

《全国霍乱监测方案》(2012年版)修订说明

2005年版《全国霍乱监测方案》已应用于我国霍乱重点地区监测多年，主要是选取重点地区，开展霍乱的病例搜索、危险因素调查。目前该方案已实行七年。近年来，我国的霍乱疫情出现了新的特点，一是病例数少，总体呈低发态势，疾病暴发分散；二是出现的几起数周甚至数月的暴发仍难控制，并造成较大社会影响；三是周边国家霍乱疫情仍较严重，包括越南、缅甸等国家的霍乱流行，并导致我国出现输入性霍乱病例。

鉴于目前霍乱在我国呈现低发和难以预测出现地区的特点，设立少量的霍乱主动监测点，在当前情况下可能难以捕捉到疫情以及反映霍乱在我国的流行变化。为此，我们根据当前我国霍乱流行情况及防控工作的需要，对2005年实行的《全国霍乱监测方案》进行了部分改动。

本版修订主要体现以下策略：(1) 强调全国范围的霍乱病例的及时发现，并按照甲类传染病报告管理以及我国突发公共卫生事件处置的规定开展病例发现、诊断和控制，不再设立重点地区的常规和主动监测；(2) 强调对所有霍乱病例个案以及暴发的细致调查，加强流行病学调查信息及危险因素调查监测结果的收集和利用；(3) 强调周边国家输入性霍乱的监测防控，针对东南亚邻近国家近期的霍乱流行，在云

南和广西开展边境地区霍乱哨点监测，提高边境地区医疗卫生机构的诊断发现意识以及监测能力；(4) 了解我国沿海地区霍乱及其他致泻性弧菌引起的腹泻病例的病原构成及临床特征，以指导霍乱及其他重要致泻性弧菌引起腹泻的防治，以及配合食品安全管理工作。

全国霍乱监测方案（2012年版）

一、背景

霍乱是由霍乱弧菌引起的一种急性肠道传染病，以发病急、传播快、波及范围广为特征，是《中华人民共和国传染病防治法》规定的甲类传染病之一。《国内交通卫生检疫条例》也将其列为检疫传染病。

目前全球依然处于霍乱的第七次世界大流行中，近十年每年报告至世界卫生组织的霍乱病例数在14万例至31万例之间，主要在非洲、中南美洲和亚洲。我国1961年以来出现三次较大范围跨年度的霍乱流行，自2002年开始总体处于低发水平，但局部地区暴发疫情时有发生，以食源性感染为主，特别是因海、水产品污染霍乱弧菌而引起的暴发占有较大比例，除了O1群El Tor型菌株的流行，O139群霍乱弧菌也持续引起散发以及暴发。另外，也发现数起边境输入性霍乱疫情。霍乱不仅对人民健康带来危害，而且造成一定的社会影响和经济损失。

在当前低发病率的情况下，为了及时发现霍乱疫情，做好疫情的监测、预警、溯源及控制，现对2005年制订的《全国霍乱监测方案》内容及要求进行调整，以适应当前我国霍乱流行和防治工作的需要。本方案强调霍乱病例及暴发疫情的及时发现、细致调查，以及流行病学调查关键信息及危险因素监测结果的收集和利用，加强边境重点地区腹泻病例的主动搜索，掌握边境地区霍乱及其他致泻性弧菌引起的腹泻病例的发病情况、病原构成及临床特征，以指导霍乱及其他致泻

性弧菌引起腹泻的防治。

二、监测目的

1. 及时发现霍乱病例，早期识别暴发，加强流行病学调查与处置，防止疫情扩散。了解霍乱流行的危险因素，为制定针对性的公共卫生措施提供依据。

2. 掌握我国霍乱疫情菌株的生物学特征和耐药性变化，监测菌型变迁。

3. 掌握我国沿海监测地区腹泻病例中致泻性弧菌的构成与变化，以指导霍乱弧菌及其他致泻性弧菌导致的腹泻病的综合防治。

三、监测相关定义

(一) 监测病例

1. 现行《霍乱诊断标准》中规定的霍乱疑似病例、临床诊断病例和确诊病例以及带菌者均为监测病例。

2. 腹泻病例：指每日排便三次或以上,且具有大便性状异常的病例。

(二)霍乱暴发

在短时间内局部地区发生 2 例或以上具有流行病学联系的霍乱病例及/或带菌者。

四、全国常规监测

(一) 霍乱病例的法定报告

1. 病例的发现

各地医疗机构应做好腹泻病人的就诊登记，对有霍乱疑似症状的病人应及时进行标本（粪便、肛拭子或呕吐物）的采集和检测；检测方法可采用霍乱弧菌胶体金试纸条、制动实验、分离培养、PCR检测等。无检测能力的基层医疗单位，可采集标本送至辖区疾病预防控制中心进行检测。

