

炭疽病诊断治疗与处置方案

(2005 年版)

炭疽 (**anthrax**) 是炭疽杆菌 (**Bacillus anthracis**) 引起的动物源性传染病。炭疽杆菌主要从皮肤侵入引起皮肤炭疽, 使皮肤形成焦痂溃疡与周围脓肿和毒血症, 也可引起吸入性炭疽或胃肠炭疽, 均可并发败血症。炭疽杆菌有可能作为生物武器被恐怖分子所利用, 因而近年来得到国际社会的普遍关注。

病原学

炭疽杆菌是形体最大的革兰氏阳性杆菌, 大小 $1 \sim 1.5 \times 3 \sim 5 \mu\text{m}$, 两端平截, 呈链状排列, 镜下形态呈竹节状 (图 1), 链的长短因菌株和细菌所在环境而异。在人体、动物体内或特定环境条件下 (于碳酸盐琼脂培养基上于 $5\% \sim 25\% \text{CO}_2$ 下培养), 该菌可形成荚膜 (图 2), 印度墨汁染色可见杆菌周围的透明环, 碱性美蓝染色荚膜呈红色 (图 3)。在体外环境下可形成芽胞 (图 2), 未游离的芽胞在菌体中央。此菌无鞭毛, 不运动。

该菌在普通培养基生长良好, 最适培养温度为 $35^\circ\text{C} \sim 37^\circ\text{C}$, 普通孵箱培养和 CO_2 孵箱培养均可, 在厌氧条件下也能生长。普通营养琼脂平板上形成的菌落为粗糙型, 表面湿润, 呈狮子头状, 有的菌株在菌落一侧形成尾突 (图

4)。于血琼脂平板上培养 15~24 h，分离较好的菌落直径为 2~5 mm，扁平 and 微突起的菌落呈不规则圆形，边缘为波浪状，表面光滑。培养物为黏性，当用接种环挑取时会形成立起的尾状突起（图 5）。炭疽杆菌不造成 β -溶血（图 6），但在长时间融合，过度生长区可能见到微弱溶血现象，不能与 β -溶血混淆。低倍显微镜下菌落边缘呈卷发样，称为狮头样菌落（图 4）。该菌在纯培养菌接种肉汤培养基培养特征为絮状沉淀生长，肉汤培养基不混浊。

图 1 在血琼脂平板上炭疽杆菌革兰氏染色（略）
（放大 1000 倍）

图 2 炭疽杆菌（略）

左图为带芽胞炭疽杆菌，革兰氏染色（ $\times 1000$ ）；右图为游离芽胞，为孔雀绿染色。

图 3 炭疽杆菌感染动物脏器压片（略）

炭疽杆菌排列竹节状，美蓝染色，荚膜为粉红色，菌体为蓝色。

图 4 炭疽杆菌在普通营养琼脂平板上过夜培养后形成的菌落形态（略）

左图，表面粗糙、有尾状突出部分；右图为典型的“狮子头”样菌落，呈卷发样（ $\times 100$ ）。

图 5 炭疽杆菌在血琼脂平板上形成的黏性菌落（略）

图 6 炭疽杆菌（右侧）和腊肠样芽胞杆菌（左侧）（略）

炭疽杆菌生化反应不活跃，卵黄反应、硝酸盐还原和明胶液化以及触酶均为阳性，不分解淀粉和甘露醇。抗原结构可分为两大组，即菌体抗原和外毒素。菌体抗原包括荚膜多肽和菌体多糖。荚膜具有抗吞噬作用，与毒力有关，细菌变异不形成荚膜时，致病性也随之消失。多糖抗原与毒力无关。外毒素复合物由水肿因子、致死因子和保护性抗原组成。

特异性裂解炭疽杆菌噬菌体可用于该菌的鉴定。但不同来源的菌株对该噬菌体的敏感性不同，极少数腊样芽胞杆菌对该噬菌体敏感（如 **ATCC4342** 株），也发现缺失两个毒力质粒的菌株对该噬菌体不敏感（如 **CDC680** 株）。在进行噬菌体裂解鉴定细菌时，应采用分区划线接种法，在第一、二区滴加一定浓度的噬菌体。具有两个毒力质粒的强毒株比较敏感，在平板上第一、二区均可见到裂菌的透明环，但第二区更明显；缺乏 **pX01** 质粒的菌株在第一、二区均可见较大透明裂菌环；而缺乏 **pX02** 质粒的 **Sterne** 株在第一区形成更加透明的裂菌环。这种现象与质粒的有无并无直接关系，试验证实，具有 **pX01** 质粒的菌株在血琼脂平板上生长 **18~20h**，比缺失该质粒的菌株可形成更多数量的芽胞，因此，具有 **pX01** 质粒的菌株在普通培养平板上生长时，形成大量芽胞，产生大量细胞碎片，当噬菌体加入时，会与细胞碎片上的受体结合而失

活；反之，当噬菌体加入缺失 pX01 质粒的菌株生长物时，大部分噬菌体会感染细菌，使之裂解。

炭疽杆菌繁殖力、抵抗力与一般细菌相同，但芽胞抵抗力较强。常规消毒剂如石炭酸、煤酚水、新洁尔灭等季铵盐类消毒效果较差；过氧乙酸、甲醛、环氧乙烷、0.1% 碘液和含氯制剂杀芽胞效果较好。高压 121℃30min，干热 140℃ 3h 可杀死芽胞。炭疽杆菌对青霉素敏感，培养试验 10U/ml 即可抑制细菌生长，对链霉素、四环素、卡那霉素也都敏感。

流行病学

人类主要经接触牲畜的毛皮和肉类获得感染，食肉动物也可从食草动物获得感染，并辗转感染人类。与牲畜接触频繁的人如牧民、兽医和屠宰工人的感染机会较多。被炭疽杆菌污染的毛、皮进入加工企业，或感染的肉类进入市场，也可能造成暴发流行。

