

中华人民共和国卫生行业标准

WS 289—2008

霍乱诊断标准

Diagnostic criteria for cholera

2008-01-16 发布

2008-08-01 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),GB15984—1995《霍乱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 是规范性附录,附录 B 和附录 C 是资料性附录。

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、广西壮族自治区疾病预防控制中心、江苏省疾病预防控制中心、山东省疾病预防控制中心、四川省疾病预防控制中心、广东省疾病预防控制中心。

本标准主要起草人:阚飙、张静、董柏青、汪华、毕振强、祝小平、钟豪杰。

霍乱诊断标准

1 范围

本标准规定了霍乱的诊断依据、诊断原则和鉴别诊断。

本标准适用于全国各级各类医疗卫生机构及其工作人员对霍乱病例及带菌者的诊断、报告。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

腹泻 diarrhea

是指 1d 排便 3 次或以上且具有粪便性状改变的一种临床症状。

3 诊断依据

3.1 流行病学

3.1.1 生活在霍乱流行区、或 5d 内到过霍乱流行区、或发病前 5d 内有饮用生水或进食海(水)产品或其他不洁食物和饮料等饮食史。

3.1.2 与霍乱患者或带菌者有密切接触史或共同暴露史。

3.2 临床表现

3.2.1 轻型病例

无腹痛腹泻,可伴有呕吐,常无发热和里急后重表现。少数病例可出现低热(多见于儿童)、腹部隐痛或饱胀感,个别病例有阵发性绞痛。

3.2.2 中、重型病例

腹泻次数频繁或剧烈,粪便性状为水样便,伴有呕吐,迅速出现脱水或严重脱水,循环衰竭及肌肉痉挛(特别是腓肠肌)等休克表现。

3.2.3 中毒型病例

为一较罕见类型(干性霍乱),在霍乱流行期出现无泻吐或泻吐较轻,无脱水或仅轻度脱水,但有严重中毒性循环衰竭。

3.3 实验室检测

3.3.1 粪便、呕吐物或肛拭子细菌培养分离到 O1 群和(或)O139 群霍乱弧菌,操作方法见附录 A。

3.3.2 在腹泻病患者日常生活用品或家居环境中检出 O1 群和(或)O139 群霍乱弧菌,操作方法见附录 A。

3.3.3 粪便、呕吐物或肛拭子标本霍乱毒素基因 PCR 检测阳性,操作方法见附录 B。

3.3.4 粪便、呕吐物或肛拭子标本霍乱弧菌快速辅助检测试验阳性,操作方法见附录 B。

4 诊断原则

依据患者的流行病学、临床表现及实验室检查结果进行综合判断。

5 诊断

5.1 带菌者

无霍乱临床表现,但符合 3.3.1 者。

5.2 疑似病例

符合下列情况之一者即可诊断:

- 5.2.1 具备 3.1.2 加 3.2.1 者;
- 5.2.2 具备 3.2.1 加 3.3.3 者;
- 5.2.3 具备 3.2.1 加 3.3.4 者;
- 5.2.4 具备 3.2.3 加 3.3.3 者;
- 5.2.5 具备 3.2.3 加 3.3.4 者;
- 5.2.6 具备 3.2.2 者。

5.3 临床诊断病例

符合下列情况之一者即可诊断:

- 5.3.1 具备 3.2 中的任一项并同时具备 3.3.2 者;
- 5.3.2 在一起确认的霍乱暴发疫情中,暴露人群中具备 3.2 中的任一项者。

5.4 确诊病例

- 5.4.1 凡具备 3.2 中的任一项并同时具备 3.3.1 者;
- 5.4.2 在疫源检索中,粪便培养检出 O1 群和(或)O139 群霍乱弧菌前后各 5d 内有腹泻症状者。

6 鉴别诊断

霍乱应与其他病原微生物引起的腹泻相鉴别,主要鉴别诊断包括:大肠杆菌性肠炎、副溶血弧菌肠炎、沙门菌肠炎、病毒性肠炎、急性细菌性痢疾、金黄色葡萄球菌所致腹泻等(参见附录 C)。

