

第1.4章 水生动物卫生监测

第1.4.1条

引言和目的

- 1) 开展监测目的如下：
 - a) 证明无疫病存在；
 - b) 鉴别本法典第1.1.3条所列需通报的疫情；
 - c) 确定某地方性流行疫病的发生及其分布，包括发病率和感染率（或其他相关因素）的变化，用于：
 - i) 为制定国内或地区内疫病防控计划提供信息；
 - ii) 为贸易伙伴进行定性和定量风险评估提供疫病发生的相关信息。

采用何种类型的监测方法主要根据决策所需信息而定。疫病情况报告的质量取决于监测数据的可靠性。监测也应为开展风险分析提供准确数据，以满足国际贸易和国家决策的信息需求。对地方流行性疫病的监测为日常卫生管理提供宝贵资料，同时也为检测外来疫病和证明没有疫病发生奠定了基础。

本章所述监测系统也为制定疫病预防和控制计划提供有用信息。然而，实际工作中的具体防控策略超出本章关于监测建议的范围。

具备有效的监测数据管理策略是成功实施监测系统的关键。

- 2) 成员能够为评估其动物卫生状态提供信息的基本前提是：
 - a) 成员遵守本法典第3.1章关于水生动物卫生机构质量的规定；
 - b) 如可行，应利用其他信息来源对监测数据加以补充（如科学出版物、研究数据、现场观察记录和其他非调查数据）；
 - c) 根据本法典第1.1章的规定，监测工作的规划、实施、数据和信息分析与利用应始终保持透明。
- 3) 下述建议旨在协助成员决定监测方法，适用于OIE《水生手册》中列举的所有疫病及其病原体和易感物种。采用本章的建议决定监测系统时，应基于《水生手册》中每一疫病的具体内容。这些建议也适用于对国家或地区具有重要影响的非OIE名录疫病，如新出现的疫病。人们有时会误认为，监测只能使用复杂的方法进行。其实不然，有效的监测系统完全可基于日常观察和现有资源。
- 4) 试图针对本国所有已知易感水生动物疫病建立监测系统是不切实际的。因此，应根据以下因素

确定拟纳入监测系统的疫病的优先次序：

- a) 需为开展国际贸易提供卫生状态保证；
 - b) 国家资源；
 - c) 各种疫病对经济造成的影响或威胁；
 - d) 国家或地区内全行业疫病防控计划的重要性。
- 5) 可利用《水生手册》各疫病章节内容对本章所述一般方法加以细化。如没有特定疫病的详细信息，可按照本章建议进行监测。流行病学专业知识对于监测系统的设计、实施和分析解释监测结果是不可或缺的。

第1.4.2条

监测原则

- 1) 监测可基于多种数据来源，并可通过多种方式进行分类，如：
 - a) 收集数据的方式（目标监测与非目标监测）；
 - b) 是否侧重于某疫病（特定病原监测与一般性监测）；
 - c) 选择观测单元的方式（结构性调查与非随机数据源调查）。
- 2) 监测工作包括：
 - a) 群体调查，如：
 - i) 屠宰时系统采样；
 - ii) 随机调查。
 - b) 非随机监测，如：
 - i) 疫病报告或疫情通报；
 - ii) 控制方案/卫生计划；
 - iii) 目标检测/筛检；
 - iv) 宰后检查；
 - v) 实验室调查记录；
 - vi) 生物样本库；
 - vii) 哨兵单元；
 - viii) 实地观察；
 - ix) 养殖场生产记录。
- 3) 此外，监测数据应具有相关依据，如：
 - a) 疫病流行病学数据，如环境、宿主与野生储存宿主的群体分布状况；
 - b) 养殖和野生动物的移动、水生动物及产品的贸易方式等，包括野生水生动物群体、水源或

- 其他可能的接触暴露；
- c) 国家动物卫生条例，包括实施情况及成效；
 - d) 潜在感染材料的进口历史；以及
 - e) 现有生物安保措施。
- 4) 应充分说明证据来源。结构性调查应包括对选择检测单元所使用的的采样策略的说明。对于非随机数据源，需对系统做出全面说明，包括数据来源和收集时间，并应考虑系统本身可能固有的偏差等。

第1.4.3条

监测的关键要素

评估监测系统质量应考虑以下要素：

1. 群体

开展监测工作最好能够考虑到国家、地区或生物安全隔离区中所有易感动物种群。监测应覆盖群体中所有动物或其中一部分。需对每个易感动物群体的风险进行评估。如仅对某亚群进行监测，推论监测结果时应持谨慎态度。

对于OIE名录疫病，应根据《水生手册》每一疫病章节的具体建议来界定适当种群。

2. 流行病学单元

应确定和记录监测系统中的相关流行病学单元，确保这些流行病学单元具有群体或目标亚群的代表性，以对疫病模式进行最有用的推断。因此，选择流行病学单元应考虑病原储存宿主、传播媒介、免疫状况、遗传抗性以及年龄、性别和其他宿主条件等。

3. 群发

在一个国家、地区或生物安全隔离区内，疫病通常呈群发性流行，而不是均匀或随机分布。疫病群发分布可能与空间（如水槽、池塘、养殖场或生物安全隔离区）、时间（如季节）或动物不同分组（如年龄、生理状态）相关。设计监测方法和分析监测数据应考虑群发现象。

4. 病例和疫病暴发的定义

应为所监测的每一疫病病例和疫情暴发制定不会产生歧义的确切定义，并记录在案。如可行，需参考《水生手册》和本章所述标准。

5. 分析方法

无论是规划干预措施还是确认卫生状态，均应采用恰当的方法并在适当的组织层面对监测数据进行分析，以助有效决策。

在复杂的现实面前需灵活应用监测数据的分析方法。没有任何一种方法能够适用于所有情况，

需针对不同的病原、生产方式、监测系统、所得到的信息/数据的类型、质量和数量，采用不同的分析方法。

分析方法应基于当前可获得的科学依据，并应符合本章的规定，具有充分资料依据，参考科学文献和专家意见等。仅在拥有适当数量和质量的实地数据的情况下，才应进行复杂的数学或统计学分析。

应注意保持方法的一致性，透明度对于确保决策的公平合理性、一致性和易于理解极为重要。不确定性、所作假设以及这些假设对最后结论的影响，应加以分析说明。

6. 检测

监测指根据病例定义，通过可证实疫病状态的一种或多种方法检测疫病存在与否。因此，检测包括实验室检验、实地观察和生产记录分析。在群体水平（包括实地观察）上进行的检测可用敏感性、特异性和预测值来描述，敏感性和/或特异性低下将影响监测结论。因此，设计监测系统和分析监测数据时，应考虑到这些参数。

尽管对许多水生动物疫病检测方法没有确定敏感性和特异性数值，但仍需尽可能按照特定的检测情况对其进行评估。如果在《水生手册》疫病章节中提供了某些特定检测和检测条件下的敏感性和/或特异性数值，则应参考这些数值。

可将多个水生动物或采样单元的样本汇总成样本池，并按照实验规程进行检测。解释检测结果可采用根据样本量和检测程序所确定或估算的敏感性和特异性数值。

7. 质量保证

应在监测系统中纳入质量保证原则，并定期审核，确保监测系统运转良好。应提供可核查的程序文件，并开展基本检查，用以发现与规定程序之间的重大偏差。

8. 确认

动物卫生监测系统分析结果会存在潜在偏差，评估时应注意加以识别，因为偏差可导致过高或过低地评估目标参数值。

9. 数据收集和管理

监测系统的成功取决于可靠的数据收集和管理程序。可采用纸质记录或计算机处理。即使为其他目的收集数据（如在采取疫病控制行动、检查移动控制或执行疫病根除计划期间），也应格外重视数据收集的一致性与质量，使用便于分析的格式来报告事件。影响数据收集质量的因素有：

- a) 参与数据生成并将数据从实地传送到数据处理中心的人员的分布和相互之间的交流；
- b) 监测系统工作人员的积极性；
- c) 数据处理系统是否有能力发现数据的缺失、不一致或不准确并解决这些问题；
- d) 保存分散的原始数据，而非仅保存汇总后的数据；
- e) 尽量减少数据处理和交流过程中的转录错误。

第1.4.4条

基于群体的调查

除第1.4.6条所述监测原则外，规划、实施调查和分析数据还应考虑以下事项：

1. 调查类型

调查可针对整个目标群体（即普查）或某一样本。为证明无疫而进行的定期或重复调查，应采用概率抽样方法（简单随机抽样、整群抽样、分层抽样、系统抽样等），以便以有效的统计方法根据研究群体数据推断出目标群体状况，也可使用非概率抽样方法（方便抽样、立意抽样、定额抽样等）。鉴于从某些水生动物群体抽样不可行，确认非概率抽样的偏差后，可使用非概率抽样方法，以优化检测工作。

