



当前位置：首页 >> 标准规程

标准规程

炭疽防治技术规范 农医发〔2007〕12号

来源：信息管理科 时间：2012-10-16 作者： 点击率：6408

炭疽（Anthrax）是由炭疽芽孢杆菌引起的一种人畜共患传染病。世界动物卫生组织（OIE）将其列为必须报告的动物疫病，我国将其列为二类动物疫病。为预防和控制炭疽，依据《中华人民共和国动物防疫法》和其它相关法律法规，制定本规范。

1 适用范围

本规范规定了炭疽的诊断、疫情报告、疫情处理、防治措施和控制标准。

本规范适用于中华人民共和国境内一切从事动物饲养、经营及其产品的生产、经营的单位和个人，以及从事动物防疫活动的单位和个人。

2 诊断

依据本病流行病学调查、临床症状，结合实验室诊断结果做出综合判定。

2.1 流行特点

本病为人畜共患传染病，各种家畜、野生动物及人对本病都有不同程度的易感性。草食动物最易感，其次是杂食动物，再次是肉食动物，家禽一般不感染。人也易感。

患病动物和因炭疽而死亡的动物尸体以及污染的土壤、草地、水、饲料都是本病的主要传染源，炭疽芽孢对环境具有很强的抵抗力，其污染的土壤、水源及场地可形成持久的疫源地。本病主要经消化道、呼吸道和皮肤感染。

本病呈地方性流行。有一定的季节性，多发生在吸血昆虫多、雨水多、洪水泛滥的季节。

2.2 临床症状

2.2.1 本规范规定本病的潜伏期为20天。

2.2.2 典型症状

本病主要呈急性经过，多以突然死亡、天然孔出血、尸僵不全为特征。

牛：体温升高常达41℃以上，可视黏膜呈暗紫色，心动过速、呼吸困难。呈慢性经过的病牛，在颈、胸前、肩胛、腹下或外阴部常见水肿；皮肤病灶温度增高，坚硬，有压痛，也可发生坏死，有时形成溃疡；颈部水肿常与咽炎和喉头水肿相伴发生，致使呼吸困难加重。急性病例一般经24～36小时后死亡，亚急性病例一般经2～5天后死亡。

马：体温升高，腹下、乳房、肩及咽喉部常见水肿。舌炭疽多见呼吸困难、发绀；肠炭疽腹痛明显。急性病例一般经24～36小时后死亡，有炭疽痈时，病程可达3～8天。

羊：多表现为最急性（猝死）病症，摇摆、磨牙、抽搐，挣扎、突然倒毙，有的可见从天然孔流出带气泡的黑红色血液。病程稍长者也只持续数小时后死亡。

猪：多为局限性变化，呈慢性经过，临床症状不明显，常在宰后见病变。

犬和其它肉食动物临床症状不明显。

2.3 病理变化

死亡患病动物可视黏膜发绀、出血。血液呈暗紫红色，凝固不良，粘稠似煤焦油状。皮下、肌间、咽喉等部位有浆液性渗出及出血。淋巴结肿大、充血，切面潮红。脾脏高度肿胀，达正常数倍，脾髓呈黑紫色。

严禁在非生物安全条件下进行疑似患病动物、患病动物的尸体剖检。

2.4 实验室诊断

实验室病原学诊断必须在相应级别的生物安全实验室进行。

2.4.1 病原鉴定

2.4.1.1 样品采集、包装与运输

按照NY / T561 2.1.2、4.1、5.1执行。

2.4.1.2 病原学诊断

炭疽的病原分离及鉴定（见NY/T561）。

2.4.2 血清学诊断

炭疽沉淀反应（见NY/T561）。

2.4.3 分子生物学诊断

聚合酶链式反应（PCR）（见附件1）。

3 疫情报告

3.1 任何单位和个人发现患有本病或者疑似本病的动物，都应立即向当地动物防疫监督机构报告。

3.2 当地动物防疫监督机构接到疫情报告后，按国家动物疫情报告管理的有关规定执行。

4 疫情处理

依据本病流行病学调查、临床症状，结合实验室诊断做出的综合判定结果可做为疫情处理依据。

4.1 当地动物防疫监督机构接到疑似炭疽疫情报告后，应及时派员到现场进行流行病学调查和临床检查，采集病料送符合规定的实验室诊断，并立即隔离疑似患病动物及同群动物，限制移动。

