疫人员对布病疫苗认识不够,防护不到位,担心在布病疫苗免疫过程中造成个人感染,常常造成免疫不确实,影响免疫防控效果。

免疫 - 监测 - 淘汰相结合的方式可有效进行布病防控和缩短净化进程,现有疫苗均为表型与野毒株相同的光滑型菌株,这导致在临床诊断中存在血清学干扰,无法对二者辨别区分。安全、高效、可鉴别诊断、不感染人的布病疫苗是理想的疫苗,也是布病疫苗研发人员追求的目标。目前很多新型疫苗也在不断被探索,如构建布鲁氏菌部分毒力或免疫原性相关蛋白的重组疫苗,安全稳定但免疫原性较弱;保留完整细菌结构和蛋白天然构象的菌影疫苗能诱导机体产生良好的免疫应答但无法区分疫苗免疫和自然感染;在现有疫苗基础上缺失毒力因子以提高疫苗安全性、过表达保护性抗原提高保护力的方式同样存在血清学诊断干扰等尚有待优化的方面。粗糙型布鲁氏菌病疫苗和 DNA 疫苗以其独特的优势可能成为未来疫苗研究的热点。通过对布鲁氏菌脂多糖(LPS)合成相关基因的改造可构建粗糙型突变株。国际上现有粗糙型 RB51 疫苗株进行牛群布鲁氏菌病的防控,并且可通过传统血清学方法来区分疫苗免疫和自然感染。我国 RA343 株等粗糙型菌株也已完成了部分相关评价,后续研究仍有待深入。DNA 疫苗具有安全、稳定、有效、能高效激发免疫系统和易运输保存的优势,现有研究结果显示 DNA 多价疫苗联合具有更好的保护作用,但 DNA 疫苗在实际应用中未能提供优于减毒活疫苗的保护力^[47],未来应对其载体、递送

系统等深入改造优化,提高转染效率和免疫原性。多种疫苗发扬优势,取长补短,将为布鲁氏菌病的预防和控制提供更可靠的手段,保障畜牧业的健康发展和公共卫生安全。

参考文献:

- [1] Lu J, Wu Z, Liu B, *et al.* A time - resolved fluorescence lateral flow immunoassay for rapid and quantitative serodiagnosis of Brucella infection in humans[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2021, 200: 114071.
- [2] Yang H, Zhang S, Wang T, *et al.* Epidemiological Characteristics and Spatiotemporal Trend Analysis of Human Brucellosis in China, 1950 - 2018[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020, 17 (7): 2382.
- [3] Nymo I H, Tryland M, Godfroid J. A review of Brucella infection in marine mammals, with special emphasis on Brucella pinnipedialis in the hooded seal (Cystophora cristata) [J]. *Veterinary Research*, 2011, 42(1): 93.
- [4] Whatmore A M, Foster J T. Emerging diversity and ongoing expansion of the genus Brucella [J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2021, 92: 104865.
- [5] González - Espinoza G, Arce - Gorvel V, Mémet S, *et al.* Brucella: Reservoirs and Niches in Animals and Humans [J]. *Pathogens*, 2021, 10(2): 186.
- [6] Brangsch H, Horstkotte M A, Melzer F. Genotypic peculiarities of a human brucellosis case caused by Brucella suis biovar 5 [J]. *Scientific Reports*, 2023, 13(1): 16586.
- [7] Ali S, Alsayeqh A F. Review of major meat - borne zoonotic bacterial pathogens [J]. *Frontiers in Public Health*, 2022, 10: 1045599.
- [8] Chen S, Chen Y, Jiao Z, *et al.* Clearance of bacteria from lymph nodes in sheep immunized with Brucella suis S2 vaccine is associated with M1 macrophage activation [J]. *Veterinary Research*, 2023, 54(1): 20.
- [9] Li P, Jiang H, Feng Y, *et al.* The advances of the Chinese Brucella suis strain 2 vaccine [J]. *Animal Research and One Health*, 2023, 1(1): 115 - 126.