应充分描述信息来源，详细说明选择检测单元所用的采样策略。此外，还应考虑调查设计中可能存在的固有偏差。

2. 调查设计

应首先明确界定流行病学单元，然后根据调查设计确定每阶段的采样单元。调查方案的设计主要根据研究群体的规模和结构，以及疫病的流行病学特征和可用资源。

3. 抽样

群体抽样目的是挑选出符合研究目标（如确定是否存在疫病）且能代表整个群体状况的子集单元。抽样方式应能在不同环境和生产系统等实际情况局限下，使样本在最大程度上代表整个群体状况。检测卫生状态不明的群体是否存在某疫病，应采用优化疫病检测的抽样方法。在这种情况下，应谨慎推断检测结果。

4. 抽样方法

应根据监测系统目标从群体中选择流行病学单元。通常以概率抽样方法为佳（如简单随机选择）。概率抽样方法不可行时，抽样应尽可能保证在目标群体中得到关于疫病模式的理想推论。

在任何情况下，应充分记录所有阶段所用抽样方法并说明理由。

5. 样本量

一般来说，开展调查是为了证明某情况（如疫病）存在与否或估计某参数（如患病率）。样本量的计算方法取决于调查目的、预期流行情况（流行率阈值）、调查结果置信度水平和方法效能（如敏感性和特异性估值）等。

第1.4.5条

监测中使用的非随机数据源

监测系统通常使用非随机数据，或单独使用，或结合调查使用。

1. 常见非随机监测数据源

非随机监测数据源种类繁多，根据监测目标和可提供的信息类型而有所不同。一些监测系统主要作为早期检测系统，但也可作为证明不存在某疫病提供有价值的信息；另一些系统可一次或多次提供用于评估患病率的横向信息；还有一些系统则提供适合评估发病率的连续性信息（如疫病报告系统、哨兵单元、检测方案等）。

a) 疫病报告或通报系统

疫病报告系统数据可与其他数据源结合使用，或用于证实动物卫生状态，或用于风险分析或早期检测。疫病报告或通报系统的第一步往往基于对异常情况的观察（如出现临床症状、生长变缓、死亡率增高、行为异常等），这些异常现象可提供有关地方病、外来病或新发病的重要信息。有效的实验室支持是大多数报告系统的重要组成部分，应采用高特异性的实验室检测方法确诊疑似临床病例。实验室报告应及时，尽量缩短从样本送检到出检验报告的时间间隔。

b) 控制计划/卫生方案

应妥善规划和制定以控制或根除某疫病为重点的控制计划或卫生方案，以便能够获得具有科学说服力的数据，并有助于监测工作。

c) 目标抽样

目标抽样主要针对最有可能发生疫病输入或出现疫病的某些群体（亚群）进行抽样，如选择宰杀和死亡动物，出现临床症状的动物，特定地理区域、特定年龄或特定商品组动物进行检测。

d) 收获后检查

对水生动物屠宰场或加工厂进行检查可获得有价值的监测数据，条件是患病水生动物能存活到屠宰检查前。收获后检查可能仅能获得特定年龄组和特定地理区域的动物状况数据。收获后目标群体或研究群体监测数据会有明显偏差（如供人食用而大量屠宰仅限于某一特定等级和年龄的动物），分析数据时须考虑这种偏差。

无论是为了在发现疾病时进行追踪，还是为了分析空间和种群一级的覆盖范围，如可能的话，应具备一个有效的标识系统，将屠宰场/加工厂的每只动物与其原产地联系起来。

e) 实验室调查记录

从实验室数据分析中可获得有用的监测信息。综合分析国家级实验室、认证实验室、高等院校实验室、私营部门实验室的数据，可扩大监测系统的覆盖面。分析不同实验室的数据需拥有标准化的诊断程序、数据记录和结果解读方法。如可行，应使用《水生手册》中符

合相关实验目的的检测方法。收获后检查需建立一个明确记录样本原产地养殖场的追溯机制。应意识到实验室样本不一定能准确反映养殖场的疫病状态。

f) 生物样本库

生物样本库用于储存样本。采样方法可为代表性或随机性，或二者兼有。样本库可用于回顾性研究，提供历史上不存在某疫病的证据，并有利于加快研究速度和降低成本。

g) 哨兵单元

哨兵单元或站点指在特定地理位置对一个或多个已知卫生/暴露状况的动物进行鉴定和定期检测，目的是检测是否发生疫病。哨兵单元对于检测空间分布显著的疫病（如媒介传播疫病）尤为有用。利用哨兵单元可根据疫病发生概率（与媒介栖息地、宿主群体分布相关）、成本、其他限制因素开展定向监测。哨兵单元可为无疫提供证据，或提供患病率、发病率和疫病分布数据。在某些情况下，如被检群体非常珍贵（如观赏鱼）而不得采用破坏性方法取样，或取样无法真实反映疫病或感染状况（如接种疫苗后血清学检测不再适用）时，可采用哨兵单元（处于最敏感生命阶段的最敏感物种为最佳选择）与易感动物共同饲养的方式来监测疫病。

h) 实地观察

实地流行病学单元临诊观察是获得监测数据的一个重要来源。实地观察方法敏感性和/或特异性可能相对较低，易于应用且明确的标准化病例定义会有助于确定和控制这些问题。对实地观察人员就病例定义与报告进行培训非常重要。同时记录观测动物总数和阳性动物数最为理想。

i) 养殖场生产记录

系统分析养殖场生产记录可用于判断群体是否存在某疫病。如生产记录准确无误且无间断，则该方法的敏感性可能会相当高（取决于疫病），但特异性往往较低。

2. 监测中使用非随机数据需考虑的关键要素

使用非随机监测数据时，应考虑如群体覆盖面、数据可重复性、检测敏感性和特异性等关键因素，这些因素可能会给数据分析带来困难。与置信度水平相同的调查相比，使用非随机监测数据可提高调查置信度，并能发现患病率较低的疫情。

3. 分析方法

分析非随机监测数据可采用不同方法。数据分析往往需要一些重要参数，如敏感性、特异性和感染前验概率，即表观感染率（如预期值计算）等。如无法获得这些数据，可采用基于专家意见的估值，使用有据可查、科学有效的正式方法进行收集和汇总。

4. 综合分析多源数据

多源数据或周期性数据（如时间序列）的综合分析方法应为科学有效的方法，并需完整记录在案，包括引用的参考文献。

不同时期从同一国家、地区或生物安全隔离区收集的监测信息（如每年一次的年度调查）可提

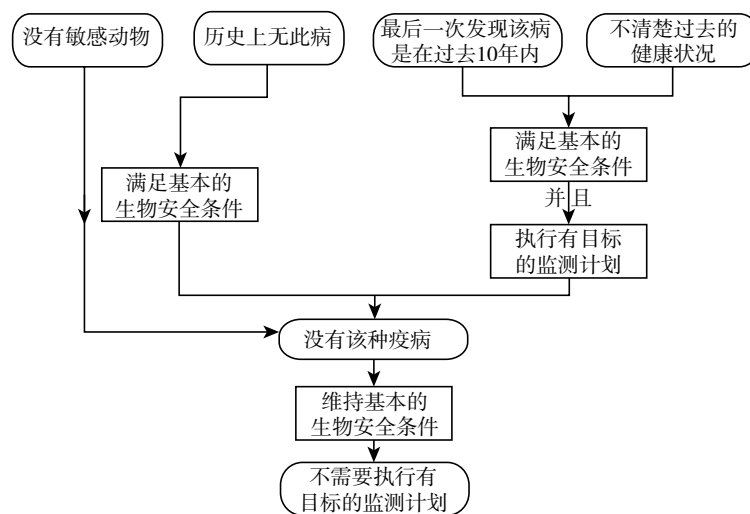
供有关动物卫生状态的累积证据。综合分析这些长期收集的数据可获得一个总置信度。然而，通过一项大型调查或汇总同期多个随机或非随机来源数据，可在较短时间内达到相同置信度。

分析长期连续或间断收集的监测信息时，如可行，应结合信息收集时间，因为陈旧数据的价值相对较低。评估整体置信度水平还应考虑每个数据源的数据敏感性、特异性和完整性。

第1.4.6条

证明无疫病的途径

下图概述了宣告无疫病的不同途径。



1. 无易感动物

一个国家、地区或生物安全隔离区中如果没有某疫病易感动物（如《水生手册》相应章节或科学文献中所列物种），即可确认为无疫区，而不必实施目标监测，除非在相关疫病章节里另有规定。

2. 历史无疫

除非相关疫病章节另有规定，如符合下列条件，一个国家、地区或生物安全隔离区无需实施针对相关病原体的正式监测计划，即可宣告为无疫区：

- a) 从未有官方报告或科学文献（同行评议）报道发生过该疫病；或
- b) 根据观察易感动物可识别的临床症状，至少最近10年未发生疫病；且至少在最近10年中：
- c) 基本生物安保条件已落实到位且得到有效执行；
- d) 未给动物接种相关疫病疫苗，除非本法典另有规定；
- e) 在拟宣告无疫的国家和地区，未发现患病野生水生动物。（一个国家或地区如有任何证据