2.病例的报告

各级各类医疗机构、疾病预防控制机构，其执行职务的人员和乡村医生、个体开业医生等，发现霍乱病例时，应于2小时内填写《传染病报告卡》，并通过传染病疫情网络直报系统“疾病监测信息报告管理系统”进行网络直报；未实行网络直报的责任报告单位应于2小时内以最快的通讯方式（电话、传真）向当地疾病预防控制中心报告，当地疾病预防控制中心接到报告并核实后，应于2小时内通过网络进行直报，并及时填报实验室检测结果。

3.个案调查

县区级疾病预防控制机构在接到辖区内霍乱病例报告后，应立即对病例和带菌者进行详细的个案调查，参照使用《霍乱防治手册》中的个案调查表，收集病例临床表现、流行病学史、病原学检测等信息，核实诊断，并对密切接触者进行调查，根据流行病学调查结果采取相应的预防控制措施，调查结束后2天内应填写《霍乱病例个案调查信息一览表》（附表1），通过霍乱专报系统或指定的专用邮箱进行上报。

（二）暴发监测

1. 暴发的发现

医务人员在短时间发现有与霍乱病例症状相似的多例病例时，要及时报告当地疾病预防控制机构；疾病预防控制机构人员及时对疫情进行分析，发现有聚集性时，要调查核实；实验室人员发现分子分型型别一致的多个菌株，要告知流行病学专业人员，以便进行调查核实。

2. 暴发的报告、调查和处理

按照《中华人民共和国传染病防治法》，各级各类医疗机构、疾病预防控制机构、卫生检验机构执行职务的医务人员发现霍乱暴发、流行时，按照《国家突发公共卫生事件应急预案》规定级别的要求，通过传染病疫情网络直报系统“突发公共卫生事件报告管理信息系统”进行报告。

各级疾病预防控制机构在暴发疫情调查处理过程中要加强主动搜索，及时发现带菌者。对暴发疫情中的个案进行调查，进行必要的流行病学分析，尽快发现传染来源、传播因素，评价扩散危险程度。采集腹泻病例标本、相关的食品标本、环境水体标本等，进行霍乱弧菌的分离以及分离株的生物学特征、分子分型检测，收集相关信息。

暴发疫情处理结束后，要及时收集、整理、统计、分析调查资料，写出详细的报告，报告主要内容包括：疫情概况、首发病例或指示病例的描述、流行基本特征、暴发原因、实验室检测结果和病原分型、控制措施和效果评估等。在疫情控制工作结束后 7 天内完成结案报告，上传到“突发公共卫生事件报告管理信息系统”。并将霍乱暴发调查关键信息汇总表（附表 2）通过霍乱专报系统或专用邮箱进行报

告。

五、哨点监测

(一) 边境地区霍乱哨点监测

1. 监测点选择

根据与我国接壤国家或地区的霍乱流行情况，在发生输入霍乱疫情风险较高的云南、广西、新疆、辽宁四个省（自治区），分别选取 2 个边境市（县），每个市（县）选择 2 所医院，开展霍乱的哨点监测。

2. 监测内容

(1) 腹泻病例检索

按照全国常规监测的要求，做好腹泻病例的检索和登记工作。收集腹泻病人的基本信息。对近期出入境的腹泻就诊病例，特别注意病例登记信息的完整性，并进行采样（附表 3），以便对传染源进行追踪。每所医院每月采集 30 份及以上稀便、水样便为主要症状的腹泻病例粪便标本，每年采集至少 360 份腹泻病例粪便标本。