附 录 A
(规范性附录)
霍乱弧菌的分离与鉴定

A.1 标本的收集

患者粪便、呕吐物、肛拭子为必取标本。水样便或呕吐物采样量一般为 1mL~3mL,成形便采取指甲大小的粪量;肛拭子可用直肠棉拭或采便管由肛门插入直肠内 3cm~5cm 处旋转后取出,置增菌液或运送培养基送检。

A.2 标本的送检

采得的标本应立即接种于培养基。不能立即接种的,应放入 pH8.8~9.0 的碱性蛋白胨水或文腊二氏保存液或插入 Cary-Blair 半固体保存培养基中送检。标本与保存液的比例约为 1:5。

A.3 分离培养

A.3.1 增菌后分离培养:所有标本均应接种碱性蛋白胨水培养基置 37℃ 增菌 6h~8h 后,从菌膜下表层取一接种环培养物,划线接种于强、弱选择性培养基各一个置 37℃ 培养 18h~24h。必要时进行二次增菌培养。

A.3.2 直接分离培养:对急性期患者水样便标本在进行增菌培养的同时可取一接种环或用肛拭子直接接种在选择性培养基上置 37℃ 培养 18h~24h。

A.3.3 常用强选择性培养基包括庆大霉素琼脂、TCBS 琼脂和四号琼脂等。弱选择性培养基一般使用碱性营养琼脂等。

A.3.4 不同分离培养基上生长的霍乱弧菌典型菌落特征不同,常见分离培养基的 37℃ 18h~24h 培养物的菌落特征如下:

A.3.4.1 碱性营养琼脂:霍乱弧菌在碱性营养琼脂上生长的菌落呈现为无色、圆形、透明或半透明、表面光滑、润湿、扁平或稍凸起、边缘整齐,菌落直径一般约为 2mm。

A.3.4.2 庆大霉素琼脂和四号琼脂:菌落特征与碱性营养琼脂上生长的菌落相似,但透明性略差,多呈半透明状,由于这类培养基均含有亚硝酸盐成分,菌落中央常呈灰色或灰黑色,并随培养时间的延长而加深。

A.3.4.3 TCBS 琼脂:菌落生长呈黄色发亮、表面光滑、润湿、稍凸起、边缘整齐。

A.4 菌株鉴定

A.4.1 菌株初筛

包括玻片凝集实验、氧化酶试验。

A.4.1.1 玻片凝集实验

a) 从分离培养基上挑取疑似菌落接种于非选择性培养基进行纯培养(37℃ 18h~24h),取纯培养物与 O1 群霍乱弧菌诊断用单克隆抗体或 O1 群多价诊断血清及 O139 群霍乱弧菌诊断用单克隆抗体或诊断血清做玻片凝集试验进行 O1 群和 O139 群霍乱弧菌的初筛。

b) 玻片凝集试验使用的血清效价范围应为 1:32~1:64。如玻片凝集试验在 1min 内出现肉眼可见的明显凝集块,但在生理盐水中不产生凝集的培养菌判为凝集阳性;应立即保存菌株做复核与分型鉴定;在 1min 内不出现凝集块者判为凝集阴性。

c) 生长在碱性营养琼脂、庆大霉素琼脂及四号琼脂上的疑似菌落如足够大,可直接挑取疑似菌落与 O1 群霍乱弧菌多价诊断血清及 O139 群霍乱弧菌诊断血清做玻片凝集试验进行初筛。但生长在 TCBS 培养基上的疑似菌落常因培养基中蔗糖的影响造成难于乳化,不能直接进行玻片凝集试验,应先

以非选择性培养基纯培养后再作玻片凝集。

d) 要注意同一标本存在 O1 群和 O139 群等多个血清群霍乱弧菌混合的可能,每份标本至少挑选 5 个以上的疑似菌落逐一进行鉴定。

A. 4. 1. 2 氧化酶试验

a) 试剂:1%盐酸对氨基二甲基苯胺或盐酸二甲基对苯二胺水溶液。

b) 试验方法:取生长在非选择性培养基上的新鲜培养物涂抹在清洁的滤纸上,然后滴加上述试剂,如培养物在 1min~2min 内出现粉红-紫红-紫蓝色,有的最后呈紫黑色,判断为氧化酶试验阳性;培养物不显色判为阴性。