表明水生野生动物有过感染，则不能申请历史无疫，但无需在野生水生动物中专门进行疫病监测。)

一个国家、地区或生物安全隔离区基于无易感物种而自行宣告无疫，但此后如引进《水生手册》中所列易感物种，如引种地区满足下列条件，则仍可被视为历史无疫：

- f) 提供动物的国家、地区或生物安全隔离区在引种时已宣告无疫；
- g) 引种前已落实了基本生物安保措施；
- h) 未对动物接种相关疫病疫苗，除非本法典相关疫病章节另有规定。

3. 最后一次疫情发生在10年以内/先前的卫生状态不明

一个国家、地区或生物安全隔离区如在过去10年内已根除该疫病（或该疫病已不再发生）或疫病状态不明，则应按照《水生手册》针对相关病原体的要求进行监测。在不具备疫病相关资料、无法建立监测系统的情况下，申报无疫状态应做到每年至少开展两次调查（至少连续监测两年），每次间隔三个月以上。监测需针对相应物种，并在其适当的生命阶段，且选择一年中最能检测到病原体的季节和气温条件。调查方案总体置信度应在95%以上，动物个体或群体聚集水平（即池塘、养殖场、村庄等）预期感染率等于或小于2%（根据疫病而异，《水生手册》相关疫病章节可能提供此数值）。此类调查不应基于自愿提交，应按照《水生手册》提供的指南进行。调查结果应能提供足够证据证明不存在某疫病，且至少在过去10年中：

- a) 基本生物安保措施已落实到位且得到有效执行；
- b) 动物未接种相关疫病疫苗，除非本法典另有规定；
- c) 在拟宣告无疫的国家或地区未发现患病野生水生动物。（一个国家或地区如有任何证据表明野生水生动物有过感染，则不能申请历史无疫，并须对易感野生水生动物进行特定病原监测，以确认无相关疫病。）

第1.4.7条

维持无疫状态

已按照本法典的规定宣告无某疫病的国家或地区如满足以下条件，则可终止特定病原监测，并维持其无疫状态资格：

- 1) 如存在病原，病原在可观测到的易感物种中导致可识别的临床症状；
- 2) 具备并有效实行基本生物安保措施；
- 3) 动物未接种相关疫病疫苗，除非本法典另有规定；
- 4) 如适用，以往监测结果已证实在野生水生动物易感群体中未发生相关疫病。

在未宣告无疫的国家或地区内建立无疫生物安全隔离区是一种特殊情况，前提是该生物安全隔离区实行的监控水平与风险程度相符，并已采取防止暴露于潜在病原源的措施。

第1.4.8条

设计为证明无疫的监测方案

证实没有疫病的监测方案除满足本章所述一般要求外，还应满足下列要求。

不存在某疫病指在国家、地区或生物安全隔离区里不存在引发该疫病的病原体。科学方法无法绝对肯定不存在疫病，所以证明没有疫病需提供充足证据（达到可接受的公认置信度水平），证明在该地区的动物群体中不存在疫病特定病原体。在实际工作中，不可能以100%置信度证明在这些群体中不存在疫病。因此，目标是能够以可接受的置信度提供充足证据，证明即便存在某疫病，其比例在群体中低于某特定值（即流行阈值）。

然而，如在目标群体中出现任何水平的明显疫病，所宣告的无疫状态即自动失效，除非根据相关章节关于特异性数值的描述，认为阳性检测结果是假阳性。

本条规定基于上述原则和以下各项条件：

- 养殖和野生动物群体在无疫病和未免疫接种的情况下，经过一段时间后会成为易感动物；
- 易感动物被相关病原感染后表现出可识别的临床症状；
- 为提高特定病原检出率，水生动物易感性和采样时间必须满足一定条件；
- 如发生疫情，水生动物卫生机构应可展开有针对性的调查、诊断和报告；
- 应采用《水生手册》所述诊断方法；
- 某易感群体长时间无疫病应可由成员开展的有效疫病调查和报告所证实。

1. 目标

此类监测系统旨在以既定置信度且参考预先确定的患病率和诊断试验特点，不断提供在某国、地区或生物安全隔离区内无某疫病的证据。置信度水平和预期感染率取决于检测情况、疫病和宿主群体特征以及可用资源。

进行一次此类调查可为持续收集卫生数据增加证据，但难以甚至不可能提供足够证据表明不存在疫病，因此须辅以持续的有针对性的证据收集（如持续疫病抽样或被动检测能力），以证实无疫病状态。

2. 群体

必须明确界定流行病学单元群体。目标群体包括国家、地区或生物安全隔离区内所有易感物种的所有个体。部分目标群体有时会成为外来疫病的高风险引入点，在这种情况下，最好把监测工作侧重于这部分群体，如位于边界上的养殖场。

调查方案设计取决于研究群体的规模和结构。如群体相对较小，在感染风险方面可以认为是相同的，则可采用单阶段的调查方案。如同一水产养殖场的不同亚群生活在不同水域，则应视之为相互独立的流行病学群体。

在无法获得抽样框架的较大群体中或有可能出现疫病群发时，需进行多阶段抽样。在两阶段抽

样中，在抽样的第一阶段，选择动物组别（如鱼塘、养殖场或村庄）；在第二阶段，从每个选定的组别中选取进行检测的动物个体。

在种群结构复杂（如多层群体结构）的情况下，可采用多层抽样，并对数据进行相应分析。

3. 证据来源

监测数据可能来源不同，包括：

- a) 使用一种或多种检测方法检测病原体或感染证据的群体调查；
- b) 其他非随机数据来源，如：
 - i) 哨兵站点；
 - ii) 疫病通报和实验室调查记录；
 - iii) 学术研究和科学研究结果。
- c) 病原生物学知识，包括环境、宿主群体分布、疫病地理分布、媒介分布和气候等；
- d) 可能感染材料的进口历史；
- e) 已采取的生物安保措施；
- f) 任何其他提供国家、地区或生物安全隔离区疫病情况的信息来源。

应充分说明证据来源。须说明选择检测样本单元的抽样策略。监测系统如比较复杂，应对系统进行充分说明，包括系统可能存在的任何偏差。可使用非随机调查结果作为申报无疫的依据，但前提是随后引入的偏差应有利于检测。

4. 统计方法

应按照本章的规定分析调查数据，并考虑下列因素：

- a) 调查方案设计；
- b) 检测方法或检测系统的敏感性和特异性；
- c) 预期患病率（或多阶段预期患病率）；
- d) 调查结果。

为证明无疫病的数据分析涉及估计概率值（ α ），即在无效假设下，感染以特定的感染率（ s ）（预期感染率）存在该群体中所观察到的证据（监测结果）。产生证据的监视系统的置信度（相当于敏感性）等于 $1-\alpha$ 。如置信度水平超过预先设定的阈值，则认为这些证据足以证明无感染。

监测系统所需的置信度水平（即当感染以特定水平存在时，该系统能够检测到感染的概率）必须大于或等于95%。

监测效能（即如确实无感染，该系统报告无感染的概率）可设置为任何数值，按照惯例，通常设置为80%，但可根据国家或地区的要求进行调整。

可采用不同的统计方法包括定量和定性方法计算概率 α ，只要是按照公认的科学原则，均可接受。

监测系统的置信度计算方法须以科学为基础，有明确的依据，包括参考已发表的文献。

监测数据的统计分析往往需假定群体参数或检测特性，这些假设通常基于专家意见、以往对相同或不同群体的研究、病原生物学知识等。这些假设的不确定性应在分析中加以量化和考虑（如在贝叶斯设置中的先验概率分布形式）。

证实无疫病监测系统置信度的计算是基于感染存在于群体中的无效假设，感染水平由预期患病率设定，最简单的情况是群体中的同质感染率。而更常见的是在一个复杂（如多层）群体结构中，需要一个以上的预期患病率，例如，动物水平上的感染率（一个养殖场中感染动物的比例）和群组水平上的感染率（一个国家、地区或生物安全隔离区中感染养殖场的比例）。还可考虑更进一步的群发层，这需要更多的预期患病率值。

计算中使用的预期患病率值应是《水生手册》有关章节（如可能）所指定的值。如某疫病无此值，则须说明选择预期感染率值的理由，并应基于以下原则：

- 在动物个体水平上，预期感染率基于群体中的感染生物学。如果感染已在群体中建立，其值等于在研究群体中所期望的最低感染率，并取决于在群体中的感染动力学和所研究群体的定义（可定义为在感染存在情况下的最大预期感染率）。
- 在动物水平上，一个合适的预期患病率值（如在网箱中感染动物的感染率）可为：
 - 介于1%~5%，适用于小部分群体中存在的感染，如传播缓慢或处于疫病暴发的早期阶段等；
 - 5%以上，具有高度传染性的疫病。

