

炭疽防治手册

A Manual of Anthrax Control & Treatment

主 编 梁旭东
副主编 董树林
肖东楼



中国农业出版社

XA417/21

95
R517.2
1
乙

炭疽防治手册

主 编 梁旭东
副主编 董树林 肖东楼
编 委 南俊华 刘 齐 王秉翔
王庆波 祁国明 苏崇整
马凤琴 俞东征 赵振亚
顾 问 刘秉阳 费恩阁



中国农业出版社

C

217353

(京)新登字 060 号

炭 疽 防 治 手 册

梁旭东 主编

* * *

责任编辑 陈江凡

中国农业出版社出版 (北京朝阳区枣营路)

新华书店北京发行所发行 北京密云县印刷厂印刷

787×1092mm32 开本 3.75 印张 94 千字

1995 年 5 月第 1 版 1995 年 5 月北京第 1 次印刷

印数 1—8000 册 定价 4.40 元

ISBN 7-109-04075-5/S·2540

前 言

炭疽是由炭疽杆菌所引起的一种人畜共患急性传染病。人们从认识这种疾病并与其斗争已经有 100 余年的历史,积累了不少的科学知识和防治经验。自 1876 年 Pasteur 和 Koch 证明其病原以来,本世纪 30 年代 Sterne 成功地研制出兽用高效疫苗,并已应用到今天;40 年代抗生素的应用,收到了良好的预防和治疗效果;80 年代国外许多学者采用分子生物学、基因重组技术,在炭疽毒力因子、致病机理、疫苗研制等方面取得了重大进展,并在炭疽的实验诊断技术方面也有了较大的改进,这就使得目前在全世界许多地区很难见到这种疾病。然而,发展中国家炭疽仍是一种危害严重的传染病,每年有人批的牲畜死亡,造成重大的经济损失,人间炭疽病例也不断发生。

据联合国粮农组织 1985 年统计,在 168 个国家中,报道有牛炭疽的 83 个国家,占 49.4%,有羊炭疽的 56 个国家,占 33.3%,有马炭疽的 25 个国家,占 14.9%,有猪炭疽的 21 个国家,占 12.5%。虽然有关最新的人炭疽发病精确数很难得到,但据 WHO 最近的报道,全世界每年大约有 20,000—100,000 炭疽病例。

在我国也不例外,据资料记载:全国 30 个省(区)、市中都曾不同程度地发生过这种疾病,有时还曾引起流行。中华人民共和国建立后的 40 多年中,经各级政府领导的重视和人民的努力,防制工作取得了成效。现已有 5 个省、市(海南、福建两省及京、沪、津三市)已连续 9—20 年未发现人间炭疽病例,但在上述省、市的边远地区仍存在散发的畜间炭疽。此外,我国不少老、少、边、

远地区还不同程度地存在高度散发性牲畜炭疽，且不时引起人间炭疽暴发，甚至流行。因而，时至90年代炭疽的监测和控制仍是我国基层卫生、兽医防疫工作中不可忽视的一项重要任务。为了保障社会主义经济建设这一中心工作顺利开展，进一步深化改革、扩大开放，炭疽防制的多方面工作还有必要坚持和不断改进。特别值得我们注意的是：近6—7年来我国仍有10个省（区）炭疽发病频率年均仍在0.16—10.82/10万之间徘徊，炭疽疫区的范围且有扩大趋势，这一情况，严重影响人、畜健康和生产力发展；且人间炭疽的病死率在近年也有明显上升，这是由于在畜间常处于尚未发现有炭疽时，人间已出现炭疽患者，不易于形成对炭疽病人的及时诊断和医治所致。随着我国市场经济的发展，人民生活需求的提高，饲养家畜密度的增加，动物性食品和毛、皮革制品的利用日趋普及，以及土地资源开发和环境的改造，各类物资的频繁交流，炭疽对我国人民生命安全和财产仍构成很大威胁，如不采取及时、有效监控措施，炭疽发病势将有增无减，隐患无穷。鉴于此种传染性疾病在我国仍属一种高、危病种，加以它尚有自外输入我国的潜在可能，在今后加速发展市场经济的新形势下，加强各级领导对炭疽防制工作的重视和支持，提高广大的基层医务人员和兽医工作者对炭疽的认识和防病能力，是很有必要的。

