

附件 10:

全国伤寒、副伤寒监测方案

(试行)

一、概述

伤寒、副伤寒是《中华人民共和国传染病防治法》规定的乙类传染病，其传染性强、病程长、易复发、并发症多、疾病负担较重。1990 年以后，我国的伤寒、副伤寒的发病得到一定控制，平均发病率在 4.08-10.45/10 万之间，每年报告病例 5.1-12 万例。但部分省份（如贵州、云南、广西、浙江、新疆等）的发病仍高居不下，远远高于全国平均发病水平，暴发时有发生；近五年一些地区副伤寒流行加重，病原流行谱发生变化，出现耐药菌株，流行因素尚不完全明确，防治工作面临困难。为进一步加强我国伤寒、副伤寒的监测工作，为制定防治策略和措施提供科学依据，特制订本方案。

二、监测目的

- 1、及时掌握伤寒、副伤寒在我国的发病情况，查明高发地区暴发、流行的主要原因；
- 2、明确高发地区伤寒、副伤寒的病原变异、菌株耐药性的变迁情况；
- 3、在重点地区追踪监测带菌者；

三、监测定义

(一) 病例定义

1、疑似病例

在伤寒、副伤寒流行地区，不明原因持续发热或反复发热 3 天或以上，体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ，伴头痛、乏力、腹部不适等症状，但实验室检验结果尚未明确的病例。

2、临床诊断病例

符合以下临床症状和实验室检查的病例作为临床诊断病例：不明原因持续发热或反复发热 5 天或以上，体温 $\geq 39^{\circ}\text{C}$ ，头痛、全身乏力、表情淡漠、相对缓脉、伴消化道症状或皮肤充血或多系统受累表现，白细胞总数低或正常。

3、确诊病例

临床诊断病例如有以下项目之一者即为确诊病例：

- (1) 从血、骨髓、粪便、尿等任一种标本分离到伤寒或副伤寒沙门菌；

(2) 血清特异性抗体阳性：肥达氏反应“0”抗体凝集效价 $\geq 1:80$ ，伤寒或副伤寒鞭毛抗体凝集效价 $\geq 1:160$ ，恢复期血清效价4倍以上增高。

(二) 暴发疫情定义

在局部地区或单位（比如在一个自然村或一个居委会、或一个单位团体），两周内出现5例或以上伤寒、副伤寒病例。

四、监测内容和方法

(一) 全国常规监测

1、常规疫情监测

按照《中华人民共和国传染病防治法》和《突发公共卫生事件与传染病疫情监测信息报告管理办法》，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疑似、临床诊断或实验室确诊病例后，城镇应于6小时，农村应于12小时内填写报告卡，通过传染病疫情监测信息系统进行网络直报。不具备网络直报条件的应在诊断后24小时内向相应单位送（寄）出传染病报告卡，县级疾病预防控制机构和具备条件的乡镇卫生院收到传染病报告卡后应立即进行网络直报，并及时开展现场调查与处理工作。

2、暴发疫情监测

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伤寒暴发、流行疫情时，按照《国家突发公共卫生事件应急预案》规定级别的要求进行报告。

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，对所有病例和带菌者进行个案调查（见附表1），并将个案调查表录入数据库，在上报疫情总结报告时，一并上报数据库。

伤寒、副伤寒暴发疫情调查和处理步骤见附件1。

暴发疫情发生时，要对所有病例进行个案调查，并将个案调查表录入数据库，在上报疫情总结报告时，一并上报数据库。个案调查表见附表1。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。

3、实验室监测

(1) 病原分离与鉴定

在流行季节,由各省组织收集临床诊断病例的不同病程的相应标本进行病原的分离和鉴定。结果录入伤寒、副伤寒采样登记表(见附表2)。各地病原分离和鉴定结果每年逐级上报(见附表3)。

发生暴发疫情时,对新发病例和疑似病例,应在抗生素应用前,尽早采集血标本,进行病原分离和鉴定。在暴发疫情控制结束7日内,相关实验室采样、检测和分离结果,随疫情控制总结报告一并报告。标本采集,分离培养和鉴定见附件2。

(2) 耐药性分析

各省应加强分离菌株的耐药性分析,每季度均要完成一定数量菌株(散发菌株占90%,暴发菌株占10%)的药敏试验。检测药物种类包括青霉素类,头孢类,氨基糖甙类,喹诺酮类抗生素和其它抗生素,除指定必做的抗生素外,各地可根据当地实际情况增加药物种类,检测方法和结果判定详见附件3,药敏结果按季汇总逐级上报(见附表4)。

(3) 菌株的管理

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》的规定与要求对分离到的伤寒、副伤寒菌株进行保存、运送与管理。各级医疗机构实验室分离的伤寒、副伤寒菌株,应送交当地疾病预防控制机构进行复核,复核菌株送省、市级疾病预防控制机构保存;各疾病预防控制中心实验室必须设立伤寒、副伤寒菌株登记本,基本内容参见附表5。各省级疾病预防控制中心每年按国家疾病预防控制中心传染病预防控制所的工作要求收集、上送菌株,并提供菌株来源信息(详见附件5)。