如果无法获得包括专家意见在内关于感染群体预期感染率的可靠信息，预期感染率应定为2%。

在群体水平上（如网箱、池塘、养殖场、村庄等），预期感染率通常反映监测系统实际检测到的感染。如群体规模大，而仅少量群体被感染（如在群体中只有一个单元被感染），一般难以检测到这种低限感染。了解疫病特性将有助于确定预期感染率，如预期感染率在疫病迅速蔓延时往往比较高。

如群发是在初级水平上（如一个地区内感染养殖场的比例），预期患病率值通常不大于2%。如选择一个更高的预期患病率值，则须说明理由。

如利用监测数据估算发病率和感染率，描述如动物单元、时间和地点等疫病发生情况，这些参数的计算应覆盖整个群体、特定时间段或相关亚群（如特定年龄组宿主的发病率）。发病率指在持续监测中发现的新感染病例比例，感染率指在某一特定时间点群体中感染个体的比例。计算这些参数须考虑检测方法的敏感性和特异性。

5. 群发感染

在一个国家、地区或生物安全隔离区内，感染通常以群发形式出现，而非在群体内均匀分布。群发感染可出现在不同水平（如池塘里的一群鱼、养殖场里几个池塘或一个区域里的一组养殖场）。除明显同质的群体外，设计监测方案和分析数据时，均须考虑群发情况，至少需考虑对特定动物群体和感染最具显著意义的群发水平。

6. 检测方法的特点

所有监测均需采用一种或多种检测方法，以检测当前或过去的感染情况。这些检测方法可以是

实验室检测或渔民观察的结果。检测方法在群体水平上的性能以方法的敏感性和特异性表示，敏感性和/或特异性低下会影响监测结果分析，分析数据时应予以考虑。例如，在某种检测方法特异性不高的情况下，如群体无疫病或感染率非常低，则全部或大部分阳性结果均非真阳性，需进一步用高特异性的检测方法来判断阳性样本是否为真阳性。如在一个监测系统中采用一种以上检测方法（有时也称为使用系列检测或平行检测），需计算检测方法组合的敏感性和特异性。

所有计算均须考虑所使用的检测方法的性能水平（敏感性和特异性）。应具体说明计算中使用的敏感性和特异性数值，并应记录确定或估计这些数值的方法。检测方法的敏感性和特异性数值可能因不同群体和检测方案而异。例如，检测感染率较低动物群体与检测垂死且有临床症状的动物相比，前者的敏感性可能会低一些。另外，特异性会受到病原体之间交叉反应的影响，病原体在不同条件或不同地区可能会有所不同。在实际使用条件下评估检测方法性能最为理想，可降低不确定性。如未在实际条件下评估检测方法，可采用《水生手册》中的敏感性和/或特异性数值，但应把不确定性纳入结果分析。

混样检测指将多个个体的样本汇集成一个样本池，将其作为一个样本进行检测。在许多情况下，混样检测是可接受的方法。使用此方法时，应根据特定混样检测程序和样本池大小而确定或估计敏感性和特异性数值来解释检测结果。如可行，分析混样检测结果应采用基于统计学的公认方法且依据充分，包括已发表的参考文献。

应用于某一监测系统时，能否正确评估流行病学单元的卫生状态取决于整个采样过程，包括样本的选择、收集、处理和加工，以及实验室的实际检测性能等。

7. 多源信息

利用多个不同数据源同时证明不存在疫病的情况下，需分别分析每个数据源，并把每个数据源分析结果的置信度合并为合并数据源整体水平的置信度。

综合评估多个数据源的方法：

- a) 应为有效的科学方法且依据充分，包括已发表的参考文献；且
- b) 如可能，应考虑不同数据来源之间缺乏统计学独立性的问题。

在不同时期从同一国家、地区或生物安全隔离区收集到的监测数据（如每年一次的年度调查）可提供有关动物卫生状态的累积证据，利用这种累积证据可得出整体水平的置信度。然而，利用一项大规模调查或汇总同期多个随机或非随机调查数据，可在较短时间内获得同样水平的置信度。

分析间歇性或持续性收集的监测数据时，如可能，应结合数据收集时间，因为陈旧数据的价值相对较低。评估整体置信度水平也应将各数据源的数据敏感性、特异性和完整性考虑在内。

8. 抽样

抽样目的在于从目标群体中抽取子集单元，作为观察某些属性（这里指有无感染）的代表性样本，由此对整个群体状况做出判断。设计调查可能会涉及在不同层中抽样。在流行病学单元或更高单元水平上抽样时，需使用标准的概率抽样方法（如简单随机抽样）。虽然实际情况会受到不同环境条件和生产系统限制，但抽样方法仍需保证抽取的样本对于整个群体具有充分的代表性。

在流行病学单元水平以下（如个体动物）抽样时，抽样方法应保证样本具有代表性，但往往不易采集到真正具有代表性的个体动物样本（无论从一个池塘、网箱或养殖场）。为了提高发现感染病例的概率，取样时应倾向于采集已感染的动物，如选择垂死动物、处于易感阶段的动物等。

偏差抽样是在某一特定研究群体中取样，而该研究群体是目标群体的一个亚群，其感染概率与目标群体的感染概率不同。一旦明确界定了研究群体，仍需从该亚群中选出有代表性的样本。

对在各级水平上采用的抽样调查方法应依据充分且说明理由。

9. 样本量

计算样本量应采用有效的统计学方法，至少应考虑以下因素：

- 诊断检测或检测系统的敏感性和特异性；
- 预期患病率（或采用多阶段的预期患病率）；
- 预期的调查结果置信度。

此外，还应考虑其他一些因素，包括（但不限于）：

- 群体规模（可假设群体无穷大）；
- 所期望的调查预期效能；
- 敏感性和特异性的不确定性。

具体抽样要求应视具体疫病而定，需考虑相关疫病的特点、认可的宿主群体病原体检测方法的特异性和敏感性。

FreeCalc¹是一个根据各种参数值计算样本量的软件。下表提供了该软件的样本量计算范例，说明一类和二类错误为5%（即置信度95%和统计效能95%）时的样本大小。然而，这并不意味着在任何时候都能采用5%的一类错误和二类错误。例如，采用敏感性和特异性都是99%的测定方法时，应取528个样本，如其中9个或少于9个样本检测结果是阳性，而假定感染率是2%，则该群体仍可被视为无疫病，但需确定所有推测的假阳性属实。这意味着，以95%的置信度证明感染率低于2%。

在敏感性和特异性值未知的情况下（如《水生手册》未提供有关某疫病的任何可用资料），不应自动假定其为100%。所有阳性结果均应在调查报告里进行报告且加以论述，并尽力确保所有推测的假阳性属实。

10. 质量保证

调查应包括一个备有证明文件的质量保证体系，以确保实地调查和其他程序符合调查设计方案。这一质量保证体系可以是一个很简单的程序核查和基本校验系统，只要足以发现是否与调查设计有明显差异。

¹ FreeCalc - Cameron, AR是一个软件，用于计算样本量和分析调查结果以证明无疫。登录<http://www.ausvet.com.au>可免费下載。

假定感染率	检测敏感性 (%)	检测特异性 (%)	样品量	群体无疫时可能出现的最大假阳性数
2	100	100	149	0
2	100	99	524	9
2	100	95	1671	98
2	99	100	150	0
2	99	99	528	9
2	99	95	1707	100
2	95	100	157	0
2	95	99	542	9
2	95	95	1854	108
2	90	100	165	0
2	90	99	607	10
2	90	95	2059	119
2	80	100	186	0
2	80	99	750	12
2	80	95	2599	148
5	100	100	59	0
5	100	99	128	3
5	100	95	330	23
5	99	100	59	0
5	99	99	129	3
5	99	95	331	23
5	95	100	62	0
5	95	99	134	3
5	95	95	351	24
5	90	100	66	0
5	90	99	166	4
5	90	95	398	27
5	80	100	74	0
5	80	99	183	4
5	80	95	486	32
10	100	100	29	0
10	100	99	56	2
10	100	95	105	9
10	99	100	29	0
10	99	99	57	2
10	99	95	106	9
10	95	100	30	0
10	95	99	59	2
10	95	95	109	9
10	90	100	32	0
10	90	99	62	2
10	90	95	123	10
10	80	100	36	0
10	80	99	69	2
10	80	95	152	12

第1.4.9条

对证明无疫的复杂非调查数据源的特殊要求

证明无疫状态可单独使用非结构性调查数据或结合其他来源数据。可采用不同方法分析这类数据，但这些方法须符合本章的规定。在可能的情况下，所采用的方法应考虑各个观测之间缺乏统计独立性等问题。

