

ICS 11.020
C59
23224—2008

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS 283—2008

炭疽诊断标准

Diagnostic criteria for anthrax

2008-02-28 发布

2008-09-01 实施



中华人民共和国卫生部 发布

前　　言

根据《中华人民共和国传染病防治法》制定本标准。

按照国家质检总局国家标准委公告(2005年第146号),GB 17015—1997《炭疽诊断标准及处理原则》自本标准实施之日起废止。

本标准的附录A和附录B是规范性附录。

本标准由卫生部传染病标准专业委员会提出。

本标准由中华人民共和国卫生部批准。

本标准起草单位:中国疾病预防控制中心传染病预防控制所、中国疾病预防控制中心鼠疫布鲁菌病预防控制基地、中国人民解放军军事医学科学院微生物流行病研究所。

本标准主要起草人:俞东征、海荣、杨瑞馥、丛显斌、刘振才、魏建春、徐冬蕾。

炭疽诊断标准

1 范围

本标准规定了炭疽的诊断依据、诊断原则、诊断和鉴别诊断。

本标准适用于全国各级医疗卫生机构及其工作人员对炭疽的诊断、报告。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1 炭疽 anthrax

由炭疽芽孢杆菌引起的人类感染,包括症状不典型的轻型病例。

2.2 气溶胶 aerosol

固体和(或)液体微粒稳定地悬浮于气体介质中形成的分散体系。微粒大小不一,其粒径一般为 $0.001\mu\text{m}\sim10\mu\text{m}$ 。

3 诊断依据

3.1 流行病学史

3.1.1 患者生活在证实存在炭疽的地区内,或在发病前14d内到达过该类地区。

3.1.2 从事与毛皮等畜产品密切接触的职业;接触过可疑的病、死动物或其残骸,食用过可疑的病、死动物肉类或其制品;在可能被炭疽芽孢污染的地区从事耕耘或挖掘等活动。

3.2 临床表现

3.2.1 在面、颈、手或前臂等暴露部位的局部皮肤出现不明原因的红斑、丘疹、水疱,周围组织肿胀及浸润,继而中央坏死形成溃疡性黑色焦痂,焦痂周围皮肤发红,肿胀,疼痛不显著。该部位的回流淋巴结肿大且常化脓,伴有发热、头痛、关节痛等。少数严重病例,局部呈大片水肿和坏死。

3.2.2 急性起病,发热,腹胀,腹部剧烈疼痛,腹泻,通常为血样便或血水样便。可有恶心、呕吐,呕吐物中含血丝及胆汁。可有消化道以外症状和体征。

3.2.3 高热,呼吸困难,可有胸痛及咳嗽,咳极黏稠血痰。肺部体征常只有散在的细湿啰音。胸部X线的主要表现为纵隔影增宽。常见胸腔积液。

3.2.4 剧烈头痛,呕吐,项强,继而出现谵妄、昏迷、呼吸衰竭,脑脊液多为血性。可继发于3.2.1~3.2.3各种症状,也可能直接发生。

3.2.5 严重的全身中毒症状,高热、寒战,感染性休克与弥漫性血管内凝血表现,皮肤出现出血点或大片瘀斑,腔道中出现活动性出血,迅速出现呼吸与循环衰竭。血液涂片镜检可检出大量革兰阳性大杆菌。可继发于3.2.1~3.2.3各种症状,也可能直接发生。