(2) 检测

市/县监测点疾病预防控制机构对当天采集的粪便样本，进行霍乱弧菌的分离培养，有关检测流程见附件 1。实验室检测结果填写附表 4，检测结果要及时反馈给医疗机构。

(3) 个案调查和处置

发现霍乱病例后，当地疾病预防控制机构及时进行流行病学调查处置。具体要求同全国霍乱常规监测。

(二) 沿海地区致泻性弧菌哨点监测

1.监测省份：选择我国沿海地区的 11 个省份,包括辽宁、河北、天津、山东、江苏、浙江、上海、福建、广东、广西和海南。

2.监测点设置：上述 11 个监测省份，分别选择 1 个市/县（区）作为监测点，每个监测点选择 2 所医疗机构作为监测哨点医院。

3. 监测方法：

(1) 腹泻病例登记

哨点医院要做好腹泻病例的登记工作。在每年 4 月到 10 月期间，每个监测点每月采集 60 份及以上腹泻病例粪便标本，每年共采集至少 420 份标本，相关信息填写附表 3。

(2) 检测

监测点市/县（区）疾病预防控制中心对采集的粪便样本，进行包括霍乱弧菌、副溶血弧菌、拟态弧菌、河弧菌、气单胞菌和类志贺邻单胞菌共 6 种致泻性弧菌的分离培养，检测流程见附件 1。实验室检测结果填写附表 4，检测结果要及时反馈给医疗机构。

(三) 危险因素监测

1.水产品监测

(1) 监测省份：北京、江苏、浙江、福建、广东、海南、湖北、湖南、安徽、江西、四川、重庆、贵州等 13 个省份。

(2) 监测点设置：以上各省选择 2 个市/县（区）作为监测点，每个监测点选择 1-2 家海产品批发市场、餐馆 1-2 家，进行水产品的监测。

(3) 监测方法：此监测为 5-10 月监测，监测点每月采集水产品一次，采样的种类主要为甲鱼、牛蛙、贝类，需记录详细养殖地点和销售地点。每个监测点每月采集 40 份标本,合计全年 480 份标本，每省共 960 份，将检测结果填写水产品霍乱监测登记表（附表 5）。每月底前将结果报告至霍乱专报系统或专用邮箱。

2.水系监测

(1) 监测省份：云南、广西和辽宁。

(2) 监测点设置：以上两省各选择 1 个边境口岸所在市/县（区）为监测点。

(3) 监测方法：在监测点的跨境水体、境外人员聚集地周围水体设立 10 个取水点，每个取水点分成相隔数米的 2 个取水位置，每个取水位置采集 1 份水样。即每个监测点采集数量为每月 20 份标本。采集时间为 4-10 月，监测结果填写水系监测结果登记表（附表 6）。

六、病原学分析

县区级疾病预防控制中心在完成菌株血清型别等基本鉴定后，如不具备开展菌株耐药性、毒素基因检测、分子分型等病原学检测的条件，应尽快将菌株送上级疾控中心检测。同时将菌株相关的个案调查获得的临床表现、流行病学史、病原学检测等信息由调查机构在 1 周内通过霍乱专报系统或专用邮箱进行报告。

（一）菌株的常规鉴定

对获得的所有霍乱弧菌菌株均必须由各级疾病预防控制中心进行 O1 或 O139 群血清学分群（型）；以县（区、市）为单位的首发病

例的菌株必须进行系统的生化鉴定、试管凝集试验、生物学分型、噬菌体—生物分型、药敏试验等项目；其余菌株的鉴定项目由各省疾病预防控制中心按实际情况确定。

其它致泻性弧菌菌株可进行生化初筛（KIA/MIU）、氧化酶和系统的生化鉴定。

（二）霍乱毒素基因检测

各省疾病预防控制中心负责全部菌株的毒素基因（CT）检测（按《霍乱防治手册》方法），不具备检测条件的省疾病预防控制中心可送国家疾病预防控制中心检测。

（三）菌株脉冲场凝胶电泳（PFGE）分析

霍乱弧菌和其它致泻性弧菌菌株的 PFGE 检测，由国家疾病预防控制中心或有条件的省疾病预防控制中心按 PulseNet China 要求的标准方法完成。省疾病预防控制中心负责选择代表性菌株开展菌株的 PFGE 分析。

（四）耐药性分析

各省由地市级或省疾病预防控制中心对分离菌株耐药性进行分析，每季度选择一定数量代表性菌株进行药敏试验。药物种类建议包括：强力霉素、诺氟沙星、环丙沙星、复方新诺明、丁胺卡那霉素、氨苄西林、阿奇霉素、头孢曲松、氯霉素、呋喃妥因、庆大霉素、阿米卡星等 12 种抗生素。应用 Kirby-Bauer 纸片法进行检测，依照现行《霍乱防治手册》关于菌株药物敏感试验方法操作，分析记录和报告在附表 7 中。省级疾控中心对耐药检测结果通过霍乱监测专报系统或