描述监测系统的分析方法可建立在分步概率的基础上，估算这些概率可通过下述方法：

- 1) 采用有效的科学方法分析可利用数据；
- 2) 或如无可利用数据，则使用建立在专家意见基础上、具有文献依据且科学有效的正式方法收集和综合的估计数据。

如分析中使用的估计值具有较大不确定性和/或变异性，应采用随机模型或其他等效技术来评估这种不确定性和/或变异性对最后置信度估计值的影响。

第1.4.10条

监测疫病分布与发生

监测被广泛应用于评估疫病的流行率和发病率，用以确定疫病发生与分布或其他重大卫生事件，并为做出是否实行控制和根除措施等决策提供帮助。开展监测对于动物及动物产品在受感染国家间的流动也具有重要意义。

与证实无疫病的监测不同，监测疫病分布与发生通常是为了收集动物卫生相关数据，如：

- 野生动物或养殖动物中疫病感染率或发病率；
- 患病率和死亡率；
- 疫病风险因素的频率及其量化值；
- 流行病学单元中变量的频率分布；
- 从发现疑似病例到实验室确诊和/或到采取控制措施间隔天数的频率分布；
- 养殖场生产记录等。

本条介绍了有关评估疫病发生参数的监测问题。

1. 目的

这种监测系统的目标是持续不断地提供某国家、地区或生物安全隔离区中疫病或感染发生和分布的评估证据，为国家或地区疫病控制方案、贸易伙伴进行定性和定量风险评估提供有关疫病发生的信息。

开展一次这样的调查即可提供有效证据，可与持续收集的数据结合使用。

2. 群体

必须明确界定流行病学单元群体。目标群体应包括国家、地区或生物安全隔离区内所有与监测结果相关的疫病易感物种所有个体。如某地区内一些地方已知无疫病，则需把资源集中在已知阳性地区，以便能够更精确地估测感染率，对无疫（即零感染率）地区仅需进行简单核实。

调查的设计取决于研究群体的规模和结构。如果群体相对较小，且认为具有均质感染风险，则可采用单阶段调查。

对于无法获得抽样框的较大群体或有可能出现疫病群发的情况下，需采取多阶段抽样方案。例如，多阶段抽样可先对养殖场或村庄进行取样，然后从这些养殖场或村庄中选择取样池塘。

在种群结构复杂（如多层群体结构）的情况下，可采取多层抽样，并对数据进行相应分析。

3. 证据来源

监测数据可能来源不同，包括：

- a) 使用一种或多种病原检测方法的群体调查；
- b) 其他非随机数据来源，如：
 - i) 哨兵站点；
 - ii) 疫病通报和实验室调查记录；
 - iii) 学术研究和科学研究。
- c) 病原生物学知识，包括环境、宿主群体分布、疫病地理分布、媒介分布和气候等；
- d) 可能感染材料的进口历史；
- e) 已采取的生物安保措施；
- f) 任何其他提供国家、地区或生物安全隔离区疫病和感染情况的信息来源。

应充分说明证据来源。须说明选择检测样本单元的抽样策略。监测系统如比较复杂，应对系统进行充分说明，包括系统可能固有的任何偏差。支持地方性疫病感染率/发病率变化的证据应基于有效可靠的方法，以便在已知误差范围内做出准确评估。

4. 统计方法

应按照本章的规定分析调查数据，并考虑下列因素：

- a) 调查方案设计；
- b) 检测方法或检测系统的敏感性和特异性；
- c) 调查结果。

用于描述疫病模式的监测系统旨在评估疫病感染率或发病率及其置信度区间或概率区间。区间大小表示评估的精确性，并与样本量有关。区间距越小越好，但需更大样本量和更多资源。群体间或时间点之间不同感染率的评估精确性和检测能力不仅取决于样本大小，还取决于群体的实际感染率或实际差异。因此，设计监测系统应事先估计/假设一个预期患病率或患病率的预期差异。

为了描述疫病发生情况，可对整个群体和特定时间的动物单元、时间和地点的量值进行计算，或针对根据群体特性确定的亚群（如特定年龄组的发病率）进行计算。发病率指在持续监测中在特

定时间段发现的新感染病例比例，感染率指在某一特定时间点群体中感染个体的比例。计算这些参数须考虑检测方法的敏感性和特异性。

监测数据的统计分析往往需对群体参数或检测特征进行假设。这些假设通常基于专家意见、以往对相同或不同群体的研究结果、病原生物学知识、《水生手册》相应章节提供的信息等。须对这些假设的不确定性加以量化，并在分析时加以考虑（如贝叶斯设置中的先验概率分布形式）。

如监测目的是评估感染率/发病率或疫病模式的变化，统计分析应考虑到抽样误差。应仔细斟酌分析方法，并在规划和执行阶段向生物统计学者/定量流行病学者寻求咨询。

5. 群发感染

在一个国家、地区或生物安全隔离区内，感染通常以群发形式出现，而非均匀地分布在群体中。群发可出现在不同水平（如池塘里的一组鱼、养殖场里的几个池塘或一个区域里的一组养殖场）。除明显同质的群体外，设计方案和分析数据时，均须考虑群发情况，至少需考虑对特定动物群体和感染具有显著意义的群发水平。对于地方性疫病，明确群发群体的特性对于确保疫病调查和控制措施的有效性很重要。

6. 检测方法的特点

所有监测均需采用一种或多种检测方法，以检测当前或过去的感染情况。这些检测方法可以是实验室检测或渔民观察的结果。检测方法在群体水平上的性能以方法的敏感性和特异性表示，敏感性和/或特异性低下会影响监测结果分析，分析数据时须予以考虑。例如，在感染率很低的群体中，阳性结果中假阳性比例可能很大，除非使用的检测方法具有极高的特异性。在这种情况下，为确保检测结果的可靠性，往往使用一个高敏感性的方法进行初筛，然后采用高特异性的方法进行确认。

所有计算均须考虑到所使用的检测方法的性能水平（敏感性和特异性）。应具体说明计算中所用的敏感性和特异性数值，这些数值的确定或估算方法应有确切依据。检测方法的敏感性和特异性可能因不同群体和检测方案而异。例如，检测感染率较低的动物群体与检测垂死且有临床症状的动物相比，前者的敏感性可能会低一些。另外，特异性会受到病原体之间交叉反应的影响，病原体在不同条件或不同地区可能会有所不同。在实际使用条件下评估检测方法性能最为理想，可降低不确定性。如未在实际条件下评估检测方法，可采用《水生手册》中的敏感性和/或特异性数值，但应把不确定性纳入结果分析。

混样检测指将多个个体的样本汇集成一个样本池，作为一个样本进行检测。在许多情况下，混样检测是可接受方法。使用此方法时，应根据该特定混样检测程序和样本池大小而确定或估计的敏感性和特异性数值来解释检测结果。如可行，分析混样检测结果应采用基于统计学的公认方法且依据充分，包括已发表的参考文献。

地方性疫病的监测结果将提供表观感染率的估计值（AP）。使用诊断敏感性（DSe）和诊断特异性（DSp）时，实际患病率（TP）可按照下面公式计算：

$$TP = (AP + DSp - 1) / (DSe + DSp - 1)$$

此外，还应注意，因检测方法、宿主或程序等原因，不同实验室结果可能会相互矛盾。因此，敏感性和特异性参数应根据特定实验室及所用程序进行验证。

7. 多源信息

如感染或疫病资料来自多个不同数据源，需分别对这些数据源进行分析，并分别显示结果。

在不同时期从同一国家、地区或生物安全隔离区采用相似方法收集到的监测数据（如每年一次的年度调查）可提供有关动物卫生状态及其变化的累积证据。可把这些累积证据合并起来（如使用贝叶斯方法），以更精确详细地评估疫病在群体中的分布情况。

地方性疫病的表观变化可能确实存在，但也可能是因其他影响检测能力的因素所引起。

8. 抽样

抽样目的在于从目标群体中抽取子集单元，作为观察某些属性（这里指有无感染）的代表性样本。设计调查可能会涉及在不同层中抽样。在流行病学单元或更高单元水平上抽样时，需使用标准的概率抽样方法（如简单随机抽样）。虽然实际情况受到不同环境条件 and 生产系统限制，但抽样方法仍需保证所抽取的样本对于整个群体具有充分的代表性。

在流行病学单元水平以下（如个体动物）抽样时，应采用以概率为基础的采样方法。采集一个真正以概率为基础的样本往往非常困难，因此，采用其他方法分析和解释结果应特别谨慎，有可能无法推论出抽样群体的状况。

对在各级水平上采用的抽样调查方法应依据充分且说明理由。

9. 样本量

计算样本量应采用有效的统计学方法，至少应考虑以下因素：

- （单一或组合）诊断检测方法的敏感性和特异性；
- 预期的群体感染率和发病率（或在多阶段设计中使用的感染率/发病率）；
- 预期的调查结果置信度；
- 预期的精确度（即置信度区间或概率区间）。

此外，还应考虑其他一些因素，包括（但不限于）：

- 群体规模（可假定群体无穷大）；
- 敏感性和特异性的不确定性。

具体抽样要求应视具体疫病而定，需考虑相关疫病的特点、认可的宿主群体病原体检测方法的特异性和敏感性。

计算样本量可利用软件包，如Survey Tool Box（www.aciar.gov.au，www.ausvet.com.au）和WinPEPI（www.sagebrushpress.com/pepibook.html）。