3.3 实验室检测

3.3.1 皮肤溃疡的分泌物,痰、呕吐物、排泄物,或血液、脑脊液等标本中,显微镜检查发现大量两端平齐呈串联状排列的革兰阳性大杆菌。

3.3.2 细菌分离培养获炭疽芽孢杆菌(见附录A)。

3.3.3 血清抗炭疽特异性抗体滴度出现4倍或4倍以上升高(见附录B)。

4 诊断原则

根据流行病学史、临床症状与体征、实验室检查等进行综合分析,患者应具有细菌学或血清学诊断

阳性结果方可确诊。

5 诊断

5.1 疑似病例

具有 3.1 中的任何一条,并具有 3.2.1~3.2.5 的临床表现之一者。

5.2 临床诊断病例

具有 3.3.1 的镜检结果,并具有 3.2.1~3.2.5 的临床表现之一者。

5.3 确诊病例

临床诊断病例,并具备 3.3.2 或 3.3.3 任何一项者。

5.4 病型

5.4.1 有 3.2.1 临床表现的确诊病例,为体表感染(皮肤)炭疽。

5.4.2 有 3.2.2 临床表现的确诊病例,为经口感染(肠)炭疽。

5.4.3 有 3.2.3 临床表现的确诊病例,为吸入感染(肺)炭疽。

5.4.4 有 3.2.4 临床表现的确诊病例,为脑膜炎型炭疽。

5.4.5 有 3.2.5 临床表现的确诊病例,为败血症型炭疽。

6 鉴别诊断

6.1 肺鼠疫

突然发病,高热,白细胞剧增,咳嗽、胸痛、咳痰带血或咯血,呼吸困难,全身发绀,神智不清,鼠疫细菌学和血清学检查可确定诊断。

6.2 马鼻疽肺病变

患者有与病马直接或间接接触史,相应细菌学和血清学检查可确定诊断。

6.3 细菌性痢疾

里急后重及痉挛性腹痛明显,细菌学可查到痢疾杆菌。

附录 A
(规范性附录)
炭疽细菌学检查

A. 1 患者标本的采取

A. 1. 1 采取标本时应遵循的原则

A. 1. 1. 1 尽可能在抗生素治疗开始前采取标本。

A. 1. 1. 2 除必要时并在具备操作病毒细菌条件的实验室内,不得用解剖的方式获取标本。所需的血液与组织标本,均应以穿刺方式取得。

A. 1. 2 血液标本

所有的疑似病例,都应采取血液标本 5mL~10mL。

A. 1. 3 粪便与呕吐物标本

表现消化道症状的疑似患者收集粪便或呕吐物标本,特别注意选取其中混有血液的部分,置无菌容器中。

A. 1. 4 痰与咳碟标本

表现为呼吸道症状的疑似患者应收集其痰液及咽拭子标本,无痰液者,应取供细菌分离培养用的培养基,打开平皿盖置患者口鼻 10cm 距离处;请患者对平皿咳嗽,然后迅速盖上平皿。

A. 1. 5 脑脊液标本

表现脑膜刺激症状的患者,腰椎穿刺获取脑脊液,标本量参照 A. 1. 2 的要求。

A. 1. 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性脏器获得组织标本。

A. 2 显微镜检查

所有来自患者或尸体的标本,都应首先立即涂片,革兰染色,进行显微镜检查。发现大量两端平齐的革兰阳性大杆菌,即可作为诊断依据。

A. 3 细菌分离培养

A. 1 中所列的全部标本,均应进行细菌分离培养。

A. 3. 1 标本处理

在正常情况下应当无菌的标本,如血液或脑脊液,直接涂布营养琼脂平板。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 10 000r/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。

A. 3. 2 挑选可疑菌落

上述平板在 37℃ 孵育 8h~24h 后,检查是否长出可疑的炭疽芽孢杆菌菌落。炭疽芽孢杆菌菌落的形态为:灰白色、不透明、中等大小,常不规则,表面呈毛玻璃样。

A. 4 炭疽芽孢杆菌鉴定

将上述可疑菌落挑出,划线接种于平板之上,在划线区内一处滴一滴诊断用炭疽噬菌体,另一处贴一片青霉素纸片。37℃ 孵育 8h~24h 后,在滴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芽孢杆菌。在患者或尸体中分离获得炭疽芽孢杆菌,炭疽的诊断即可确立。

附录 B
(规范性附录)
炭疽血清学检查

B.1 标本的采取

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

如 A.1.2 中所述,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。

恢复期血清应在发病后 15d 左右采取。

B.2 酶联免疫吸附试验(ELISA)

采用酶联免疫吸附试验来检测患者血液内针对炭疽芽胞杆菌保护性抗原的抗体,试验方法如下。

B.2.1 滴定板包被

所用各孔加入炭疽毒素抗原液($0.3\mu\text{g}/\text{mL}$) $100\mu\text{L}$,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 $100\mu\text{L}$,洗涤 3 次,每次 3min。

洗涤缓冲液配方为:

Tris	2.42g
1mol/L HCl	13mL
吐温-20(0.05%)	0.5mL
加蒸馏水至	1 000mL

B.2.2 待检血清

样本的初筛:每孔加入 $100\mu\text{L}$ 待测血清,按倍比稀释(稀释液为生理盐水)至 1:8,置 37℃ 60min。弃孔内溶液,每孔加洗涤缓冲液 $100\mu\text{L}$,洗涤 3 次,每次 3min(同时做空白、正常血清孔对照)。

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。

B.2.3 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 $100\mu\text{L}$,

酶标板贴上封口膜,置 37℃ 60min。弃孔内溶液,每孔加洗涤缓冲液 $100\mu\text{L}$,洗涤 3 次,每次 3min。

B.2.4 显色

于各反应孔中加入等体积混合的显色底物 A、B 溶液 $100\mu\text{L}$,酶标板贴上封口膜,置暗处 20min。于各反应孔中加入显色终止液($0.5\text{mol}/\text{L}$ H_2SO_4) $100\mu\text{L}$ 终止反应。

底物 A 液(磷酸盐枸橼酸缓冲液,pH5.0)配方为:

0.2mol/L Na_2HPO_4 (28.4g/L)	25.7mL
0.1mol/L 枸橼酸(19.2g/L)	24.3mL
H_2O_2	0.1%
蒸馏水	50mL

底物 B 液(TMB(四甲基联苯胺)使用液)配方为:

TMB	3.90g
枸橼酸	10.52g
EDTA	1.86g
甘油	2 000mL

DMSO 300mL
加热溶解后加蒸馏水至 10 000mL

B.2.5 结果判断

实验结果可用酶标仪判读,被检孔 OD 值达阴性血清对照孔 OD 值的 2.1 倍时,始可判为阳性。

中华人民共和国

卫生行业标准

炭疽诊断标准

WS 283—2008

*

出版发行：人民卫生出版社（中继线 010-67616688）

地 址：北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编：100078

网 址：<http://www.pmph.com>

E - mail：pmph@pmph.com

购书热线：010-67605754 010-65264830

印 刷：北京新丰印刷厂

经 销：新华书店

开 本：880×1230 1/16 印张：0.75

字 数：22 千字

版 次：2008 年 8 月第 1 版 2008 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

书 号：14117·212

定 价：9.00 元

版权所有，侵权必究，打击盗版举报电话：010-87613394

（凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换）



WS 283—2008