(二) 监测点监测

1、国家监测点选择

(1) 选择近5年伤寒、副伤寒发病率较高的贵州、云南、广西、浙江、江苏、新疆为国家监测省份。各省以县(区)为单位,根据既往发病水平和工作条件,设置两个疫情高发监测点(近5年来每年发病率均高于本省平均水平)。

(2) 监测点具有一定的工作基础,能够承担并完成监测任务。

(3) 根据疫情变化情况,可适时调整监测点。

2、国家监测点工作内容

各监测点除完成全国常规监测工作内容外,需完成以下工作:

(1) 病例监测

各监测省份每年至少采集600例疑似和临床诊断病例的标本(其中疑似病

例 200 例), 要求第三季度至少检测 300 例, 其余季度各至少检测 100 例。每个病例根据病程, 应采集病例早期发热时的血样和病程后期的粪便标本。对标本进行伤寒、副伤寒沙门菌分离和鉴定(副伤寒要明确区分甲、乙、丙型), 并填报伤寒、副伤寒病例采样登记表(见附表 2)。病原分离和鉴定结果按月逐级上报(见附表 3)。

(2) 重点人群监测

重点人群包括监测点内的饮食从业人员、自来水管理人员和伤寒副伤寒的出院患者。

各监测点在本地选择 5-6 所厂矿、学校等集体单位共 75 例饮食从业人员等重点人群为监测对象, 在 7-10 月每月采集一次粪便标本进行病原检测, 监测其带菌情况, 发现阳性带菌者要及时调离治疗。

各监测点选择 50 例伤寒副伤寒确诊病例, 在临床治愈或出院 1 个月后, 间隔 2-3 天, 粪检两次, 了解其排菌情况。发现带菌者, 督促其继续治疗, 并对其带菌情况追踪观察, 直至连续两次粪检阴性为止。

各监测省份每年至少追踪观察 200 例重点人群, 其中伤寒副伤寒的出院患者 50 例, 饮食从业人员和自来水管理人员等重点人群共 150 例。

以上监测结果填报伤寒副伤寒采样登记表(见附表 2)按季度逐级上报。

(3) 菌株耐药性监测

监测点从病例、重点人群中分离到的菌株要进行药敏实验, 动态观察菌株耐药性变迁。药物种类除指定必做的抗生素外, 各地可根据当地实际情况增加药物种类; 检测方法及结果判定详见附件 3, 药敏结果按季度汇总逐级上报(见附表 6、附表 7)。

(4) 菌株分子生物学检测分析

每年国家疾病预防控制中心传染病预防控制所腹泻病室组织各监测省, 选择上年具有代表性的菌株按照 PulseNet China 中有关伤寒沙门氏菌的脉冲场凝胶电泳(PFGE)方法的标准进行分析, 并将结果反馈给各省。

五、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和相关医疗机构组成。

卫生部负责全国的监测工作, 各级卫生行政部门负责组织开展本辖区内监测工作, 并提供所需监测经费, 保证监测工作顺利开展。

中国疾病预防控制中心负责监测方案制订、组织考察、确定全国监测点布局、人员培训、技术指导和系统评价，并加强监测工作实施的检查和质量控制。各级疾病预防控制中心负责具体实施。国家对选择的监测点提供部分经费补助，监测点所在省应给予配套经费支持。

各有关医疗机构在当地卫生行政部门的统一领导下，配合疾病预防控制中心的各项监测工作，协助完成就诊病例的标本采集和个案调查工作。

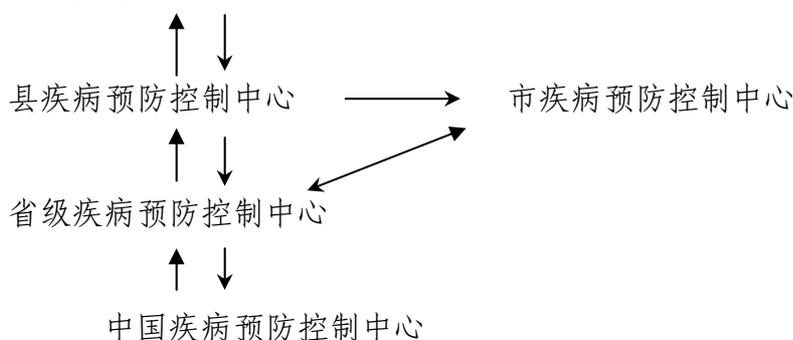
六、数据收集、分析和反馈

（一）数据收集内容：

- 1、伤寒、副伤寒流行病学个案调查表和个案数据库
- 2、伤寒、副伤寒病例采样登记表
- 3、伤寒、副伤寒病原分离鉴定月报表
- 4、伤寒、副伤寒菌株药敏结果汇总季报表
- 5、伤、寒副伤寒菌株登记表
- 6、伤寒、副伤寒菌株药敏结果记录表
- 7、暴发疫情调查报告