对病死动物尸体，严禁进行开放式解剖检查，采样时必须按规定进行，防止病原污染环境，形成永久性疫源地。

4.2 确诊为炭疽后，必须按下列要求处理。

4.2.1 由所在地县级以上兽医主管部门划定疫点、疫区、受威胁区。

疫点：指患病动物所在地点。一般是指患病动物及同群动物所在畜场（户组）或其它有关屠宰、经营单位。

疫区：指由疫点边缘外延3公里范围内的区域。在实际划分疫区时，应考虑当地饲养环境和自然屏障（如河流、山脉等）以及气象因素，科学确定疫区范围。

受威胁区：指疫区外延5公里范围内的区域。

4.2.2 本病呈零星散发时，应对患病动物作无血扑杀处理，对同群动物立即进行强制免疫接种，并隔离观察20天。对病死动物及排泄物、可能被污染饲料、污水等按附件2的要求进行无害化处理；对可能被污染的物品、交通工具、用具、动物舍进行严格彻底消毒（见附件2）。疫区、受威胁区所有易感动物进行紧急免疫接种。对病死动物尸体严禁进行开放式解剖检查，采样必须按规定进行，防止病原污染环境，形成永久性疫源地。

4.2.3 本病呈暴发流行时（1个县10天内发现5头以上的患病动物），要报请同级人民政府对疫区实行封锁；人民政府在接到封锁报告后，应立即发布封锁令，并对疫区实施封锁。

疫点、疫区和受威胁区采取的处理措施如下：

4.2.3.1 疫点

出入口必须设立消毒设施。限制人、易感动物、车辆进出和动物产品及可能受污染的物品运出。对疫点内动物舍、场地以及所有运载工具、饮水用具等必须进行严格彻底地消毒。

患病动物和同群动物全部进行无血扑杀处理。其它易感动物紧急免疫接种。

对所有病死动物、被扑杀动物，以及排泄物和可能被污染的垫料、饲料等物品产品按附件2要求进行无害化处理。

动物尸体需要运送时，应使用防漏容器，须有明显标志，并在动物防疫监督机构的监督下实施。

4.2.3.2 疫区：交通要道建立动物防疫监督检查站，派专人监管动物及其产品的流动，对进出人员、车辆须进行消毒。停止疫区内动物及其产品的交易、移动。所有易感动物必须圈养，或在指定地点放养；对动物舍、道路等可能污染的场所进行消毒。

对疫区内的所有易感动物进行紧急免疫接种。

4.2.3.3 受威胁区：对受威胁区内的所有易感动物进行紧急免疫接种。

4.2.3.4 进行疫源分析与流行病学调查

4.2.3.5 封锁令的解除

最后1头患病动物死亡或患病动物和同群动物扑杀处理后20天内不再出现新的病例，进行终末消毒后，经动物防疫监督机构审验合格后，由当地兽医主管部门向原发布封锁令的机关申请发布解除封锁令。

4.2.4 处理记录

对处理疫情的全过程必须做好完整的详细记录，建立档案。

5 预防与控制

5.1 环境控制

饲养、生产、经营场所和屠宰场必须符合《动物防疫条件审核管理办法》（农业部[2002]15号令）规定的动物防疫条件，建立严格的卫生（消毒）管理制度。

5.2 免疫接种

5.2.1 各省根据当地疫情流行情况，按农业部制定的免疫方案，确定免疫接种对象、范围。

5.2.2 使用国家批准的炭疽疫苗，并按免疫程序进行适时免疫接种，建立免疫档案。

5.3 检疫

5.3.1 产地检疫

按GB16549和《动物检疫管理办法》实施检疫。检出炭疽阳性动物时，按本规范4.2.2规定处理。

5.3.2 屠宰检疫

按NY467和《动物检疫管理办法》对屠宰的动物实施检疫。

5.4 消毒

对新老疫区进行经常性消毒，雨季要重点消毒。皮张、毛等按照附件2实施消毒。

5.5 人员防护

动物防疫检疫、实验室诊断及饲养场、畜产品及皮张加工企业工作人员要注意个人防护，参与疫情处理的有关人员，应穿防护服、戴口罩和手套，做好自身防护。

附件1

聚合酶链式反应（PCR）技术

1 试剂

1.1 消化液

1.1.1 1M 三羟甲基氨基甲烷-盐酸(Tris-HCl)(pH8.0)