由于我国卫生部和中国预防医学科学院领导的重视和支持，在进入90年代初期，就组织了全国性的炭疽在人间的监测与控制工作，并取得农业部门及有关方面的大力支持和协作，使这项工作得到开展，但要在我国达到控制和消灭炭疽，还要有相当长时间的不懈努力和人力、物力投入。

为了进一步做好此病的防治工作，在卫生部疾病控制司和农业部畜牧兽医司组织和大力支持下，我们编写了这本《炭疽防治手册》。此书将为广大的基层卫生防疫人员和兽医工作者提供炭疽防治系统的技术知识，也可供教学和科技人员参考。

本手册在内容和论述上，参考了WHO的《炭疽手册》(Anthrax Guidelines, 1992)，特别突出了实际应用部分，比较详细地介绍了各种具体的操作方法，基本反映了我国炭疽现状、防治经验和研究成果以及国外有关炭疽方面的新资料。

目 录

前言	1
第一章 概论	1
第一节 炭疽及其研究历史回顾	1
第二节 炭疽病原学	3
一、形态	4
二、培养与生化特性	4
三、抵抗力	5
四、抗原结构	7
五、免疫性	8
六、变异性	10
七、生态特性	12
八、炭疽噬菌体	13
九、炭疽杆菌质粒与致病因子	16
第三节 炭疽流行病学	20
一、地理分布	20
二、动物炭疽流行病学	21
三、人间炭疽流行病学	23
第四节 炭疽发病机理和病理学	24
一、发病机理	24
二、病理变化	25
第五节 炭疽临床学	27
一、动物炭疽的临床表现	27
二、人炭疽的临床表现	28
第二章 预防	31

第一节 炭疽流行病学调查	31
一、既往史调查方法	31
二、炭疽发生时流行病学调查方法	32
三、常用的统计学方法	38
第二节 疫情监测	40
一、基本资料监测	40
二、人间疫情监测	40
三、动物疫情监测	43
四、人、畜间暴发疫情监测	45
五、外环境污染区病原监测	45
六、人、畜间免疫监测	47
七、血清学监测	48
八、细菌学监测	49
第三节 防控措施	51
一、组织措施	51
二、免疫预防	51
三、疫情报告	57
四、检疫	58
五、疫区处理	62
六、炭疽与细菌战	66
七、炭疽的消毒	67
第三章 诊断和治疗	70
第一节 临床诊断	70
一、人炭疽的诊断	70
二、动物炭疽的诊断	72
第二节 实验室诊断	72
一、细菌学方法	73
二、血清学方法	80
三、分子生物学方法	84
第三节 治疗	89
一、动物炭疽治疗	90

二、人炭疽治疗	90
附录一 培养基的配制	92
附录二 常用染液的配制	96
附录三 生物制品和制剂介绍	98
附录四 消毒剂及其杀芽孢效果	100
附录五 炭疽的诊断标准（试行）	101
附录六 炭疽防治管理办法（草案）	102
附录七 主要参考文献	109
附录八 炭疽典型病灶插图	见彩图插页
编后语	110

第一章 概 论

第一节 炭疽及其研究历史回顾

炭疽是一种古老的人兽共患病。可能起源于农牧业发展最早的美索不达米亚和埃及，还有印度和中国。据 Davis M. (1959) 考证，第一次记载炭疽的可能是在圣经一书（第二卷 7—9 章）。大约在公元前 1491 年，摩西和以色列人统治埃及时，摩西曾警告法老：“上帝将降灾于你们田野里的畜群，给马、牛、羊、驴、骆驼以严重的兽疫。”由于埃及人的畜群在低洼的沼泽地里放牧，多次发生瘟疫死亡，据载发生的第五次瘟疫可能即是炭疽。

从炭疽开始的研究对于医学史的发展有三大意义：①使人们认识了由微生物引起的第一个人兽共患病。在 Pasteur L. 和 Koch R. (1877) 进行病原学研究之前，至少有 Delafond (1838)、Davaine (1850)、Pollander (1855) 和 Brauell (1857) 进行过病原观察，确证了动物病原与人类炭疽的关系；②提出了许多细菌学上熟知的基本原理。著名的郭霍四要点 (Koch's Postulates) 即是用炭疽菌实验证明的；③研制成减毒活疫苗，并成功地用于动物免疫预防。巴斯德的“以弱制强”的思想为其它活疫苗的开发奠定了理论基础。