（二）数据收集流程

监测点实施监测内容，各种数据收集、分析以及各种标本的采集



（三）统计分析内容和指标

- 1、发病情况：发病数、死亡数、发病率、病死率和死亡率。
- 2、病例分布情况：病人年龄、性别、职业和时间、地理分布等。
- 3、重点人群带菌和慢性带菌者追索情况
- 4、实验室监测结果
 - （1）菌株型别构成和变迁
 - （2）菌株敏感药物和耐药情况
 - （3）分子生物学特征

5、暴发疫情数量、分布和特征

(四) 数据的报告和反馈

监测工作中规定的各类报表均以电子文件形式上报，月报每月 10 日前，季报在下季度首月 10 日前，年报于下年度 3 月 10 日前上报至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每季度以简报形式向各地反馈监测结果，并负责完成年度全国监测总结报告。

电子信箱地址: fuxiejiance@icdc.cn

传真: 010-61739156

七、监测质量控制

(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

在监测工作开始前，由中国疾病预防控制中心组织统一培训。

(三) 病原核实

各省对上送菌株进行复核鉴定，鉴定符合率不低于 95%。中国疾病预防控制中心传染病预防控制所应对省级疾病预防控制中心送交的分离菌株抽样 30% 进行菌型鉴定。鉴定符合率不低于 95%。

(四) 技术资料档案管理，原始记录，总结等。

八、附件

附表 1 ____年伤寒、副伤寒暴发疫情流行病学个案调查表

附表 2 ____年伤寒、副伤寒病例采样登记表

附表 3 ____年伤寒、副伤寒病原分离鉴定报表

附表 4 ____年__季伤寒、副伤寒菌株药敏结果汇总报表

附表 5 ____年伤寒、副伤寒菌株登记表

附表 6 ____年伤寒、副伤寒菌株药敏结果记录表

附件 1 伤寒、副伤寒暴发疫情调查步骤

附件 2 标本采集、分离培养和鉴定

附件 3 药敏试验

附件 4 菌种管理

附表1 _____年伤寒、副伤寒爆发疫情流行病学个案调查表

地区国标编码□□□□□□□□

病例编码□□-□□□□

1. 一般情况

- 1.1 姓名 _____，若为 14 岁以下儿童，家长姓名 _____
- 1.2 性别 (1) 男 (2) 女
- 1.3 年龄 _____ (岁、月)
- 1.4 职业
- (1)幼托儿童 (2)散居儿童 (3)学生 (4)教师 (5)保育员 (6)餐饮食品人员 (7)公共场所服务员
(8)商务人员 (9)医务人员 (10)工人 (11)民工 (12)农民 (13) 牧民 (14) 渔(船)民 (15) 海员及长途驾驶员 (16) 公务人员及职员 (17) 离退人员 (18) 家政、家务及待业 (19) 不详 (20) 其他
- 1.5 文化程度
- (1)学龄前儿童 (2)文盲 (3)小学 (4)初中 (5)高中 (6)大学及以上 (7)不详
- 1.6 现住址 _____
户口地 _____
- 1.7 工作(学习)单位 _____
- 1.8 联系人 _____ 联系电话(办) _____ (宅) _____ (手机) _____

2. 发病情况

- 2.1 发病日期 ____年__月__日__时
- 2.2 发病地点 _____
- 2.3 首诊时间 ____年__月__日__时
- 2.4 首诊单位 _____
- 2.5 诊断医院 _____
- 2.6 报告时间 ____年__月__日__时
- 2.7 是否住院 ①是 ②否
- 2.7.1 住院时间 ____年__月__日__时
- 2.7.2 出院时间 ____年__月__日__时

3. 临床资料

- 3.1 临床表现
- 3.1.1 发热 (1)有 (2)无
- 3.1.1.1 发热持续____天
- 3.1.1.2 最高体温____℃
- 3.1.1.3 热型 (1)稽留热 (2)弛张热 (3)不规则
- 3.1.2 畏寒 (1)有 (2)无
- 3.1.3 头痛 (1)有 (2)无
- 3.1.4 头晕 (1)有 (2)无
- 3.1.5 腹痛 (1)有 (2)无
- 3.1.6 腹胀 (1)有 (2)无
- 3.1.7 便秘 (1)有 (2)无
- 3.1.8 腹泻 (1)有 (2)无
- 3.1.9 便血 (1)有 (2)无
- 3.1.10 恶心 (1)有 (2)无
- 3.1.11 呕吐 (1)有 (2)无
- 3.1.12 表清淡漠 (1)有 (2)无
- 3.1.13 谵妄 (1)有 (2)无
- 3.1.14 昏迷 (1)有 (2)无