专用邮箱报告。

（五）菌株的管理

霍乱弧菌菌株管理必须依据《中华人民共和国传染病防治法》、《中国医学微生物菌种保藏管理办法》及《病原微生物实验室生物安全管理条例》的规定与要求进行保存、运送与管理。各级医疗机构实验室分离的霍乱菌株，应送交当地疾病预防控制机构进行复核。各疾病预防控制中心实验室必须设立霍乱菌株登记本，记录菌株的来源与去向（包括上送及销毁等）。所有分离的霍乱弧菌菌株必须送省级疾病预防控制中心保存。

对以下菌株，各省疾控中心应把当年收集保存的上述菌株送国家疾控中心霍乱弧菌专业保藏中心：(1)以县区为单位的散发病例菌株；(2)暴发疫情中的代表性菌株和疫情相关的来自食品和水的菌株；(3)检索 PulseNet China 分子分型数据库，为新的 PFGE 型别的菌株；(4)死亡病例的菌株；(5)国家疾控中心其他要求上送的菌株，并提供菌株来源信息。(6)各监测点分离的致泻性弧菌及气单胞菌和类志贺邻单胞菌，按照生物安全要求上送至省疾病预防控制中心。省疾病预防控制中心收到菌株后，对菌株做进一步和鉴定，并按照生物安全要求，集中送至中国疾病预防控制中心传染病所。

（六）菌株的信息报送

各省疾病预防控制中心实验室对所有分离菌株的鉴定分析数据，应在获得确认结果后立即通过霍乱专报系统报送或专用邮箱报送，PFGE 分析结果立即通过 PulseNet China 信息网络输入数据库。次年 1

月底前报送“菌株实验室检测结果登记/汇总表”(见附表4),并通过霍乱监测专报系统或专用邮箱报送。

七、监测系统组成和职责

监测系统由卫生部、各级卫生行政部门、中国疾病预防控制中心及各级疾病预防控制中心、医疗机构组成。

(一) 卫生部和各级卫生行政部门

卫生部领导全国霍乱监测工作,各级卫生行政部门负责组织开展本辖区内霍乱监测工作,并提供所需监测经费,保证监测工作的顺利开展。

(二) 中国疾病预防控制中心

1、组织全国监测方案的起草、论证、修改、调整和完善,为全国霍乱监测提供技术指导。

2、组织、确定全国监测点的布局,与国家级监测点所在省级疾病预防控制中心签订协议,明确具体任务和目标,为国家级监测点提供一定监测经费补助。

3、组织确定监测网络的统一监测和检测方法,组织对全国省级疾病预防控制中心和国家级监测点的专业技术人员的培训。

4、设计监测数据的收集流程、方式,负责全国监测数据的收集、整理,定期对监测系统的全部数据进行分析、反馈。每年对全国霍乱监测系统进行年度工作总结。

5、组织专家定期对全国霍乱监测系统进行检查、考核。

6、每年组织召开全国霍乱监测年度工作总结研讨会。

(三) 省级疾病预防控制中心

1、根据国家监测方案，结合本省实际情况制定本省监测实施方案；协助国家疾病预防控制中心确定本省国家级监测点，建立和完善本省的监测网络。

2、负责本省监测专业技术人员培训工作。

3、承担本省国家级监测点的管理、业务指导，参与国家疾病预防控制中心对国家级监测点的监测工作检查、考核。

4、与本省国家级及省级监测点疾病预防控制机构签订协议，明确具体任务和目标，按其完成情况确定监测经费补助数额。

5、完成国家监测方案中要求的菌株的收集与复核、病原学检测等监测任务。

6、对全省监测资料进行收集、汇总和分析，按方案要求的时限上报中国疾病预防控制中心，并进行反馈。

7、对监测点的监测工作进行质量控制。

(四) 市级疾病预防控制中心

根据国家监测方案的要求，协助省中心完成本地区监测点的监测任务和管理、业务指导；参与本地区监测点的监测工作。

(五) 县级疾病预防控制中心

按本监测方案要求，具体实施监测工作。完成疫情监测与报告、外环境监测、个案调查、病原学监测、暴发疫情调查与监测等任务的基础资料收集工作，按规定的时限上报至省（市）疾病预防控制中心。负责病例标本的采集、检测、上送。