在特异性（ S_p ）和敏感性（ S_e ）均未知的情况下（如《水生手册》未提供有关某疫病的任何可利用资料），不应自动假定其为100%，而应咨询这方面的专家后再确定。

10. 质量保证

调查应包括一个备有证明文件的质量保证体系，以确保实地调查和其他程序符合调查方案。这一质量保证体系可以是一个很简单的程序核查和基本校验系统，只要足以发现是否与调查设计有明显差异。

第1.4.11条

监测方案范例

下面举例说明监测和证明无疫病的分析方法。举例说明的目的如下：

- 说明可采用的各种方法；
- 为设计具体监测系统提供实用指南和模式；
- 为开发和分析监测系统提供可利用的参考资源。

这些例子展示了可成功证明不存在某疫病的方法，但这些方法并非规定使用的方法。各成员可自选用不同方法，但这些方法须符合本章要求。

以下这些范例涉及调查方案的使用，旨在说明不同方案的设计、抽样计划、样本量计算和结果分析。目前正在开发使用复杂的非调查数据来源证实不存在疫病的其他方法，并将陆续公布¹。

1. 例1: 单一阶段结构性调查（养殖场无疫认证）

a) 背景

使用网箱从事淡水养鱼的某养殖企业建立了一个渔场认证计划，各渔场需分别证明没有某疫病（假定为疫病X）。该疫病的蔓延速度不是很快，常在冬季发生，生产周期末期阶段的成鱼受影响最严重。这些养殖场拥有2~20个养殖成鱼的网箱，每个网箱可容纳1 000~5 000尾鱼。

b) 目的

通过监测提供证据，表明养殖场无疫病X（涉及某国家或地区而不是某渔场的无疫问题将在下一范例中说明）。

c) 方法

根据本章的建议，该认证方案制定了一套标准操作程序和无疫申报条件。这些程序和条件要求渔场设计一项调查方案，调查应可在存在疫病的情况下，以95%的置信度发现疫情。如经调查未发现疫情，则只要养殖场实行一套最低要求的生物安保标准，即可认定渔场为无疫。实行生物安保标准旨在防止疫病X进入养殖场（通过实施控制疫病X蔓延的具体方法），并确保一旦疫病进入渔场就能被迅速发现（基于养殖场卫生记录，以及在出现疫情后迅速进行调查）。生物安保措施的有效执行情况每年由独立核查人员进行审计和评估。

d) 调查标准

根据本章的建议，为证明无疫病X病原感染而设立了以下调查标准：

- i) 调查置信度为95%（即第一类错误=5%）。
- ii) 调查效能设定为95%（即第二类错误=5%，这意味着无疫病养殖场被感染的概率为5%）。

1 International EpiLab, 丹麦, 研究主题1: 无疫。 http://www.vetinst.dk/high_uk.asp?page_id=196

- iii) 目标群体是养殖场里所有的鱼。由于该疫病只感染生产周期末期阶段的成鱼，且只发生在冬季，所以研究群体定义为冬季的成鱼。
- iv) 疫病群发问题。因为按网箱分组，所以在网箱一级考虑群发现象完全合乎逻辑。然而，一个养殖场如被感染，往往发生在多个网箱，因此几乎无法表明有很强的群发性。此外，单个养殖场的网箱数量有限，因此很难在网箱水平上定义预期感染率（即通过调查能在该养殖场检测到受感染网箱的比例）。出于这些原因，决定将每个养殖场的全部成鱼视为单一的同质群体。
- v) 分层抽样也需考虑。为了确保抽样具有充分的代表性，决定以网箱为单位并按每个网箱群体比例分层抽样。
- vi) 动物水平上的预期感染率根据该疫病流行病学确定。该疫病不会迅速蔓延，但报告表明，在界定的目标群体里，如群体被感染，至少10%的鱼会被感染。最保守的做法是把预期感染率设为2%的低水平。可把感染率设为10%（会导致样本量大大减小），但主管部门不会相信在鱼群感染率为5%时仍检测不到疫病。
- vii) 采用基于检测抗原的酶联免疫吸附试验（ELISA），这涉及破坏性取样。目前在该国某些地方存在疫病X（因此需有养殖场一级的认证计划），这为评估ELISA在这些渔场相似群体的敏感性和特异性提供了机会。最近一项研究（把组织学和组织培养相结合作为黄金标准）估计ELISA方法的敏感性是98%（95%置信区间为96.7%~99.2%），特异性为99.4%（99.2%~99.6%）。由于置信区间相对狭窄，决定利用这一点来评估敏感性和特异性，而不根据不确定性进行复杂的计算。

e) 样本量

计算达到调查目的所需的样本量时，需考虑群体规模、检测性能、所需置信度和预期感染率。由于每个养殖场的群体相对较大，各渔场群体总数的差异对计算出的样本量影响甚微，用于计算所有养殖场样本量的其他参数是固定的，因此，可计算出一个标准样本量（在这个群体中使用ELISA方法），并利用FreeCalc软件计算样本量。基于上述参数，计算出每个养殖场所需样本量是410尾鱼。此外，由于特异性不够强，这个样本量仍可能在一个没有感染的群体中检出5个假阳性，而主管部门不希望获得这些假阳性结果，所以需改进检测系统，增加一个确证阳性结果的检测。组织培养被选定为最合适的检测手段，其特异性被认为是100%，但由于生物培养较为困难，其敏感性只有90%。

由于使用了两种检测方法，所以应计算整个检测系统的性能，并根据系统性能重新计算样本量。

使用这种组合的检测方法（一个样本只有在用两种检测方法都是阳性结果时，方可确定为真阳性），该组合检测方法的特异性可按以下公式计算：

$$\text{组合检测方法的特异性 } Sp = Sp1 + Sp2 - (Sp1 \times Sp2)$$

计算出组合检测的特异性是 $1 + 0.994 - (1 \times 0.994) = 100\%$ 。

敏感性按照下面公式计算：

组合检测方法的敏感性 $Sp_e = Se_1 \times Se_2$

计算出组合检测的敏感性是 $0.9 \times 0.98 = 88.2\%$ 。

根据这些新的性能数值计算出的调查样本量是169尾鱼。值得注意的是，改进检测的某些性能时（这里指提高特异性），通常会导致该检测的其他性能下降（这里指敏感性）。

但在这个范例子中，由于改善了特异性而减小了样本量，足以抵消因敏感性下降带来的负面影响。

另需注意的是，使用一个特异性为100%的检测系统时，无论设计中使用的参数值如何，调查结果的有效性始终是100%。这是因为没有发生第二类错误的可能，即把无感染的养殖场认作感染养殖场。

计算样本量时，有必要核查群体规模对样本量的影响。样本量计算基于群体无限大，如群体较小，对样本量的影响见下表：

群体大小	样本量
1 000	157
2 000	163
5 000	166
10 000	169

从上述计算可发现，群体规模对样本量影响很小。为简便起见，无论养殖场成鱼数量如何，一律采用169尾鱼作为标准样本量。

f) 采样

采样应尽可能做到具有代表性。Survey Toolbox¹软件就如何在不同情况下实现这一点做了全面说明。下面用一个养殖场的例子来说明。

某养殖场共有8个网箱，其中4个用于养成鱼。冬季调查时，在这4个网箱里分别养了1 850尾、4 250尾、4 270尾和4 880尾鱼，成鱼群体总数是15 250尾。

对整个群体进行简单随机抽样，有可能使从每个网箱抽取的样本量大致与每个网箱鱼的数量成比例。然而，按比例分层抽样可保证每个网箱按比例抽样，按各网箱鱼的数量占总群体数量的比例分配各网箱采样数。第一个网箱有1 850尾鱼，占养殖场成鱼总数15 250尾的12.13%，因此，应从第一个网箱中取总样本数的12.13%（即21尾鱼）。以此类推，其他三个网箱的采样量分别是47尾、47尾和54尾鱼。

确定每个网箱采样量后，需确定如何从1 850尾鱼的网箱中选出代表这个群体的21尾鱼，以下几种方法可供选择：

1 水生动物疫病调查工具箱（Survey Toolbox）实用手册和软件包。Cameron A.R.（2002），澳大利亚国际农业研究中心（ACIAR），Monograph No. 94, 375 pp. ISBN 1 86320 350 8.可从ACIAR（<http://www.aciar.gov.au>）获取印刷版，登录<http://www.ausvet.com.au>可免费获取电子版。

i) 如鱼可被单独处理, 则可用随机系统抽样。例如, 在收获时或在日常管理操作时(如分级或免疫接种)进行采样。

如采用简单系统抽样, 即在处理鱼时按一定数量间隔挑选出一尾鱼。例如, 从1 850尾鱼中挑选21尾鱼的采样间隔是 $1\ 850/21=88$, 即从网箱里每取出88尾鱼, 就取一尾鱼做样本。在这个例子里, 有效保证随机性的做法是在1至88之间取一随机数(如使用随机数表)来选择第一尾鱼, 之后取每第88尾鱼作为样本。

ii) 如鱼不能被单独处理(最常见也是最不易管理的情况), 则必须从网箱里捕获一些鱼作为样本。应采用最有效和最实际的捕鱼方式, 但应尽力设法确保样本具有代表性。在这个例子中, 用网在同一地点多次捕捞能很方便地捕获21尾鱼, 且是最容易捕获的鱼(可能是小鱼), 但这种做法并不可取。一种增加样本代表性的方法是在网箱的不同方位采样, 即分别在网箱的各端、各面、中间、拐角处采样。此外, 鱼之间如有差异, 则应设法捕捞到不同的鱼(如小鱼、大鱼均需捕捞)。