- 3.1.15 相对缓脉 (1)有 (2)无
- 3.1.16 玫瑰疹 (1)有 (2)无
- 3.1.17 脾大 (1)有 (2)无
- 3.1.18 肝大 (1)有 (2)无
- 3.2 有无下列并发症?
- 3.2.1 肠出血 (1)有 (2)无
- 3.2.2 肠穿孔 (1)有 (2)无
- 3.2.3 其它(注明) _____
- 3.3 病人转归 (1)痊愈 (2)带菌 (3)死亡

- 3.4 诊断依据
- 3.4.1 确诊依据 (1)临床 (2)病原学 (3)血清学

3.4.2 检验结果

(1) 培养(细菌型别)

日期	血	粪	尿	其它

(2) 肥达氏反应

日期	O	H	A	B	C

(3) 白细胞计数、分类

日期	总数	中性	淋巴	嗜酸性	其它

4. 流行病学调查
- 4.1 传染源和传播途径的追溯(病前1个月):
- 4.1.1 外出史 (1)有 (2)无
- 4.1.1.1 去过何地 _____
- 4.1.1.2 在该地有无下列活动
- (1) 住宿 (1)有 (2)无
- (2) 用餐 (1)有 (2)无
- (3) 带回食品 (1)有 (2)无
- 食品名称: _____
- 4.1.1.2.4 该地同样疾病 (1)有 (2)无
- 4.1.2 外人来家 (1)有 (2)无
- 4.1.2.1 来自何地 _____
- 4.1.2.2 该地同样疾病 (1)有 (2)无
- 4.1.2.3 来后有无下列活动
- (1) 在家住宿 (1)有 (2)无
- (2) 在家用餐 (1)有 (2)无
- (3) 带来食品 (1)有 (2)无
- 食品名称: _____
- 4.1.3 接触过同样病人 (1)有 (2)无
- 4.1.3.1 接触时间 ____年____月____日____时
- 4.1.3.2 接触地点 _____
- 4.1.3.3 接触方式
- (1) 同吃 (1)有 (2)无
- (2) 同住 (1)有 (2)无

- (3) 护理 (1)有 (2)无
- (4) 其他 (1)有 (2)无
- 4.2 饮食情况 (病前 1 个月)
- 4.2.1 饮生水 (1)有 (2)无
- 4.2.1.1 水源类型 (1)井水 (2)河水 (3)塘水 (4)自来水 (5)其他
- 4.2.2 吃生冷食品 (1)有 (2)无
- 4.2.2.1 生冷食品名称 _____ 购买地点 _____
- 4.2.3 熟食冷吃 (1)有 (2)无
- 4.2.3.1 熟食品名称 _____ 购买地点 _____
- 4.2.4 其他可疑食品名称 _____ 购买地点 _____
- 4.2.5 在外就餐史 (1)有 (2)无
- 4.2.5.1 就餐地点 (1)排档 (2)个体餐馆 (3)宾馆餐厅 (4)其他
- 4.2.5.2 就餐地点名称 _____
- 4.2.6 同餐者 (1)有 (2)无
- 4.2.6.1 同餐人数 _____
- 4.2.6.2 同餐日期 ____年__月__日__时
- 4.3 预防接种 (1)有 (2)无
- 4.3.1 最近一次接种时间 ____年__月__日
- 4.3.2 接种____次
5. 疫点疫区处理
- 5.1 县级疾控中心接到报告时间 ____年__月__日__时
- 5.2 县级疾控中心到达现场时间 ____年__月__日__时
- 5.3 疫点 _____个
- 5.4 范围 _____户_____个
- 5.5 解除时间 ____年__月__日__时
- 5.6 终末消毒时间 ____年__月__日__时

6. 小结 _____

调查者单位: _____

审核者: _____

调查者: _____

调查日期: _____

填表说明:

病例编码第 1、2 位填年份, 如 2005 年则填写“05”, 后四位填病例的流水号。

附表2

_____年伤寒、副伤寒病例采样登记表

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

国家监测点：是， 否 病例监测：是， 否 重点人群监测：是， 否

标本 编号	姓 名	性 别	年 龄	家庭住址	联系电话	发病 日期	就诊 日期	采样 日期	标本名称 (血尿、 便等)	采样 单位	实验室检查结果								
											病原分离			血清肥达氏（效价）					
											伤寒	副伤寒			TO	TH	A	B	C
												A	B	C					

填表说明：

1. 实验室结果，病原分离阳性用“+”表示，阴性用“-”表示。

监测时间：_____年_____月 填表单位：_____ 填表日期：_____

附表 5

_____年伤寒、副伤寒菌株登记表

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

序号	菌种号	菌株 型别	菌株来源			病人姓名	性别	年龄	病人家庭住址 (或水、食品采样 地点)	发病 日期	采样 日期	分离 日期	保存 日期	玻片凝集				保存基质 和温度
			病人	水	食品									伤寒	甲副	乙副	丙副	