(六) 医疗机构

医疗机构处在发现霍乱病例的最前沿，负责完成门（就）诊和住院病例的腹泻病人的登记和标本采集，疫情报告和腹泻病人检索情况统计报告，协助疾病预防控制机构开展病例个案调查，配合疾病预防控制机构完成本方案所要求的其它监测工作等。

七、数据统计分析

(一) 统计指标

1. 每周、月、年发病数（例）、死亡数（例）、带菌数、发病率（/10万）、病死率（%）和死亡率（/10万）。
2. 病人年龄、性别、职业、时间分布。
3. 暴发疫情的流行特征及危险因素。
4. 每月监测点腹泻病例中霍乱和其它致泻性弧菌的构成比。
5. 每月水系和水产品监测样品检出率
6. 分离菌株的型别、毒素基因检测、脉冲场凝胶电泳分型等
7. 菌株的耐药谱。

(二) 数据的报告和反馈

监测工作每月 15 日报告上月哨点监测结果，监测汇总数据及监测工作总结报告于下年度 1 月底前上报至中国疾病预防控制中心。中国疾病预防控制中心每月向各地反馈监测结果，并负责完成年度全国监测总结报告。

八、质量控制

(一) 方案的起草和论证

卫生部组织全国相关专家起草监测方案，并广泛论证。

(二) 培训

1. 法定传染病报告、突发公共卫生事件报告培训：培训相关工作人员按照规范的程序和要求时限对发现的霍乱病例进行法定传染病报告、突发公共卫生事件报告，完善相关信息的网上填报。