- [10] Di D dong, Jiang H, Tian L li, *et al.* Comparative genomic analysis between newly sequenced Brucella suis Vaccine Strain S2 and the Virulent Brucella suis Strain 1330 [J]. *BMC Genomics*, 2016, 17(1): 741.
- [11] Zhu L, Feng Y, Zhang G, *et al.* Brucella suis strain 2 vaccine is

- safe and protective against heterologous *Brucella* spp. infections [J]. *Vaccine*, 2016, 34(3): 395–400.
- [12] 徐娇, 崔蕾, 张旭, 等. 布鲁氏菌活疫苗(S2)口服接种不同感染羊群免疫效果观察[J]. *新疆农垦科技*, 2023, 46(03): 41–43.
- Xu J, Cui L, Zhang X, *et al.* Clinical Safety and Immunization Effect of Brucellosis Vaccine (S2) [J]. *China Animal Health Inspection*, 2023, 46(03): 41–43.
- [13] 薛萍, 宗曼合, 郑永波, 等. 羊布鲁氏菌疫苗(S2株)口服免疫试验[J]. *中国动物检疫*, 2020, 37(6): 77–80.
- Xue P, Zong M H, Zheng Y B, *et al.* Study on Oral Vaccination of *Brucella* Live Vaccine (S2) in Sheep [J]. *China Animal Health Inspection*, 2020, 37(6): 77–80.
- [14] 董浩, 韩焘, 赵柏林, 等. 辽宁省建昌县新型布鲁氏菌病免疫技术调研[J]. *中国动物检疫*, 2019, 36(11): 29–32.
- Dong H, Han T, Zhao B L, *et al.* Investigation on a New Immune Technology for Brucellosis in Jianchang County of Liaoning Province [J]. *China Animal Health Inspection*, 2019, 36(11): 29–32.
- [15] 丁家波, 冯忠武. 动物布鲁氏菌病疫苗应用现状及研究进展[J]. *生命科学*, 2013, 25(1): 91–99.
- Ding J B, Feng Z W. Current application of brucellosis vaccines and its research advances[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2013, 25(1): 91–99.
- [16] Hou H, Liu X, Peng Q. The advances in brucellosis vaccines [J]. *Vaccine*, 2019, 37(30): 3981–3988.
- [17] 孙晶晶, 吴锦艳, 陈妍, 等. 布鲁氏菌 S2、M5 及 A19 疫苗不同免疫程序对细胞因子的影响[J]. *免疫学杂志*, 2020, 36(11): 984–993.
- Sun J J, Wu J Y, Chen Y, *et al.* The dynamic effect on cytokines by different immune procedures for *Brucella* S2, M5 and A19 vaccines[J]. *Immunological Journal*, 2020, 36(11): 984–993.
- [18] Wang F, Qiao Z, Hu S, *et al.* Comparison of Genomes of *Brucella melitensis* M28 and the *B. melitensis* M5–90 Derivative Vaccine Strain Highlights the Translation Elongation Factor Tu Gene *tuf2* as an Attenuation–Related Gene[J]. *Infection and Immunity*, 2013, 81(8): 2812–2818.
- [19] 董伟, 张金学, 王建军, 等. M5 和 S2 株布鲁氏菌活疫苗对羔羊的免疫效果及对其生长性能的影响[J]. *中国动物检疫*, 2023, 40(3): 125–130.
- Dong W, Zhang X J, Wang J J, *et al.* Studies on the Performance of Live Brucellosis Vaccines (M5 and S2 Strain) for the Immunization and Growth of Lambs[J]. *China Animal Health Inspection*, 2023, 40(3): 125–130.
- [20] 胡森. 马耳他布鲁氏菌 M5–90 bp26 基因缺失疫苗株的构建及安全性和免疫原性评估[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010.
- Hu S. Construction of bp26 Gene Deletion Mutant in *B. melitensis* Vaccine Strain M5–90 and Evaluation of Safety and Immunogenicity [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2010.