监测时间：_____年____月至_____月

检测单位：_____ 检测者：_____

填表单位：_____

填表日期：_____

伤寒、副伤寒暴发疫情调查步骤

一、调查目的

迅速查明暴发的原因，采取紧急措施，控制暴发，防止疫情蔓延。

二、调查的步骤及内容

1、调查准备

通过上报信息、电话交流对此次暴发的基本情况和分布特征做一般性了解，确定调查组人员，明确调查任务、内容与方法，准备使用的调查表格，相应的检验试剂和仪器、个人防护与消杀设备赶赴现场。

2、核实诊断

根据病人临床症状、实验室检查结果及流行病学特征，判定是否符合伤寒副伤寒初步诊断及流行规律。

3、调查伤寒、副伤寒暴发的基本情况

(1) 暴发开始的时间，首发病例起始及发展过程。

(2) 波及范围，病例数及三间分布。

(3) 发病地近期人群的生活和活动等情况（饮食、水源，集会、外出交往活动等），有无与本次暴发发生的因素。

4、确定暴发，形成发病原因假设

经初步调查分析明确诊断，掌握病例的数量和分布及可能的原因。判定是否为暴发及严重程度，形成暴发原因假设。

5、确定暴发病例

(1) 确定病例与密切接触者定义：根据已知暴发病例的主要症状、有无接触史、体征和实验室检测，结合本次暴发的时间、地点，参考伤寒、副伤寒的诊断标准确定诊断、疑似病例、密切接触者的定义。

(2) 所发现的病例进行甄别，确定是否为伤寒、副伤寒病例。

(3) 确定病例是否是该次暴发的病例。

6、初步分析

(1) 流行特征分析 三间分布分析。

(2) 传播方式分析 找出共同的暴露因素及其他传播方式。

(3) 暴发原因分析 围绕病人感染时间前后，追查并对比感染和未感染人群的生活、生产及活动情况，找出与感染有关的因素，推断出主要的传播因素及

传染源。

7、采取防治措施

针对传染源与传播途径，隔离治疗病人，追踪留观密切接触者，对疫点、疫区进行消毒，对健康人群开展针对性的健康教育。

8、深入调查与验证假设

拟订调查提纲，通过访问、现场观察、实验室检验等方式开展深入调查。收集伤寒副伤寒既往流行病学资料及相关背景资料：人口、地理、生态、气象、社会、民族等资料，同时开展必要的实验室检查。通过资料的对比分析，确定暴发的来源、传播因素及促成暴发的因素，以及采取措施后的发病特点，验证有关暴发原因假设。

9、调查报告

报告内容包括：疫情概况、首发病例或指示病例的描述、流行基本特征、临床特征、传播因素、传播链和流行趋势分析、菌株的实验室检测项目和结果、感染谱的分析、控制措施和效果评估等。

1. 标本采集

标本采集应在 2 小时内用无菌方法采集新鲜标本，置于灭菌容器中或直接接种于增菌培养基中，登记好标本编号和来源送检，如不能及时送检，标本要存放在专用的标本运送箱内，包扎好以免容器破损。

1.1 血液

应根据病程的不同阶段采集不同标本进行检测，宜在发病早期和抗生素使用前采集。抽取病人 3~5ml 血液，立即接种已在室温 (>20℃) 平衡的血培养瓶中。推荐采血量为 10ml。所有情况下，接种的标本量必须做好记录。血培养瓶在室温条件下运送至实验室。

1.2 血清

余下的 2ml 病人血液（作为上述采集血液程序的一部分）及病后 2-3 周采集恢复期血液 2ml，分离血清做血清学检测（肥达氏试验等）。

1.3 粪便

用无菌采便器采集新排出的粪便约 1g 直接放入增菌培养管（8-10ml 沙门菌增菌液）内，尽快送检。

1.4 水样标本 按《伤寒、副伤寒防治手册》中所述的方法进行水源标本的采集和分离培养。

1.5 食品标本 固体食品需剪碎和研磨，奶和奶制品可直接取样增菌，具体操作见《伤寒、副伤寒防治手册》，所用的培养基及鉴定方法参考《中华人民共和国国家标准（食品卫生检验方法微生物学部分）》。

注意事项 采集标本及标本接收时应认真核对名单及标本号，并作好收样记录（附表 2）。

2. 分离培养

2.1 血培养 血培养瓶放在 37℃ 培养箱里培养 10 天，每天观察生长情况，如出现混浊现象，应马上转种麦康凯/血平板，即使没有肉眼可见的生长，也必须在 1、2、7 天转种麦康凯/血平板。

2.2 粪便培养 增菌管 37℃ 培养 18~24 小时，挑取培养物转种到 SS 平板，37℃ 培养 18~24 小时，如果没有观察到有可疑菌落生长，再继续培养 24 小时，观察结果，挑取可疑菌落。

2.3 水样标本 按《伤寒、副伤寒防治手册》中所述的方法进行水源标本的采

集和分离培养。

2.4 食品标本 固体食品需剪碎和研磨，奶和奶制品可直接取样增菌，具体操作见《伤寒、副伤寒防治手册》，所用的培养基及鉴定方法参考《中华人民共和国国家标准（食品卫生检验方法微生物学部分）》。