人类感染炭疽杆菌主要通过接触途径，以皮肤炭疽最为常见。通常散发，病死率不高，可以彻底治愈，部分甚至能够自愈。但是，由于严重污染造成的吸入感染，或感染牲畜的肉类引起的食入感染，可能造成吸入性炭疽及胃肠炭疽的暴发流行，病死率甚高。严重感染者有时发生炭疽性脑膜炎。

炭疽在我国普遍存在，历年来发病数波动不大，全国的发病数在数百至千余例范围内。高发的省区较为固定，在过去的5年中排序为：贵州、新疆、甘肃、四川和广西。有几方面的原因造成这些省区的高发：畜牧业的发展，群众屠宰病畜的习惯，这些都造成土壤污染面积的增加。此外，诊断率还与医务人员对本病的警觉性有关。

炭疽的诊断时往往需要流行病学证据的支持，但由于炭疽杆菌在自然界存在时间非常长，这种流行病学证据有时难以获得。特别是在诊断皮肤炭疽时，不应要求必须具备流行病学证据。在受到炭疽杆菌作为生物武器的袭击情况下，炭疽的流行病学可能与和平条件下完全不同。

病理学及发病机理

一、炭疽发病机理

炭疽杆菌的致病性与其产生的外毒素和多肽荚膜有关，二者分别由2个质粒（pX01及pX02）编码。荚膜有抗吞噬作用，pX02缺失的菌株不能形成荚膜则易被白细胞吞噬并杀死，因而没有致病作用。

炭疽杆菌的外毒素由3个蛋白组成：保护性抗原（PA），致死因子（LF）和水肿因子（EF）。PA结合于细胞表面受体，作为另两因子的结合位点。二者一旦结合，PA受体复合物就会促进LF和EF进入细胞内。LF和PA结合形成致死毒素（LT），EF和PA结合形成水肿毒素

(ET)。LT 在细胞内使主要的丝裂素蛋白活化激酶失活。干扰细胞内信息传导，释放氧自由基及前炎症细胞因子，引起细胞死亡，并破坏血管屏障。ET 作为一个钙调蛋白依赖性腺苷环化酶可导致细胞内 cAMP 水平的急剧增加，导致平衡破坏，抑制中性粒细胞，使人体对炭疽杆菌更加敏感，致局部受染，并发生水肿。这 2 个毒素和毒血症状有关，严重时可导致多器官衰竭死亡。

炭疽杆菌繁殖体或芽胞进入人体后，被吞噬细胞吞噬，芽胞即复苏繁殖，产生外毒素并形成抗吞噬的荚膜。外毒素直接引起局部组织水肿，出血、坏死，并可引起全身毒血症状。抗吞噬的荚膜则使细菌更易于扩散，引起导流的淋巴结出血坏死，甚至侵入血流引起败血症。如侵犯脑膜，可致脑膜出血、水肿。

二、炭疽的病理学变化

根据感染途径不同，人类炭疽分为皮肤炭疽、吸入性炭疽和胃肠道炭疽 3 种主要原发病类型。

(一) 皮肤炭疽

主要发生在皮肤暴露部位，如手臂、面颈。当炭疽杆菌或芽胞从损伤的皮肤进入体内后，首先在局部大量繁殖，产生外毒素，致局部皮肤水肿、出血、组织坏死。

皮肤炭疽的潜伏期一般为 2~3 天 (9h~12 天)，首先在局部出现小而痒的丘疹，次日即见疹中心变成小水

疱，周围组织肿胀，继之，中心部坏死，形成一无痛性脐形溃疡，直径1~3cm，溃疡周围环以水疱，疱内为浆液血性液体，含大量炭疽杆菌。溃疡的坏死组织与血性渗出物形成一特征性黑色痂皮，特称结痂（**eschar**）。病变部神经纤维变性，故局部无痛感。溃疡周围组织水肿十分明显。显微镜下，局部显著充血，皮肤表层坏死，真皮水肿、坏死、出血，炎细胞反应轻微，或仅见轻度中性粒细胞浸润，或见血管炎，血管周围单个核细胞浸润。局部可发生淋巴结肿大、水肿出血、疼痛。头颈部的皮肤炭疽，水肿常很快沿着软组织扩散致颈、胸、肩部，甚者可致呼吸困难，这种广泛水肿称为恶性水肿。一般黑痂形成数日后开始缓慢愈合，2周后水肿可渐吸收，痂皮脱落，80%可自然愈合。对皮肤炭疽禁忌切除，重症病例可并发败血症或引起炭疽性脑膜炎。

图7 皮肤炭疽（略）

左图：面部炭疽，下眼睑溃疡焦痂形成，眼睑及面部水肿

右图：下肢炭疽，下肢水肿、溃疡焦痂周围绕以水泡

溃疡的渗出物内有大量炭疽杆菌，取渗出物涂片作细菌染色有助于确诊。用 **Steiner** 染色，炭疽杆菌呈黑色，用革兰氏染色炭疽杆菌呈紫色。抗生素治疗 <55h，细菌仍较多，治疗超过 72h，细菌将明显减少，革兰氏染色可能为阴性，此时可做免疫组化染色。如应用抗炭疽杆菌细胞壁

