

广东省登革热防控专业技术指南（2015年版）

目 录

前 言	5
第一章 相关定义	- 4 -
第二章 应急响应级别	
第一节 VI级事件	7
一、卫生计生行政部门	- 5 -
二、爱国卫生部门	7
三、疾控中心	8
四、医疗机构	8
五、社区卫生服务机构	8
第二节 V级事件	9
一、卫生计生行政部门	9
二、爱国卫生部门	9
三、疾控中心	10
四、医疗机构	11
五、社区卫生服务机构	12
第三节 IV级事件	13
一、卫生计生行政部门	13
二、爱国卫生部门	13
三、疾控中心	14
四、医疗机构	15
五、社区卫生服务机构	16
第四节 III级事件	17
一、卫生计生行政部门	17
二、爱国卫生部门	18
三、疾控中心	18
四、医疗机构	19
五、社区卫生服务机构	20

第五节	II级事件	21
一、	卫生计生行政部门	21
二、	爱国卫生部门	22
三、	疾控中心	22
四、	医疗机构	23
五、	社区卫生服务机构	23
第六节	I级事件	24
第三章	通用指引	
第一节	登革热媒介伊蚊监测指南	25
第二节	登革热媒介伊蚊控制指南	39
第三节	登革热疫情监测指引	54
第四节	登革热疫情处置工作指引	65
第五节	登革热实验室检测指引	70
第六节	风险评估基本方法与要求	113
第七节	广东省医疗机构登革热病例管理指引	115
第八节	广东省登革热病例居家隔离社区管理工作指引	122

前 言

本指南根据中国疾病预防控制中心 2015 年 4 月 2 日印发的《登革热疫情分级防控技术指导方案》（中疾控传防发〔2015〕45 号），结合广东省防控登革热，特别是 2014 年登革热疫情防控实际工作经验，针对疫情发生发展的不同阶段设立了 6 个应急响应级别并明确了有关部门、机构的主要工作职责及相应防控技术措施。

卫生计生行政部门、疾病预防控制中心和爱国卫生部门作为登革热疫情防控主要部门及专业技术机构，在登革热疫情的处置过程中承担并发挥重要作用。卫生计生部门（包括行政部门、疾病预防控制机构、医疗卫生机构）主要负责疫情监测预警，病例诊断治疗、防蚊隔离、蚊媒密度监测、灭蚊效果评估及社区病例管理等职责；爱国卫生部门主要负责广泛发动群众、开展爱国卫生运动、清理蚊虫孳生地、杀灭成蚊等职责。各级卫生计生和爱卫部门应明确职责，密切配合，共同做好登革热疫情防控工作。

第一章 相关定义

输入病例：包括境外输入病例和境内输入病例两类。境外输入病例指发病前 14 天内到过登革热流行的国家或地区的病例；境内输入病例是指发病前 14 天内离开本县（区）（现住址）、到过本县（区）外的境内登革热流行地区的病例。

本地病例：发病前 14 天内未离开本县（区）（现住址）的登革热病例。

登革热暴发：在一个最长潜伏期（14 天）内，在人口相对集中的地点（例如一个社区、居委会、村庄、学校或其它集体单位等），发生 3 例及以上本地感染的登革热实验室诊断病例。

核心区：以感染者住所或与其相邻的若干户、感染者的工作地点等活动场所为中心，参考伊蚊活动范围划定核心区，输入病例半径 100 米之内，本地散发病例半径 200 米之内空间范围。1 例感染者可划定多个核心区。

警戒区：核心区外扩展半径 200 米范围为警戒区。农村地区可以将核心区周围的自然村划定为警戒区。

监控区：根据不同登革热风险地区疫情大小、流行季节等因素，在警戒区外围划定监控区。

第二章 应急响应级别

第一节 VI 级事件

一个县(区)有布雷图指数(或诱蚊诱卵器指数)高于 10 的社区(村),但尚无病例报告。处于尚未发生疫情,但具有发生疫情风险的阶段,以控制媒介伊蚊密度,防止疫情发生为目标。

一、卫生计生行政部门

(一) 县(区)级卫生计生行政部门。

建议政府组织发动和督促布雷图指数(或诱蚊诱卵指数)超过 10 的社区(村)及时开展爱国卫生行动,清理卫生死角,清除积水,重点场所加强灭蚊,其它社区每月至少开展 1 次爱国卫生行动。协调和指导其他相关街道(乡镇)加强灭蚊和清理孳生地工作,同时做好信息通报及各种应急物资的储备工作。

(二) 地市级卫生计生行政部门。

加强对重点县(区)疫情和蚊媒监测工作的检查督导。

二、爱国卫生部门

(一) 县(区)级爱国卫生部门。

1.对布雷图指数(或诱蚊诱卵指数) ≥ 10 的社区(村)开展杀灭成蚊工作。

2.督促街道(乡镇)在 7 天内把社区(村)蚊媒指数(布雷图指数或诱蚊诱卵指数)控制在 10 以下。

3.发动社区内各单位及公众,大力开展爱国卫生运动,清理卫生死角,清除或控制室内外蚊虫孳生地。

(二) 地市级爱国卫生部门。

加强对重点县(区)蚊媒控制工作的检查督导。

三、疾病预防控制中心

(一) 县(区)级疾病预防控制中心。

组织布雷图指数(或诱蚊诱卵指数)超过10的社区(村)所在的街道(乡镇)至少每半月开展1次蚊媒密度监测,其他街道根据实际情况定期开展蚊媒密度监测(见第三章第一节、第二节),结果及时报送市级疾控中心。

(二) 地市级疾病预防控制中心。

及时收集县(区)级疾控中心上报的蚊媒监测结果,综合考虑相关风险因素,及时开展风险评估和形势研判,必要时报告当地卫生计生行政部门。

四、医疗机构

开展医疗机构诊疗技术培训,提高医务人员的早期发现及诊断登革热病例的意识和能力,做好病例隔离及收治的准备工作。

五、社区卫生服务机构

开展蚊媒密度监测、孳生地调查、健康教育等登革热防控工作。

第二节 V级事件

一个县（区）报告输入病例；或一个县（区）报告年内首例本地病例；或其它未达到IV级的事件。处于疫情初期，发生本地暴发的风险较高，以做好病例管理和防蚊隔离，降低媒介伊蚊密度，防止疫情扩散为目标。

在落实VI级事件响应各项工作的基础上，开展以下工作。

一、卫生计生行政部门

（一）县（区）级卫生计生行政部门。

组织开展现场处置，做好病例管理与救治，加强信息通报，协调爱卫和宣传部门开展相关工作。

（二）地市级卫生计生行政部门。

组织开展风险评估、风险沟通和防控效果评估。

二、爱国卫生部门

（一）县（区）级爱国卫生部门。

1.对核心区和警戒区开展杀灭成蚊工作，并在7天内将蚊媒指数（布雷图指数或诱蚊诱卵指数）控制在5以下。

2.督促其它街道（乡镇）将蚊媒指数（布雷图指数或诱蚊诱卵指数）控制在10以下，必要时开展社区（村）快速杀灭成蚊行动。

3.加强防蚊灭蚊宣传，发动各单位及公众反复清除或控制室内外蚊虫孳生地。

（二）地市级爱国卫生部门。

督导检查病例所在县（区）孳生地清除和蚊媒控制落实情况。向辖区内各级政府通报防蚊灭蚊工作开展情况，并上报省级爱国卫生部门。

三、疾病预防控制中心

（一）县（区）级疾病预防控制中心。

1.开展现场流行病学调查：要做好病例的流行病学调查，划定核心区、警戒区和监控区。在核心区内组织开展病例搜索（见第三章第四节）及可疑病例标本的采集、保存、检测，阳性标本及时送市疾控中心复核；不具备检测能力的及时送市疾控中心检测（见第三章第五节）。

2.指导核心区蚊媒控制工作，并评估控制效果（见第三章第二节）。

3.启动蚊媒应急监测，登革热疫情发生 1-2 天内，核心区进行一次布雷图指数监测，随后每 3 天开展一次布雷图指数监测，直至布雷图指数 <5；警戒区每周开展一次布雷图指数监测；监控区每两周开展一次布雷图指数监测（见第三章第一节）。

4.网络直报：符合突发公共卫生事件相关信息报告要求的疫情，需通过“突发公共卫生事件信息报告管理系统”上报疫情（见第三章第三节）。

5.做好风险评估及预警

涉疫县（区）级疾控中心至少每两周进行一次专题风险评估，及时向当地卫生计生行政部门报告（见第三章第六节）。

6.做好物资储备

做好防蚊用品、消杀器械和药品、检测试剂等防控物资的储备。

（二）地市级疾病预防控制中心。

1.负责对发生病例的县（区）进行技术指导。

2.实验室检测：对于县（区）级疾控中心上送的标本开展复核检测，2个工作日内向送检单位反馈检测结果，本地区年度首发本地病例要在2个工作日内上送省疾控中心进行确认。核酸阳性的病例标本要开展分子分型、病毒分离和 E 基因测序工作，不能开展上述检测的疾控中心要在2个工作日内上送省疾控中心开展检测，检测结果及时反馈（见第三章第五节）。

3.开展疫情监测和形势研判：当出现首例本地登革热病例，地市级疾控中心及时开展风险评估（见第三章第六节），报送当地卫生计生行政部门和省疾控中心。

（三）省疾病预防控制中心。

掌握各地疫情防控工作情况，对各地市上送的或自行分离的所有毒株开展病毒溯源和变异分析，及时反馈和上报检测结果。

四、医疗机构

（一）病例管理。

落实病例隔离救治和院内感染控制（院区内清除孳生地、防蚊灭蚊和个人防护）工作（见第三章第七节）。

（二）病例排查。

发现可疑病例时要及早采样，有条件的医疗机构应检测登革热病毒核酸、NS1 抗原或 IgM 抗体，阳性标本要立即送至当地疾控中心进行复核；不具备检测能力的医疗机构立即将标本送当地疾控中心进行相关检测（见第三章第三节、第五节）。

（三）病例报告。

发现符合登革热诊断标准的病例，要立即报告（见第三章第三节），并协助疾控中心开展病例调查。

（四）做好病例卫生宣传教育等工作。

五、社区卫生服务机构

做好辖区居民的登革热健康宣传教育工作，并协助疾控机构开展病例的流行病学调查、病例搜索、蚊媒密度监测和孳生地调查等工作。

第三节 IV级事件

一个县（区）在一周内，新发本地病例达5例及以上，但未达到III级事件；或一个县（区）发生暴发疫情。已发生本地暴发，有出现更大范围扩散风险，以迅速扑灭疫情，严防疫情扩大为目标。

在落实V级事件响应各项工作的基础上，开展以下工作。

一、卫生计生行政部门

（一）县（区）级卫生计生行政部门。

组织开展风险评估，并根据风险评估结果建议当地政府启动县（区）级应急响应（IV级突发公共卫生事件应急响应），启动联防联控工作机制，开展爱国卫生运动，全面清理孳生地。启动病例应急监测。

（二）地市级卫生计生行政部门。

负责协调指导各相关部门开展防蚊灭蚊工作，对涉疫县（区）和周边县（区）开展防蚊灭蚊、清除孳生地和疫情监测等疫情防控工作效果评估。根据有关规定做好疫情的发布及风险沟通工作；组织开展全市疫情的风险评估。

（三）省卫生计生委。

根据疫情防控需要做好疫情发布及预警工作。

二、爱国卫生部门

（一）县（区）级爱国卫生部门。

1.落实在全县（区）范围内全面开展以灭蚊和清除孳生地为重点的爱国卫生运动。

2.在核心区和警戒区7天内将蚊媒指数(布雷图指数或诱蚊诱卵指数)控制在5以下;其他区域7天内将蚊媒指数(布雷图指数或诱蚊诱卵指数)控制在10以下。

3.根据需要,协调全县(区)范围内专业消杀队伍对重点街道(乡镇)给予支持。

(二) 地市级爱国卫生部门。

指导县(区)级爱国卫生部门开展爱国卫生运动和防蚊灭蚊工作。要求相邻县(区)加强爱国卫生运动和防蚊灭蚊工作。督导检查病例所在县(区)孳生地清除和蚊媒控制落实情况。

(三) 省爱国卫生运动办公室。

指导地市和县(区)级爱国卫生部门开展爱国卫生运动和防蚊灭蚊工作。要求相邻市加强爱国卫生运动和防蚊灭蚊工作。

三、疾病预防控制中心

(一) 县(区)级疾病预防控制中心。

1.开展疫情现场处置和报告:要做好散发病例/暴发疫情的流行病学调查,划定核心区、警戒区和监控区。在核心区内开展病例搜索(见第三章第四节),对符合突发公共卫生事件报告要求的疫情,需通过“突发公共卫生事件信息报告管理系统”上报(见第三章第三节)。

2.实验室采样检测:采集暴发疫情的所有指示病例、重症、死亡病例和20%新增病例标本进行检测,阳性标本及时送市疾控中心复核;不具备检测能力的及时送市疾控中心检测(见第三章第五节)。