2.5 菌落形态 见表 1。

表 1 沙门菌属菌落形态

	沙门菌属	大肠杆菌
麦康凯平板	不发酵乳糖（无色）的光滑型菌落	发酵乳糖（粉色）的光滑型菌落
SS 平板	不发酵乳糖、产 H ₂ S（中心黑色的无色菌落）或不产 H ₂ S	发酵乳糖（粉色）菌落

3. 生化鉴定

从每个标本的血培养瓶转种的麦康凯平板挑取 3 个可疑菌落，粪便培养转种的麦康凯/SS 平板挑取 3-5 个可疑菌落分别转种到以下培养基：

3.1 KIA：穿刺 2/3 中段，在斜面上划线。

37℃培养 18~24h，观察生化试验结果，挑取 KIA 生化管上菌苔做革兰氏染色，并做好记录。

3.2 符合沙门菌 KIA 反应的，取该管斜面菌苔转种

MIU：穿刺接种培养基，并沿穿刺线拔出接种针。

西檬氏枸橼酸盐琼脂：在斜面上划线。

*生化结果及血清凝集试验符合菌株转种一个营养琼脂平板（药敏实验用）。

伤寒副伤寒沙门菌生化特性如表 2，表 3。

表 2 伤寒、副伤寒沙门菌生化特性

菌	KIA					MIU			
	乳糖	葡萄糖	H ₂ S	斜面颜色	中段颜色	尿素	动力	靛基质	颜色变化
大肠杆菌	⊕	⊕	u	黄	黄 (有气泡)	-	±	+	底层不变色加试剂后表层呈 吲哚红
志贺菌	-	+	-	红	黄	-	-	±	底层不变色
伤寒菌	-	+	±	红	黄 (无气泡)	-	+	-	底层不变色细菌扩散生长
甲型副伤寒菌	-	⊕	-	红	黄 (有气泡)	-	+	-	同上
乙型副伤寒菌	-	⊕	+	红	黄 (有气泡)	-	+	-	同上
丙型副伤寒菌	-	⊕	+	红	黄 (有气泡)	-	+	-	同上

⊕ 产酸产气；± 多数阳性，少数阴性；u 多数阴性；少数阳性；+ 产酸不产气；碱性反应为红色；产酸为黄色。

4. 血清学鉴定

取符合伤寒、副伤寒菌生化反应的 KIA 斜面上菌苔用沙门菌属诊断血清做玻片凝集试验，并设盐水对照，见表 4。

方法：挑取 KIA 斜面上菌苔，先用 O 多价血清凝集，如发生凝集，再选用单价 O 因子血清凝集（不需煮沸），并用盐水做对照。如果 O 多价血清不凝集，则用 Vi 血清鉴定 Vi 抗原。将细菌制成悬液，经 100℃ 水浴 30 分钟，破坏其 Vi 抗原，然后再与 O 多价和单价血清凝集（先做盐水、O 多价、Vi，再做 O₂、O₄、O_{6.7}、O₉ 因子血清。）。

O 抗原确定后，再用 H 因子血清凝集。

不同沙门菌血清型，对 O、H 及 Vi 因子血清反应情况如下：

表 3 伤寒、副伤寒沙门菌主要生化特性

	动力	葡萄糖	乳糖	麦芽糖	甘露醇	蔗糖	硫化氢	靛基质	尿素	甲基红	V P	枸橼酸盐	卫茅醇	木胶糖	阿拉伯糖	赖氨酸脱羧酶	鸟氨酸脱羧酶
伤寒杆菌	+	+	-	+	+	-	±	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-
甲型副伤寒菌	+	⊕	-	⊕	⊕	-	μ	-	-	+	-	-	⊕	-	⊕	-	+
乙型副伤寒菌	+	⊕	-	⊕	⊕	-	+	-	-	+	-	±	⊕	⊕	⊕	+	+
丙型副伤寒菌	+	⊕	-	⊕	⊕	-	+	-	-	+	-	+	⊕	⊕	⊕	+	+