这种采样方法并非理想的随机抽样, 但由于随机抽样存在实际困难, 只要努力做到增加样本的代表性并证据充分, 就是可以接受的。

g) 检测

样本的收集、处理和检测需采用符合认证方案和《水生手册》要求的标准化程序进行。检测规程规定, 任何ELISA检测阳性样本都需进行组织培养, 组织培养的阳性结果表明是真阳性样本(证明养殖场确有这种疫病)。这个规定必须严格遵守。对组织培养发现的阳性不可重新检查, 除非在检测规程里特别指定需做进一步检测。这种检测结果将被纳入对检测系统的敏感性和特异性评估(从而包括对样本量的评估)。

h) 分析

如在计算得出的样本量即169尾鱼中没有发现阳性结果, 则调查置信度为95%。可运用上面提及的FreeCalc软件分析结果来确认(软件计算的置信度为95.06%)。

在某些情况下, 调查可能没有完全按计划进行, 实际采样量少于目标采样量, 而养殖场规模可能也较小。在这种情况下, 建议按养殖场实际情况分析渔场数据。例如, 如从一个有2520尾鱼的养殖场采集165个样本, 则调查置信度仍是95%。如只采集160尾鱼, 置信度则为94.5%。如95%置信度是调查的刚性指标, 则这项调查未达到目标, 需有更多证据。

2. 例2: 两阶段结构性调查(国家水平上的无疫状态)

a) 背景

某国的目标是宣告其甲壳动物无疫病Y。该国甲壳动物养殖以分布在村庄周围的众多小池塘为主。Y疫病具有高度传染性, 在生产周期的中后期会造成大量死亡, 感染动物在几天内发病死亡。患病动物几乎无特异症状, 池塘感染后如不及时抢收, 会出现大规模死亡。Y疫病常在夏末流行, 但也可在一年中的任何时候发生, 偶尔也会出现在生产周期早期。该国实验室和基础运输设施资源有限, 但有一个相对庞大的政府结构和由水产业官员组成的全面网络。

b) 目的

目的是确定国家无疫病Y状态。监测系统既需符合本章要求，还需能在这种小农生产系统中切实可行。

c) 方法

为收集无疫证据，水产养殖主管部门决定采用两阶段结构性调查方案（村庄抽样为第一级，池塘采样为第二级）。鉴于难以从大量养殖场采样送实验室检测，因此开发了一个联合检测系统，以尽量减少成本昂贵的实验室检测。

在该调查中，池塘作为观察和分析单元，而不是动物个体。因此诊断建立在池塘水平上（感染或非感染池塘），而不是动物水平上。

因此，调查是证明村庄未被感染（对村庄随机抽样，并在村庄一级加以诊断）。实际上，用来进行村级诊断的检测方法是证明该村无池塘感染的另一项调查手段，即在池塘层面进行检测（即渔民观察，必要时实验室进一步检测）。

d) 调查标准

i) 调查置信度定为95%，检测效能定为95%（但如检测系统特异性像上例一样被证实达到近100%的话，检测效能很可能就是100%）。

ii) 目标群体是该国研究期间所有养虾池塘，研究群体与目标群体相同，交通困难的偏远地区除外。因为疫情可能发生在一年中的任何时间和生产周期的任何阶段，所以不针对某一特定时间或年龄对群体做进一步定义。

iii) 采用三种检测方法。首先是渔民观察，确定是否在某池塘发生虾大量死亡。如发现大量死亡，则需进行第二种检测。第二种检测方法是聚合酶链式反应（PCR），如结果阳性，再进一步做疫病传播实验。

iv) 渔民观察是一种检测方法，以观察到大量死亡作为存在疫病Y的证明。但因其他疫病也可造成大量死亡，所以该观察检测缺乏特异性。此外，存在疫病Y而又不引起大量死亡的情况非常少见，因此，该观察检测相当灵敏。病例标准定义是引发大规模死亡（例如，一周内观察到某池塘虾群死亡20%以上）。依此定义，发生大量死亡时，渔民能够对每个池塘一一进行“诊断”。过于敏感的渔民可能会在只有少量死虾时就判定发生大规模死亡（假阳性，导致特异性降低）。相反，少数渔民无法判断虾死亡率，从而导致敏感性降低。

为了量化渔民观察虾大量死亡事件的敏感性和特异性，把渔民观察作为疫病Y的检测方法，需单独进行一项研究。即针对被认为是无疫群体中发生大规模死亡事件的回顾性研究，同时向渔民介绍几个池塘发生虾类死亡的情景模拟，以评估渔民准确判断大规模死亡的能力。通过综合分析这两方面的结果，渔民报告大量死亡事件作为疫病Y检测方法的敏感性是87%，特异性是68%。

v) 当渔民发现某池塘出现大量死亡时，应按照规定采集垂死虾样本，收集20尾虾的组织样本，混合后做PCR检测。实验室研究证明，从混有一只感染虾的20尾虾样本池中，

PCR检测到阳性的敏感性是98.6%。一项检测阴性样本的类似研究表明，PCR检测偶尔会出现阳性结果，原因或由于实验室污染，或存在其他来源的非活性遗传物质（怀疑来自以虾为原料的饲料）。估计PCR试验的特异性为99%。

- vi) 其他国家发表的研究表明，疫病传播实验（即第三种检测）的敏感性为95%，部分原因是接种材料所含病原量不定。认可的特异性是100%。
- vii) 根据这些数据，按照例子1中提出的公式，计算综合检测系统的敏感性和特异性。先计算前两个检测方法的敏感性和特异性，再利用前两个检测方法的结果计算与第三个检测方法的综合效果。结果是敏感性为81.5%，特异性为100%。
- viii) 预期感染率应在两个层面进行计算。首先，确定池塘水平的预期感染率（如有疫病，村里池塘的感染比率）。邻国的经验表明，相互紧靠的池塘会被迅速感染，疫病感染村的池塘感染率低于20%是很罕见的。为谨慎起见，采用5%为预期感染率。村级第二个预期感染率值（即受感染村庄的比例）可通过调查确定。可设想疫病在局部地区持续流行，未迅速蔓延到该国其他地区，所以感染率值定为1%，这被认为是调查设计中预期感染率的最低值。
- ix) 根据政府官方记录，该国共有65 302个村庄。根据水产养殖主管部门记录，其中12 890个村庄有虾池塘。这些数据是通过五年一次的农业普查得到的，并根据水产业官员的报告每年更新一次。没有关于每个村庄虾池塘数量的记录。

e) 样本量

在两个层次计算样本量，首先是需要采样的村庄数，其次是需要采样的池塘数。村庄样本数取决于鉴别村庄感染检测方法的敏感性和特异性。对每个村子进行的检测其实属于另一项调查，其敏感性等于置信度，而特异性等于村庄一级的检测效能。在村庄调查中，有可能通过改变样本大小（如需检测的池塘数目）来调整置信度和检测效能，这意味着在一定程度上可确定需达到的敏感性和特异性。

这给样本计算提供了灵活性。如希望第一阶段样本量较少（如少量村庄），则需较高的敏感性和特异性，在每个村庄检测较多的池塘。池塘数量偏少会导致敏感性和特异性降低，因此就需要检测较多的村庄。在软件Survey Toolbox中描述了确定第一和第二阶段最佳组合（成本最低）的抽样方法。

另一个问题是，每个村庄的池塘数量不同。为在每个村庄检测得到相同（或相似）的置信度和检测效能（敏感性和特异性），样本量可能需有所不同。主管部门依据每个村的池塘总数，编制一个样本量表，以决定每个村庄所需检测的池塘数。

确定样本量的可能方法举例如下：

村级调查的目标敏感性（置信度）是95%，目标特异性是100%。使用FreeCalc软件和1%预期感染率（即1%或更多的村庄感染疫病时可查出疫情），计算出第一阶段样本量为314个村庄。对每个村庄采用上述综合检测系统，敏感性为81.5%，特异性为100%。根据这些数字编制下表，列出为达到95%敏感性需采样的池塘数量。