20 世纪上半叶，许多人研究改进炭疽疫苗株，以代替有荚膜的免疫原性差的巴氏 I 苗。Mazzuchi (1931) 的皂角苷佐剂疫苗曾风行一时，终因副反应大而停用。Stamatin 首先应用马血琼脂培养，选育出无荚膜的粗糙型菌株。Sterne 用同样方法选出免疫原性强的无荚膜疫苗株，免疫动物效果最佳，但对马和山羊有时引起

严重水肿，甚至接种后死亡。Ivanovics (1937--1952) 则对炭疽细菌学做了许多研究。

二次世界大战期间，炭疽菌被列为生物战剂的首位，这主要因为：炭疽菌营养要求不严，易于大量培养；感染途径多样，人畜皆可罹患；芽胞抵抗力强，易于保存运输；可以污染土壤、水源，并可以气溶胶施放；致病力强，不易消除，战术、战略均可使用。各大国均设专门实验机构，进行防治研究。

五十年代是炭疽毒素和人用菌苗研究辉煌的年代。苏联应用 CTI (STI) 活菌苗，中国应用 A16R 活菌苗，作为人用菌苗，均用皮上划痕免疫，一次接种。英、美学者认为划痕免疫对呼吸道感染预防有局限性，于是 Gladstone (1948) 和 Wright (1954) 研究滤过性抗原，60 年代已应用 PA 佐剂菌苗，但动物实验保护效力不及用 Sterne 活菌苗，且 PA 苗全程注射 5 针，有较强副反应。60-70 年代，有些国家还研究了鼠疫、炭疽、布氏、土拉等多联活菌苗的气雾免疫，便于大范围人群免疫接种。与此同时，炭疽快速诊断也有进展。

1966 年在美国马里兰州召开了国际炭疽专业会议，主要总结交流了炭疽杆菌毒素、发病机制与死亡原因，芽胞结构与发芽过程，并提出了研究方向。当时以英国的 Porton 和美国的 Detrick 化学兵团 (CDE) 开展工作较多。

八十年代是炭疽杆菌质粒遗传学研究的十年。1981 年，为纪念 Pasteur 首创炭疽菌苗 100 周年，美国陆军传染病研究院 (US-AMRIID) 又重复了巴氏的高温培养减毒试验，从而发现编码炭疽毒素的质粒 DNA (Vodkint 和 Leppla, 1983)，原来高温培养可使毒素质粒消除，使强毒株变为弱毒株，科学地阐明了巴氏的百年不解之谜。随后又发现编码荚膜的质粒 DNA (Green, 1985)。这些发现促进了炭疽菌分子生物学及基因工程研究的发展。

1989 年在英国温彻斯特又召开了国际炭疽专业会议，反映了

世界各地炭疽发病情况，总结交流了炭疽菌分子生物学和基因工程方面的新进展。

炭疽在我国的研究起步也较早。1958年，采用杨叔雅选育的A16R 菌株生产人用活芽孢苗。1959年，正式生产人用抗炭疽血清。1963年董树林等分离到了国内第一株炭疽噬菌体，为炭疽的鉴别诊断提供了重要手段。特别是近十年许多学者对该病进行了多方面的研究和探讨。1984年，王明俊等研制了兽用炭疽保护性抗原油乳剂苗。1986年，庄汉澜等试制了无菌保护性抗原疫苗；过祥豹等研制了炭疽诊断试剂盒。1990年，受卫生部疾病控制司委托，中国预防医学科学院流行病微生物研究所牵头，由西藏、云南、贵州、湖南、广西、四川、新疆、青海、甘肃、内蒙十个炭疽高发省（区）的防疫站组成炭疽监测与控制协作组。从流行病学、病原学、血清学、免疫学、外环境净化效果五方面开展监测，取得了一些有意义的结果，为该病的防制提供了依据，并于1994年在甘肃召开了总结及学术研讨会。同时，梁旭东等人对我国炭疽杆菌进行了分子流行病学特征的研究并应用PCR技术和基因探针技术进行炭疽的快速检验。