A. 4. 2 菌株复核

经初筛阳性或可疑阳性的菌株,在发出初步鉴定报告的同时,应尽快送当地疾病预防控制中心(CDC)进行复核鉴定。复核结果符合 O1 群或 O139 群霍乱弧菌的菌株,按菌株管理的要求进行保存与上送;如复核结果出现疑问,应尽快将菌株上送省级或省级以上 CDC(参比实验室)进行确认分析。菌株的复核鉴定应以纯培养物为基础,至少应包括以下项目:血清凝集试验与血清分型、革兰染色、黏丝试验、氧化酶试验、动力试验。对一次流行的首批病例菌株和玻片凝集反应不典型的菌株应增做试管凝集试验。

A. 5 霍乱弧菌系统生化鉴定详见表 A. 1

表 A. 1 部分弧菌科细菌的系统生化鉴定

项目	霍乱弧菌	拟态弧菌	副溶血弧菌	创伤弧菌	溶藻弧菌	河弧菌	弗尼斯弧菌	海鱼弧菌	霍利斯弧菌	麦氏弧菌	辛辛那提弧菌	鲨鱼弧菌
最适生长温度(℃)	37	37	37	37	37	37	37	25	25,36	37	25,35	37
氧化酶	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
黏丝试验	+	+	+/-	+	+	+	+	+/-	+	+	+/-	+
硝酸盐还原	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
靛基质	+	+	+	+	+	-	-	-	+/-	+/-	-	+
V-P 试验	+/-	-	-	-	+/-	-	-	+	-	-	+	+/-
尿素酶	-	-	-/+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
L-赖氨酸	+	+	+	+	+	-	-	+/-	-	-/+	+	+
L-鸟氨酸	+	+	+	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-	-
L-精氨酸	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+/-	-	-
葡萄糖产气	-	-	-	-	-	-	+	-/+	-	-	-	-
乳糖	-/+	+/-	-	+	-	-	-	-	-	+/-	-	-
麦芽糖	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
D-甘露醇	+	+	+	+/-	+	+	+	-	-	+	-	+/-
蔗糖	+	-	-	-/+	+	+	+	-	-	+	+	+/-
L-阿拉伯糖	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-
纤维二糖	-	-	-	+	-	-/+	-/+	-	-	-	+	-
水杨素	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
明胶素	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
在不同盐量胨水中生长试验												
0% NaCl	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6% NaCl	+/-	+/-	+	+/-	+	+/-	+	+	+/-	+	+	+
8% NaCl	-	-	+	-	+	-	+/-	-	-	+/-	-	-
10% NaCl	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-
O/129 敏感性												
10μg	S ^a	S	R	S	R	R	R	S	R	S	R	
150μg	S ^a	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

注:^a 部分 O139 群霍乱弧菌为抗性(R)

附 录 B
(资料性附录)
霍乱实验室诊断的相关实验技术

B.1 霍乱毒素基因 PCR 检测

霍乱弧菌包含多种毒力相关因子,其中霍乱毒素是霍乱弧菌主要的致病因子,因此,在霍乱诊断上霍乱毒素基因(*ctxAB*)的 PCR 检测具有重要的诊断价值。该方法特异性和灵敏度均较高,需要在符合 PCR 实验条件的实验室中进行,同时需要严格的核酸提取操作。

扩增检测霍乱毒素基因 *ctxAB* 的引物为:

P1: 5'—CTC AGA CGG GAT TTG TTA GGC ACG—3'

P2: 5'—TCT ATC TCT GTA GCC CCT ATT ACG—3'

扩增产物长 302bp,扩增参数为:

预变性:94℃,5min;

扩增循环:94℃,30s,68℃ 30s,72℃ 30s,共 30 个循环;

末轮延伸:72℃,7min。

在不同厂商和型号的 PCR 扩增仪器上,退火温度可能略有不同。该方法直接检测是否为产毒株,需注意有时会出现由非产毒的霍乱弧菌引起的病例或小范围暴发。

B.2 霍乱弧菌快速辅助检测

目前使用霍乱弧菌胶体金快速检测法较多,该方法主要针对检测 O1 群和 O139 群霍乱弧菌抗原成分,操作简单。目前此类方法的检出限为 10^5 个菌/毫升,因此在轻型病例及带菌者调查中存在漏检的可能,需要进行增菌培养后检测,以提高检出率。