3.组织实施病例应急监测:指导辖区内各级医疗机构加强病例监测。

4.实施日报表和风险提示：涉疫县（区）疾控中心启动日报表制度，疫情数据、应急监测和伊蚊控制效果评估相关数据每天上报市疾控中心。根据监测和评估结果综合分析，每周开展1次风险评估，并向当地卫生计生行政部门上报。

5.协助爱卫部门做好环境综合治理、清除孳生地、杀灭成蚊等工作。

（二）地市级疾病预防控制中心。

1.指导县（区）级疾控中心开展疫情处置、病例搜索、应急监测及病例隔离等工作。

2.对辖区内登革热疑似病例及应急监测阳性标本进行复核检测，分离的毒株要上送省疾控中心进行分子溯源等工作。组织采集核心区蚊媒标本进行检测（见第三章第五节）。

3.至少每半月开展一次登革热疫情风险评估，及时向市级卫生计生行政部门报告（见第三章第六节）。

（三）省疾病预防控制中心。

1.指导地市和县（区）级疾控中心开展疫情处置、应急监测等工作。

2.至少每月开展一次风险评估，进行疫情分析和趋势预测，并报省卫生计生委（见第三章第六节）。

3.加强信息通报，建议政府协调跨地市的区域性清除孳生地、防蚊灭蚊等疫情防控的工作。

四、医疗机构

（一）加强病例管理，所有疑似及确诊病例住院隔离治疗（见第三章第七节）。

(二) 涉疫县(区)各级医疗机构要加强病例监测,发现疑似病例时,开展 NS1 抗原检测和(或)病毒核酸检测;阳性标本送至当地疾控中心进行复核。

五、社区卫生服务机构

(一) 病例管理。

对辖区内所有居家隔离的登革热病例进行登记造册,开展随访,直至痊愈(见第三章第八节)。

(二) 社区居民健康告知。

对与病例生活或工作区域的周围人群实行健康告知,如发现发热等登革热相关症状居民,应劝其立即前往辖区医疗机构就诊。

第四节 III 级事件

一个县（区）在一周内，登革热本地病例发病水平超过前 5 年同期平均水平 1 倍以上，或新发本地病例达 10 例及以上，但未达到 II 级事件；或一个地市内有两个及以上县（区）发生暴发疫情。已发生较大规模的本地暴发，有向其他地区扩散的风险，以尽快控制疫情，防止疫情较快扩散为目标。

在落实 IV 级事件响应各项工作的基础上，开展以下工作。

一、卫生计生行政部门

（一）县（区）级卫生计生行政部门。

在当地政府领导和上级卫生计生行政部门的指导下，开展下一步工作。

（二）地市级卫生计生行政部门。

1. 建议政府启动市级联防联控工作机制，落实成员单位各部门职责，成立市级登革热防治专家组。

2. 负责组织登革热救治工作，加强重症病例救治工作。指定重症救治医院，组织相关药物、试剂、物资储备与调拨。

3. 督导和评估蚊媒控制效果，定期上报市登革热联防联控工作机制。

4. 组织涉疫县（区）邻近尚无病例的县（区）开展病例应急监测、媒介应急监测，组织对疫情进行风险评估，并将评估结果上报市政府。

5. 加强宣传教育、组织培训医务人员，协助政府做好社会动员和风险沟通工作。

（三）省卫生计生委。

督导登革热疫情防控工作落实情况。及时向社会公布疫情和风险预警。做好疫情的风险评估和形势研判，向相关地市政府通报疫情及防控效果。

二、爱国卫生部门

（一）县（区）级爱国卫生部门。

在当地政府领导和上级爱国卫生部门的指导下开展、落实各项工作。

（二）地市级爱国卫生部门。

- 1.在全市范围内全面开展爱国卫生运动。
- 2.根据需要，协调全市范围内专业消杀队伍对重点县（区）给予支持。
- 3.联合各有关部门，督导检查各县（区）爱国卫生运动和防蚊灭蚊工作落实情况。

（三）省级爱国卫生部门。

督导爱国卫生运动和防蚊灭蚊工作的开展情况。要求全省各地加强爱国卫生工作。

三、疾病预防控制中心

（一）县（区）级疾病预防控制中心。

1.涉疫县（区）疾控中心组织扩大蚊媒应急监测工作：在疫情发生后1-2天内对所有镇街进行一次布雷图指数监测；涉疫县（区）邻近县（区）疾控中心组织对高风险镇街进行蚊媒应急监测，随后每周开展一次布雷图指数调查，并将监测数据每周上报市疾控中心（见第三章第一节）。

2.病例应急监测：与涉疫县（区）邻近无病例的县（区）指导各级医

疗机构开展疑似病例登革热 NS1 抗原筛查，对阳性标本进行复核；不具备检测能力的及时送市疾控中心检测，并每日收集数据上报市级疾控中心。

3.每周 1 次疫情的风险评估和形势研判，向市级卫生计生行政部门上报（见第三章第六节）。

（二）地市级疾病预防控制中心。

1.收集疑似病例及蚊媒应急监测和控制工作相关数据，每周上报省疾控中心。

2.启动日报告制度和风险预警制度：启动日报告制度，疫情数据、应急监测和伊蚊控制效果评估相关数据每天上报省疾控中心。根据监测和评估结果综合分析，每周开展 1 次风险评估，并向当地卫生计生行政部门报告。

（三）省疾病预防控制中心。

1.至少每半月开展一次登革热疫情风险评估，及时上报省卫生计生委（见第三章第六节）。

2.对疫情发生地市进行督导评估，指导当地开展防控工作。

四、医疗机构。

（一）做好病例救治，减少重症及死亡病例发生。（具体见第三章第七节）。

（二）邻近涉疫县（区）但无登革热病例的县（区）内各级医疗机构加强病例监测，发现疑似病例时，开展 NS1 抗原检测，阳性标本按有关规定送至当地疾控中心进行复核。

五、社区卫生服务机构。

进一步做好社区病例的管理和辖区内的宣传教育和动员工作(见第三章第八节)。

第五节 II 级事件

一周内，两个及以上县（区）的登革热本地病例发病水平超过前 5 年同期平均水平 2 倍以上，或一个县（区）新发本地病例达到 100 例以上；或两个及以上地市发生 III 级事件。疫情已发生扩散，进一步扩散的风险加大，以削减疫情高峰，缩短流行时间，减少死亡病例为目标。

在落实 III 级事件响应各项工作的基础上，开展以下工作。

一、卫生计生行政部门

（一）县（区）级卫生计生行政部门。

在当地政府领导和上级卫生计生行政部门的指导下，认真开展各项防控工作。

（二）地市级卫生计生行政部门。

在当地政府领导和上级卫生计生行政部门的指导下，进一步落实各项防控措施。

（三）省卫生计生委。

1. 建议省政府启动省级联防联控工作机制，落实成员单位各部门职责，成立省级登革热防治专家组。

2. 统筹全省医疗资源调配，指定重症救治医院，加强重症病例救治工作。

3. 督导和评估蚊媒控制效果，定期上报省登革热联防联控工作机制。

4. 要求邻近涉疫地市但尚无病例的地市开展病例应急监测、媒介应急监测等工作，组织对疫情进行风险评估，并上报省登革热联防联控工作机制。

制。

5.协助政府做好社会动员和风险沟通工作。

二、爱国卫生部门

(一) 县（区）级爱国卫生部门。

在当地政府领导和上级爱国卫生部门的指导下开展、落实各项工作。

(二) 地市级爱国卫生部门。

在当地政府领导和省级爱国卫生部门的指导下开展、落实各项工作。

(三) 省级爱国卫生部门。

1. 组织各部门督导检查全省防蚊灭蚊、清理孳生地等工作落实情况。

2. 协调有关部门在全省范围内全面开展爱国卫生运动。根据需要，协调全省范围内专业消杀队伍对重点地市给予支持。

三、疾病预防控制中心

(一) 县（区）级疾病预防控制中心。

在省、市级疾控中心的指导下开展各项工作。

(二) 地市级疾病预防控制中心。

邻近涉疫市但尚无病例的市指导各级医疗机构加强病例监测。

(三) 省疾病预防控制中心。

1.启动日报告和风险评估。

每日将疫情及应急监测信息汇总上报至省卫生计生委。每周开展 1 次疫情的风险评估和形势研判,并评估疫情防控效果,上报省卫生计生委。

(见第三章第六节)

2.指导和协助基层继续做好疫情处置。

3.加强病原学溯源和病毒变异等检测工作（见第三章第五节）。

四、医疗机构。

（一）做好病例救治，减少重症死亡病例发生。开辟登革热专门病区，实行“集中患者、集中专家、集中资源、集中救治”。

（二）邻近涉疫市但尚无病例的地市内各级医疗机构要加强病例监测，发现疑似病例时，开展 NS1 抗原检测，阳性标本送至当地疾控中心进行复核。

五、社区卫生服务机构。

进一步做好社区病例的管理和辖区内的宣传教育工作（见第三章第八节）

第六节 I级事件

两个及以上省份发生 II 级事件，由国家启动 I 级响应。已发生省级范围的大规模暴发，以降低疫情规模，削减疫情高峰，避免出现更大范围扩散，尽量避免出现死亡病例为目标。

当包括我省在内，两个及以上省份发生 II 级事件时。我省在落实 II 级事件响应各项工作的基础上，按照国家卫生计生委的要求，在中国疾病预防控制中心的指导下开展工作。主要做到以下工作：

一、省卫生计生委提请成立以省级人民政府为主导，省相关部门共同组成的疫情应急响应小组；本省与国家专家联合提供技术指导；全面启动各项防控工作。

二、省爱国卫生运动办公室在国家专家的指导下，全面开展环境综合整治，清理卫生死角和蚊媒孳生地。

三、省疾控中心及时进行疫情分析，对疫情形势进行预测、预警，通过“传染病报告信息管理系统”和“突发公共卫生事件信息报告管理系统”上报疫情信息和进展。

第三章 通用指引

第一节 登革热媒介伊蚊监测指南

一、监测目的

(一) 掌握登革热媒介伊蚊种类构成、密度、分布及季节变化和长期趋势。

(二) 为登革热疫情风险评估、预测预警、控制规划提供科学依据。

(三) 动态监测疫点、疫区媒介伊蚊密度，评估疫情传播风险和伊蚊控制效果。

二、媒介伊蚊的监测方法

(一) 布雷图指数法。

1. 器具：手电筒、捞勺、吸管、蚊虫收集装置、标签纸等。

2. 方法：每个监测点按不同地理方位选 4 个街道/村的居民区调查不少于 100 户，检查记录室内外所有小型积水容器及其幼虫孳生情况，计算布雷图指数（记录、统计表见附表 1，2）。同时收集阳性容器中的蚊幼进行种类鉴定，或带回实验室饲养至成蚊进行种类鉴定。为避免连续监测对布雷图指数造成影响，相邻两次监测应选择不同的居民户进行。

户的定义：每个家庭、集体宿舍/单位办公室/酒店的 2 个房间、农贸市场/花房/外环境/室内公共场所等每 30 m²定义为一户。

3. 密度指标：布雷图指数（BI）计算公式

$$\text{布雷图指数 (BI)} = \frac{\text{阳性容器数}}{\text{调查户数}} \times 100$$

(二) 诱蚊诱卵器法。

1.器具：诱蚊诱卵器、白色滤纸、隔夜自来水、标签纸等。

2.方法：每个监测点按不同地理方位选 4 个街道/村的居民区共布放不少于 100 只诱蚊诱卵器，一般每 25-30 米距离布放一个诱蚊诱卵器，主要布放在居民区、单位、学校等楼顶天台、工地、空中花园或外环境的树木、花草、灌木丛等公共绿化带等，连续布放 4 天，第 4 天检查，收集诱捕成蚊，记录诱蚊诱卵器阳性数（包括卵阳性数、成蚊阳性数、卵及成蚊均有的阳性数），计算诱蚊诱卵器指数。蚊卵需饲养至高龄幼虫或成蚊后进行种类鉴定。（记录、统计表见附表 3，4）。

3.密度指标：诱蚊诱卵器指数计算公式

$$\text{诱蚊诱卵器指数} = \frac{\text{阳性诱蚊诱卵器数}}{\text{有效诱蚊诱卵器数}} \times 100$$

(三) 双层叠帐法成蚊密度监测。

1.器具：双层叠帐（外层：长×宽×高：1.8m×1.8m×1.5m；内层：长×宽×高：1.2m×1.2m×2.0m）、计数器、手电筒、电动吸蚊器等。

2.操作：选择居民区附近的外环境作为监测地点，在上午或下午媒介伊蚊活动高峰时段内，诱集者位于内部封闭蚊帐中暴露两条小腿，收集者利用电动吸蚊器收集停落在蚊帐上的伊蚊持续 30min，分类鉴定，记录诱蚊开始与结束的时间、地点、温度、湿度和风速（附表 5）。

个人防护：收集者需涂抹蚊虫驱避剂，诱集者工作结束时涂抹蚊虫驱

避剂。

3.密度指标：叮咬指数计算公式

$$\text{叮咬指数(只/人·小时)} = \frac{\text{捕获蚊虫数(只)}}{30\text{min}} \times 60\text{min}$$

