

新中国炭疽防治成果与研究进展

董树林

【作者简介】 董树林,男,1926年生。研究员,卫生部兰州生物制品研究所原副所长,炭疽专业实验室原负责人。中国微生物学会第六届常务理事兼生物制品专业委员会主任,卫生部新药审评委员会第三届委员,卫生部计划免疫(专业)专家咨询委员会一届委员。从事生物制品工作45年,侧重炭疽、鼠疫、布病和土拉热等有关制品的生产和科研工作。著有《炭疽及其防治》、《常见传染病的免疫预防》、《炭疽防治手册》等专著。硕士研究生导师,1991年享受政府特殊津贴。

炭疽是一种人兽共患的急性传染病,也是我国法定管理的35种传染病之一。在中国传统医学中炭疽被列为疔疽一类,中兽医亦称牛、马炭疽为“走黄”。炭疽在我国虽然是一个古老的传染病,但在旧中国却缺乏有关资料的详细记载。新中国成立后,坚持“预防为主”卫生工作方针,加强对炭疽的防治和管理;50年代末研制成功我国人用炭疽活疫苗;60年代加强了炭疽疫情的控制和消毒处理,80年代已杜绝了工业型炭疽的发生;90年代在西部高发省(区)进行了全面监控。由于采取了一系列有效的防治措施,使我国炭疽由50年代末年均发病率0.576/10万降至90年代初的0.175/10万。

在炭疽科研方面也取得了许多实用性成果,如炭疽病原学监测研究;炭疽预防和治疗制剂研究;诊断制剂和诊断方法的研究;炭疽杆菌分子生物学研究;国内专业技术报道与国际学术交流等,这些都为我国的炭疽防治工作提供了有效手段和科学资料。

一、炭疽的防治成果

解放前和建国初期,我国炭疽遍及全国各省,畜

间时有爆发和流行,并造成人间不断发病。据资料记载,1948年江西省临川县有耕牛2500头死于炭疽;1949年山东省因炭疽死亡的牲畜达2万余头;1950年安徽省太和县发生畜间炭疽,牛发病4889头,死亡1741头,在这次流行中有3180人因感染炭疽死亡;1954年贵州省罗甸县羊群发生炭疽流行,发病1100只全部死亡;1956年河北省涿鹿县因挖泥积肥造成肺炭疽流行,发病46例,死亡34人,有6000多人受到威胁(沈元津,1952、章同恩,1954、丘福喜,1955、恽肇权,等,1959)。

工业型炭疽在城市也时有发生(郁维,等,1952),据孟肇英等调查天津、上海、郑州、西安、兰州5个城市,1952~1962年住院炭疽病人602例,其中皮毛业工人占病例总人数的68.45%。60年代建立了严格的皮毛检疫制度,加强了消毒措施,改善了劳动条件,加强了工人的劳动保护和疫苗接种。1979年以后,京、津、沪等大城市已无炭疽病例报告。

80年代以来,我国炭疽以农业型为主,波及全国24个省(区)。1982年新疆报告病例占全国总病例数的54%,1985年占34%,仍居全国第一位,贵州其次占33%。1987年贵州占38%,居第一位,云南占16%,新疆占15%,依次是广西、湖南、四川、青海,分别占8.5%、4.9%、2.9%和1.9%。上述七省(区)发病人数合计占全国报告病例总数的90%以上。

我国炭疽的流行态势,据1955~1995年的疫情报告资料统计,1957、1963、1977年有3个高峰,年发病率分别为0.54/10万、0.65/10万、0.54/10万;1958~1962和1966~1970年间有2个低谷,每8~10年有一个流行周期,90年代初又处于低谷时期。总的来看,我国炭疽发病一直没有停息。1986年新疆疏附县一年内死于炭疽的牲畜达1619头(只),占全县牲畜总数的4%;1989年西藏昌都地区发生炭疽流行,波及5个县34个村寨,共发生胃肠炭疽507例,死亡162人,病死率高达31.9%,首次报道多例咽型炭疽。90年代以来,据梁旭东统计分析,在我国

30个省(区)市中,有10个高发省(区) $> 0.3/10$ 万,它们是云南、贵州、四川、广西、湖南、西藏、新疆、青海、甘肃和内蒙古。5个中发省(区)($0.1 \sim 0.3/10$ 万),10个低发省(区)($< 0.1/10$ 万),另有5个省市近9~20年无人间炭疽病例报告。1991~1995年全国报告炭疽病例10801例,年均发病率为 $0.175/10$ 万,死亡416人,年均病死率为 3.85% 。其中10个高发省(区)报告病例9920例,占全国总病例数的 91.8% 。90年代初比50年代末年发病率下降 $68\% \sim 74\%$ 。

取得炭疽防治成果的主要经验是,加强病原监测,及时处理疫情;严格兽医监督、焚烧动物尸体和彻底消除环境污染;坚持对家畜免疫预防和对高危易感人群的应急免疫接种;加强皮毛检疫和消毒处理,贯彻劳动保护和免疫预防等是防制和杜绝工业炭疽的有效措施。