- [21] Tiansen L, Zhixia T, Meiling H, *et al.* *Brucella melitensis* M5–90Δbp26 as a potential live vaccine that allows for the distinction between natural infection and immunization. [J]. *Canadian journal of microbiology*, 2017, 63(8).
- [22] 陈广林, 刘国民, 高登军, 等. 布病疫苗 M5–90Δ26 临床效果评估[J]. *兽医导刊*, 2023(1): 16–19.
- Chen W L, Liu G M, Gao D J, *et al.* Evaluation of the Clinical Effect of the Brucellosis Vaccine of M5–90Δ26[J]. *Veterinary Orientation*, 2023(1): 16–19.
- [23] 刘景福, 李格梅, 王国治. 布鲁氏菌 BP26 蛋白迟发型变态反应的研究[J]. *药物分析杂志*, 2011, 31(7): 1224–1227.
- Liu J F, Li K M, Wang G Z. Research on delayed–type hypersensitivity of *Brucella* BP26 [J]. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2011, 31(7): 1224–1227.
- [24] Gupta S, Singh D, Gupta M, *et al.* A combined subunit vaccine comprising BP26, Omp25 and L7/L12 against brucellosis [J]. *Pathogens and Disease*, 2019, 77(8): ftaa002.
- [25] 刘文兴. 布鲁氏菌标记疫苗(M5–90–26)的鉴别诊断及其 bp26 蛋白的免疫原性分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- Liu W X. Differential Diagnosis of Brucellosis Marked Vaccine (M5–90–26) and Immunogenicity Analysis of bp26 Protein [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.
- [26] 王芳, 蒋卉, 朱良全, 等. 检测 OMP28 抗体不能有效诊断羊布鲁氏菌病[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(8): 1512–1519.
- Wang F, Jiang H, Zhu L Q, *et al.* Antibody against OMP28 is not a reliable diagnostic target for brucellosis infected in sheep and goats[J]. *Microbiology China*, 2015, 42(8): 1512–1519.
- [27] Wang S, Wang W, Sun K, *et al.* Comparative genomic analysis between newly sequenced *Brucella abortus* vaccine strain A19 and another *Brucella abortus* vaccine S19[J]. *Genomics*, 2020, 112(2): 1444–1453.
- [28] 王姝懿, 赵学亮, 孙珂, 等. 布鲁菌疫苗株 A19 全基因组测序及功能分析[J]. *中国兽医学报*, 2019, 39(9): 1770–1775.
- Wang S Y, Zhao X L, Sun K, *et al.* Whole genome sequence of

- Brucellavaccine strain A19 and functional analysis[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2019, 39(9): 1770-1775.
- [29] Wang S, Zhao X, Sun K, *et al.* The Genome Sequence of Brucella abortus vaccine strain A19 provides insights on its virulence attenuation compared to Brucella abortus strain 9-941 [J]. Gene, 2022, 830: 146521.
- [30] 程君生, 吴梅花, 赵丽霞, 等. 三种布鲁氏菌病疫苗株的毒力比较[J]. 中国兽药杂志, 2012, 46(9): 1-3.
Cheng J S, Wu M H, Zhao L X, *et al.* Virulence Comparison between Three Different Vaccine Strains of Brucellosis in Mice and Guinea Pigs[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2012, 46(9): 1-3.
- [31] 吴冬玲, 贺笄, 任立松, 等. 布鲁氏菌病活疫苗(A19- Δ VirB12株)的安全性及免疫效果研究[J]. 草食家畜, 2020(6): 24-31.
Wu D L, He S, Ren L S, *et al.* Safety and Immune Effect of Brucellosis Live Vaccine of A19-VirB12 Strain[J]. Grass-Feeding Livestock, 2020(6): 24-31.
- [32] 叶锋, 马晓菁, 刘丽娅, 等. 布鲁氏菌 VirB12 蛋白的生物信息学分析及功能预测[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(11): 1247-1251.