三、常规监测

(一) 监测点选择。

1.监测区域划分。

根据疫情严重程度及媒介伊蚊分布状况对省份进行分类，I类地区为近年常有登革热暴发的省份，II类地区为近年出现过本地病例或根据我国伊蚊分布情况，暴发风险相对较高的地区，III类地区为近年有输入病例报告，且有媒介伊蚊分布，具有登革热暴发风险的地区。

表 1 省份分类列表

地区分类	省份
I类	广东、云南、广西、海南、福建、浙江
II类	上海、重庆、江苏、安徽、江西、河南、湖北、湖南、四川、贵州
III类	北京、河北、山西、天津、山东、陕西、辽宁

2.监测点确定。

I类地区确定至少 15 个登革热高风险县（区）（涵盖本省内全部登革热高风险区域），II类地区确定至少 10 个登革热风险县（区），III类地区选择 5 个县（区）作为监测点开展伊蚊监测。

(二) 监测方法。

各监测点根据本地实际情况，选择布雷图指数法或诱蚊诱卵器法，并原则上长期使用同一种方法。

(三) 监测季节和频次。

I类地区登革热高风险区域的蚊虫活动季节，每月 2 次，间隔 10-15

天；II类地区蚊虫发生高峰季节（5-10月）每月1次，III类地区参照本指南于6-9月每月1次。

（四）标本保存及运输。

1.每年于伊蚊活动高峰期采集不少于100只干制标本，记录采集时间、地点、生境、虫态等信息。

2.收集工作完成后及时寄送中国疾病预防控制中心传染病所媒介室。

（五）数据收集、报告及利用。

1.监测数据收集。

监测点有关疾病预防控制中心专人进行每月的媒介监测数据收集，并计算相关的监测指标，归档保存。

2.监测数据网络报告。

（1）上报时间

各监测县（区）每月25日前将当月监测数据上报省级疾控机构，省级疾控机构于下月1日前将本省各监测点数据上报国家疾控；

（2）上报内容：各监测县（区）的原始报表及半月/月汇总报表。

（3）上报方式：各县（区）暂通过E-mail发送至dengue@126.com，并在“主题”注明“××省××县/区××月登革热媒介监测数据”。

3.监测数据利用。

（1）各级疾控机构对监测数据及时进行分析，并作为登革热风险评估的重要依据，于流行季节每月形成分析报告，反馈给相关部门和监测点。

（2）当布雷图指数或诱蚊诱卵器指数大于20时，提示存在登革热暴发高风险，建议疾控机构提请辖区政府组织开展消除蚊媒孳生地和灭蚊工

作。

(3) 首次发现埃及伊蚊时保存监测所获标本，立刻将监测结果报告上级疾控机构，核实后提出处理意见。

四、应急监测

在流行季节发现输入或本地感染登革热病例时，作为疫情调查处理的重要内容，启动应急监测。

(一) 监测区域。

核心区：以感染者住所或与其相邻的若干户、感染者的工作地点等活动场所为中心，参考伊蚊活动范围划定半径 200 米之内空间范围为核心区。1 例感染者可划定多个核心区。

警戒区：在核心区外扩展半径 200 米范围为警戒区。农村一般以核心区周围自然村、屯，必要时以行政村甚至乡、镇为警戒区。城市一般以核心区周围若干街巷、居委会或街道为警戒区。

监控区：根据不同登革热风险地区疫情大小、流行季节等因素，在警戒区外围划定监控区。

(二) 监测方法。

所有登革热蚊媒应急监测点均须进行布雷图指数法和双层叠帐法监测，诱蚊诱卵器法可酌情采用。

(三) 监测频次。

布雷图指数法：登革热疫情发生 2 天内，核心区进行 1 次布雷图指数监测和应急蚊媒控制，随后每 3 天重复进行控制与调查，直至 BI 小于 5；警戒区每周调查 1 次；监控区每 2 周调查 1 次。

诱蚊诱卵器法：核心区诱蚊诱卵器放置 4 天后每 2-3 天检查 1 次，发现阳性诱卵器时收回并补充新的诱卵器；警戒区每周监测 1 次；监控区每 2 周监测 1 次。

双层叠帐法成蚊密度监测：核心区每 3 天 1 次，警戒区每周 1 次；监控区每 2 周 1 次。

（四）数据分析反馈。

1.动态分析各疫点的伊蚊密度变化，及时报告当地联防联控机制，通报相关部门，掌握伊蚊控制效果。

2.风险评估。

（1）布雷图指数（BI）和诱蚊诱卵器指数小于 5 为控制登革热传播的阈值，大于 5 有传播风险，大于 10 有暴发风险，大于 20 有区域流行风险，需要持续清除孳生地和杀灭成蚊。

（2）在 25 天内无登革热新发病例，且核心区内布雷图指数或诱蚊诱卵器指数降至 5 以下，同时双层叠帐法成蚊密度不高于 2（只/人·时）可以结束本次应急处理工作。

附表：1.伊蚊幼虫孳生地调查表

2.媒介伊蚊孳生地监测统计报表

3.诱蚊诱卵器指数监测表

4.诱蚊诱卵器指数监测统计报表

5.双层叠帐法调查记录表

6.常见的伊蚊孳生地

附表 1

伊蚊幼虫孳生地调查表

调查时间：__年__月__日																		
调查地点：__省__市__县（区）__乡镇（街道）__村（居委会）																		
天气情况：晴 <input type="checkbox"/> 阴 <input type="checkbox"/> 雨 <input type="checkbox"/> 气温：__℃，最高__℃，最低__℃ 相对湿度：__%																		
街道或村的地理位置：_____经度纬度_____																		
编号	地址、门牌	调查地 (室外/室内)	盆景、水生植物		贮水池、缸、盆		闲置容器(碗、瓶、缸、罐)		明渠、假山水池		竹头、树洞、石穴		废旧轮胎		绿化带垃圾、小积水		其它水体	
			水数	阳性数	积水数	阳性数	积水数	阳性数	积水数	阳性数	积水数	阳性数	积水数	阳性数	积水数	阳性数	积水数	阳性数
调查单位：			调查者：						审核人：									

附表 4

诱蚊诱卵器指数监测统计报表

编号	环境 (内/外)	地点	布放诱蚊诱卵器个数	有效诱蚊诱卵器个数	伊蚊卵阳性个数	伊蚊幼虫阳性个数	伊蚊成蚊阳性个数	阳性诱蚊诱卵器总数	诱蚊诱卵器指数
填表单位:			填表人:			审核人:			
填表日期:									

注：诱蚊诱卵器指数=伊蚊成蚊或卵阳性个数/有效诱蚊诱卵器个数×100

附表 5

双层叠帐法调查记录表

调查时间：__年__月__日 调查地点：__省__市__县（区）__乡镇（街道）__村（居委会） 天气情况：晴 <input type="checkbox"/> 阴 <input type="checkbox"/> 雨 <input type="checkbox"/> 气温：__℃，最高__℃，最低__℃ 相对湿度：__% 街道或村的地理位置：_____经度纬度_____ 风速：__m/s								
地点	环境类型	起始时间	结束时间	白纹伊蚊数	埃及伊蚊数	诱集者	收集者	叮咬指数
填表单位：			填表人：			审核人：		

附表 6

常见的登革热蚊媒孳生地

一、家庭环境

- (一) 富贵竹等阴生水养植物的花瓶积水等。
- (二) 饮用水缸。
- (三) 冰箱底部的水盘。
- (四) 浴室、卫生间储水桶、缸等。
- (五) 花盆底盘。
- (六) 贮水的水桶、陶瓮、水泥槽、楼顶水箱、洗涤用水缸、空调水收集容器等。
- (七) 废轮胎。
- (八) 晒衣架水泥桩上及其它可积水的水管。
- (九) 竹篱笆竹节顶端、树洞、竹洞。
- (十) 屋檐排水槽或反堞堵塞积水。
- (十一) 家禽、家畜与鸟类饮水水槽。
- (十二) 周围废弃或闲置的盆、罐、瓶等。

二、地下室及停车场

- (一) 排水沟。
- (二) 机械停车位底层积水。
- (三) 马达水槽、集水井。
- (四) 废弃轮胎。

三、学校、幼儿园、公园、公共场所

- (一) 草丛、花木下塑料薄膜、塑料瓶、盒、杯。
- (二) 办公室及教室的各种水生植物花瓶。
- (三) 花圃及周围的花盆积水。
- (四) 运动（活动）场所防撞的废用汽车轮胎、运动器材内积水。
- (五) 树木、竹支架顶端积水。
- (六) 雨水排水沟。
- (七) 喷水池、教学用水生植物养殖池、生物教材用容器、花圃。
- (八) 厕所马桶水箱。
- (九) 资源回收桶。
- (十) 城区竹林树木落叶积水

四、空地、道路、果园、工厂

- (一) 草丛中铝罐、塑料瓶罐、食品容器。
- (二) 积水的金属制品（洗衣机、冰箱、铁柜、瓶罐）。
- (三) 积水的玻璃制品（瓶罐、鱼缸）。
- (四) 积水的塑料管、塑料布、塑料椅、塑料袋、塑料突出物、塑料花篮、大型塑料资源回收桶。
- (五) 木箱、木盘。
- (六) 树洞、竹洞。
- (七) 废轮胎、废弃马桶、浴缸、安全帽、手推车、花柱凹槽、保险杆凹槽。

五、建筑工地

(一) 积水的容器（铁桶、塑料桶、漱洗设备）。

(二) 地下室及地面积水。

(三) 支架积水。

(四) 石灰过滤池、基坑或基建用的排水沟等。

六、市场

(一) 楼顶积水。

(二) 贮水的水泥槽、塑料桶、水桶等容器，尤其是花卉盆景批发市场各类小型水容器及其底盘。

(三) 地下室积水。

(四) 摊架下各种积水容器。

七、空屋/暂时无人居住的房屋

(一) 特别注意屋顶有破洞及雨水可进入的房屋。

(二) 水泥槽、水塔、冷却水塔。

(三) 楼顶积水。

(四) 马桶。

(五) 储水塑料桶、水桶等容器。

(六) 其它积水容器。

八、其它特殊孳生源

蒸气熨斗贮水槽、防窃盗围墙碎玻璃、渔船船舶、游艇等。

第二节 登革热媒介伊蚊控制指南

一、应急控制启动条件

(一) 有登革热病例出现, 并且发生登革热病例的核心区布雷图指数或诱蚊诱卵指数 ≥ 5 , 警戒区 ≥ 10 。

(二) 虽无病例报告, 但布雷图指数或诱蚊诱卵器指数大于 20 时。

二、社会动员, 开展爱国卫生运动

(一) 按照政府组织、属地管理、部门协作、全民参与的方针组织清除媒介伊蚊孳生地和成蚊控制。

(二) 通过各种宣传渠道, 例如印制登革热媒介卫生知识宣传册、宣传海报, 利用手机短信、报纸、电台、电视台、互联网等媒体向群众宣传关于防蚊、灭蚊的知识和方法, 动员群众参与防蚊灭蚊。

三、防蚊措施

(一) 个人防护。

登革热疫区的居民和工作人员, 应做好个人防护, 如穿长袖衣裤, 使用蚊虫驱避剂, 外出活动时避免在树阴、草丛等蚊虫较多的地方逗留过久, 避免被蚊虫叮咬。

(二) 医院和家庭防护。

收治登革热病例的医院病房应设置纱门纱窗等防蚊设施。

家庭提倡使用蚊帐、安装纱门纱窗等防蚊措施; 可使用蚊香、气雾剂等家用卫生杀虫剂进行防蚊、灭蚊。

四、孳生地清理

组织发动相关部门和群众，在专业人员技术指导下，清除各类蚊虫孳生地。

（一）孳生地主要类型和种类。

家庭、单位、学校主要孳生地有：饮水缸、储水池或缸、花瓶、花盆等有用的功能性积水容器，闲置的瓶、罐、缸等无用积水容器、竹筒、树洞、汽车轮胎、楼房反坎及雨水沟、地下室集水井等。

外环境、公园等主要孳生地有：绿化带的塑料薄膜、废弃易拉罐、饭盒、塑料杯积水容器等，闲置或废弃的瓶、罐、缸等无用积水容器、废弃的汽车轮胎、市政管网的管井、竹筒、树洞、植物叶腋等。

（二）孳生地处理方法。

1.清除卫生死角和各类垃圾。

2.翻盆倒罐，清除废弃的容器，清除无用积水，暂时闲置未用的容器应当翻转倒放。地面小型积水可采取轻扫，沙土覆盖等方法清除。

3.管理饮用水或功能性容器积水。饮用水容器或功能性容器积水要求严密加盖，每 3-5 天换水 1 次，不能定期换水的可放养食蚊鱼等。

4.种养水生植物的花瓶，每 3-5 天换水 1 次，冲洗植物根部，彻底洗刷容器内壁；大型莲花缸、池，可放养食蚊鱼等。

5.竹筒树洞的治理。公园、学校、园林景点的竹筒、树洞要用灰沙等堵塞，或对留根的竹筒，采用“十”字砍刀法，使其有裂缝不再积水。

6.治理轮胎。轮胎要求叠放整齐并存放在室内或避雨的场所，如要堆放室外，要用防雨布严密遮盖，不积雨水。如不能有效遮盖，须对废弃轮胎进行打孔处理，防止积水。对于不能清除积水的轮胎，可使用双硫磷等