二、炭疽监测研究

我国炭疽的流行病学调查工作一直受到重视,如新疆喀什地区3岁以下儿童炭疽发生率极高($1850.6/10$ 万),9岁以下儿童炭疽发病率仍高达 $865.4/10$ 万。据王学元调查认为当地有给儿童涂脂护肤习惯,即在屠宰牛羊时将油脂向儿童身上涂擦,以致引起炭疽感染。西藏昌都地区1989年发生炭疽流行,据李爱芳调查认为当地有生吃风干牛肉习惯,炭疽牲畜病肉风干后可引起食者经口感染,发现多例咽型炭疽和肠型炭疽。

畜间监测认为南方以牛为主,屠宰牲畜常污染水塘,极易感染南方水牛,其次是猪、狗、马和羊也有发病,北方主要是羊炭疽,其次为牛、马、驴、骡。畜间炭疽与畜群结构与饲养方式密切相关。

病原学监测:1991~1994年全国10个高发省(区)共采样1455份,检出炭疽杆菌89株,检出阳性率为 6.1% ,其中环境土样检出率为 18.2% ;流行期(7~9月)浅层土阳性率(17.2%)高于深层土(3.8%);非流行期浅层土阳性率(3.2%)低于深层土(10.7%);流行期与非流行期土壤污染程度差别有显著性($P < 0.01$)。水样阳性率为 2.14% ;皮毛检出阳性率为 22.3% ;病人呕吐物和排泄物检出阳性率为 14.3% ;南方水塘污染严重,自鱼塘中饲养的胡子鲶和鸭子的脏器中均检出了炭疽杆菌。在14个爆发点经消毒处理后一年,于现场取样420份,仍分离到7株炭疽杆菌,检出阳性率为 1.6% ,证明消毒

处理不够彻底(刘军,等.1994.邱燕,等.1994.刘远恒.1994.付华,等.1994)。

血清学监测:在疫区人群中采血1688份,进行荚膜抗体检测,结果证明,炭疽爆发点人群的荚膜抗体阳性率为 29.1% ,非爆发点阳性率为 7.52% ,两者阳性率有显著差别($P < 0.01$)。采取接种疫苗的人群(1~1.5月)血清1425份,经用ELISA检测PA抗体,证明血清抗体阳性率高肯定了疫苗的良好免疫效果(邓金华,卫德安,等.1994)。

三、诊断制剂与诊断方法的研究

炭疽杆菌营养要求不严,普通营养琼脂和肉汤培养基均可生长良好,镜检为革兰氏阳性方头大杆菌,呈链状排列,有形态特征。但与蜡样杆菌、巨大杆菌、蕈状杆菌、苏云金杆菌等近缘需氧芽胞杆菌不易鉴别,早年曾将难于确诊的疑难菌株归之为“类炭疽杆菌”。

60年代初国内一些炭疽实验室先后建立了炭疽诊断实验技术,1963年董树林和张守让分离到我国炭疽杆菌噬菌体AP631株,用于炭疽杆菌鉴别诊断其敏感性和特异性良好;1965年李良寿等将琼脂片法串珠试验改为液体培养法;随后董树林和张保安又将串珠试验的青霉素3个浓度($0.01u$ 、 $0.05u$ 和 $0.1u$)改为纸条法($10u$),利用琼脂中青霉素自然扩散原理,在炭疽菌生长与抑制的界线处即可找到串珠形态炭疽杆菌。过祥豹等研究了戊烷脒选择性培养基,并发现炭疽杆菌集落的拉丝现象,认为有鉴别意义。推荐用荚膜加抗血清呈现肿胀以检查荚膜。提出用间接荧光抗体染色检查病人荚膜抗体以确定诊断。1983年汪美先实验室制备的炭疽诊断试剂盒通过成果鉴定,其中包括各种试剂、噬菌体、青霉素纸片等,使用方便、快速准确。

自解放后国内已有兽用炭疽沉淀素血清,用于皮毛检疫做Ascoli氏试验。60年代以后又生产出用于琼脂扩散试验的炭疽诊断血清,荚膜涂片抗原,AP631噬菌体。过祥豹用间接荧光抗体法检测病人荚膜抗体;曹仁用间接血凝法检查病人愈后血清荚膜抗体,在临床诊断方面有实用意义。薛采芳用ELISA法检测病人血清抗毒素抗体;庄汉澜用ELISA法检测免疫人群抗PA抗体,以评价疫苗免疫效果。苏新会和董树林用乳胶凝集试验检测炭疽活疫苗的免疫效果,有参考价值。另有高树德等提出503蛋白胨培养炭疽菌集落产生色素有诊断意义;梁旭东试

验抑制性(乙酸亚砷、多粘菌素 B、EDTA、溶菌酶)和(水杨素、BTB)指示性培养基;尚芙蓉和王棣等研制了炭疽单克隆抗体,但尚未获实际应用。

四、预防与治疗制剂研究

我国在20世纪40年代即已采用 Pasteur I 苗和 II 苗预防畜间炭疽。1948年又自印度引进了 Sterne 菌株(称为印度系)用于生产无毒炭疽芽胞苗。由于这两种活疫苗对山羊和馬有严重的副反应,80年代中期又研制成功 $Al(OH)_3$ 佐剂 PA 组分疫苗(王明俊,赵振亚,1984),证明安全有效。