2. 加强监测培训：省、市/县疾病预防控制中心组织培训辖区内加强监测点的工作人员，提高现场调查、数据分析利用、采样检验等能力，人员培训合格率要求达 100%。

(三) 考核和评估

1. 实验室考核

中国疾病预防控制中心及省级疾病预防控制中心对加强监测地区的实验室进行每年一次的实验室能力考核。

2. 监测质量评估

中国疾病预防控制中心及省级疾病预防控制中心每年组织对各监测哨点医院的工作进行质量评估，对检测试剂质量进行评价，并将结果反馈给各相关单位。

(四) 督导

中国疾病预防控制中心及省级疾病预防控制中心对加强监测地区的监测工作进行督导检查，及时发现问题，提出解决方案。

附件：

1. 致病性弧菌检测 SOP

附表：

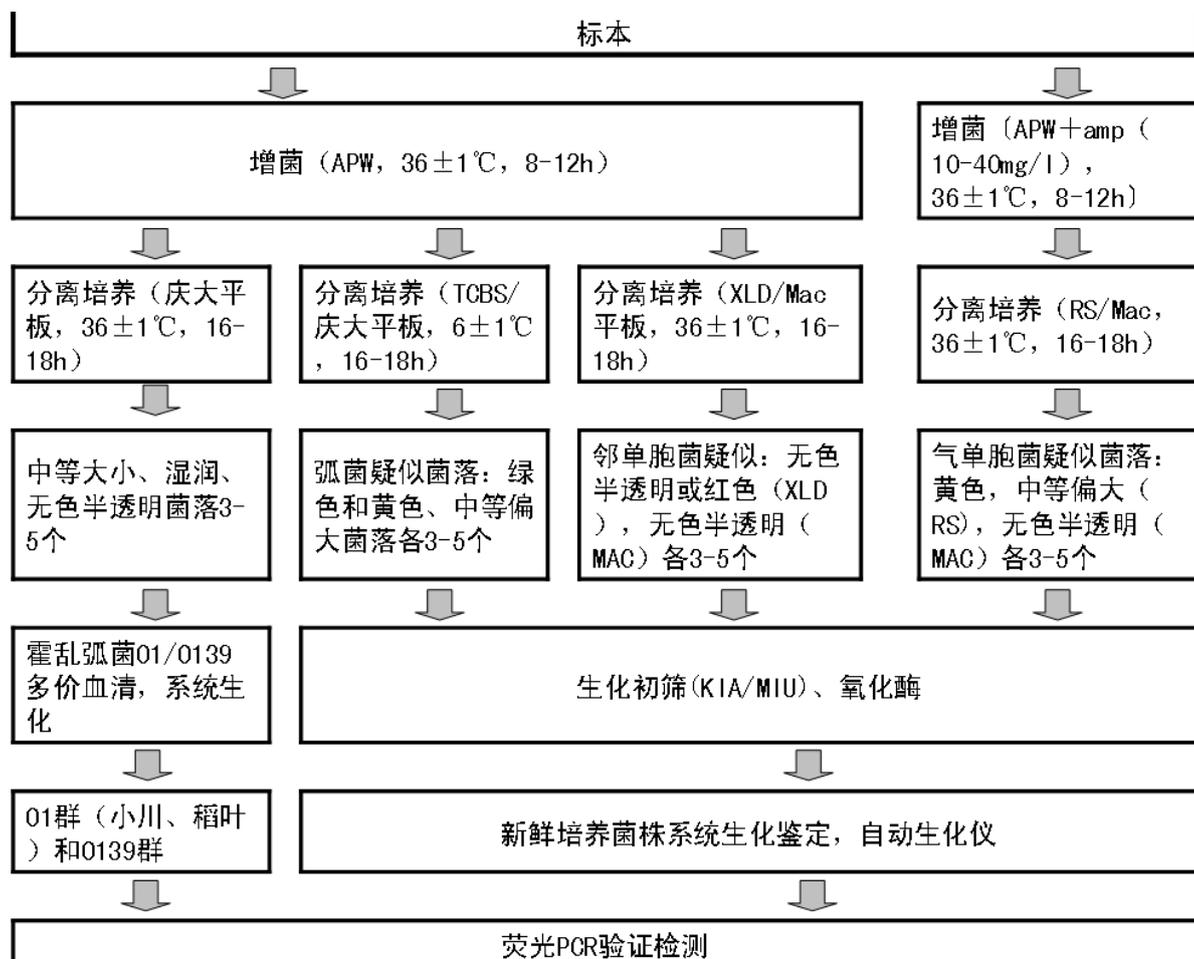
1. 霍乱病例个案调查信息一览表
2. 霍乱暴发调查关键信息汇总表
3. 腹泻病例采样登记表
4. 实验室检测结果登记/汇总表
5. 水产品监测结果登记表
6. 水系监测结果登记表
7. 菌株耐药检测结果登记表

附件 1.

致病性弧菌检测 SOP

本监测方案中需检测的致病性弧菌包括霍乱弧菌、副溶血弧菌、拟态弧菌、河弧菌，单胞菌属与邻单胞菌属包括气单胞菌和类志贺邻单胞菌。

(一) 标本检测流程图



(二) 检测程序

1. 标本的处理:

在装有标本的 Carry-Blair 培养基中，沾取一棉签标本，分别放入碱性蛋白胨水（APW）和含有氨苄霉素（amp, 终浓度 10-40mg/L）的 APW 中，37℃增菌培养 8-12 小时。

2. 分离培养:

增菌培养后的菌液中，选择生长最茂盛的培养基表面或菌膜下表层，取一接种环，APW 增菌液分别划线接种 TCBS、庆大琼脂和麦康凯（Mac）平板，含有氨

苜霉素的 APW 增菌液划线接种 Mac 平板。37℃ 培养 12~18 小时后，从庆大琼脂上选择单菌落做霍乱弧菌血清凝集实验；从 TCBS 琼脂上选择单菌落，做其他弧菌的进一步鉴定实验；从 Mac 平板上选择单菌落做气单胞菌和类志贺邻单胞菌的进一步鉴定实验。

3. 生化检测：

从 TCBS 和麦康凯平板上挑取菌株先进行生化初筛（KIA/MIU）、粘丝实验和氧化酶实验鉴定，有条件者进行 API20NE 系统和自动生化仪鉴定，可参考使用操作说明。粘丝实验和氧化酶实验阳性者初步鉴定为弧菌。

4. 血清学鉴定：

主要针对霍乱弧菌，从庆大琼脂平板直接挑取 10 个湿润、无色透明或菌落中心带有灰黑点的可疑菌落，与 O1 群和 O139 群霍乱弧菌多价诊断血清作玻片凝集试验，如很快出现肉眼可见的明显凝集颗粒者即为阳性反应。同时用生理盐水作对照试验，以排除因自身凝集而导致的假阳性反应。随后用小川和稻叶单价血清分型。对 O1 群不凝集者再继续用 O139 群诊断血清作玻片凝集。