抗体、抗炭疽杆菌荚膜抗体做免疫组化染色。免疫组织化学检查除能显示细菌，还能显示细胞内外的细菌碎片或颗粒状抗原，有助于对经过治疗患者的确诊。

（二）吸入性炭疽

由吸入炭疽芽胞引起感染，潜伏期尚未完全确定，估计高剂量吸入潜伏期为 **1~6** 天，中位数为 **4** 天。

吸入的炭疽芽胞在肺内立即被肺泡吞噬细胞吞噬，几小时之内，被转运至纵隔淋巴结，肺内不遗留特异性炎症。早期胸部 X 线检查均有异常，主要为纵隔增宽、胸水或有肺部小的浸润灶（水肿）。尸检可见纵隔、肺门和支气管旁淋巴结呈急性充血、出血，有中性粒细胞浸润和细胞碎片，并含有大量炭疽杆菌，有的小血管内可见新鲜血栓，这些改变使淋巴结肿大，大者直径达 **4~6cm**，淋巴结周围的脂肪结缔组织也可出现高度水肿、充血、大片出血，使整个纵隔呈胶冻样水肿团块。胸膜也可水肿增厚，胸腔内见有大量浆液血性积液。肺泡内可有不同程度的水肿，局灶性透明膜形成。

吸入性炭疽早期查痰无意义。一般来说，胸膜表面及胸腔积液内含有大量炭疽杆菌，取胸水检测可助于确诊。用抗生素治疗 **3** 天以上，革兰氏染色常为阴性，此时可取胸水离心，将细胞制成蜡块，用切片作免疫组化染色（用抗炭疽杆菌荚膜抗体或细胞壁抗体），可见杆菌片断和颗

粒状抗原。说明免疫组化染色在确诊中较为重要。此外，聚合酶链反应（PCR）也可证实胸水中的炭疽杆菌。

图 8 吸入性炭疽的病理改变（略）

A 纵隔出血水肿淋巴结出血肿大 B 纵隔软组织出血
C 纵隔淋巴结组织坏死、核固缩 D 淋巴结可见免疫母细胞及固缩核

吸入性炭疽可发生败血症，脾脏充血肿大，脾髓内含有大量的炭疽杆菌。在肝窦、枯否细胞、肠浆膜面及肠黏膜下血管内均见炭疽杆菌抗原。吸入性炭疽也可发生脑膜播散引起出血性脑膜炎，脑脊液（CSF）中培养出炭疽杆菌。

（三）胃肠炭疽

在自然感染中，胃肠道炭疽较多见，系由于食入炭疽杆菌污染严重的未熟肉类感染。胃肠道炭疽分为 2 型：口咽型及胃肠型（腹型）。

1、口咽炭疽

大多为单侧，多数病变位于扁桃体，也见于悬雍垂及软腭。早期病变为局部水肿、充血，第一周末黏膜中心坏死，溃疡形成，第二周初溃疡上可见假膜。所有患者均有颈部肿胀，75%为单侧，淋巴结肿直径可达 4 cm。软组织肿胀与淋巴结肿大同时存在可压迫患者的呼吸道。曾有报道，5 例原诊为扁桃体脓肿而行手术探查，但没有化脓。另

有报道，24 例中 3 例死亡（死亡率 13%），此 3 人的潜伏期均小于 24h，提示感染更为严重，血培养可为阴性，咽拭子为阳性，说明咽拭子对口咽炭疽的确诊甚为重要，PCR 及免疫组化染色也有助于诊断。

2、胃肠型炭疽

因进食被炭疽杆菌污染的食物而发病，肠道病变通常位于回肠及盲肠，肠壁水肿出血、坏死，肠黏膜有溃疡，肠系膜淋巴结肿大，伴或不伴有血性腹水，沾有血的粪便中可培养出炭疽杆菌。

图 9 盲肠升结肠水肿出血，肠系膜淋巴结肿大（略）

临床表现

潜伏期：一般为 1~5 日，也有短至 12h，长至 2 周者。

随炭疽杆菌侵入途径及部位的不同，临床上主要分为皮肤炭疽、吸入性（肺型）炭疽和食入性（胃肠型）炭疽。部分患者可发展为败血症、脑膜脑炎等重症，预后不好。

一、皮肤炭疽

约占 95%~98%，病变多见于手、脚、面、颈、肩等裸露部位皮肤。最初为皮肤破损部位（皮肤破损轻微时，可无明显伤口）出现斑疹或丘疹，第 2 日在皮疹顶部出现小水疱而成疱疹，内含淡黄色液体，周围组织变硬而肿

胀。第 3~4 日病变中心呈现出出血性坏死、组织稍下陷，周围有成群小水泡，水肿区继续扩大。第 5~7 日坏死区溃破成浅溃疡，血样渗出物结成硬而黑似炭块状焦痂，痂下有肉芽组织生成。溃疡直径 1~5cm 不等，其周围皮肤浸润及水肿范围较大，直径可达 5~20cm。由于局部末梢神经受损而无明显疼感和压痛，有轻微痒感，无脓肿形成，这是皮肤炭疽的特点。以后随水肿消退，黑痂在 1~2 周内脱落，肉芽组织增生愈合缓慢。大多数病例为单灶性发病，但个别病例可因抓挠病变部位而出现多处疱疹，致自身感染。病程约 1~6 周。

皮肤炭疽发病同时，多出现发热（38℃~39℃）、头痛、关节痛、全身不适以及局部淋巴结和脾肿大等中毒症状和体征。

少数病例皮肤局部无水疱和黑痂形成而表现为大块状水肿，患处肿胀透明、微红或苍白，扩展迅速，多见于眼睑、颈、大腿及手部等组织疏松处。全身中毒症状严重，表现为高热、头痛、恶心、呕吐，若贻误治疗，预后不良。

图 10 吸入性炭疽患者的纵隔增宽（略）

二、吸入性炭疽

因暴露于芽胞或吸入污染芽胞尘埃所致。急性起病。多在暴露后 2~5 天出现低热、疲劳和心前区压迫等，持续

2~3 天后，症状突然加重，轻者表现为胸闷、胸痛、发热、咳嗽、咯带血黏液痰。重者寒战、高热、由于纵膈淋巴结肿大、出血并压迫支气管造成呼吸窘迫、气急喘鸣、咳嗽、紫绀、血样痰等，并可伴有胸腔积液。肺部体征与病情常不相符。听诊肺部仅可闻及散在的细小湿罗音或有摩擦音、呼吸音降低等胸膜炎体征。X 线检查见纵隔增宽、胸水及肺部浸润性阴影。常并发败血症及脑膜炎，若不能及时诊断、积极抢救，患者多在急性症状出现 1~2 天内发生感染中毒性休克、呼吸衰竭或循环衰竭而死亡。