灭蚊幼剂处理。

7.对于其他不能清除的积水，例如密闭市政管网的管道井、地下室或地下车库的集水井，建筑工地积水等，采取投放长效灭蚊幼剂控制蚊虫孳生。

五、成蚊杀灭

（一）成蚊杀灭的一般原则。

1.选择国家正式登记的卫生杀虫剂等快速杀灭成蚊。

2.室外成蚊杀灭以超低容量喷雾为主要措施，配合对蚊虫栖息地（牲畜棚、绿化带等）的滞留喷洒。

3.室内成蚊杀灭以滞留喷洒为主要措施，重点场所在滞留喷洒的同时还需要进行超低容量喷雾。

4.处理应从警戒区到核心区，由外到内按次序处理。

（二）超低容量喷雾。

当发生登革热疫情时，在核心区和警戒区的室内外使用超低容量喷雾机进行成蚊速杀。

1.超低容量喷雾机的选择。

超低容量喷雾机应包括车载超低容量喷雾机、便携式超低容量喷雾机、烟雾机。其中超低容量喷雾机要求其雾滴 VMD 大于 5 微米，小于 20 微米。

喷雾器械的选择与环境相匹配。车载超低容量喷雾机适合外环境大范围成蚊速杀；便携式超低容量适合室内蚊虫速杀，以及室外车辆进不去地方的成蚊速杀，是车载超低容量喷雾机的补充；烟雾机穿透力强，适合树

林、竹林、灌木丛等植物比较密集的地方蚊虫速杀。

2.超低容量喷雾杀虫剂的剂型。

超低容量喷雾选择的杀虫剂剂型与器械相匹配，应选用水乳剂（EW）、乳油（EC）或超低容量制剂（UL）进行喷雾。可湿性粉剂（WP）、悬浮剂（SC）、微囊剂（CS）和水分散颗粒剂（WG）制剂不适合超低容量喷雾。常见的超低容量喷雾杀虫剂见第三章第二节附件 1。

3.超低容量喷雾杀虫剂的使用参数。

超低容量喷雾须按照制造商推荐的稀释倍数和有效成份使用量进行喷洒。

4.超低容量喷雾时间。

白纹伊蚊白昼都有活动，考虑到伊蚊的活动高峰期，最佳施药时间为早上 7-10 时和下午 4-7 时。

5.超低容量喷雾要求的气象条件。

超低容量喷雾要求风速 1-4m/s，当风速超过 4m/s 时，不应进行室外超低容量喷雾。

超低容量喷雾喷雾时要求地面气流很小，或气流没有垂直运动，或只是接近地表的气流有些流动。

6.超低容量喷雾设备的校准、维护和维修。

超低容量喷雾设备需要定期校准、维护和维修，专人负责，做到使用和维护的责权利统一。车载超低容量喷雾机通常是运转 25h 以后、或在任何大的维护时、或超过 1 个月未使用时须进行喷雾的雾滴大小测量（测量方法见附件 2），并进行设备校准（校准方法见附件 3）。

7.处理频率和效果评价。

超低容量喷雾的处理频率，要根据控制效果调整喷药频率。一般情况下，开始每 2-3 天处理 1 次，连续处理 3-5 次，此后根据成蚊密度监测结果和疫情进展情况选择超低容量喷雾频次。

超低容量喷雾前后，采用诱蚊诱卵器，或帐诱法，或诱蚊灯法进行成蚊密度调查，评价控制效果。

控制效果评价标准：成蚊密度下降的评价界点为 80%，当密度下降率<80%时，说明处理效果不明显，需要加大处理频次或调整使用的杀虫剂类型。

(三) 滞留喷洒。

当发生登革热疫情时，应对核心区以及医院等重点场所进行滞留喷洒。

1.喷洒重点部位。

在核心区范围内重要的蚊虫孳生栖息场所，如周围绿化带、阴凉场所，公共场所卫生状况差的绿化带、社区卫生死角，收治病人医院病房的纱门纱窗及周围环境等进行重点滞留喷洒。

2.滞留喷洒的喷雾器。

选择压缩喷雾器、机动泵式喷雾机、背负式手动喷雾器或踏板式喷雾器，可根据拟处理面积的大小或高度选择单用或兼用。

3.杀虫药剂的选择原则。

选择高效、低毒，环境友好，靶标病媒生物敏感的杀虫剂。

应根据靶物体表面性质选择杀虫剂剂型：吸收表面，如灰质面、水泥

面等可选用可湿性粉剂；半吸收表面，如漆面、木质面、壁纸面等可选用悬浮剂；不吸收面，如硅酸盐玻璃面、大理石面等或某些特定场所可选择乳油、微乳剂等。可用于滞留喷洒的常用杀虫剂见附件 1，按照厂家说明剂量使用。

4.器械准备。

检查喷雾器或喷雾机部件应齐全，功能正常，安装正确；药箱内添加清水至正常使用允许容量，并加压到工作压力，试喷喷嘴是否雾化良好，且各连结处应无漏气漏液，喷嘴和开关阀门无滴水或堵塞；将喷嘴放入广口的计量容器（ $\geq 2\text{L}$ ）内，在无泄漏的情况下，准确持续喷雾 1min，计量喷头喷量，并记录。试验重复 3 次以上，求其平均数作为该喷雾器或喷雾机喷头的喷量。

5.喷洒方法。

根据拟处理靶物体表面性质，按额定压力，喷雾至挂流，并准确计时，计算靶物体表面的吸水量。喷洒人员的喷洒速度达到应用剂量，并与靶物体表面吸水量相匹配为宜。

6.处理频率和效果评价。

滞留喷洒可根据不同药物的性质确定处理频率。长效杀虫剂，可 1-3 个月处理一次。

完成滞留喷洒工作后，每间隔一段时间采用 GB/T23797 中栖息蚊虫捕捉法进行控制效果调查，以评价控制效果。

控制效果评价标准：密度下降率的评价界点为 70%，当密度下降率 <70% 时，说明处理效果不明显，需调整使用的杀虫剂类型再次处理。

(四) 注意事项。

1.应事先告知居民杀虫剂的作用和保护效果，并按要求及时撤离工作区域。将食物覆盖，移走宠物和观赏鱼类等。移动、覆盖或搬出家具，便于墙面喷药。施药结束应清洗施药器械，妥善保管。

2.操作者戴宽沿帽、橡胶手套、防护镜和防护面具，着长袖工作服，穿胶靴。

3.工作时间不抽烟、喝水、吃东西，药液溅到皮肤上时，应立即用肥皂或皮肤清洁剂和清水清洗被污染的皮肤。

4.工作结束后，用肥皂或其他洗涤用品、清水清洗暴露皮肤和防护服装。

5.配药或施药时，须用工具搅拌，严禁用手接触。修理工具时，不许用嘴吹喷雾器的喷头。

6.施药人员每天实际操作时间不宜超过 6 小时。施药时，如出现头痛、头昏、恶心或呕吐等症状，应立即离开现场，脱掉工作服，洗手、洗脸、漱口，在阴凉通风场所休息，必要时送医院诊治。

(五) 其他杀灭成蚊方法。

在核心区、警戒区以及特殊场所可以使用杀虫剂处理门帘、纱窗等防蚊灭蚊。

室内外可以选择灭蚊灯等物理方式杀灭成蚊。

六、控制目标

控制目标为布雷图指数或诱蚊诱卵指数小于 5。如果 25 天内无新发病例，并且布雷图指数或诱蚊诱卵指数在 5 以下时，可结束本次应急处理

工作。

- 附件：1.推荐药剂、器具和防护设备
- 2.载玻片摆动技术采样测定喷雾直径大小
- 3.超低容量喷雾器校准方法

附件 1

推荐药剂、器具和防护设备

表 1 给出了推荐使用的灭蚊幼剂,表 2 给出了推荐的灭成蚊的杀虫剂,表 3 给出了监测和施药器具名录,表 4 给出了防护设备名录。

表 1: 推荐的灭蚊幼剂

有效成分	类型	剂型	使用方法	备注
双硫磷	有机磷	颗粒剂	投入水中	WHO 推荐
倍硫磷	有机磷	颗粒剂	撒布	
苏云菌杆菌 (以色列亚种)	生物农药	悬浮剂	喷洒	
苏云菌杆菌 (以色列亚种)	生物农药	可湿性粉剂	喷洒	
球形芽孢杆菌	生物农药	悬浮剂	喷洒	
吡丙醚	昆虫生长调节剂	颗粒剂	直接投入水中	
吡丙醚	昆虫生长调节剂	水乳剂	喷洒 (室外)	

表 2: 推荐的灭成蚊杀虫剂

有效成分	类型	剂型	使用方法	备注
氯菊酯 烯丙菊酯	拟除虫菊酯	水乳剂	超低容量喷雾	WHO 推荐
溴氰菊酯	拟除虫菊酯	水乳剂	超低容量喷雾、热雾	WHO 推荐
顺式氯氰菊酯	拟除虫菊酯	悬浮剂	滞留喷洒	WHO 推荐
顺式氯氰菊酯	拟除虫菊酯	可湿性粉剂	滞留喷洒	WHO 推荐
氟氯氰菊酯	拟除虫菊酯	可湿性粉剂	滞留喷洒	WHO 推荐
噁虫威	氨基甲酸酯	可湿性粉剂	滞留喷洒	WHO 推荐
甲基嘧啶磷	有机磷	乳油	滞留喷洒	WHO 推荐
甲基嘧啶磷	有机磷	水乳剂	滞留喷洒	

高效氯氰菊酯	拟除虫菊酯	可湿性粉剂	滞留喷洒	
高效氯氰菊酯	拟除虫菊酯	微乳剂	滞留喷洒	
高效氯氰菊酯	拟除虫菊酯	悬浮剂	滞留喷洒	
高效氯氟氰菊酯	拟除虫菊酯	微囊悬浮剂	滞留喷洒	
高效氯氟氰菊酯	拟除虫菊酯	可湿性粉剂	滞留喷洒	
高效氯氟氰菊酯	拟除虫菊酯	水乳剂	滞留喷洒	
氯菊酯	拟除虫菊酯	可湿性粉剂	滞留喷洒	
溴氰菊酯	拟除虫菊酯	可湿性粉剂	滞留喷洒	
溴氰菊酯	拟除虫菊酯	悬浮剂	滞留喷洒	
联苯菊酯	拟除虫菊酯	悬浮剂	滞留喷洒	
高效氟氯氰菊酯	拟除虫菊酯	水乳剂	滞留喷雾	
氟氯氰菊酯	拟除虫菊酯	水乳剂	滞留喷洒	
残杀威	氨基甲酸酯	乳油	滞留喷洒	

表 3：监测和施药器具

器具类型	名称	用处	备注
消杀车设备	车载超低容量喷雾机	大面积超低容量喷雾	要求雾滴大小 VMD 大于 5 微米, 小于 20 微米。
	便携式超低容量喷雾机	超低容量喷雾	
	烟雾机	杀虫烟雾喷雾	
	常量喷雾器	杀虫剂滞留喷洒	
飞机喷药	飞机施药设备	大面积卫生杀虫	
配药设备	量筒、量杯	液体杀虫剂的称量	
	秤、天平	固体杀虫剂的称量	
蚊密度监测设备	电动捕蚊器	捕捉成蚊	
	诱蚊灯	诱捕成蚊	
	蚊帐	用于动物帐诱	

备注:机动喷药器械要有专人校准、使用和维护。

表 4：防护设备

名称	用处
防护服	隔离有毒物质，防止蚊虫叮咬及隔离生物侵害
口罩	防止有害物质的吸入
乳胶手套	防止有害物质侵染手部
眼罩	喷药时保护眼睛
鞋套	防止污物沾着

附件 2

载玻片摆动技术采样测定喷雾直径大小

用 1m 长棍子顶端附着的夹子夹住载玻片，工作人员站在一边，离喷嘴 1-2m 远，摆动载玻片使其在雾中通过。通常同时采 5 份样品，至少有 200 个雾滴，在显微镜下观察。将一个显微镜计数尺放置在目镜中，用放大的测微尺进行校准。载玻片上由雾滴产生的小坑的直径通过比较标尺测出，可采用扩散因子进行转换，获得雾滴实际大小的值。例如，氧化镁的扩散因子是 0.86，当雾滴大小产生的小坑直径为 10 微米时，雾滴粒径大小为 $10 \times 0.86 = 8.6$ （微米）。

附件 3

超低容量喷雾器校准方法

每一杀虫剂都有独特的物理和化学特性及生物学效力,杀虫剂制造商推荐不同剂量用于特殊的控制场所和靶标品种。因此,必需对每一台机器针对特定杀虫剂进行校准以保证正确的杀虫剂喷洒量。

1.校准内容:

在雾滴大小确定的情况下,喷雾器的流速、车辆行驶速度、有效喷幅和杀虫剂单位面积的使用剂量,决定喷雾效果的 4 个关键指标。

确定了其中 3 个指标,可以求其第 4 个指标,计算公式如下:

$$A=B \times C \times D / 600 \dots\dots\dots (1)$$

A.喷雾器的流速 (L/min, 每一单位时间机器的喷洒量)