群体大小	采样数量
30	29
40	39
60	47
80	52
100	55
120	57
140	59
160	61
180	62
200	63
220	64
240	64
260	65
280	65
300	66
320	66
340	67
360	67
380	67
400	67
420	68
440	68
460	68
480	68
500	68
1000	70

f) 抽样

第一阶段抽样是选择村庄，使用随机数和水产养殖主管部门提供的有虾塘的村庄名单抽样框。在电子数据表中把每个村庄从1到12890编号¹，用一随机数表（如Survey Toolbox中的表格）或由生成随机数软件（如EpiCalc）生成被检村庄。

第二阶段抽样是在每个村庄随机选择池塘。这需要一个抽样框或村中所有池塘清单。水产养殖主管部门启用培训过的地方渔业官员来协调调查。官员走访每个被选定的村庄，召集村里所有渔民开会，询问渔民所拥有的池塘数量，编制渔民池塘数目表格。然后用简单随机抽样方法从这个表格中选出适当数量的池塘（在29和70之间，从上表可看出这取决于村中池塘数）。选择随机数可使用软件（如Survey Toolbox中的随机动物方案）生成，或用随机数字表或投掷十面骰子进行人工选择。Survey Toolbox软件对此进行了详细描述。通过这

1 <http://www.myatt.demon.co.uk/epicalc.htm>

个选择过程确定业主及其名下的第几号池塘（例如史密斯先生的第三号池塘），随后根据业主自己编排的池塘编号辨认选中的池塘。

g) 检测

确定采样池塘后，开始对其开展实际调查。渔民开始在整个生产周期对池塘进行观察。当地水产养殖主管官员每周走访这些渔民，查看是否在选定池塘发生大规模死亡。如出现大规模死亡（即第一种检测方法结果阳性），取20尾垂死虾送交实验室检查（首先进行PCR检测，如阳性，则进一步进行疫病传播试验）。

h) 分析

分析工作分两阶段进行。首先，分析池塘结果，以确保达到所需置信度水平。如样本量符合原定目标（且均为阴性），则每个村庄结果的置信度应等于或大于95%。其次，分析每个村庄的结果，以提供全国层面的置信度水平。同样，如样本量符合原定目标（即被检村庄数），置信度应大于95%。

3. 例3: 立体采样和采用低特异性的检测方法

a) 背景

某国牡蛎养殖业以架式养殖为主，23个养殖区分布在海岸沿线。在其他国家类似地区，疫病Z在夏末秋初引起牡蛎死亡。在疫病暴发期间，牡蛎感染比例很大，但即使无疫病暴发，怀疑病原体仍可能以相对较低的感染率存在。

b) 目标

国家主管部门希望证明本国无疫病Z。如检测发现疫情，则调查的一个次要目标是在沿海地区收集证据，以进行区带划分。

c) 方法

因可能存在隐性感染，仅通过临诊观察来监测疫情暴发是不够的，所以主管部门决定对疫病开展两阶段监测调查，并在调查过程中采集牡蛎样本，送交实验室检测。调查的第一阶段是选择养殖港湾。由于为地区划分提供证据是调查的目标之一（如在任一港湾发现疫病），决定采用普查的方法从每个港湾采样。这需要对23个港湾逐一调查，进行23项调查。在采样方法上有几种选择，或在收获、销售时抽样，或把牡蛎养殖场作为抽样或分层的对象。但由于病原活动高峰期并不在收获期，且在养殖场抽样会把港湾内大量野生牡蛎排除在外，因此，决定利用立体采样方法，模拟简单随机抽样，从港湾的整个牡蛎群体采样。

d) 调查

i) 目标群体是每个港湾的所有牡蛎，研究群体是夏末秋初处于疫病高风险时期的牡蛎。野生和养殖牡蛎均易感，均包括在研究群体中，但感染风险可能不同（但未知）。如下所述，采样以站点地图为基础，把牡蛎群体所在地区与其地理位置对应起来，更准确地描述研究群体。

- ii) 仅在牡蛎一级需要预期感染率值（因为对港湾实行普查）。尽管通常认为这种疫病在暴发期间感染率很高，但考虑到病原可能持续存在而无临诊表现，故采用较低的流行率，选定为2%。
- iii) 检测方法为组织病理学免疫染色技术。这个方法由于非特异性染色，偶尔会产生假阳性，但非常敏感。已发表的研究表明，其敏感性为99.1%，特异性为98.2%。目前尚无其他实用的检测方法。这意味着不能明确区分真假阳性，任何规模的调查都会存在少量假阳性（即1.8%）。
- iv) 置信度设为95%，检测效能为80%。在前面两个例子中，联合采用了多种检测方法，假定特异性是100%，有效性也是100%。而这里由于特异性不够高，有可能错地将无疫病的港湾误认为已感染，因此检测效能不是100%。选择一个相对较低的数值（80%）意味着某港湾未被感染时，有1/5的可能性会被错判为已感染，但这样做能减少样本量，显著降低调查成本。

e) 样本量

假设抽样程序将参照简单随机抽样进行，样本量（即每个港湾抽取的牡蛎样本数量）可通过FreeCalc进行计算。假设群体规模（每个港湾的牡蛎数量）非常大，用上述敏感性、特异性和预期感染率的数据，计算出样本量是450。根据FreeCalc报告，在此样本规模和检测敏感性基础上的假阳性低于10时，仍可得出该群体无感染的结论。这是因为如群体感染率为2%或更高，可预计从450个样本中检到的阳性样本数应大于10。事实上，如某群体感染率是2%，应出现至少9个真阳性（ $450 \times 2\% \times 99.1\%$ ）和8个假阳性（ $450 \times 98\% \times 1.8\%$ ），共17个阳性结果。

这说明，在别无选择只能使用一个特异性不高的检测方法时，概率论和足够的样本数量可有助于区分真假阳性。

f) 抽样

抽样目的是收集能代表整个港湾状况的450个牡蛎样本。简单随机抽样需要建立一个包括所有牡蛎的抽样框（这一点不可能做到），而系统抽样（至少在理论上）需要能够把所有牡蛎排队（也不可能做到），所以主管部门决定使用近似于简单随机抽样的立体采样法。立体采样涉及选择随机点（通过坐标定义），然后在选定点附近挑选牡蛎。为避免选到许多附近无牡蛎的随机点，应首先绘制港湾地图（水产养殖主管部门已有牡蛎租赁养殖地区分布的数字地图），并根据当地人的经验，在地图上标出野生牡蛎特别集中的地区，然后用生成成对随机数的方法确定牡蛎地区检测点的坐标。虽然也考虑过其他方法（包括用绳子标记间隔距离，确定一个横断面，然后收集每条绳索附近的牡蛎），但最后采纳的是随机选取坐标。

调查小组先乘船访问每一个点（利用GPS全球定位系统），从群体密集地区选择牡蛎有多种方法，但需注意保证随机性。调查人员采用一种简单办法，即当GPS接收机指示已到达某取样点时，调查人员朝空中扔出一块石头，然后选择掉落点附近的牡蛎。凡牡蛎是垂直

分布的地方（如野生牡蛎沿垂直面生长），根据牡蛎所在深度分步采样，首先采集一个在水面上的牡蛎，然后采集一个位于一半深度的牡蛎，最后从船上能够到达的最深处采集一个牡蛎。

这种做法的缺点是容易漏掉牡蛎密集地区而产生偏差，因此，需在每个取样点对牡蛎相对密度进行评估，以对结果进行加权处理（参见Survey Toolbox中的详细说明）。

g) 检测

按照标准化程序采集、处理和分析样本。结果分为真阳性（高特异性强染色，可能与组织损伤有关）、可能阳性（特异性弱染色）和阴性。

h) 分析

如检测方法特异性不高，解释结果所依据的假设是为了得出群体无感染的结论，任何鉴定出的阳性结果均为假阳性。因为样本量为450，做出该群体无感染的结论时，可预期最多会出现10个假阳性。但如有合理证据表明确实有一个真阳性，该群体就不能被认为无疫，这就是阳性结果分为真阳性和可能阳性的原因。如有任何明确的阳性结果，港湾群体则须视为已感染。由于可能阳性中包含假阳性，因此10个以内的假阳性是可接受的。利用FreeCalc根据检测（推测）到的假阳性数量计算实际置信度。例如，如从某港湾检测到8个可能阳性结果，则这个调查的置信度是98.76%；如检测发现了15个可能阳性，则置信度只有61.9%，表明该港湾可能被感染。

i) 讨论

通常可有把握地假定一个证明某地无疫的监测系统特异性是100%。这是因为对任何可疑情况均进行调查，直到最后下结论。如果确定病例为真阳性，说明疫病确实存在，则不能宣告无疫。例3介绍的情况不同，因缺乏适当检测手段，致使监视系统特异性达不到100%。这种情况可能并不多见，但该实例阐明了处理这类问题的方法。在实践中，面对少量（但统计学上可接受的）阳性结果，有关某国（或港湾）无感染的结论通常需获得进一步的证据（如无临床症状）。

注：于2008年首次通过，于2016年最新修订。