三、胃肠型炭疽

主要由于食入未煮熟的被炭疽杆菌污染的病畜的肉类食品而引起，偶而可因饮入被炭疽病菌污染的水或牛奶而患病，与患者一起进食的人可相继发病。临床上可表现为口咽部炭疽和胃肠道炭疽。口咽部炭疽：表现为严重的咽喉部疼痛，颌下及颈部明显水肿、局部淋巴结肿大，水肿压迫食管引起吞咽困难，压迫气管时可引起呼吸困难。胃肠道炭疽：症状轻重不一，轻者恶心呕吐、腹痛、腹泻，但便中无血，里急后重不明显，可于数日内恢复。重者可表现为腹痛、腹胀、腹泻、血样便等急腹症症状，易并发败血症和感染中毒性休克。如不及时治疗常可导致死亡。

四、其他临床表现

炭疽性败血症：吸入性炭疽、胃肠型炭疽和严重的皮肤炭疽可继发败血症，除局部症状加重外，表现为全身毒血症加重，高热、寒战、衰竭等。

炭疽性脑膜炎：继发于皮肤炭疽的病例小于 5%。极个别病例可继发于吸入性和胃肠型炭疽。临床表现为化脓性脑膜炎，起病急骤，有剧烈头痛、呕吐、昏迷、抽搐，明显脑膜刺激症状，脑脊液多呈血性，少数为黄色，压力增高，白细胞数及中性粒细胞增多。病情发展迅猛，常因误诊得不到及时治疗而在发病后 2~4 日内死亡。

实验室检查

一、血常规检查

主要为白细胞计数升高。一般为 $10\sim 20\times 10^9/L$ ，病情严重时高达 $60\sim 80\times 10^9/L$ 。分类显示中性粒细胞增高，可达 70%以上。

二、病原学检查

炭疽杆菌的病原学操作，应在生物安全二级实验室中进行。

1、涂片及培养：采集皮肤溃疡的渗出物、排泄物、血、胸腹水及脑脊液等标本进行涂片和培养。所采标本经涂片、革兰氏及碱性美蓝染色后行显微镜检查，可观察到大量两端平齐、呈长串联状排列的革兰氏阳性杆菌，菌体

较大，周围环绕荚膜。陈旧培养物经孔雀绿芽胞染色可见到大量的细菌芽胞。

荚膜染色：在玻片上涂组织液，或荚膜菌培养物，自然干燥。置纯甲醇或乙醇中固定 1min，取出晾干。滴加多色美蓝染料染色 3~5min，在次氯酸盐中脱色。水洗，吸干，油镜观察。菌体呈现蓝色，荚膜呈现红色。

所有标本都应立即涂片，染色，进行显微镜检查。随后进行细菌培养。

2、PCR 检测：在正常的无菌标本（如血液、脑脊液）涂片镜检中，未发现大量均一的革兰氏阳性杆菌，而仅依靠细菌分离培养才能获得可疑的炭疽杆菌的细菌时，应尽可能进行 PCR 检测。可直接使用临床标本进行检测，也应对分离获得的培养物检测，标本可经沸水浴 10min 处理，或经蛋白酶 K 消化，并使用碘化钠-玻璃粉吸附以富集 DNA。

推荐检测质粒上的保护性抗原基因（pag），荚膜形成基因（cya）和染色体上的炭疽杆菌特异基因（ropB）。推荐的引物序列为：pag: F:5' -

ATTTGCGGTAACACTTCACT-3' , R:5' -

AGACCGTGACAATGATGGAA-3' ; cya: F:5' -

CGGATTGTATATGGAGTGGG-3' ,

R: 5' -GGGACAGGAATGTTTGGATC-3' ; ropb: F:5' -
GTACGCCAATCGATATCATG-3' ,

R: 5' -GATCATCGTCATCTTCCG TA-3' 。 PCR 反应体系
为 50 μ l, 包括下列成分: 10 \times 反应缓冲液, 5 μ l; 4 \times
dNTP 混合物 (每种 2.5mM), 4 μ l; 引物 (上游),
1 μ l, 引物 (下游), 1 μ l; 内部对照模板, 1 μ l; 待测模
板, 1 μ l; 无菌去离子水, 36.75 μ l; Taq DNA 聚合酶, 1
u l; 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5min, 1 个循环, 之后
95 $^{\circ}$ C 1 min, 55 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 1 min。30 个循环。最后
72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。结果分析: 采用常规琼脂糖凝胶电泳,
读胶仪检测。由于 PCR 技术有时会出现交叉污染和假阳性
反应, 应采取抗污染的 PCR 扩增方法, 并对检测结果进行
必要的 PCR 产物序列测定, 以排除污染。

【标本采集时注意事项】

此操作规范应在生物安全二级实验室内进行。采集的
标本不得用解剖的方式获取。所需的血液与组织标本, 均
应以穿刺方式取得。尽可能在抗生素治疗开始前采取标
本。根据炭疽病例的不同型别酌情采集病灶标本。

1、皮损部位标本的采集: 皮肤炭疽水泡期时, 注意无
菌操作, 以无菌棉签从未破溃水泡内沾取水泡液 (水泡期
内以革兰氏染色法较易发现炭疽杆菌); 在结痂期时, 收