5. 荧光 PCR 检测

5.1 霍乱弧菌

5.1.1 O1 和 O139 双重实时 PCR 验证检测

O1 和 O139 双重实时 PCR 引物和探针序列

	核苷酸序列 (5'~3')	产物长度 (bp)
O1 F	GGAATAACTCAAGGCGATGAAGTG	
O1 R	TAGAGACTCACCTTCGATTTTCAGC	117
O1 P	FAM- AAACGGGTAACGCACCACACTGGACT -BHQ1	
O139 F	CGATGGCGTGTTTCATTAGAAGG	
O139R	TCCCTTTCCACCTCGGTATTTTC	104
O139 P	HEX- CGGCAAACACTGGCAGCAAACACTCAGCA -BHQ1	

O1 和 O139 群霍乱弧菌双重 TaqMan 实时 PCR 的反应体系和反应条件为：实时 PCR 采用 20 μl 反应体系，每个反应中含 10 μl 通用 PCR 反应混合物，O1 *rfb* 基因上下游引物（10 μmol/L）各 0.4 μl，探针（10 μmol/L）0.4 μl；O139 *rfb* 基因上下游引物（10 μmol/L）各 0.4 μl，探针（10 μmol/L）0.4 μl，去离子水 5.6 μl，

DNA 模板 2 μl 。

循环条件为：95 $^{\circ}\text{C}$ 30s, 95 $^{\circ}\text{C}$ 5s 和 60 $^{\circ}\text{C}$ 20s, 循环 40 次, 在退火阶段检测荧光。

5.1.2 霍乱弧菌毒素基因 (ctx) 检测

ctx 引物和探针的序列

	核苷酸序列 (5' ~3')	产物 (bp)
CT1 F	CTCCCTCCAAGCTCTATGCTC	
CT1 R	TACATCGTAATAGGGGCTACAGAG	114
CT1 P	FAM-ACCTGCCAATCCATAACCATCTGCTGCTG-BHQ1	

ctx TaqMan 实时 PCR 反应条件为：实时 PCR 采用 20 μl 反应体系, 每个反应中含 10 μl 通用 PCR 反应混合物, 上下游引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.4 μl , 探针 (10 $\mu\text{mol/L}$) 0.4 μl , 去离子水 6.8 μl , DNA 模板 2 μl 。

循环条件为：95 $^{\circ}\text{C}$ 30s, 95 $^{\circ}\text{C}$ 5s 和 60 $^{\circ}\text{C}$ 20s, 循环 40 次, 在退火阶段检测荧光。

5.2 其它弧菌和嗜水气单胞菌 TaqMan 实时 PCR 检测:

TaqMan 实时 PCR 引物和探针序列

	基因名称	核苷酸序列 (5' ~3')	产物 (bp)
副溶血弧菌	ToxR F	5' -CTGGTTGCCTTCTATTGAGCAG -3'	
	ToxR R	5' -TTCTCATACGAGTGGTTGCTGTC -3'	147
	ToxR P	FAM-CGCTACGTTAAGCACCATGCAGAAGACTC-BHQ1	
拟态弧菌	vmh F	5' -GGTATGTGTTAAGGCGTAGTTCTG -3'	
	vmh R	5' -GGTTCAAATCATCGAGCAAACCC -3'	106
	vmh P	HEX-CTTCTCGTGGGTTACCGTCGTCATCCTT-BHQ1	
河弧菌	toxR F	5' -GACGCTTGGCAGTGTTC AAC -3'	
	toxR R	5' -GTGCATTCCACCATATTTTCTTACG -3'	113
	toxR P	5' -(FAM) TGTCAGCAGCCAATCAATCACCCG (Eclipse) -3'	
创伤弧菌	VVH F	5' -GATGTTTATGGTGAGAACGGTGAC -3'	
	VVH R	5' -TCTTTATCTAGGCCCAAACTTGG -3'	101

	VVH P	FAM-CTGCCGTGACAGCTCCAGCCGTAA-BHQ1	
溶藻弧菌	COL F	5' -GTGGCTTACACGTTGGAATGATC -3'	
	COL R	5' -TTTGGCAAGGTCTGTTTGGTTAC -3'	142
	COL P	HEX-CACAAATTGCTCGTTCCACTGCCACC-BHQ1	
嗜水气单胞	ahaF	5' -GCCGTCGAAACCAACGTAGA -3'	
	ahaR	5' -CAACACCTGGTCCGGTATCG -3'	100
	ahaP	FAM-CAGCAGAACTTGCCACTCGGTCTTG - BHQ1	