人用炭疽活疫苗原苏联自1954年正式生产,我国50年代曾进口 STI 炭疽活疫苗,60年代初,董树林等应用我国杨叔雅等(1958)选育的 A16R 菌株生产我国的炭疽活疫苗。经人群接种效果观察保护率为80%~100%,但皮肤划痕免疫对肺炭疽保护效果不佳。与此同时,陈民钧、庄汉澜、何长民等先后进行了炭疽保护性抗原(PA)免疫研究。70年代庄汉澜等采用发酵罐培养,从培养物滤液中提取抗原,制成钾矾沉淀苗和 $Al(OH)_3$ 佐剂 PA 苗,经一系列动物安全和效力试验后进行了小量人体接种观察,结果证明反应轻微,ELISA 检测血清抗体阳转率达到92.86%。70年代初辛钧、任青鸟、苏新会等进行了炭疽活疫苗的气雾免疫研究,通过一系列动物试验,探索了单价炭疽活疫苗和鼠疫、布病、炭疽、土拉热四联活疫苗气雾免疫人体接种反应和效果观察。为大集体人群的气雾免疫积累了科学资料。

我国在解放前和建国初已有生产兽用抗炭疽血清,60年代又开始研制人用精制抗炭疽血清,经用弱毒活菌给马进行超免疫后采取血清,再经胃酶消化和硫酸铵盐析提取有效免疫球蛋白。虽然抗生素对炭疽有较好疗效,但由于炭疽死亡原因为毒素所致,单用青霉素治疗有时已不能自病人检出病菌,但由于毒素作用仍未免于死亡。抗生素与抗血清联合使用对抢救危重病人有重要意义。精制抗炭疽血清对消退病人严重水肿、中和体内毒素、降低病人持续高热、恢复心血管功能、缩短病程等方面,均有抗生素所不及的治疗效果。

五、分子生物学研究

已知炭疽杆菌毒素含有三种组分,即水肿因子(EF)、致死因子(LF)和保护性抗原(PA),庄汉澜采用过滤浓缩,DEAE-纤维素、免疫亲和层析和高效

液相色谱等技术提取纯化 PA;南丽(1991)采用硫酸盐析法提取纯化 EF;并对其各自特性进行了研究。王秉翔(1992)研究了炭疽噬菌体 AP631 株的生物学特性,观察到噬菌体头部为六角形,直径50nm;尾长180nm,无尾壳。核酸检测证明为 DNA,分子量49kb。王秉翔等(1987)在鉴定自然弱毒株广西 10、11号菌时证明只含有 114mD 毒素质粒,不含有 60mD 荚膜质粒,与表型特性相一致。90年代初又合成一对 PA 抗原 DNA 引物,采用 PCR 技术检测炭疽杆菌毒素。随后梁旭东又合成一对 pXO2 质粒 DNA 引物,并与 PA 引物一并制备地高辛标记探针,用于检测病原菌。梁旭东还建立了炭疽菌质粒 DNA 提取方法,对国内不同地区来源的菌株进行了质粒谱分析,结果认为强毒株均含有 pXO1 和 pXO2 两个质粒,弱毒株所含质粒不同,自然弱毒株只有 $Cap^- tox^+$ 型菌株。为验证酶解可消除 pXO2 质粒,董树林、曹仁、王秉翔等用胰蛋白酶和胃蛋白酶消化获得了 $Cap^- tox^+$ 突变株。从而在实验室验证了炭疽强毒菌通过胃肠道可能丢失 pXO2 质粒的机理。

六、问题与展望

1. 进入90年代以后我国每年仍有2000多例炭疽病人,畜间炭疽仍时有发生,与工业先进国家相比,我国的炭疽防治仍然任重道远。主要原因是畜间免疫接种不落实,大量易感家畜暴露于感染危险之下;兽医监督不严,仍有屠宰病畜剥皮食肉现象,造成人间感染;对历史疫点和细菌战遗患迄今未能完全查清,亦未做彻底消毒处理,炭疽菌芽胞可活存数十年,致病隐患未除。

2. 现用兽用炭疽活疫苗对山羊和馬有接种反应,应予改进,认真考核 PA 苗的畜间免疫效果。人用炭疽活疫苗划痕接种很难保证进入体内实际菌数,应改进接种方法。根据现代研究对炭疽感染与免疫机理的认识,新疫苗的设计应具有抗菌、抗荚膜和抗毒素的全方位免疫效果。

3. 当今世界已进入生物技术时代,利用基因工程组建毒力杂交株已成现实,炭疽毒力杂交株既可对人畜致病,又难于检出,给防治诊断带来极大困难。好战集团公开或隐蔽的研制生物武器,炭疽杆菌被列为首选细菌战剂。历史上我国曾深受其害,应引起国人足够的重视。