集焦痂组织时需小心提起外层的焦痂组织，以无菌棉签取焦痂组织转动棉签 2~3 s，以保证有足够的标本。

2、血培养：无菌条件下采集全血 5~10ml。

3、粪便：运送大便标本应注意放置在清洁、干燥，无菌和密闭的容器内，标本应大于 5 g。对部分无法收集粪便标本的患者，可以肛试子插入肛门 1 英寸采取标本。

4、痰培养：收集痰标本应大于 1ml，应以无菌密封容器运送。无痰液者，应取培养基、打开平皿盖，将积液置于距离患者口鼻 10cm 处；令患者对平皿咳嗽，然后迅速盖上平皿。

5、其他体液标本：胸腔积液或脑脊液等标本，按照规定的程序穿刺取得。

6、尸体标本：患者死于炭疽时，可通过穿刺心脏获得血液或穿刺肝脏等实质脏器获得组织标本。

【标本运输及储存】

1、拭子：室温直接运输至实验室，如运输时间超过 1h，在 2~8℃ 运输。

2、粪便：1h 内运输新鲜大便至实验室，如运输时间超过 1h，在 2~8℃ 运输。

3、痰液：以无菌有盖的容器常温运送，如运输时间超过 1h，在 2~8℃ 运输。

4、血培养标本：室温直接运输至实验室。

【标本培养的操作】

按标准操作程序进行。

所有污染的和陈旧的标本，均应首先制成悬液。根据标本中含炭疽杆菌量的多少，可将悬液适当稀释，或经自然沉淀除去粗大沉淀物后，再以 **10000 g/min** 离心 **5min**，取富集的沉淀物。将所得的悬液沸水浴加热 **15min** 后涂布平板。

培养过程：适宜温度 **35℃~37℃**；环境气体：洁净空气或少量 **CO₂**。培养周期，至少培养 **3** 天，每日观察，在培养 **18~24h** 内即可开始观察，少数炭疽杆菌在培养 **8h** 后即生长。

菌落特点：一般在 **SBA** 培养平板培养 **15~24h**，生长完好的菌落大约直径 **2~5mm**。菌落呈平或不规则的突起，边缘略不规则，毛玻璃外观，菌落边缘有“逗号”形，显微镜下观察边缘呈明显“狮头样”菌落。

血平板上炭疽杆菌不溶血，过度生长的菌落有轻微溶血，但与 β 溶血链球菌有明显区别。

需对照观察在 **SBA** 和 **MAC** 培养基的生长，因炭疽杆菌在 **SBA** 培养基生长良好而在 **MAC** 培养基不生长。

炭疽杆菌生长迅速，接种浓度高的局部，**6~8h** 可以看到菌落生长，个别或可在 **12~15h** 内看到菌落生长，利

用这一特性，可以将炭疽杆菌与其它生长较慢的细菌进行区分。

炭疽杆菌鉴定：

含上述可疑菌落取出，划线接种于平板之上，在划线区内一处滴 1 滴诊断用炭疽噬菌体，另一处贴一片青霉素纸片。37℃ 孵育 8~24h 后，在噬菌体处有透明噬菌斑，青霉素纸片周围有明显的抑菌环，便可判定接种物为炭疽杆菌。

三、免疫学检查

可依据血清学检验结果确定对患者的诊断。

首份血清应在首次检视患者时采取，通常应一次采取血液标本供涂片镜检、细菌分离培养、血清学抗体检查及常规的血液检查使用。血清分离后置 4℃ 保存，应在 5 天内完成检测。如超过 5 天，应放置于 -20℃ 冰箱保存。恢复期血清应在发病后 15 天左右采取。

恢复期血清应在发病后 15 日左右采取。

（一）酶联免疫吸附试验（ELISA）

采用酶联免疫吸附试验，检测患者血液内炭疽杆菌保护性抗原的抗体，试验方法如下。

1、滴定板包被：所用各孔加入炭疽杆菌保护性抗原（PA）液（0.3 μg/ml）100 μl，酶标板贴上封口膜，置

4℃过夜。次日，弃孔内溶液，每孔加洗涤缓冲液 100 μl，洗涤 3 次，每次 3 min。

洗涤缓冲液配方为：

Tris 2.42 g

1 M HCl 13 ml

Tween-20 (0.05%) 0.5 ml

加蒸馏水至 1000 ml

2、待检血清：样本的初筛：每孔加入 100 μl 待测血清，按倍比稀释（稀释液为生理盐水）至 1 : 8，置 37℃ 60 min。弃孔内溶液，每孔加洗涤缓冲液 100 μl，洗涤 3 次，每次 3 min (同时做空白、正常血清对照)。复判：每份阳性血清做双复孔检测其滴度，增加测定结果的可分析性。

3、耦联酶标记：于各反应孔中加入新鲜稀释的工作浓度的辣根过氧化物酶标记 SPA 或抗人 IgG 100 μl，酶标板贴上封口膜，置 37℃ 60 min。弃孔内溶液，每孔加洗涤缓冲液 100 μl，洗涤 3 次，每次 3 min。

4、显色：于各反应孔中加入等体积混合的显色底物 A、B 溶液 100 μl，酶标板贴上封口膜，置暗处 20 min。于各反应孔中加入显色终止液 (0.5 M H₂SO₄) 100 μl 终止反应。

底物 A 液（磷酸盐柠檬酸缓冲液，pH5.0）配方为：

0.2 M Na₂HP0₄ (28.4 克 / L) 25.7 ml

0.1 M 柠檬酸(19.2 克 / L) 24.3 ml

H₂O₂ 0.1%

蒸馏水 50 ml

底物 B 液 (TMB (四甲基联苯胺) 使用液) 配方为:

TMB 3.90 g

柠檬酸 10.52 g

EDTA 1.86 g

甘油 2000 ml

DMSO 300 ml

加热溶解后加蒸馏水至 10000 ml

5、结果判断: 实验结果可用酶标仪判读, 被检孔吸光度 (A) 值达阴性血清对照孔 OD 值的 2.1 倍时, 可判断为阳性。

注: 技术说明

(1) 在从患者标本中未获得炭疽芽胞杆菌阳性和分离结果的情况下, 可依据血清学检测结果, 确定对患者的诊断。

(2) 目前多采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 进行炭疽特异性抗体检测, 一般用捕捉法进行, 即酶标板孔用适量炭疽毒素抗原包被, 加入 100 μL 待检血清后, 经洗涤加入工作浓度的辣根过氧化物酶标记的 SPA 或抗人 IgG, 再经

洗涤后用酶标仪判读，被检孔 A 值高于阴性对照孔 ≥ 2.1 倍时，可判断为阳性。

(3) 双份血清标本：患者首份血清应在首次检视患者时采取，通常应一次采取血液标本供涂片镜检，细菌分离培养，血清学抗体检查及常规的血液检查使用，血清分离后置 4℃ 保存，待获得恢复期血清后，一同进行抗体检查。恢复期血清应在患者发病后 15 日左右采取。

(4) 试剂盒：应有国家有关机构颁发的应用许可证。

诊 断

一、流行病学资料

在炭疽的诊断中占有重要地位，了解患者职业、工作和生活情况，如与食草动物密切接触的农、牧民及皮毛、皮革加工工人；在疫区生活或可能施放生物武器的环境中停留和接触的可疑物者。需要注意的是，流行病学调查可能无法发现接触史，而在受到生物攻击的情况下，可疑的接触史可能与自然感染完全不同。因而流行病学线索不是诊断的必需条件。

二、临床表现

典型皮肤炭疽的皮损特点（具有黑痂的浅溃疡，周边有小水疱，附近组织较为广泛的非凹陷性水肿）而无明显疼痛感觉。发生吸入性炭疽时可突发寒战、高热、呼吸困

难、紫绀等；发生胃肠型炭疽时可出现急性腹泻、急腹症等表现。

三、临床检验

外周血象白细胞总数及中性升高，在分泌物、组织液和排泄物等标本中，涂片镜检发现大量、均一的革兰氏阳性粗大的杆菌，为临床诊断最有力的证据。吸入性炭疽时胸部 X 线表现贫乏，与沉重的临床表现不相称，主要表现为纵隔增宽、胸膜炎症、肋膈角变钝、胸腔积液及胸膜刺激表现等。综合考虑以上三方面因素，可作出本病的临床诊断。

四、微生物检验

检出具有毒力的（即通过 PCR 检验 *pag* 和 *cya* 基因均为阳性）的炭疽杆菌，或者恢复期血清中针对炭疽杆菌毒素的抗体较急性期血清升高 4 倍以上，可作出本病的确切诊断。

鉴别诊断

患者的职业、工作和生活状况，对本病的诊断和鉴别诊断有重要的参考价值。

一、皮肤炭疽

1、皮肤感染及蜂窝织炎：痈、疔和蜂窝织炎均为局部皮肤感染而有局部红肿热痛，重者亦伴有全身中毒症状，血白细胞亦可明显增高。鉴别点：①局部疼痛明显，皮损

处无焦痂及周围水肿；而皮肤炭疽局部形成焦痂，周围明显水肿，病灶处呈坏死出血而非化脓性炎症特点，但局部无明显疼痛，此为重要鉴别点。②引起病变之致病菌不同，局部取材做涂片及培养可得不同细菌。

2、恙虫病：亦可有局部皮肤损害及焦痂，亦伴有发热及头痛等症状。鉴别点：①去过该病疫区，而无病畜接触史。②伴皮疹及肝脾肿大。③白细胞正常。④血清学检查外斐反应变形杆菌 OX₁₉ 凝集试验大于 1:160。5 恙虫病的焦痂多在皮肤潮湿及较隐蔽处，如会阴、肛门、腋窝等处，皮肤炭疽则多在皮肤裸露处。

二、吸入性炭疽

应与上呼吸道感染、大叶肺炎、肺鼠疫及钩端螺旋体病肺大出血型鉴别。

1、上呼吸道感染：肺炭疽早期与一般上呼吸道感染相似，至急剧出现呼吸障碍，此时与肺鼠疫在临床上很难区分，主要依靠流行病学、细菌学检查、血清学检查及分子生物学方法检查的结果。

2、重症社区获得性肺炎：如肺炎球菌肺炎、军团菌肺炎等。病例无病畜接触史；临床表现可能有咳铁锈色痰，痰内无炭疽杆菌；查体肺部可有肺实变体征；肺部 X 线检查有大片状阴影。

3、肺鼠疫：近期曾到过鼠疫疫区，接触过鼠疫患者、病鼠；临床表现重，为咳血为主的出血性肺炎表现；痰细菌学检查可查出鼠疫杆菌。

4、钩端螺旋体病肺大出血型：病例近期到过疫区及有疫水接触史，而无病畜接触史；除了咳血等呼吸道症状外，可有发热、乏力、腓肠肌疼痛、淋巴结肿大及结膜充血表现；

钩端螺旋体凝集溶解试验阳性。

三、胃肠型炭疽

与出血性肠炎及急性细菌性痢疾等肠道感染相鉴别。

1、出血性肠炎：无病畜接触史；临床表现为剧烈腹痛，腹部明显压痛，大便多为血便，而肠炭疽多为水样便或血水样便。大便培养无炭疽杆菌。

2、急性细菌性痢疾：除有进食不洁食物与痢疾患者接触等流行病学史外，临床表现为腹部下坠、里急后重；大便多为脓血黏液便，少数患者可为血便。粪便镜检多数红、白细胞或脓细胞；培养可有痢疾杆菌。不同病原菌是重要鉴别点。