回顾历史，可见对炭疽的研究经久不衰，因为炭疽菌有荚膜、芽孢、毒素等复杂的抗原结构，是较好的细菌研究模型，更重要的是炭疽菌为理想的细菌战剂，一直受到某些大国的重视。在我国1989年七届全国人民代表大会常务委员会第六次会议通过的《中华人民共和国传染病防治法》中将炭疽列为乙类传染病，发生肺炭疽时要求按甲类传染病报告和处理。

第二节 炭疽病原学

炭疽杆菌（*Bacillus anthracis*）是引起炭疽发生的病原菌，分类为需氧芽孢杆菌属（*Aerobic spore-forming bacillus*）。本属为革兰氏阳性，需氧兼性厌氧，能形成芽孢。除炭疽杆菌外，还有与

炭疽杆菌近缘的蜡样芽孢杆菌,也能在一定条件下对人畜致病,引起腹泻或其他组织感染,临床上极易造成实验诊断困难,需要做特殊鉴别试验。

一、形态

炭疽杆菌大小有 $1-1.5\mu\text{m}\times 5-8\mu\text{m}$, 两端平齐, 是最大的致病菌之一。在感染的血液或组织中常呈短链状, 人工培养菌体多呈长链状排列, 菌体间有原生质带相连, 呈竹节状特征。革兰氏染色阳性, 无鞭毛, 无动力, 经适当染色后镜下可见荚膜。在营养培养基上生长的菌落制成的染色涂片上, 可见细菌呈长链状, 无荚膜; 当培养基中加入约 5% 动物血清或 0.75% 碳酸氢钠, 孵育在含 10%—20% 的 CO_2 环境下, 可见细菌形成荚膜; 在机体内或去纤维的马血、兔血中培养也可见产生荚膜。荚膜成分为 D-多聚谷氨酸, 由荚膜质粒 (p^{exo}) 控制, 与炭疽杆菌致病力有关, 在体内能抑制白细胞的吞噬和消化, 在体外能阻断菌体胞壁上的噬菌体受体, 有助于病菌在体内繁殖扩散和建立感染。在人工培养基上, 30—35℃ 培养, 易形成典型芽孢。由于芽孢只在有氧条件下形成, 死亡数小时内收集的血涂片上看不到芽孢, 一旦在静息状态的活性细菌暴露于空气中, 就可形成芽孢, 其比率依湿度和其它外环境条件而定。在染色涂片上, 可见芽孢位于杆菌中央或靠近边缘, 呈卵圆形, 细胞不膨胀。与营养型 (Vegetative form) 细胞相比, 芽孢对热、冷、紫外线、干燥、pH 高、低、化学消毒剂及其它细菌代谢产物有较强抗性。在自然界土壤中能存活 60 年, 并可失去其致病能力。

二、培养与生化特性

如果还没有进行过抗生素治疗, 容易从死于败血型炭疽的病人体内或在发病的时候从皮肤病灶上分离到炭疽杆菌, 但在污染严重的皮、毛、土壤等样本中很难与类炭疽杆菌区分开来。最敏感的分离方法仍是一个世纪前 Pasteur 应用的方法, 即用污染的

土壤材料接种实验动物如豚鼠或小鼠。炭疽杆菌需氧或兼性厌氧，生长最适温度为 37℃，在 pH7.0—7.4 普通琼脂培养基上生长良好。菌落扁平粗糙，灰白色，干燥，边缘不整齐；在低倍镜下观察，可见菌落呈卷发状；在血平板上生长，菌落周围不产生溶血环。明胶穿刺培养，呈倒杉树状发育，液化明胶缓慢。在肉汤培养基上生长呈絮状，肉汤透明，不形成菌膜和壁环。炭疽杆菌能分解葡萄糖、麦芽糖和蔗糖，产酸不产气，不分解水杨素，石蕊牛乳产酸冻化迟缓，不产生靛基质和 H_2S ，MR 和 VP 反应阴性，能还原硝酸盐为亚硝酸盐，过氧化氢酶阳性，缺乏磷脂酶，不分解卵磷脂，依菌株亚型不同，可分解或不分解动物蛋白。炭疽杆菌能产生红褐色色素，颜色变化与培养基的 pH 及铁盐含量变化有关，可使“503”型蛋白胨制成的培养基发生轻度的粉红变色。