附录 C

(资料性附录)

霍乱弧菌的鉴别诊断

C.1 副溶血弧菌肠炎

多数起病急骤,有食用海(水)产品和(或)不洁食物史,潜伏期 2h~4d,常先吐后泻,排便前往往有肠鸣、阵发性腹部剧痛,常为水样或类似痢疾样脓血便,个别重型患者大便可有清水样或洗肉水样。早期常有发热和其他中毒症状。大便培养副溶血弧菌阳性。

C.2 大肠杆菌性肠炎

C.2.1 产肠毒素性大肠杆菌(ETEC)性肠炎:潜伏期 4h~24h,有发热、恶心呕吐及腹部绞痛,腹泻,黄水或清水样便,无脓血便,严重腹泻者亦可产生重度脱水,婴幼儿常因此而危及生命。

C.2.2 肠致病性大肠杆菌(EPEC)性肠炎:主要症状为腹泻,大便为黄色或黄绿色蛋花样便,量较多,常有特殊腥臭味;重者也会有脱水及全身症状。

以上两者粪便培养均可获得相应的大肠杆菌。

C.3 鼠伤寒沙门菌感染

侵犯各年龄组,6个月以内婴儿易罹患,新生儿病情尤为严重,多发生于每年的5月~8月,常有发热,可有腹泻或败血症,腹泻大便为稀水便,亦可有脓血便,常引起不同程度脱水,大便培养可获得鼠伤寒沙门菌。

C.4 空肠弯曲菌肠炎

本菌可侵袭空肠及结肠引起病变。现已证实本菌亦可产生肠毒素而致病,潜伏期 3d~5d,起病初期有发热或有乏力、头痛及肌痛等症状,继而腹痛腹泻,大便为水样、黏液状、胆汁样或呈血性。严重病例可有重度脱水及循环衰竭。个别患者还可表现为急腹症。一般典型病例不难与霍乱鉴别,大便培养可检出弯曲菌。

C.5 病毒性肠炎

常见病原为人轮状病毒,侵犯各年龄组,多见于婴幼儿,好发于秋冬季,可呈流行性,部分患者同时伴有上呼吸道感染症状及发热,中毒症状轻,常为自限性,腹泻次数可不多,大便稀软或黄水样,多无腹痛,成人病后常有1周~2周疲倦乏力。本病临床表现与轻型霍乱相似,但在流行中见不到与霍乱相似的中、重型病例,粪便培养霍乱弧菌阴性,轮状病毒检查阳性。其他如诺瓦克样(Norwalk-like)因子、腺病毒、冠状病毒、星状病毒等亦可引起腹泻,也需鉴别。

C.6 急性细菌性痢疾

由志贺菌引起,潜伏期 1d~3d,起病急,以发热、腹痛、腹泻、里急后重、脓血便为主要特征,有全身中度中毒症状。重症患者伴有惊厥、头痛、全身肌肉酸痛,也可引起脱水和电解质紊乱。不典型的急性细菌性痢疾以婴儿多见,多无全身中毒症状、不发热或低热,腹痛较轻,粪便呈水样或稀糊样,含少量黏液,左下腹可有压痛,应注意鉴别。急性中毒性细菌性痢疾可出现高热,在儿童患者早期出现烦躁、谵妄、惊厥等,发病初期肠道症状不明显,成人患者主要表现为脓血便频繁、循环系统症状明显。从粪便或肛拭标本等中检出痢疾志贺菌可确诊。

C.7 金黄色葡萄球菌所致腹泻

潜伏期短,从吃进食物至发病间隔为 30min~8h,一般 2h~4h。有严重的恶心、痉挛性腹痛、呕吐及虚脱,常伴有腹泻,病程短,常为 1d~2d,是常见的食物中毒,可呈暴发性。收集患者粪便、呕吐物、肛拭子、可疑食品检出金黄色葡萄球菌进行确诊。

中 华 人 民 共 和 国

卫生行业标准

霍乱诊断标准

WS 289—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 5 月第 1 版 2008 年 5 月第 1 版第 1 次印刷

书 号：14117·191

定 价：7.00 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 289—2008