三羟甲基氨基甲烷 12.11g

灭菌双蒸水 80mL

浓盐酸 调pH至8.0

灭菌双蒸水 加至100mL

1.1.2 0.5M 乙二铵四乙酸二钠(EDTA)溶液 (pH8.0)

二水乙二铵四乙酸二钠 18.61g

灭菌双蒸水 80mL

氢氧化钠 调pH至8.0

灭菌双蒸水 加至100mL

1.1.3 20% 十二烷基磺酸钠(SDS)溶液 (pH7.2)

十二烷基磺酸钠 20g

灭菌双蒸水 80mL

浓盐酸 调pH至7.2

灭菌双蒸水 加至100mL

1.1.4 消化液配制

1M 三羟甲基氨基甲烷-盐酸(Tris-HCl)(pH8.0) 2mL

0.5mol/L 乙二铵四乙酸二钠溶液(pH8.0) 0.4mL

20% 十二烷基磺酸钠溶液(pH7.2) 5mL

5M 氯化钠 4mL

灭菌双蒸水 加至200mL

1.2 蛋白酶K溶液

蛋白酶K 5g

灭菌双蒸水 加至250mL

1.3 酚/氯仿/异戊醇混合液

碱性酚 25mL

氯仿 24mL

异戊醇 1mL

1.4 2.5mmol/LdNTP

dATP(100mmol/L) 20μL

dTTP(100mmol/L) 20μL

dGTP(100mmol/L) 20μL

dCTP(100mmol/L) 20μL

灭菌双蒸水 加至800μL

1.5 8pmol/μL PCR引物

上游引物ATXU（2 OD）加入701μl灭菌双蒸水溶解，下游引物ATXD（2 OD）加入697μL灭菌双蒸水溶解，分别取ATXU、ATXD溶液各300μL，混匀即为8pmol/μL扩增引物。

1.6 0.5单位Taq DNA聚合酶

5单位Taq DNA聚合酶 1μL

灭菌双蒸水 加至10μL

现用现配。

1.7 10×PCR缓冲液**1.7.1 1mol/L 三羟甲基氨基甲烷-盐酸(Tris-HCl)(pH9.0)**

三羟基甲基氨基甲烷 15.8g

灭菌双蒸水 80mL

浓盐酸 调pH至9.0

灭菌双蒸水 加至100mL

1.7.2 10倍PCR缓冲液**1mol/L三羟基甲基氨基甲烷-盐酸(Tris-HCl)(pH9.0) 1mL**

氯化钾 0.373g

曲拉通X-100 0.1mL

灭菌双蒸水 加至100mL

1.8 溴化乙锭(EB)溶液

溴化乙锭 0.2g

灭菌双蒸水 加至20mL

1.9 电泳缓冲液(50倍)**1.9.1 0.5mol/L 乙二胺四乙酸二钠(EDTA)溶液 (pH8.0)**

二水乙二铵四乙酸二钠 18.61g

灭菌双蒸水 80mL

氢氧化钠 调pH至8.0

灭菌双蒸水 加至100mL

1.9.2 TAE电泳缓冲液(50倍)

三羟基甲基氨基甲烷(Tris) 242g

冰乙酸 57.1mL

0.5mol/L乙二胺四乙酸二钠溶液(pH8.0) 100mL

灭菌双蒸水 加至1 000mL

用时用灭菌双蒸水稀释使用

1.10 1.5%琼脂糖凝胶

琼脂糖 3g

TAE电泳缓冲液(50倍) 4mL

灭菌双蒸水 196mL

微波炉中完全融化，加溴化乙锭（EB）溶液20μL。

1.11 上样缓冲液

溴酚蓝0.2g，加双蒸水10mL过夜溶解。50g蔗糖加入50ml水溶解后，移入已溶解的溴酚蓝溶液中，摇匀定容至100mL。

1.12 其它试剂

异丙醇(分析纯)

70%乙醇

15mmol/L氯化镁

灭菌双蒸水

2 器材**2.1 仪器**

分析天平、高速离心机、真空干燥器、PCR扩增仪、电泳仪、电泳槽、紫外凝胶成像仪（或紫外分析仪）、液氮或-70℃冰箱、微波炉、组织研磨器、-20℃冰箱、可调移液器（2μL、20μL、200μL、1000μL）。