三、抵抗力

炭疽芽孢具有在外环境中长期生存的能力，这一点经常在文献中提到，但有关这种能力的研究报告很少。Jacotot H 和 Virat B (1954) 发现由 Pasteur 在 1886 年制备的炭疽芽孢在 68 年后仍具有活性，并在 1907 年用芽孢大剂量接种北美松鼠后贮藏于实验柜内，22 年后变为无毒。Wilson 和 Russell (1964) 报道炭疽芽孢在干燥土壤中能存活 60 年。我国湖南省 1990 年 7 月发生一起因挖树根暴露了于 1926 年埋葬死于炭疽的尸体墓地而感染炭疽的流行，其间长达 64 年。在格伦纳岛 (Gruinard Island) 上于二次世界大战期间，美英进行炭疽芽孢作为细菌战剂的杀伤力试验，事隔 40 年后，那里的土壤仍存在严重污染。1970 年，在某一国家公园，考古学家在考古时挖掘出一些骨骼，根据碳原子测定，估计约有 200 ± 50 年之久，该骨骼经培养后分离出炭疽杆菌。

在干燥环境中用芽孢进行的实验表明，芽孢的产生与污染的动物产品如皮革、刷子、羊毛及骨粉有关，然而还不太确定芽孢与自然环境特别是土壤之间的关系。土壤在其温度、有机物含量、

化学和物理性状、pH 和光照时间及湿度上都有很大差异。Van Ness(1971)提出一种理论,认为合适的土壤在没有家畜的情况下,能维持细菌—芽孢—细菌循环很多年,并认为某些因素如温度和土壤中湿度平衡是这种疾病暴发的先决条件,这些因素对静息状态的炭疽芽孢影响很小。正如已提到的,大多数报道已证实了 Van Ness 的理论,土壤中的湿度和有机物可能促进炭疽芽孢的发芽,这些因素也能影响土壤中原有细菌的活性,营养型的细菌竞争力下降,不久就死亡,也有可能受土壤中细菌产生的抗生素、其它微生物因素、或低 pH 的影响而发生死亡。营养型的细菌在蒸馏水中很快死亡,证明这种细菌的脆弱性。在年降雨量很少(300mm—500mm)和寒冷的地区,炭疽芽孢能在骨骼、土壤中生长很长时间,可能是由于芽孢发芽被前者的干燥环境和后者的寒冷环境所抑制。然而,芽孢的休眠是一种复杂的现象,并且还不能肯定是否存在一种完全的休眠状态,即代谢完全中止的状态。

适于细菌发芽的条件是极其复杂的,不同种的细菌其条件不同,对于炭疽杆菌来说又没有明显的特征,它发芽形成芽孢的比率受温度、pH、湿度、空气以及发芽促进因子(丙氨酸)存在的影响,这些因素之间也互相影响,如发芽的比率及量可能在同一温度下不同 pH 值条件下也有所不同。感染动物排出的营养型细菌形成芽孢的比率和程度也明显地受环境条件的影响,细菌一旦形成芽孢,可借腐败殖质发芽繁殖,建立“孵育点”,长期为患。

有关芽孢抵抗力的原理有如下几方面的解释。

1. 外壳结构。细菌的外壳是抵抗外来杀伤因素的第一道防线。繁殖体的表面仅包有一层细胞壁和一层薄的细胞膜,细胞壁也是相对脆弱的,其厚度只有 $0.01-0.02\mu\text{m}$ 。而芽孢的表面则包有多层结构,厚度可达 $0.12\mu\text{m}$ 。所以 Sykss 提出芽孢的厚实外壳对蒸汽穿透具有一定的阻挡作用。