B.车辆行驶速度 (km/h 或步行速度或手持设备每一房屋/房间所需时间)

C.有效喷幅 (m, 按照 GB/T27781 挂笼法来测试喷雾器的有效喷幅,车载超低容量喷雾器的有效喷雾大多为 50-100 米)

D.每一制造商推荐的杀虫剂单位面积使用剂量 (L/ha)。

2.室外施用 (车载超低容量喷雾机)

一个 50m 轨迹间隔、车行速度 12km/h,那么 $50 \times 12000 \text{m/h}$ 就是每小时处理 600000m^2 ,相当于每分钟 10000m^2 (1 公顷)。

如果杀虫剂标签上推荐用量为每公顷 0.5 升 UL 制剂,流率应当调节到每分钟喷洒 0.5 升。

3.室外施用（手持或背负超低容量喷雾机）

在使用手持设备时，步行速度每分钟 60m，轨迹间隔 10m，1 分钟喷洒 600m²（每分钟 0.06 公顷）。

用药量为 0.5 升/公顷，流率应当为 30ml/min（500ml×0.06）

4.室内施用

室内施用设备的调节通常按照每一房屋或房间的剂量进行，因此必需计算每一房屋或房间需要的喷洒时间。

对一个流率为 20ml/min 的设备，房间面积是 0.04 公顷（400m²），用药量是 0.5 升/公顷（500×0.04），喷洒 1 分钟。

5.测定流率

测定空间喷洒设备流率需要一个秒表和量筒

首先启动机器，以便马达的速度能够提供恰当的杀虫剂罐压力，在有效的时间内使药液排入药罐与喷嘴之间的管子。

如果可能，排出管与喷雾器头分离，放置在同一水平位置。

喷雾器开关置于开启位置，喷洒 1 分钟。

液体收集在量筒内或在壶中，然后转移到量筒内，流率用每分钟毫升数定。

机器上的流量计或仪表不很精确，所以完全依靠流量计或仪表是很不妥当的。

机器的校准应当定期进行，通常是运转 25h 以后，或在任何大的维护时。同样的如果换用杀虫剂，需要重新校准。

对于杀虫剂的任何改变或大的操作条件的改变，应当采样测定可以接

受的雾滴大小。

6. 简易流率测定法：

第一步，标记罐中药液的高度，然后喷洒 1 分钟，测量需要注入罐中到原来高度的液体容积。

第二步，在空罐中加入已测定容积的杀虫剂，测量喷出这些液体所需的时间。

第三节 登革热疫情监测指引

一、监测目的

- (一) 早期发现登革热疫情，及时采取控制措施，防止疫情扩散。
- (二) 指导医疗机构做好病例诊断、报告和疫情管理工作。

二、监测对象

监测对象包括登革热疑似病例、临床诊断和实验室诊断病例。主要依据《登革热诊断标准》(WS216-2008) 结合国家卫生计生委《登革热诊疗指南》(2014年第2版) 进行病例诊断，主要内容如下：

(一) 诊断原则。

根据患者的流行病学史、临床表现及实验室检查结果进行综合判断。

(二) 病例定义。

1. 疑似病例。

符合下列条件之一即为疑似病例：

(1) 有流行病学史(发病前14天内到过登革热流行区)，且具备急性起病，发热(24h-36h内达39°C-40°C，少数为双峰热)，较剧烈的头痛、眼眶痛、全身肌肉痛、骨关节痛及明显疲乏等一般临床症状。可伴面部、颈部、胸部潮红，结膜充血。

(2) 无流行病学史，但同时具备上述一般临床症状和以下症状者：

1) 皮疹：于病程第5-7日出现，为多样性皮疹(麻疹样皮疹、猩红热样疹、针尖样出血性皮疹)或“皮岛”样表现等。皮疹分布于四肢躯干或头面部，多有痒感，不脱屑。持续3-5天。

2) 出血倾向 (束臂试验阳性): 一般在病程第 5-8 日皮肤出现瘀点、瘀斑、紫癜及注射部位出血, 牙龈出血、鼻出血等粘膜出血, 消化道出血、咯血、血尿、阴道出血等。

2. 临床诊断病例。

(1) 典型登革热。

符合下列条件之一即可诊断:

1) 有登革热一般临床症状, 且有流行病学史, 即发病前 14 天内到过登革热流行区, 或居住、工作场所周围 1 个月内出现过登革热病例, 并具备白细胞计数减少和血小板减少 (低于 $100 \times 10^9 / L$) 者。

2) 无流行病学史, 但登革热典型症状及体征, 白细胞计数减少和血小板减少, 且单份血清特异性 IgM 抗体阳性者。

(2) 重症登革热。

登革热患者, 有下列情形之一者:

1) 严重出血: 包括皮下血肿、呕血、黑便、阴道流血、肉眼血尿、颅内出血等;

2) 休克: 心动过速、肢端湿冷、毛细血管充盈时间延长 > 3 秒、脉搏细弱或测不到、脉压差减小或血压测不到等;

3) 严重的器官损害: 肝脏损伤 (ALT 和/或 AST > 1000 IU/L)、ARDS、急性心肌炎、急性肾功能衰竭、脑病和脑炎等表现。

3. 确诊病例诊断

具备以下实验室结果之一的疑似病例或临床诊断病例:

(1) 从急性期患者血清、脑脊液、尿液等中分离到登革病毒。

(2) 应用 RT-PCR 或实时荧光定量 PCR 检出登革病毒基因序列。

(3) 从急性期患者血清中检测到登革病毒 NS1 抗原

(4) 恢复期血清特异性抗体 IgG 滴度比急性期有 4 倍及以上增长。

三、监测内容和方法

(一) 疫情报告。

各级各类医疗机构、疾病预防控制机构、卫生检疫机构执行职务的医务人员在诊断登革热病例（疑似、临床或实验室诊断病例）后 24 小时内填写报告卡进行网络直报。不具备网络直报条件的应在诊断后 24 小时内寄出传染病报告卡，县（区）级疾病预防控制机构收到传染病报告卡后立即进行网络直报。

依据《登革热诊疗指南（2014 年第 2 版）》要求，医疗机构若发现患者出现严重出血、休克及重要脏器损伤等临床表现，应诊断为重症登革热，并应在传染病报告信息管理系统（网络直报系统）传染病报告卡的备注栏注明“重症”。辖区疾病预防控制机构负责对病例的分型诊断报告进行督促和审核。

以县（区）为单位，近 5 年首次发现病例者，应通过突发公共卫生事件信息报告管理系统进行事件报告。

(二) 实验室核实诊断。

县（区）级疾病预防控制机构应对输入性病例、早期散发病例、暴发疫情早期病例、重症登革热、死亡病例以及为查明疫情性质和波及范围而确定的病例开展实验室核实诊断。县（区）级疾病预防控制机构不具备相应的实验室检测能力，应将标本送上级疾病预防控制机构进行检测。检测

结果应及时反馈医疗机构，督促其在网络直报系统的传染病报告卡中对“病例分类（疑似病例、临床诊断病例和实验室诊断病例）”进行订正报告。

（三）病例感染地调查。

根据感染地病例可分为输入性病例和本地感染病例：

输入性病例包括境外输入病例和境内输入病例两类。境外输入病例指发病前 14 天内到过登革热流行的国家或地区的病例。境内输入病例是指发病前 14 天内离开本县（区）（现住址）、到过本县（区）外的境内登革热流行地区的病例。

本地感染病例指发病前 14 天内未离开本县（区）（现住址）的登革热病例。

县（区）级疾病预防控制机构在接到登革热病例报告后，应尽快调查了解病例的可能感染地，若为输入病例，应在网络直报系统传染病报告卡的备注栏注明“境外输入/境内输入”和感染地（国家或地区），统一格式为“境外输入 / × 国家或地区”或“境内输入 / × 省 × 市 × 县（区）”。

（四）个案调查。

县（区）级疾病预防控制机构利用调查表（见附件 1）对下列重点病例进行详细的流行病学调查：散发病例（含输入病例）、暴发疫情早期病例（不少于 5 例）、重症病例、死亡病例以及为查明疫情性质和波及范围而确定的病例。

所有个案调查表使用 EPIDATA 软件录入数据库，逐级上报。

（五）暴发监测。

暴发疫情是指在一个最长潜伏期（14 天）内，在人口相对集中的地

点（例如一个社区、居委会、村庄、学校或其它集体单位等），发生 3 例及以上本地感染的登革热实验室诊断病例。出现暴发疫情时，县（区）级疾控中心应通过突发公共卫生事件信息报告管理系统进行事件报告。

四、信息反馈与利用

（一）疫情反馈。

各级疾病预防控制机构要及时将病例的发病、重症和死亡情况以及流行病学特征等疫情分析结果向上级疾病预防控制机构和同级卫生行政部门报告，并上传至网络直报系统“监测信息反馈”中的“临时信息反馈”栏，反馈给各医疗和疾病预防控制机构。

（二）疫情通报。

证实登革热疫情之后，市级疾病预防控制机构应通报相邻县（区）。当疫情出现扩散趋势，应向省级和国家疾病预防控制机构报告。对于境外输入病例，应通报病例感染地疾病预防控制机构。

（三）风险评估和沟通。

每年登革热流行季来临前及流行高峰时，省、市、县（区）级疾病预防控制机构应及时分析疫情数据，结合蚊媒监测数据及其它可能影响疫情的因素，开展风险评估，研判疫情趋势，提出防治措施建议，及时反馈相关部门。同时，根据风险评估结果，面向群众做好宣传，提高防病意识，一旦出现可疑症状及时就诊。

附件：1.登革热病例个案调查表

2.共同暴露者健康状况一览表

附件 1

登革热病例个案调查表

一、基本情况

1.患者姓名： 联系电话：

如患者年龄<14岁，则家长姓名： 联系电话：

2. 性别：（1）男（2）女

3. 年龄： 岁

4. 民族：1 汉族，2 壮族，3 傣族，4 其他少数民族

5. 职业：

（1）幼托儿童（2）散居儿童（3）学生（4）教师（5）保育保姆

（6）饮食从业人员（7）商业服务（8）医务人员（9）工人

（10）民工（11）农民（12）牧民（13）渔（船）民（14）干部职员

（15）离退人员（16）家务待业（17）其他

6. 工作单位：

7. 家庭住址： _____省（自治区/直辖市）_____市_____县（区）

_____镇（乡/街道）_____村（居委会）_____

二、发病就诊情况

1.发病日期： 年 月 日

2.是否为重症病例：（1）是（2）否

3.就诊情况

就诊日期	就诊医院	有无住院	住院日期	出院日期	出院诊断	备注

4. 转归：(1) 痊愈 (2) 死亡 (死亡日期： 年 月 日)

三、血清学及病原学检测结果

项目		是否检测 (未做请注明否)	标本采集时间	检测方法	检测结果 (阴性/阳性)
登革抗体	IgG				
	IgM				
登革病毒分离					
登革病毒核酸					
登革病毒抗原	NS1				
病毒分型检测：(1) DENV-1 (2) DENV-2 (3) DENV-3 (4) DENV-4 (5) 未检测					

四、发病前后活动情况

(一) 发病前外出史：

1. 发病前 14 天内是否有外出 (离开本市、县 (区) 及出境旅游) 史：

(1) 是 (2) 否

如果否，跳至“(二) 发病前后外出活动情况”

如是，

地点 1： _____ 国/地区 (适用境外) 或 _____ 省市 (州) _____ 县 (区) (适用境内)，

日期： _____ 年 _____ 月 _____ 日至 _____ 年 _____ 月 _____ 日

地点 2： _____ 国/地区 (适用境外) 或 _____ 省市 (州) _____ 县 (区) (适用境内)，

日期：____年____月____日至____年____月____日

地点 3：____国/地区（适用境外）或____省市（州）____县
（区）（适用境内），

日期：____年____月____日至____年____月____日

返回时间(或入境时间)：____年____月____日

2. 外出期间是否明确有蚊虫叮咬史：（1）是（2）否

如是，则叮咬地点为：

地点 1：____国/地区（适用境外）或____省市（州）____县
（区）（适用境内）

地点 2：____国/地区（适用境外）或____省市（州）____县
（区）（适用境内）

地点 3：____国/地区（适用境外）或____省市（州）____县
（区）（适用境内）

3.是否随旅行团出行？

（1）是，同行团队名称（或旅行社名称）：____，团队人数：_人。

（2）否

（二）发病前后外出活动情况

1. 发病前 1 天至发病后 5 天是否在国内：（1）是（2）否

如是，

地点 1：____省____市（州）____县(区)

日期：____年____月____日至____年____月____日

地点 2：____省____市（州）____县(区)

日期：____年____月____日至____年____月____日

地点 3：____省____市（州）____县(区)

日期：____年____月____日至____年____月____日

备注：

五、病例分类

1. 是否为暴发疫情指示病例：(1) 是 (2) 否

2. 病例类别：

(1) 境外输入病例，输入国家或地区：_____

(2) 境内输入病例，输入地区：__省__市（地区）__县（区）

(3) 本地病例

3. 病例诊断分类：(1) 疑似病例 (2) 临床诊断病例 (3) 实验室诊断病例

六、共同暴露者/接触者健康状况

若有病例有共同暴露者或暴露于病例病毒血症期逗留场所的，请参照附件 2 对其开展健康状况调查。

(一) 有无外出同行者出现过发热等类似症状：

(1) 有，____人出现发热等类似症状，外出同行者一共____人

(2) 无

(3) 不详

(二) 有无家庭其他成员/接触者出现过发热等类似症状：

(1) 有，____人出现发热等类似症状，家中一共____人

(2) 无

(3) 不详

(三) 有无同事出现过发热等类似症状:

(1) 有, ____人出现发热等类似症状, 所在部门同事一共____人

(2) 无

(3) 不详

七、住所(病家)环境相关因素:

(一) 使用的防蚊设备(可多选):

(1) 蚊帐 (2) 蚊香 (3) 纱门 (4) 灭蚊剂 (5) 其他:

(二) 积水容器类型(可多选):

(1) 水生植物花瓶 (2) 花盆托 (3) 瓦盆 (4) 铁罐 (5) 碗碟缸

(6) 树洞 (7) 竹桩 (8) 假山 (9) 盆景 (10) 其他

八、病例报告情况

1、是否通过网络直报系统进行报告?