治 疗

一、一般治疗

患者应卧床休息，易消化饮食，注意入量和水及电解质平衡。给与足量维生素 B、C。对不能进食者或有吐、泻

的患者，应予补液。出血者可酌情选用维生素 K1、氨基己酸或氨甲苯酸，严重者可予以输血治疗。有明显毒血症症状者，可给氢化可的松 100~300mg/天或地塞米松 5~10mg / 天，分 1~2 次静脉滴入，或泼尼松 30~60mg / 天，分 1~2 次口服，疗程约 1~3 日。合并 DIC 依不同病情酌用肝素，或用 6-氨基己酸（抗高溶）等对症治疗。高热、惊厥患者可给予退热药镇静药。有呼吸困难者，应予以吸氧，并保持呼吸道通畅。感染性休克者，应给予抗休克治疗。

二、皮肤炭疽的局部处理

皮损处切忌抚摸、挤压，以免病原菌扩散产生败血症。眼鼻危险三角区挤压还可引发脑膜炎。皮损不作外科切开引流，以防感染扩散。可用消毒液，如 1: 2 000 高锰酸钾液，或 2% 的过氧化氢液洗，涂 1% 龙胆紫液，或抗生素软膏，创面用四环素软膏纱布片覆盖后包扎。患肢可予以固定和抬高。出现严重、弥漫性的水肿，在有效抗菌药应用前提下可酌用皮质类固醇减轻炎症。重度颈部肿胀影响呼吸道通畅者，可考虑气管插管或气管切开。

三、病原治疗

病原学治疗是关键。用药前应采集标本做细菌培养及药物敏感性试验，并及时合理进行抗菌药物治疗的试验性。

青霉素 G 为治疗本病的首选药物，迄今为止仅发现极个别炭疽杆菌对青霉素 G 耐药。及时足量应用青霉素是改善预后，取得根治的关键。如有过敏史，选用其他抗菌药如氨基糖苷类阿米卡星、四环素类强力霉素或喹诺酮类左氧氟沙星 0.2，一日 2 次，静滴或口服。重症可合用其他如林可霉素、亚胺培南、克拉霉素、阿齐霉素、万古霉素、替考拉宁、多黏菌素 B 等可按药敏结果选药。皮肤型炭疽可以口服给药，其他型炭疽开始均须静脉点滴，病情控制后可序贯口服给药。

1、皮肤炭疽及轻症胃肠型炭疽：青霉素 G，每日 240 万 U~320 万 U，分 3~4 次，肌注；疗程 7~10 天。恶性水肿病例 用青霉素 G，每次 200 万 U~300 万 U，加入葡萄糖 200ml 内静滴，一日 4 次。

青霉素过敏病例，可用氧氟沙星 400mg 或环丙沙星 500mg，每日 2 次；强力霉素 0.1，每日 2 次或头孢唑啉每次 0.5~1g，一日 3~4 次，肌肉或静脉注射。

2、吸入性炭疽：重症胃肠型炭疽，炭疽败血症及炭疽性脑膜炎：青霉素 G 每日 1000~2000 万 U，分为 4 次，加入 5%葡萄糖 200ml 内静脉滴注，疗程延长至 2~3 周。或喹诺酮类加头孢唑啉治疗。同时联合应用氨基糖苷类阿米卡星，每次 0.1~0.2g，一日 0.2~0.4g，肌注或静脉滴注。头孢唑啉，一日 2~4g，肌肉或静脉注射也有效

果。脑膜炎患者则必须选用能透过血脑屏障药物如青霉素、头孢三嗪、左氧氟沙星等静脉滴注治疗。

四、免疫治疗

因抗生素只对炭疽杆菌有效，而对炭疽毒素无效，故重症病例可在应用抗生素治疗的同时加用抗炭疽血清中和毒素。原则应是早期给予大剂量，第 1 天 2mg/kg，第 2、3 天 1mg/kg，应用 3 天。应用前必须先做过敏试验。

炭疽的预防

一、隔离炭疽患者

所有类型的炭疽患者，都需要在隔离状态下进行治疗。隔离炭疽患者的目的，主要是为了防止污染环境引起感染以至传染的扩大。皮肤炭疽病例隔离至创口痊愈、痂皮脱落为止。其它类型病例应待症状消失、分泌物或排泄物培养两次阴性后出院。炭疽患者的接触者，在其没有发病之前没有传染性，因此，不需要隔离。皮肤炭疽的接触者以及接触患者的医护人员，更不需要区域封锁。主张就地隔离治疗，也是为了减少污染：患者活动越多，污染的面积就越大，消毒处理就越困难。

我国的传染病防治法规定，吸入性炭疽病例应当按照甲类传染病管理，因此，对肺炭疽患者需要实行较为严格的隔离措施。应当采取以下早期处理措施：

原则上应就地隔离，避免远距离运送患者。如发生较多患者，或必须集中隔离治疗的，应选定适当的医疗机构或场所，要求事先腾空隔离病房，再收治吸入性炭疽患者。将患者留置在独立的房屋中，尽可能减少其他人员与患者的接触；如果患者为医疗机构所发现，发现患者的医疗机构（指所有医疗机构，包括个体开业医师）则应将患者隔离在独立的病房内，腾空与患者所在病房毗邻的病房。医务人员进入该病房前应防护着装。治疗、护理肺炭疽患者的医务人员在接触患者时，直接处理患者污染材料的人员在工作时必须防护着装，着装按照呼吸道传染病的防护要求。上述人员应视为患者的密切接触者，在工作期间及结束工作后的**12**天内，与其他人员隔离。