上述 TaqMan 实时 PCR 反应条件为：实时 PCR 采用 20 μ l 反应体系，每个反应中含 10 μ l 通用 PCR 反应混合物，上下游引物（10 μ mol/L）各 0.4 μ l，探针（10 μ mol/L）0.2 μ l，去离子水 7.0 μ l，DNA 模板 2 μ l。

循环条件为：95 $^{\circ}$ C 30s，95 $^{\circ}$ C 5s 和 60 $^{\circ}$ C 20s，循环 40 次，在退火阶段检测荧光。

5.3 邻单胞菌 SYBR Green I PCR 检测：

	引物（5' ---3'）	产物长度（bp）
PS23FW3	5P-CTC CGA ATA CCG TAG AGT GCT ATC C-3P	284
PS23RV3	5P-CTC CCC TAG CCC AAT AAC ACC TAA A-3P	

SYBR Green I PCR 反应条件为：采用 20 μ l 反应体系，每个反应中含 10 μ l 通用 PCR 反应混合物，上下游引物（10 μ mol/L）各 0.5 μ l，去离子水 7.0 μ l，DNA 模板 2 μ l。

循环条件为：95 $^{\circ}$ C 30s，95 $^{\circ}$ C 5s 和 60 $^{\circ}$ C 20s，循环 40 次，在退火阶段检测荧光。

6. 脉冲场凝胶电泳（PFGE）

按照 PulseNet China 中的 PFGE 标准实验方案操作。

7. 菌株的保存和上送：

室温保存密封处理的半固体培养基保菌菌种至少 2 套（穿刺接种后 36 $^{\circ}$ C 培养过夜即可）或 30%甘油肉汤冻存管-70 $^{\circ}$ C 保存菌株至少 2 套。按照方案要求定期上送。

附表 2.

霍乱暴发调查关键信息汇总表

调查内容	结果	调查内容	结果
起止时间		聚餐规模： ≤ 10 人	是 否
报告日期		11-20 人	是 否
核实诊断日期		≥ 21 人	是 否
发生地区		聚餐地点：餐馆	是 否
居住地：农村	是 否	家庭、社区	是 否
城乡结合部	是 否	集体食堂	是 否
城区	是 否	其它	是 否
波及人数		可疑感染来源：甲鱼	是 否
病例总数		牛蛙	是 否
临床诊断病例数		贝类	是 否
确诊病例小计		其他鱼类	是 否
小川型		卤肉制品	是 否
稻叶型		蔬菜类	是 否
彦岛型		不洁饮用水	是 否
0139 群		密切接触	是 否
带菌者小计		可疑食物来源地或生产地	
小川型		可疑食物污染环节：生产/饲养	是 否
稻叶型		加工环节	是 否
彦岛型		销售环节	是 否
0139 群		水源污染原因：暴雨、台风	是 否
住院隔离治疗人数		厕所渗透	是 否
医学观察人数		自来水管破裂	是 否
带菌者服药人数		水源未消毒	是 否

填表人 _____ 填表日期： _____ 填表单位： _____

附表 3.

腹泻病例采样登记表

监测地区：_____省（自治区、直辖市）_____市（区、县）_____乡（镇）

样品 编号	姓 名	性 别	年 龄	家 庭 住 址	临床症状	发热（℃）	粪便性状	临床 诊断	发病 日期	采样 日期	备注

注：①粪便性状：1. 鲜血样便 2. 血便相混 3. 脓血便 4. 黑便 5. 粘液便 6. 米泔水样便 7. 水样便 8. 稀便

② 临床症状（可多选）：1 腹泻、2 腹痛、3 左下腹部压痛 4 呕吐 5 里急后重 6 脑水肿表现，如烦躁不安、惊厥 7 有感染性休克症，如面色苍白、四肢厥冷、脉细速 8 突然高热；

③ 发热体温填写病程中最高一次体温

填表人_____ 填表单位：_____ 填表日期：_____

附表 4.

实验室检测结果登记/汇总表

监测地区 _____ 省（自治区、直辖市） _____ 市（区、县） _____ 乡（镇）

样品编号	样品来源				菌株编号	菌株鉴定结果			毒素/毒力基因	PFGE 型	备注
	患者		环境（水产品或水系）			生化	血清群及生物型	其它			
	暴发	散发	暴发	散发							

填表人 _____ 填表单位： _____ 填表日期： _____