(1) 是 (2) 否

如报告, 该病例的传染病报告卡 ID 为_____

调查日期: _____年____月____日

调查者: _____

第四节 登革热疫情处置工作指引

一、发生输入性病例

（一）流行病学调查。

流行病学调查报告及个案信息，需在首次现场调查结束后 24 小时内完成，并逐级上报至省疾控中心。疫情处理结束后要补充报告相关情况。

1. 个案调查。

调查病例发病前二周至发病后 5 天的活动地点，境外输入病例应特别关注入境后活动情况、被蚊子叮咬史、就诊经过等。

2. 病例搜索。

（1）主动追查旅行史，如旅行社名称、导游姓名及所有同一旅行团的所有团员或在同行人中追索可疑病例。无论发病与否，对可能共同暴露者尽可能采血送验，了解是否曾受到感染，找出无症状或未报告的个案。

（2）以病例病毒血症期的住所或与其相邻的若干户、感染者的工作地点等活动场所为中心，参考伊蚊活动范围划定半径 100 米之内空间范围为核心区，1 例病例可划定多个核心区。

在核心区开展病例搜索。输入性病例进入本地区 11 天后（最短外潜伏期加最短内潜伏期）至 25 天（最长外潜伏期加最长内潜伏期）以后，核心区出现登革热疑似症状者，均采血开展登革热相关检测。

（二）蚊媒密度调查。

在核心区开展幼虫调查（布雷图指数），调查核心区内 100 户居民，检查室内外所有积水容器及幼虫孳生情况，计算布雷图指数。随后每 3

天重复监测 1 次，直至 BI 小于 5。

(三) 蚊媒控制。

疾控机构负责病家及其所在的整栋建筑物的蚊媒控制工作，包括杀灭成蚊和清除蚊媒孳生地。并做好核心区、警戒区的孳生地清理和灭杀成蚊的技术指导工作，具体方法见第三章第二节。

布雷图指数(BI)和诱蚊诱卵器指数小于 5 为控制登革热传播的阈值，应在一周内将核心区 BI 控制在 5 以下，并持续 25 天无新发病例，本次疫情结束。

二、发生本地病例

(一) 流行病学调查。

1. 个案调查。按登革热个案调查表的内容（第三章第三节附件 1）进行，调查病例发病前二周至发病后 5 天的活动地点（如住家、工作地点、公园、学校、市场、庙宇等公共场所）、活动情况、被蚊子叮咬史、就诊经过等。

2. 实验室检测。及时采集病人（疑似病人）急性期血清开展登革病毒 NS1 抗原、核酸检测或病毒分离。对于不能通过病原学检测确诊的病例，可采集急性期和恢复期血清，开展登革热特异性抗体检测。捕捉核心区伊蚊（成蚊）送实验室检测。

3. 病例搜索。

(1) 以病例住所或与其相邻的若干户、病例的工作地点等活动场所为中心，参考伊蚊活动范围划定半径 200 米之内空间范围为核心区，1 例感染者可划定多个核心区，在核心区内开展病例搜索。可根据城区或乡村

不同建筑类型，推测伊蚊活动范围，适当扩大或缩小搜索半径。核心区有疑似症状者，均采血开展登革热相关检测（附件）。

（2）在核心区的医疗机构（如社区门诊、卫生站、医院等）开展可疑病例搜索。

（3）对于指示病例、本地感染首例或首批病例，要详细调查其发病前 25 天内活动史，调查当地是否有类似病人、尤其是来自登革热流行区的人群出现，寻找可能的输入病例，查找可能的传染源。

4.必要时在核心区内开展人群血清学调查，以判定可能感染的范围或隐性感染的情况。

5.流行因素调查。详细调查核心区中的自然条件、人群居住条件、流动人口特点和环境卫生、卫生设施、行为习惯、植被、地形地貌、气温、降雨量、孳生地类型等，分析流行的自然因素和社会因素。

6.在病例搜索时，同时开展居民健康宣传。

7.每宗疫情的流行病学调查初步报告需在现场调查结束后 24 小时内完成，并逐级上报至省疾控中心，进程报告按现场处置开展工作情况及时报送。

（二）疫情分析及风险评估。

分析本次疫情分布流行特点，分析疫情动态，结合蚊媒监测情况，预测疫情趋势并进行疫情风险评估。疫情处理结束后撰写总结报告，并逐级上报至省疾控中心。

（三）启动蚊媒应急监测和控制。

启动蚊媒应急监测，登革热疫情发生 1-2 天内，核心区进行一次布雷

图指数监测，随后每 3 天开展一次布雷图指数监测，直至 $BI < 5$ ；警戒区每周开展一次布雷图指数监测；监控区每两周开展一次布雷图指数监测。（具体见第三章第一节、第二节）。

（四）疫情控制效果评估。

防控措施效果评价常用指标包括发病率、二代发病率、流行持续时间、伊蚊成蚊密度和布雷图指数、诱蚊诱卵器指数等。其中布雷图指数可供登革热防控措施落实情况评价参考指标。当布雷图指数或诱蚊诱卵指数超过 5 时，说明媒介控制未达到要求，建议政府部门继续在疫区内杀灭成蚊及清除蚊虫孳生地。当疫情得到有效控制，在最长外潜伏期和内潜伏期（25 天）内无新发病例，以及布雷图指数在 5 以下时，可结束本次疫情处理工作。

附件：登革热入户调查登记表

附件

登革热入户调查登记表

调查点名称：

调查人：

联系电话：

调查日期：

门牌 号	户主 姓名	户内 居住 人口 数	家庭成员 姓名	性 别	年 龄	职 业	是否出现以下症状				发 病 日 期	最近 14 天外出情况				是否 接受 采样 检测	采样 检测 结果	是否 纳入 病例 管理	备注 (家中 是否有 万年青 或富贵 竹等)
							发 热 ℃	关 节 痛	肌 肉 痛	皮 疹/ 出 血 点		其 他 社 区、 村	外 县 区	外 省	国 外				

填写说明：1、症状：如有相应症状，则填写出现日期；2、外出史：如有外出，则填地址；3、如有联系方式请填在备注栏。

第五节 登革热实验室检测指引

一、目的

- (一) 及时发现、诊断病例，及时控制疫情的发生或蔓延。
- (二) 及时了解伊蚊媒介携带登革病毒状况。
- (三) 病毒分型、溯源及病毒变异分析。
- (四) 为登革热流行趋势的预测、预警和制定防治对策、措施提供科学依据。

二、标本采集对象

- (一) 疑似和临床诊断病例（按照登革热诊断标准 WS216-2008）。
- (二) 伊蚊成蚊和幼虫。

三、标本采集、保存及运输

(一) 临床标本采集。

用无菌真空干燥管，采集患者非抗凝血，2 小时内分离血清，分装成 3 份，每份血清不得少于 0.5ml，保存于带螺旋盖、内有垫圈的冻存管内，标记清楚后低温保存，其中 1 份用于当地区、县（区）级医疗机构或疾控机构的筛查检测，1 份送市级疾控中心复核检测，1 份送省级疾控中心开展病毒分离、E 基因全长测序及病毒基因组核酸测序等工作（附件 1, 11）。

1. 每次采集静脉血液标本 5mL 以上。
2. 登革热临床诊断和疑似的住院病例，经抗原检测后结果仍为阴性应采集第二份血液标本，距第一份血样采集日期间隔在 7 天以上或出院前

1 天采集。

3. 疫点首发病例，如核酸检测结果阴性，应采集第二份血标本，距第一份血样采集日期间隔在 7 天以上。

(二) 蚊媒标本采集。

日常蚊媒带毒监测：各监测点地市疾控中心 1-4 月份和 11-12 月份，每月应采集伊蚊成蚊 50 只以上，幼虫 100 只以上；5-10 月份应采集伊蚊成蚊 100 只以上，幼虫 200 只以上。

暴发疫情蚊媒带毒监测：每个疫点要求采集伊蚊成蚊 50 只以上，幼虫 100 只以上，采集工作在灭蚊工作之前完成。

上述采集的伊蚊成蚊及幼虫，分类鉴定后，填写媒介标本采集信息表，按照采集地点分装，每管 10-20 只。

(三) 标本保存、运送。

临床病例标本应放在-70℃以下保存，未检测血液标本可在 4℃以下保存不超过 48 小时，-20℃以下保存不超过 1 周。蚊媒标本应放在-70℃以下保存。

标本运送时采用冷藏运输，避免冻融，样本运输应遵守国家相关生物安全规定。

四、实验室检测

(一) 病例标本的筛查检测。

各县（区）疾控机构或医疗机构可采集病例血清，开展 NS1 的快速

筛查检测，有条件的单位可开展病毒核酸和抗体的检测，对医疗机构已开展的检测项目原则上不要求县（区）级疾控机构重复开展检测，检测流程参见图 1。

（二）病例标本的复核检测。

1. 各地市疾控机构要对本市区内的所有境外输入病例、本地区首发本地病例、疫点首发病例、重症和死亡病例均要进行复核检测，本地区散发病例和暴发疫情病例抽样 30% 进行复核检测。暴发疫情复核检测不少于 5 例，疫情少于 5 例者应全部复核检测。上述复核后的标本均要送省疾控中心进行进一步的检测和分析工作。

2. 各地市疾控机构应对上述复核的标本根据发病和采样情况针对性地进行核酸检测，核酸阳性标本均要进行分子分型检测、病毒分离，分离的病毒株要开展 E 基因全长测序。复核检测应在标本采集后或接收标本后 2 个工作日内完成，病毒分离应在 15 个工作日内完成，E 基因全长测序应在病毒分离后 10 个工作日内完成，并将分离的毒株和测序结果在本月底上送和上报省疾控中心（附件 12），不能开展上述检测的单位应在 2 个工作日内将标本上送省疾控中心开展检测。

3. 省疾控中心对各地市上送的临床标本抽取不少于 30% 进行复核，复核结果在标本收到后 2 个工作日内反馈给送检单位。所有核酸阳性标本要开展病毒分离和 E 基因测序工作，并将病毒分离结果和 E 基因检测结果在标本收到后 20 个工作日内反馈给各地市疾控机构。

（三）登革病毒进化及变异分析。

省疾控中心应对各地市上送的或自行分离的所有境外输入病例、本地区首发本地病例、重症病例、死亡病例的毒株和每个疫点代表株开展 E 基因全长测序，并根据 E 基因分析结果选择部分毒株开展全基因组测序。E 基因全长测序在毒株上送或毒株分离鉴定后 10 个工作日内完成，基因组测序在 20 个工作日内完成，并将测序结果及时反馈给各地市疾控中心。省疾控中心同时对重症病例开展二次感染的检测。

（四）媒介标本检测。

捕获的伊蚊成蚊或幼虫，有条件的地市可自行开展登革病毒的核酸检测和病毒分离工作，所有核酸阳性标本要进行全长 E 基因扩增和测序，分离的病毒株要开展全基因组测序工作，并将检测结果及时上报省疾控中心。不能开展上述检测的地市应在蚊媒标本采集后 5 个工作日内送省疾控中心开展相关检测，省疾控中心在收到标本后 10 个工作日内反馈检测结果。