二、患者周围环境的消毒措施

患者的衣物和用品，尽可能采取高压消毒或焚毁，不能采取上述措施的有价值的物品，可以使用环氧乙烷熏蒸消毒；隔离治疗患者的环境，只需要保持清洁，可用低毒性的消毒剂如新洁而灭等擦拭。炭疽患者死亡，有出血迹象的孔道应以浸透消毒剂的棉花填塞，尸体以塑料袋装或以浸透消毒剂的床单包裹后火化。患者出院或死亡，应对病房环境进行终末消毒，应使用含氯消毒剂反复进行，直到隔日检查连续**3**次无有致病能力的炭疽杆菌检出为止。

发生炭疽患者时的卫生学措施：在和平时期，通常只散在发生患者，除了防止环境的污染进一步引起牲畜和人的发病外，无须采取其他的预防措施。然而，在受到生物攻击时，常常会因同一次攻击造成较多的后续患者，采取相应的病原学检测及预防措施是必要的。

三、隔离观察肺炭疽患者的密切接触者

发现可疑的吸入性炭疽患者时，首诊医师就应当了解自患者出现最初症状以来的密切接触者（患者的家人、护理患者者、直接接触患者的医护人员或接触患者污物的人员、与患者同处一室或相处距离 5 米以内达 30min 以上者），并列出现者名单，开始最初的观察。吸入性炭疽患者自出现最初症状至被隔离期间所有与其密切接触者，都应当在隔离条件下接受医学观察。隔离方式首选居家隔离，也可以采取集中隔离的方式，但必须确保与患者之间的分隔。至少每日 1 次测量体温和询问健康状况。发现有发病迹象者，应立即作为疑似患者进行隔离治疗。

四、预防性投药

对曾经与肺炭疽患者共同居住或护理过患者的高度密切接触者，可以给予氟喹诺酮如氧氟沙星 0.4g，每日 2 次，环丙沙星 0.5g，每日 3 次口服，连续 3 天。不宜应用氟喹诺酮者，可选用四环素、大环内酯类或头孢菌素进行预防。

在受到生物攻击的情况下，往往来不及使用疫苗预防，因此，污染物品和炭疽患者的接触者，需要预防性地给予上述抗菌药物。一般的接触者，可以给予口服的抗菌药物，按一般剂量，根据威胁的严重程度用药 **3~7** 天。但可能直接吸入了被炭疽杆菌污染的物品者，应当给予注射抗生素。接受预防投药者不使用疫苗预防。

五、免疫预防接种

在炭疽的常发地区人群，皮毛加工与制革工人、畜牧员以及与牲畜密切接触者，每半年或一年预防接种一次。在和平时期，没有必要进行群众性免疫接种，在可能受到生物攻击的情况下，因为不知道可能受到攻击的目标，也没有必要进行大规模的群众性免疫接种。如果确实受到炭疽的攻击，并发生了炭疽患者的情况下，可在已发生患者的周围划定一定区域，对区域内的非接触者人群接种疫苗。接种疫苗者，不进行预防投药。

目前国内普遍使用的菌苗为兰州生物制品研究所生产的炭疽杆菌减毒活疫苗 **A16R**，有皮上划痕和穿皮注射两种形式。接种时应分清接种方式并严格按照说明书规定的方法进行。规格：每支疫苗为 **10** 人份 (**0.5ml**) 含菌 **$1.6 \times 10^9 \sim 2.4 \times 10^9$** 。用法与剂量：用消毒注射器吸取疫苗，在消毒过的上臂外侧三角肌上部滴疫苗 **2** 滴，**2** 滴位置相距 **3~4cm**。用消毒划痕针在每滴疫苗处作“井”字划痕，每

条痕长 1~1.5cm。划破表皮以出现间断小出血点为适度。用同一划痕针反复涂压，使疫苗充分进入划痕处。接种后接种的皮肤局部应至少裸露 5~10min，然后用消毒干棉球擦净。接种后 24h 划痕部位无任何反应者应重新接种。

禁忌：患有严重疾病、免疫缺陷症、严重皮肤病的患者，用免疫抑制剂治疗的患者，有严重过敏反应者不予接种。

六、对牲畜普遍实施疫苗接种

炭疽杆菌的生物攻击，受害的对象主要不是人，而是牲畜，所造成的经济破坏，远甚于人员的伤亡。而且牲畜的感染还会造成更多的人的感染和环境的污染，只有阻止牲畜发病，才能保障人类的安全。最有效的预防方法，是对牲畜进行免疫接种。当接种头数达到畜群总数的 70% 时，能够产生有效的保护作用。

参考文献

1 Cieslak TJ, Eitzen Jr EM. Clinical and epidemiologic principles of anthrax. Emerg Infect Dis, 1999; 5: 552-555.

2 Gilchrist MJR, McKinney WP, Miller JM, et al. Cumitech 33, Laboratory Safety, management, and

diagnosis of biological agents associated with bioterrorism. Coordinating ed., Snyder JW. ASM Press, Washington, D.C. 2000.

3 Logan NA, Turnbull PC. Bacillus and recently derived genera. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Tenover, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed) manual of Clinical Microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington: D.C. 1999; **357- 369**.

4 Keim P, Kalif A, Schupp J, et al. Molecular evolution and diversity in Bacillus anthracis as detected by amplified fragment length polymorphism markers. J Bacteriol, 1997; 179:818-824.

5 Price LB, Hugh-Jones M, Jackson PJ, et al. Genetic diversity in the protective antigen gene of Bacillus anthracis. J Bacteriol, 1999; 181(8):2358-2362.

6 Turnbull PCB. Definitive identification of Bacillus anthracis—a review. J Appl Microbiol, 1999; 87:237-240.

7 Read TD, Peterson SN, Tourasse N, et al. The genome sequence of Bacillus anthracis Ames and

comparison to closely related bacteria.

Nature, 2003; 423: 81-86.

8 Abshire TG, Brown JE, Ezzell JW. Production and validation of the use of Gamma phage for identification of *Bacillus anthracis*. J Clin Microbiol, 2005; 43: 4780-4788.