注：- 阴性（不产酸）；+ 阳性（产酸）；⊕ 产酸产气；± 多数阳性，少数阴性；
μ 多数阴性，少数阳性。

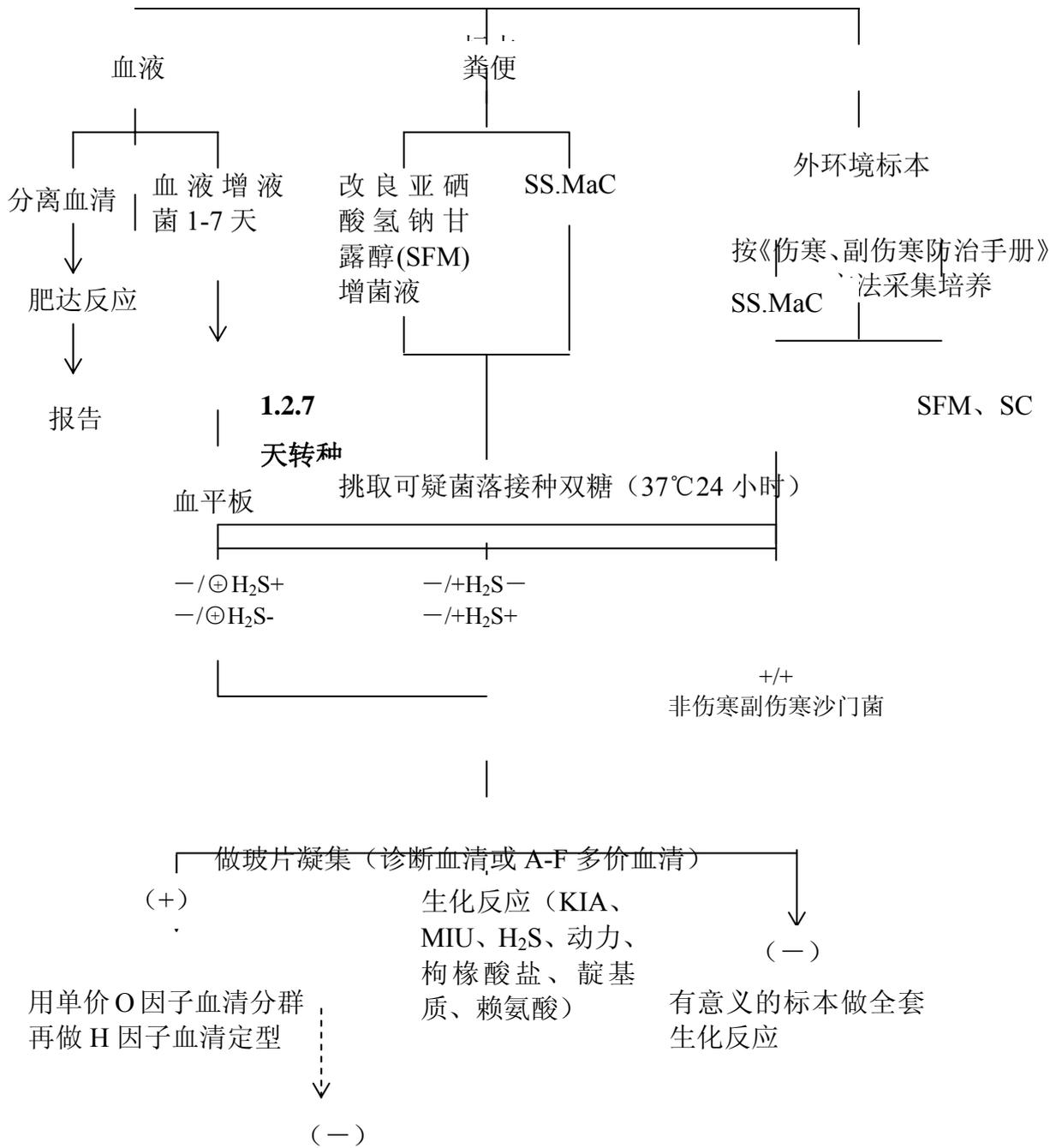
表 4 伤寒、副伤寒等沙门菌血清凝集反应

菌型	O 抗原	H 抗原		Vi	菌种来源
		I 相	II 相		
伤寒沙门菌	9.12	d	-	+	人粪、血、脊液、胆汁、肾、穿刺液；猪、蝇、土壤、污水
甲副	1.2.12	a	-	-	人粪、血、骨髓、胆汁；猪、污水
乙副	1.4.5.12	b	1,2	-	人粪、血、尿、骨髓、胆汁；猪、牛、驴、禽类、蝇、食品、污水
丙副	6.7	c	1,5	+	人粪、血、胆汁；猪、牛、豆制品、食物、污水

注：肠杆菌科细菌各属之间，在生化方面有类似之处，抗原方面也可有交叉反应，加之有时可出现不典型的菌株，因此，仅做一般生化反应和血清学鉴定，还不能有做出正确的结论，需要进一步做系统的生化反应的血清学分型。

5. 检验程序

伤寒、副伤寒沙门菌检验程序



Vi (+), 刮菌苔入 2ml 生理盐水, 100°C 15~20 分钟, 离心, 取沉淀物重做

药敏试验

药敏试验根据美国临床标准委员会 (NCCLS) 推荐的 K-B 琼脂法进行, 药敏纸片选择中国生物制品鉴定所药敏纸片, 试验所选择药物必须包括下列抗生素: 氨苄西林 (AMP), 阿莫西林/克拉维酸 (AMC), 头孢噻吩 (CFT), 头孢噻肟 (CTX), 庆大霉素 (GEN), 萘啶酸 (NAL), 环丙沙星 (CIP), 四环素 (TBT), 利福平 (RFA), 复方新诺明 (SMZ)。药敏结果判定标准按照 NCCLS 手册 2005 版。