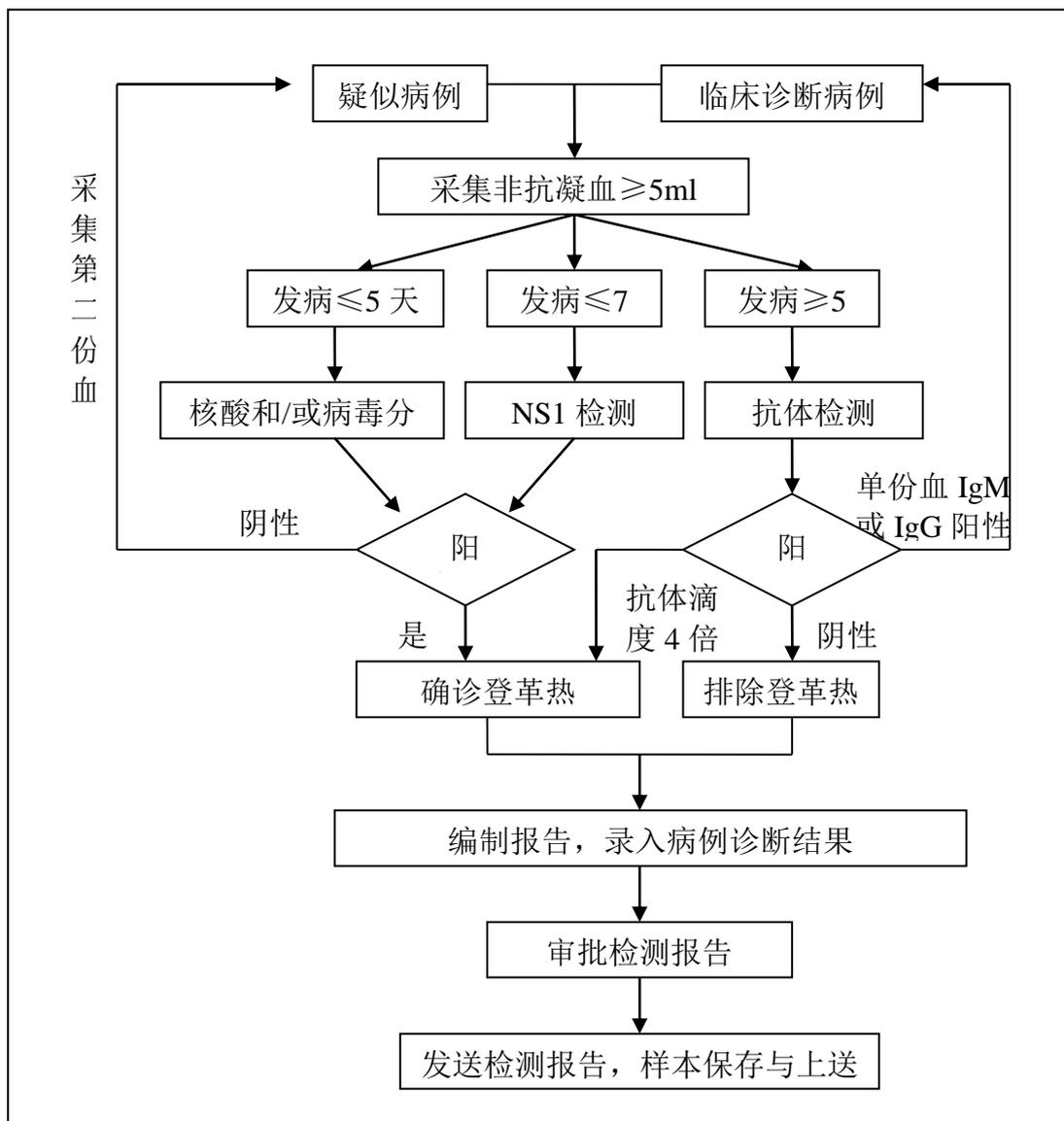


图 1 登革热疑似病例和临床诊断病例实验室检测流程

五、实验室检测方法

(一) 临床标本检测。

1、病原学检测。

病原学检测主要适用于急性期血液标本。

(1) 抗原检测：一般发病后 7 天内血液标本 NS1 抗原检出率高。标

本中检出 NS1 抗原的临床诊断病例可以确诊病毒感染，适用于现场快速检测，可用于早期诊断（附件 2，3）。

（2）核酸检测：一般发病后 5 天内血液标本病毒核酸检出率高。在病人血清中检出病毒核酸，可确诊而且能够分型，可用于早期诊断，但核酸检测容易因污染而产生假阳性，因此要求严格分区操作（附件 4）。

（3）病毒分离：一般发病后 5 天内血液标本病毒分离率较高。将标本接种于蚊源细胞（C6/36）或哺乳动物细胞（BHK21、Vero）进行分离培养（附件 5），出现病变以后，用检测抗原或核酸的方法鉴定病毒。分离到登革病毒可以确诊，但其耗时长，不适于快速诊断。

2.血清学检测。

血清学特异性抗体检测主要适用于发病 5 天以后血液样本，但需注意可能与其他黄病毒感染发生交叉反应。

（1）血清特异性 IgM 抗体：采用 ELISA、免疫层析等方法检测。IgM 抗体阳性，提示患者可能新近感染登革病毒，适用于登革热早期诊断，但单份标本不能确诊（附件 7）。

（2）血清特异性 IgG 抗体：采用 ELISA、免疫荧光（IFA）、免疫层析等方法检测。患者恢复期血清 IgG 抗体阳转或滴度较急性期呈 4 倍及以上升高可以确诊（附件 3，9）。

（3）中和抗体：采用空斑减少中和实验、微量中和实验等方法检测，可用于分型。患者恢复期血清中和抗体阳转或滴度较急性期呈 4 倍及以上

升高可以确诊。

(二) 媒介标本检测。

1. 标本处理。

将分类后的伊蚊成蚊或幼虫，按照采集地点，每 10-20 只为一份进行研磨处理（附件 10）。

2. 病毒核酸检测。

用 RT-PCR 的方法进行登革病毒核酸检测（见附件 4）。

3. 病毒分离。

病毒核酸阳性的标本进行病毒分离（见附件 5）。

4. E 基因全长扩增。

用 RT-PCR 的方法进行登革病毒 E 基因全长扩增（附件 6）。

六、实验室质量控制

(一) 标本采集、保存和运送。

采集的标本要做好标识，并记录标本的基本信息和流行病学信息，按本指引要求采集、保存和运送。

(二) 实验室检测。

1. 根据发病时间，按本指引用要求选择不同的检测方法。

2. 核酸检测要防止各种污染，按操作规范设立相应对照。

3. 应对检测试剂开展质控评价。

(三) 定期督导复核。

各地市级疾病预防控制机构应定期开展督导检查、及时抽取医疗机构上报的诊断病例标本进行复核检测，实验室技术人员培训与考核，及时发现问题。

七、结果的报告和反馈

境外输入病例、重症和死亡病例、暴发疫情指示病例、疫点首发病例实验室检测结果 2 个工作日内反馈标本送检单位。

各地市级疾病防控机构应每月第一周将上一月登革热实验室检测结果（包括 NS1 检测、核酸检测、病毒分离、抗体检测和序列测定），报省疾病预防控制中心（见附件 12），将结果发送至 89047992@qq.com 或发送虫媒传染病讨论群（QQ 群号：210757226）。省疾控中心在收到标本后 10 个工作日内反馈抗体检测、核酸检测和分型检测结果。

八、生物安全

登革热实验室检测应按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》等相关规定要求，做好生物安全工作。

- 附件：1.血液标本采集.血清分离.运送.保存标准化操作程序
2.酶联免疫法检测登革病毒 NS1 抗原标准操作程序
3.免疫层析法检测登革病毒 NS1 抗原标准操作程序
4.RT-PCR 法分型检测登革病毒核酸标准操作程序
5.细胞培养分离登革病毒

6. E 基因全长序列扩增标准操作程序
7. IgM 捕捉 ELISA 法 (MacELISA) 检测登革热 IgM 抗体
8. 酶联免疫法检测登革病毒 IgG 抗体标准操作程序
9. 免疫荧光法检测登革病毒 IgG 抗体标准操作程序
10. 蚊媒标本处理标准操作程序
11. 疑似登革热病人检材送检一览表
12. 病原学检测结果一览表

附件 1

血液标本采集、血清分离、运送、保存标准化操作程序

一、目的

正确采集血液标本、分离血清、运送和保存。

二、范围

适用于有资质的人采集登革热患者或疑似患者血液标本、分离血清、编号、分装、保存和运送。

三、操作步骤

(一) 采血。

- 1.用 75%酒精擦拭静脉穿刺部位待 30 秒钟以上。
- 2.然后用一根碘酊或碘伏棉签消毒皮肤（1-2%碘酊 30 秒或 10%碘伏消毒 60 秒），从穿刺点向外以 1.5-2cm 直径画圈进行消毒。
- 3.用 75%酒精脱碘。
- 4.严格执行三步消毒后（注意对碘过敏的患者，只能用 75%酒精消毒，消毒 60 秒钟），待穿刺部位酒精挥发干燥用无菌真空管，采集患者非抗凝血 5mL。

(二) 分离血清。

- 1.轻缓颠倒采血管数次，使血液与促凝剂混匀后静置，待血块完全凝固（放置时间过长会造成溶血，避免留置过夜）。

2.3000rpm 离心，5 分钟，然后用无菌吸管小心取上清转入 3 支冻存管，应避免吸取血细胞。

3.标记。用标签纸或持久性标记笔在冻存管的侧壁标记标本编号，顶端标记序列号，标记清楚后将血清放进标本盒，保存于 2-8℃冰箱待初筛检测或运送保存。在编码规则为“地区拼音首字母（JH）年份（2 位）月（2 位）-序列号（3 位）”，如景洪市 2013 年 8 月份采集的第 12 份血标本的血清编号为 JH1308-012,冻存管顶端分别标记 012-1,012-2 和 012-3。

（三）运送保存。

1.如果 24 小时能够完成初筛检测，并将标本运送至上级单位，运送前应将标本保存于 2-8℃冰箱，运送时采用低温冷藏运输。

2.如果不能及时运送，运送前应将标本保存于-20℃冰箱，运送时采用干冰或低温冷藏运输。

3.样本长期保存应记录剩余血清量和盒中位置，保存于-70℃以下冰箱。

4.所有样本运输和保存应遵守国家相关生物安全规定。

四、注意事项

（一）使用后的注射器和针头应放置于耐扎的容器中，最后集中高压消毒，在任何情况下均不应试图将针头重新盖帽。

（二）采血结束后脱掉手套并弃于耐高压的废弃袋中，以备集中高压灭菌，并立即用肥皂和水洗手。

（三）若发生针刺、皮肤破损或其它损伤，应立即用肥皂和水清洗伤口，不要立即止血。

（四）当血液污染了身体的任何地方或发生针刺等事故时，均应及时报告上级并按医疗救护规程进行评估和救护。

附件 2

酶联免疫法检测登革病毒 NS1 抗原标准操作程序

一、目的

酶联免疫法检测患者血清中登革病毒 NS1 抗原。

二、适用范围

适用于患者血清或血浆中登革热病毒 NS1 抗原的快速检测。

三、实验前准备

(一) 核对被检样品(血清或血浆)患者的姓名、编号及检测项目等。

(二) 检测前应将待测样品置于 2-8℃冰箱或冰上。

四、检测项目及参数

本方法检测项目为检测血清或血浆中登革热病毒抗原。

五、检测仪器设备和材料

加样器、温箱、洗板机、含波长 450nm 的酶标仪、登革病毒抗原检测试剂盒(酶联免疫法)(万泰公司)

六、检测的环境条件

生物安全二级实验室(BSL-2)中进行,灭活后样本在生物安全一级实验室(BSL-1)内进行。

七、操作步骤

(一) 将试剂盒在冰箱中取出,放置室温平衡 30 分钟,使用前将试

剂轻轻震荡混匀。

(二) 配液：将试剂盒中浓缩洗涤液用蒸馏水 20 倍稀释。

(三) 编号：将样品对应微孔板编号，每板设阴性对照 3 孔，阳性对照 2 孔和空白对照 1 孔。

(四) 加稀释液：每孔加稀释液 50 μ L，空白孔除外。

(五) 加样：分别在相应孔加入待测样品或阴阳性对照各 50 μ L，空白孔除外。

(六) 温育：用封板膜封板后，置 37 $^{\circ}$ C 温育 60 分钟。

(七) 每孔加酶标试剂 50 μ L，空白孔除外，轻轻震荡混匀。

(八) 温育：用封板膜封板后，置 37 $^{\circ}$ C 温育 30 分钟。

(九) 洗板：小心揭掉封板膜，用洗板机洗涤 5 遍，最后一次尽量扣干。

(十) 显色：每孔加入显色剂 A、B 液各 50 μ L，轻轻震荡混匀，37 $^{\circ}$ C 避光显色 15 分钟。

(十一) 测定：每孔加终止液 50 μ L，10 分钟内测定结果。设定酶标仪波长于 450nm 处（建议使用双波长 450nm/600-650nm 检测），用空白孔调零后测定各孔 A 值。