2.2 耗材

眼科剪、眼科镊、称量纸、20 mL一次性注射器、1.5 mL灭菌离心管、0.2 mL薄壁PCR管、琼脂糖、500 mL量筒、500 mL 锥形瓶、吸头(10μL、200μL、1000μL)、灭菌双蒸水。

2.3 引物设计

根据GenBank上已发表的炭疽杆菌POX1质粒序列，设计并合成了以下两条引物：

ATXU: 5'-AGAATGTATCACCAAGAGGC-3' ATXD: 5'-GTTGTAGATTGGAGC

CGTC-3', 此对引物扩增片段为394bp。

2.4 样品的采集与处理

2.4.1 样品的采集

病死或扑杀的动物取肝脏或脾；待检的活动物，用注射器取血5~10mL，2~8°C保存，送实验室检测。

2.4.2 样品的处理

每份样品分别处理。

2.4.2.1 组织样品处理

称取待检病料0.2g，置研磨器中剪碎并研磨，加入2mL消化液继续研磨。取已研磨好的待检病料上清100μL加入1.5 mL灭菌离心管中，再加入500μL消化液和10μL蛋白酶K溶液，混匀后，置55°C水浴中4~16h。

2.4.2.2 待检菌的处理

取培养获得的菌落，重悬于生理盐水中。取其悬液100μL加入1.5mL灭菌离心管中，再加入500μL 消化液和10μL 蛋白酶K溶液，混匀后，置55°C水浴中过夜。

2.4.2.3 全血样品处理

待血凝后取上清放于离心管中，4°C 8000 g离心5分钟，取上清100μL，加入500μL消化液和10μL蛋白酶K溶液，混匀后，置55°C水浴中过夜。

2.4.2.4 阳性对照处理

取培养的炭疽杆菌，重悬于生理盐水中。取其悬液100μL，置1.5 mL灭菌离心管中，加入500μL消化液和10μL蛋白酶K溶液，混匀后，置55°C水浴中过夜。

2.4.2.5 阴性对照处理

取灭菌双蒸水100μL，置1.5 mL灭菌离心管中，加入500μL 消化液10μl蛋白酶K溶液，混匀后，置55°C水浴中过夜。

2.5 DNA模板的提取

2.5.1 取出已处理的样品及阴、阳对照，加入600μL酚/氯仿/异戊醇混合液，用力颠倒10次混匀，12000g离心10分钟。

2.5.2 取上清置1.5mL灭菌离心管中，加入等体积异丙醇，混匀，置液氮中3分钟。取出样品管，室温融化，15000rpm离心15分钟。

2.5.3 弃上清，沿管壁缓缓滴入1ml 70%乙醇，轻轻旋转洗一次后倒掉，将离心管倒扣于吸水纸上1分钟，真空抽干15分钟（以无乙醇味为准）。

2.5.4 取出样品管，用50μL灭菌双蒸水溶解沉淀，作为模板备用。

2.6 PCR扩增

总体积20μl，取灭菌双蒸水8μl,2.5mmol/L dNTP、8pmol/μL扩增引物、15mmol/L氯化镁、10×PCR缓冲液、0.5单位TaqDNA聚合酶各2μL，2μL模板DNA。混匀，作好标记，加入矿物油20μL覆盖(有热盖的自动DNA热循环仪不用加矿物油)。扩增条件为94°C 3分钟后，94°C 30s，58°C 30s，72°C 30s循环35次，72°C延伸 5分钟。

2.7 电泳

将PCR扩增产物15μL混合3μL上样缓冲液，点样于1.5%琼脂糖凝胶孔中，以5V/cm电压于1×TAE缓冲液中电泳，紫外凝胶成像仪下观察结果。

2.8 结果判定

在阳性对照出现394bp扩增带、阴性对照无带出现(引物带除外)时，试验结果成立。被检样品出现394bp扩增带为炭疽杆菌阳性，否则为阴性。

附件2

无害化处理

1 炭疽动物尸体处理

应结合远离人们生活、水源等因素考虑，因地制宜，就地焚烧。如需移动尸体，先用5%福尔马林消毒尸体表面，然后搬运，并将原放置尸地及尸体天然孔出血及渗出物用5%福尔马林浸渍消毒数次，在搬运过程中避免污染沿途路段。焚烧时将尸体垫起，用油或木柴焚烧，要求燃烧彻底。无条件进行焚烧处理时，也可按规定进行深埋处理。