2. 脂类物质。芽孢含有丰富的脂类物质,尤其在外壳部分,这

样可阻止非脂溶性物质的穿透。Cuzlan 认为脂类物质可保护蛋白质的肽链,防止其水解和变性,因而使芽孢可以耐受较强的湿热灭菌处理。

3. 双价金属离子。芽孢含有较多的双价金属离子,尤其是钙离子。其理由是钙在芽孢内的生理作用类似粘合剂,可使芽孢保持较低的渗透性,可使肽链不易展开防止蛋白变性。

4. 吡啶二酸的存在。吡啶二酸在芽孢中约占干重的 5%—15%,而繁殖体中则不存在。实验证明,吡啶二酸可防止蛋白质在加热时变性,与芽孢的抗热能力有关。

5. 水分问题。一般都认为芽孢对消毒处理的耐受力与其体内的水分少有密切关系。芽孢中的水分只占 17%—23%,分布在核心部分的水被固封在非溶性胶质与大分子所形成的块状结合物中,因而增强了芽孢的抗热能力。Barick 等认为这种假说也可用于解释芽孢对消毒剂处理的耐受性。

6. 其它。可能与菌体内酶的数量和性质有关,芽孢所含的酶多有耐热能力。Gondy 等认为胱氨酸这种双硫化合物可为电离辐射引起的损伤提供电子进行修补,使之大大减少了辐射处理时对蛋白质的破坏。

四、抗原结构

炭疽杆菌的抗原按其结构可分为四种,即荚膜抗原、菌体抗原、毒素抗原和芽孢抗原。

1. 荚膜抗原。Hanby 和 Rydon (1946) 证明荚膜物质是由一种长链分子的 D-谷氨酸残基所组成,其中含有 50—100 个 D-谷氨酸残基的 α -肽链,以 γ -键相连接。Watson 等 (1947) 指出,荚膜与毒力有关,可抵抗白细胞的吞噬和消化作用,但以此免疫动物则不能产生保护性抗体。研究还发现荚膜能掩盖细菌胞壁上的噬菌体受体,阻断噬菌体对细菌的裂解。荚膜抗原免疫动物所获得的血清,可以作为荚膜荧光抗体,用于辅助炭疽的鉴别诊断。

2. 菌体抗原。为一种含有 d-葡萄糖胺、d-半乳糖及醋酸的多糖类物质，用于免疫动物可产生沉淀素抗体。用此种沉淀素血清能与多种细菌的多糖抗原发生沉淀反应，出现白色沉淀环。菌体抗原耐热，在腐败尸体中经较长时间或加热煮沸时并不破坏，可与菌体血清做热沉淀反应试验。

3. 毒素抗原。炭疽毒素已知有三种组分，即水肿因子(EF)、保护性抗原(PA)和致死因子(LF)。EF为脂蛋白，PA和LF为蛋白质，三种成分均不耐热、不耐酸碱。分子量分别为EF 100,000，PA和LF 80,000，以集合体或聚合体形式存在。对各成分功能及作用的研究，现已清楚其致病机理。EF本身无毒性，LF需要注入大量时才引起致死作用。EF+LF所引起的毒性作用也不大，EF+PA可导致严重皮下水肿，而LF+PA可杀死小白鼠、大白鼠和豚鼠，EF+LF+PA致病能力最强，它们在体内协同发挥作用被称为协同毒素。由于PA为保护性抗原，具有免疫原性，所以，有保护动物抵抗本菌的抗感染作用。

4. 芽孢抗原。Gerhardt氏报告，芽孢的外膜，含有抗原决定簇，它与皮质层一起，可能组成芽孢的特异性抗原，此抗原具有免疫原性及血清学诊断价值。

五、免疫性

由于炭疽杆菌存在上述各种抗原结构，因此，炭疽的抗感染免疫反应，既包括抗菌免疫，又包括抗毒免疫，既有体液抗体的产生，又有较强的细胞性免疫反应，二者协同作用才能清除侵入的病菌，中和致死毒素，才能完成抗感染的目的。

1. 炭疽的非特异性免疫。

炭疽的非特异性免疫首先是种属的遗传免疫性，自鸟类以下的爬虫类、两栖类以及进化上更低的动物，对炭疽具有自然不感受性，此种自然不感受性的建立，乃是在生物进化过程中所形成的种属免疫性。哺乳动物对炭疽杆菌具有感受性，而引起感染和