Ye F, Ma X Q, Liu L Y, *et al.* Bioinformatics analysis and functional prediction of Brucella brucei VirB12 protein [J]. Journal of Pathogen Biology, 2022, 17(11): 1247-1251.
- [33] Sun Y H, Rolán H G, Den Hartigh A B, *et al.* Brucella abortus VirB12 Is Expressed during Infection but Is Not an Essential Component of the Type IV Secretion System[J]. Infection and Immunity, 2005, 73(9): 6048-6054.
- [34] Jianghua Y, Chuanyu H, Huan Z, *et al.* Evaluation and Differential Diagnosis of a Genetic Marked Brucella Vaccine A19 Δ virB12 for Cattle[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12.
- [35] Aragón-Aranda B, De Miguel M J, Martínez-Gómez E, *et al.* Rev1 wbdR tagged vaccines against Brucella ovis[J]. Veterinary Research, 2019, 50(1): 95.
- [36] Banai M. Control of small ruminant brucellosis by use of Brucella melitensis Rev. 1 vaccine: laboratory aspects and field observations[J]. Veterinary Microbiology, 2002, 90(1-4): 497-519.
- [37] Martins R D C, Irache J M, Gamazo C. Acellular vaccines for ovine brucellosis: a safer alternative against a worldwide disease [J]. Expert Review of Vaccines, 2012, 11(1): 87-95.
- [38] Salmon-Divon M, Yeheskel A, Kornspan D. Genomic analysis of the original Elberg Brucella melitensis Rev. 1 vaccine strain reveals insights into virulence attenuation[J]. Virulence, 2018, 9(1): 1436-1448.
- [39] Ponsart C, Riou M, Locatelli Y, *et al.* Brucella melitensis Rev. 1 vaccination generates a higher shedding risk of the vaccine strain in Alpine ibex (Capra ibex) compared to the domestic goat (Capra hircus)[J]. Veterinary Research, 2019, 50(1): 100.
- [40] Arapovic J, Špičić S, Duvnjak S, *et al.* The first report of Brucella melitensis Rev. 1 human brucellosis in Bosnia and Herzegovina [J]. The Journal of Infection in Developing Countries, 2020, 14(02): 232-235.
- [41] Wang Z, Wu Q. Research Progress in Live Attenuated Brucella Vaccine Development [J]. Current Pharmaceutical Biotechnology, 2014, 14(10): 887-896.
- [42] Wang Z, Liu W, Wu T, *et al.* RNA-seq reveals the critical role of CspA in regulating Brucella melitensis metabolism and virulence [J]. Science China Life Sciences, 2016, 59(4): 417-424.
- [43] Van Straten M, Bardenstein S, Keningswald G, *et al.* Brucella abortus S19 vaccine protects dairy cattle against natural infection with Brucella melitensis [J]. Vaccine, 2016, 34(48): 5837-5839.
- [44] 蒲敬伟, 袁立岗, 冉多良, 等. 奶牛及犏牛接种布氏杆菌 S2 和 A19 株活疫苗的效果初探[J]. 畜牧与兽医, 2013, 45(12): 91-93.
Pu J W, Yuan L G, Ran L D, *et al.* A preliminary study on the impact of live vaccination using Brucella strains S2 and A19 on dairy cattle and calves [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2013, 45(12): 91-93.
- [45] 丁家波, 董浩. 动物布鲁氏菌病[M]. 北京: 中国农业出版社, 2019. 165.
Ding J B, Dong H. Animal Brucellosis [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2019. 165.
- [46] Babetsa M. Detection of a Brucella Melitensis Rev1 Vaccine Strain and Rev1-Like Strains in Unvaccinated Small Ruminants and Aborted Fetuses[J]. 2019.
- [47] 刘晨芳, 翟景波, 梁晨, 等. 布鲁氏菌病新型疫苗研究进展 [J]. 中国人兽共患病学报, 2022, 38(12): 1141-1146.
Liu C F, Zhai J B, Liang C, *et al.* Research progress in new brucellosis vaccine types [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2022, 38(12): 1141-1146.