1. 操作方法:

(1) 将待检菌接种于普通营养琼脂平板, 37℃ 培养 16~18 小时, 然后挑取普通营养琼脂平板上的纯培养菌落, 悬于 3ml 生理盐水中, 混匀后与菌液比浊管比浊。以有黑字的白纸为背景, 调整浊度与比浊管 (0.5 麦氏单位) 相同。

(2) 用无菌棉拭子蘸取菌液, 在管壁上挤压去掉多余菌液。用棉拭子涂布整个 M-H 培养基表面, 反复几次, 每次将平板旋转 60 度, 最后沿周边绕两圈, 保证涂均匀。

(3) 待平板上的水分被琼脂完全吸收后再贴纸片。用无菌镊子取药敏纸片贴在平板表面, 纸片一贴就不可再拿起。每个平板贴 5 张纸片, 每张纸片间距不少于 24mm, 纸片中心距平皿边缘不少于 15mm。在菌接种后 15 分钟内贴完纸片。

(4) 将平板反转, 孵育 18~24 小时后取出, 用游标卡尺测量抑菌圈直径, 从平板背面测量最接近的整数毫米数并记录 (附表 6)。抑菌环的边缘以肉眼见不到细菌明显生长为限。有的菌株可出现蔓延生长, 进入抑菌环, 磺胺药在抑菌环内出现轻微生长, 这些都不作为抑菌环的边缘。结果判断依据鉴定所药敏纸片判定标准。

(5) 每次药敏试验必须用 ATCC 25922 大肠杆菌做质控。只有当质控菌株的抑菌圈直径在允许范围内测试菌株的结果才可以报告。ATCC 25922 的结果必须与测试菌株同时记录和报告在附表 6 中。

0.5 麦氏比浊管配制方法:

0.048M BaCl ₂ (1.17% W/V BaCl ₂ · 2H ₂ O)	0.5ml
0.36N H ₂ SO ₄ (1%, V/V)	99.5ml

将二液混合, 置螺口试管中, 放室温暗处保存。用前混匀。有效期为 6 个月。

2. 注意事项:

(1) 制备 MH 琼脂平板应用直径 90mm 平皿, 在水平的实验台上倾注。琼脂厚为 $4\pm 0.5\text{mm}$ (约 25-30ml 培养基), 琼脂凝固后塑料包装放 4°C 保存, 在 5 日内用完, 使用前应在 37°C 培养箱烤干平皿表面水滴。倾注平皿前应用 pH 计测 pH 值是否正确(pH 应为 7.3)。pH 过低会导致氨基糖苷类, 大环内酯类失效, 而青霉素活力增强。

(2) 药敏纸片长期储存应于 -20°C , 日常使用的小量纸片可放在 4°C , 但应至于含干燥剂的密封容器内。使用时从低温取出后, 放置平衡到室温后才可打开, 用完后应立即将纸片放回冰箱内的密封容器内。过期纸片不能使用, 应弃去。

(3) 不稳定药物如亚胺培南, 头孢克洛, 克拉维酸复合药等, 应冷冻保存, 最好在 -40°C 以下。

(4) 保证质控菌株不变异的简便方法, 将新得到的冻干菌株接种含血的 M-H 平板复活。然后每株细菌接种 10 支高层琼脂管, 放置冰箱保存。每月取出一支, 传出细菌供常规用。待用剩至最后一支, 可传种在 M-H 平板上, 再接种一批高层琼脂管备用。如此可保证原始菌种永不接触抗菌素。

3. 质量控制

质量控制方法 是用与常规实验相同的操作方法, 测定质控菌株的抑菌环。应使用新鲜传代的菌种。接种菌液的涂布方法等均同常规操作, 测定的抗菌素种类也应与常规测定的种类相同。

1. 菌株保存与移交

每分离出一株细菌，即建立菌株保存档案（附表 5），详细记录菌株的来源、分离的时间和地点及取材病人的基本信息和流行病学基本特征；同时准备 2 支半固体，每管加 3.5ml 半固体，用接种针挑取菌落接种半固体，37℃ 培养 18 小时。管内加入石蜡使隔绝空气，室温或 4℃ 避光保存。一管保存在当地实验室，另一管附菌株档案送到省疾病预防控制中心，省疾病预防控制中心经过复核鉴定后按国家疾病预防控制中心的工作要求上送菌株，每次移交均填写交接记录。

2. 菌种复核

监测点所有的菌种逐级送至辖区疾病预防控制中心复核。

3. 室内质量控制

实验室应定期进行室内质控。

省疾病预防控制中心实验室督导员每年 3 月份发放一组考核菌株，检查检验人员的水平。考核菌株可随机从下列标准菌种中挑选：伤寒副伤寒菌、其它沙门菌和肠杆菌科其它菌属。考核结果记录保存。如果出现问题，课题督导员组织检验人员有针对性地进行讨论、分析，查找其错误结果的原因，并提出改进意见。