2 粪肥、垫料、饲料的处理

被污染的粪肥、垫料、饲料等，应混以适量干碎草，在远离建筑物和易燃品处堆积彻底焚烧，然后取样检验，确认无害后，方可用作肥料。

3 房屋、厩舍处理

开放式房屋、厩舍可用5%福尔马林喷洒消毒三遍，每次浸渍2小时。也可用20%漂白粉液喷雾，200mL/m²作用2小时。对砖墙、土墙、地面污染严重处，在离开易燃品条件下，亦可先用酒精或汽油喷灯地毯式喷烧一遍，然后再用5%福尔马林喷洒消毒三遍。

对可密闭房屋及室内橱柜、用具消毒，可用福尔马林熏蒸。在室温18℃条件下，对每25~30m³空间，用10%浓甲醛液（内含37%甲醛气体）约4000mL，用电煮锅蒸4小时。蒸前先将门窗关闭，通风孔隙用高粘胶纸封严，工作人员戴专用防毒面具操作。密封8~12小时后，打开门窗换气，然后使用。

熏蒸消毒效果测定，可用浸有炭疽弱毒菌芽孢的纸片，放在含组氨酸的琼脂平皿上，待熏后取出置37℃培养24小时，如无细菌生长即认为消毒有效。

也可选择其它消毒液进行喷洒消毒，如4%戊二醛（pH8.0~8.5）2小时浸洗、5%甲醛（约15%福尔马林）2小时、3%H₂O₂2小时或过氧乙酸2小时。其中，H₂O₂和过氧乙酸不宜用于有血液存在的环境消毒；过氧乙酸不宜用于金属器械消毒。

4 泥浆、粪汤处理

猪、牛等动物死亡污染的泥浆、粪汤，可用20%漂白粉液1份（处理物2份），作用2小时；或甲醛溶液50~100mL/m³比例加入，每天搅拌1~2次，消毒4天，即可撒到野外或田里，或掩埋处理(即作深埋处理)。

5 污水处理

按水容量加入甲醛溶液，使其含甲醛液量达到5%，处理10小时；或用3%过氧乙酸处理4小时；或用氯胺或液态氯加入污水，于pH4.0时加入有效氯量为4mg/L，30分钟可杀灭芽孢，一般加氯后作用2小时流放一次。

6 土壤处理

炭疽动物倒毙处的土壤消毒，可用5%甲醛溶液500mL/m²消毒三次，每次2小时，间隔1小时。亦可用氯胺或10%漂白粉乳剂浸渍2小时，处理2次，间隔1小时。亦可先用酒精或柴油喷灯喷烧污染土地表面，然后再用5%甲醛溶液或漂白粉乳剂浸渍消毒。

7 衣物、工具及其它器具处理

耐高温的衣物、工具、器具等可用高压蒸汽灭菌器在121℃高压蒸汽灭菌1小时；不耐高温的器具可用甲醛熏蒸，或用5%甲醛溶液浸渍消毒。运输工具、家具可用10%漂白粉液或1%过氧乙酸喷雾或擦拭，作用1~2小时。凡无使用价值的严重污染物品可用火彻底焚毁消毒。

8 皮、毛处理

皮毛、猪鬃、马尾的消毒，采用97~98%的环氧乙烷、2%的CO₂、1%的十二氟混合液体，加热后输入消毒容器内，经48小时渗透消毒，启开容器换气，检测消毒效果。但须注意，环氧乙烷的熔点很低（<0℃），在空气中浓度超过3%，遇明火即易燃烧发生爆炸，必须低温保存运输，使用时应注意安全。

骨、角、蹄在制作肥料或其它原料前，均应彻底消毒。如采用121℃高压蒸汽灭菌；或5%甲醛溶液浸泡；或用火焚烧。

[【返回】](#) [【打印本页】](#)

友情链接

[更多>>](#)



版权所有 吉林省动物卫生监督网 地址：吉林省长春市西安大路4510号 联系电话：0431-89343349

网站律师声明：本站内容未经同意不得转载，一经发现将追究法律责任！吉ICP备08101550号

网站标识码：2200000041