八、结果判定

(一) 临界值计算：临界值=0.10+阴性对照孔 A 值均值（阴性对照孔 A 值低于 0.05 者以 0.05 计算）。

(二) 阴性对照的正常值范围：阴性对照孔 $A \leq 0.1$ (若 1 孔 A 大于 0.1 应舍弃，若两孔或两孔以上阴性对照大于 0.1，应重复实验)。

(三) 阳性对照正常值范围： $A \geq 0.8$ 。

(四) 阳性判定：样品 A 值 \geq 临界值者为登革病毒抗原阳性。

(五) 阴性判定：样品 A 值 $<$ 临界值者为登革病毒抗原阴性。

九、意义

结合临床信息，阳性结果可以诊断为登革病毒感染，但阴性结果并不排除登革病毒感染的可能。

附件 3

胶体金免疫层析法检测登革病毒 NS1 抗原标准操作程序

一、目的

检测患者血液中登革病毒抗原。

二、适用范围

检测患者血清、血浆、全血中登革热病毒抗原水平，主要用于登革病毒感染辅助诊断。

三、实验前准备

(一) 核对被检样品(血清或血浆)患者的姓名、编号及检测项目等。

(二) 检测前应将待测样品置于 2-8℃冰箱或冰上。

四、检测项目及参数

本方法检测项目为检测血清或血浆中登革热病毒抗原。

五、检测仪器设备和材料

加样器、登革热病毒抗原检测试剂盒(胶体金法)

六、检测的环境条件

生物安全二级实验室(BSL-2)中进行,灭活后样本在生物安全一级实验室(BSL-1)内进行。

七、检测步骤

(一) 将试剂盒和待检样本自冰箱中取出平衡至室温。

(二) 当准备好测试时,打开密封的铝箔袋,取出检测卡,平放于水

平桌面上。

(三) 在检测卡上标记病人的样本号。

(四) 加样：用滴管从样本中取 1 滴（约 30-45 μL ）血清或血浆标本，加于检测卡/条上的加样区内，另外加 1 滴（约 30-45 μL ）稀释液，保证操作过程中没有气泡产生。（如果加样后 30 秒钟，没有看到样本移动，可能是由于样本太黏稠，可在样本加样孔内再加 1 滴样本稀释液。

(五) 加入样本后 20-25 分钟内判读结果，并将结果拍照。

八、结果解释

(一) 阴性结果：仅质控线 C 出现肉眼可见条带。

(二) 阳性结果：质控线 C 和检测线 T 均出现肉眼可见条带。

(三) 无效结果：未有肉眼可见的质控线 C

(四) 质量控制：如遇下列情况，请按上述操作步骤使用实验室备用的阳性和阴性样本对该批产品进行质量控制：

- 1.新检验员使用本产品。
- 2.使用新批号产品。
- 3.试剂卡储存温度在 2-30 $^{\circ}\text{C}$ 以外。
- 4.测试区温度在 2-30 $^{\circ}\text{C}$ 以外。

九、意义

阳性结果说明检测到登革病毒抗原，结合临床可以诊断为登革病毒感染；阴性结果说明没有检测到登革病毒抗原，但不能排除登革病毒感染。

附件 4

RT-PCR 法分型检测登革病毒核酸标准操作程序

一、目的

登革热患者和/或媒介伊蚊标本中病毒核酸的提取及 PCR 分型检测。

二、适用范围

适用于患者血标本及其传播媒介标本的检测。

三、检测的环境条件

在标本中提取登革病毒 RNA 的实验要求在 BSL-2 实验室操作，PCR 分型检测在专门 PCR 室或区域操作。

四、实验步骤

(一) 实验准备。

1.在标本中提取登革病毒 RNA 要求在 BSL-2 实验室，PCR 分型在综合实验室独立区域或专门 PCR 室操作。

2.进入实验场所之前，要事先准备好所需试剂、样品。预约实验场所，并看前一位实验者是否已经清场。

(二) RNA 的提取。

1.使用 QIAampViral RNA Mini 试剂盒提取血清标本中病毒 RNA

(1)吸取 560 μ l 包含载体 RNA 的 AVL 缓冲液至 1.5ml 的离心管中。

(2) 向上述的液体中加入 140 μ l 样品，脉冲涡旋式混匀 15 秒，室温孵育 10 分钟，简单离心使离心管顶端液体落到底部。

(3) 在样品中加入 560 μ l 96-100%的乙醇，混匀 15 秒，再简单离心。

(4) 小心将 630 μ l 液体加入未浸湿的 QIAamp 小柱中，盖好盖，离心 8000rpm/min 1min,弃去收集管，将柱子置于一新的 2ml 收集管上。

(5) 打开 QIAamp 小柱的盖子，重复步骤 6，直至样品全部离心。

(6) 打开盖子，向柱中加入 500 μ l AW1 缓冲液，盖好盖，离心 8000rpm/min 1min，弃去收集管，将柱子置于一新的 2ml 收集管上。

(7)打开盖子,加入 500 μ lAW2 缓冲液,盖好盖,离心 14,000rpm/min 3min。

(8) 将柱子置于一新的 2ml 收集管上，空离 1min。

h.将柱子置于一新的 1.5ml 离心管上，加入 50 μ l AVE 洗脱缓冲液，室温孵育 1min,离心 8000rpm/min 1min。

2.RNeasy Mini Kit 提取媒介组织标本或血液标本病毒 RNA。

(1) 从 Kit 中取出 RLT 液，根据标本数量分装适量 RLT 液按照 1:100 体积比分别加入 β -巯基乙醇，分装至相应的预先标记好的微量离心管中，每管 600 μ L。

(2) 将 150 μ l 组织研磨混悬液分别加入相应的 RLT 液管中，充分混匀。

(3) 混匀后依次加入 750 μ l 70%的乙醇，充分混匀。

(4) 从 Kit 中取出带收集管的滤柱，打开包装将其做好标记。取步

骤 2 中的混合液 750 μ l 加入滤柱中，12000rpm，离心 15s，弃收集管中的离心液。

(5) 滤柱仍放回收集管上，将步骤 2 剩余的混合液全部转入滤柱中，12000rpm，离心 15s，弃离心液；

(6) 于滤柱中加入 700 μ l Wash Buffer RW1 液，12000rpm，离心 15s。

(7) 从 QIAGEN RNeasy Mini Kit 中取一支干净的 2mL 收集管，将离心后的滤柱移到新的收集管上，加入 500 μ l Wash Buffer RPE 液，12000rpm，离心 15s。

(8) 弃收集管中的离心液，再于滤柱中加入 500 μ l Wash Buffer RPE 液，13000~14000rpm，离心 2min。

(9) 将滤柱移到一个无 RNA 酶的干净的 1.5mL eppendorf 管上，向滤柱中加入 30-50 μ l 的 RNase-free Water, 室温静置 1-3min。

(10) 12000rpm，离心 1min，离心液即为病毒 RNA，立即检测或-70 $^{\circ}$ C 以下保存。

(三) 常规半套式 RT-PCR 方法检测登革病毒核酸。

1. 引物：引物序列见下表。

引物	序列	片段大小
D1	5'-TCAATATGCTGAAACGCGCGAGAAACCG-3'	511
D2	5'-TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGGTTC-3'	511
TS1	5'-CGTCTCAGTGATCCGGGGG-3'	482 (D1+TS1)
TS2	5'-CGCCACAAGGGCCATGAACAG-3'	119 (D1+TS2)
TS3	5'-TAACATCATCATGAGACAGAGC-3'	290 (D1+TS3)
TS4	5'-CTCTGTTGTCTTAAACAAGAGA-3'	392 (D1+TS4)

2. PCR 扩增。

根据实验室内所使用病毒核酸 PCR 扩增试剂盒特点，正向引物 D1 和反向引物 D2 配置第一轮 PCR 体系，进行第一轮 PCR 扩增。推荐反应条件为：94℃预变性 2min，然后 94℃变性 30 秒，55℃退火 30 秒，72℃延伸 1 分钟，反应 40 个循环，最后 72℃延伸 10 分钟。

第二轮分型 PCR 扩增体系配置采用正向引物 D1 与反向引物 TS1、TS2、TS3 和 TS4。推荐反应条件为：94℃预变性 2min，然后 94℃变性 30 秒，55℃退火 30 秒，72℃延伸 1 分钟，反应 30 个循环，最后 72℃延伸 10 分钟。

3.1.5% 浓度琼脂糖电泳分析，确定病毒型别。

4. 结果判读。

(1) 阳性：

1 型：电泳显示略小于 500 bp 的 DNA 片段。

2 型：电泳显示略大于 100bp 的 DNA 片段。

3 型：电泳显示略小于 300bp 的 DNA 片段。

4 型：电泳显示略小于 400bp 的 DNA 片段。

(2) 阴性：无特异性核酸片段扩增。

5. 意义。

阳性结果可以确诊登革病毒感染，可用于登革热早期诊断。

(四) 实时定量 RT-PCR 法分型检测登革病毒核酸。

1. 引物与探针。

引物/探针	序列	荧光标记
DEN-1 8973F	CAAAAGGAAGTCGTGCAATA	
DEN-1 9084C	CTGAGTGAATTCTCTCTACTGAACC	
DEN-1 8998probe	CATGTGGTTGGGAGCACGC	FAM/BHQ-1
DEN-2 1443F	CAGGTTATGGCACTGTCACGAT	
DEN-2 1518C	CCATCTGCAGCAACACCATCTC	
DEN-2 1469probe	CTCTCCGAGAACAGGCCTCGACTTCAA	HEX/BHQ-1
DEN-3 740F	GGACTGGACACACGCACTCA	
DEN-3 813C	CATGTCTCTACCTTCTCGACTTGTCT	
DEN-3 762probe	ACCTGGATGTCGGCTGAAGGAGCTTG	TexasRed/BHQ-2
DEN-4 904F	TTGTCCTAATGATGCTGGTTCG	
DEN-4 992C	TCCACCTGAGACTCCTTCCA	
DEN-4 960probe	TTCCTACTCCTACGCATCGCATTCCG	Cy5/BHQ-3

2. 实时荧光定量 RT-PCR 扩增。

实时荧光定量 RT-PCR 扩增反应配置体系，参考如下：

RNA 模板 5 μ l，酶 0.5 μ l，缓冲液 12.5 μ l，引物各 0.5 μ l(共 4 对,8 条)，探针各 0.25 μ l，加水至总体积 25 μ l。

推荐反应条件为：50°C30min，95°C2min，95°C15s、60°C30s 反应 40 个循环。

3. 结果判断。

以荧光 PCR 反应的前 3-15 个循环的荧光信号作为本底信号，以本底信号标准差的 10 倍作为荧光阈值，标本扩增产生的荧光信号达到荧光阈值时所对应的循环数为循环阈值（Ct 值），以 Ct<35 荧光信号数据线性化处理后对应循环数生成的曲线图成“S”形的标本，可判断为相应的登革病毒核酸检测阳性。

4. 意义。

是一种灵敏、特异、低污染的登革病毒 RNA 检测方法，可以定性或定量检测登革热患者血清或蚊媒标本中的登革病毒。

附件 5

细胞培养分离登革病毒

一、目的

分离登革病毒。

二、适用范围

(一) 无菌采集发病后 5 日内的登革患者血标本。

(二) 经研磨处理的媒介蚊标本（详见附件 10）。

三、实验前准备

(一) 核对被检样品：患者标本应核对患者的姓名、性别、年龄、编号及检测项目等。蚊媒标本应核对标本种类、编号、性状等。

(二) 生长状态良好的单层登革病毒敏感细胞 C6/36, BHK21, VERO 等

(三) 待测样品在检测前应放置于 2-8°C 冰箱或置于冰上。

四、操作步骤

(一) 取 10 μ L 患者血清或蚊悬液 20 μ L 用 Hank's 液稀按 1: 10 稀释至 0.1mL 或 0.2mL 备用。

(二) 将在 24 孔细胞培养板上培养好的单层细胞上清弃掉, 用 Hank's 液洗涤 2 遍。

(三) 将稀释好的标本接种细胞, 接种 C6/36 细胞在 28°C 吸附 1 小

时，BHK21 细胞在 37°C 吸附 1 小时，补加维持液至 1mL，C6/36 细胞在 28°C 培养，BHK21 细胞在 37°C 培养。

(四) 第二天开始观察细胞病变情况。如果没有细胞病变，则盲传 3 代（每次取细胞悬液 0.1ml）接种细胞传代。

(五) 免疫荧光法鉴定登革病毒

1. 细胞抗原片的制备：

出现“++”细胞病变的细胞倒去维持液（若盲传无细胞病变出现，仍然按此方法制备），用 pH7.2 PBS 洗涤 2 次，加 PBS 用滴管把细胞从管壁上吹下，吹散，1000 转/分钟离心 5 分钟，弃去 PBS，细胞沉淀用 0.2ml PBS 吹散，滴加在抗原片上，吹干，冷丙酮固定 10 分钟，PBS 冲洗 2 次，蒸馏水漂洗 1 次，吹干备用；

2. 按顺序滴加荧光标记单克隆抗体 2 孔，对照 2 孔（加 PBS），置湿盒内 37°C 水浴 30 分钟；

3. 取出，用 PBS 冲洗 3 次，蒸馏水漂洗 1 次，吹干；

4. 荧光显微镜观察结果。

(六) 其他检测病毒抗原或核酸鉴定登革病毒详见附件 2、4、6。

(七) 结果判断：

免疫检测有特异性黄绿色颗粒状荧光，检测出病毒 NS1 抗原或病毒核酸可确定病毒分离成功。

(八) 意义：从病人血清或蚊媒中分离出登革病毒，可确诊登革感染。

五、废弃物处理

所有实验用品都应严格按照有关传染病处理方法高压处理。

附件 6

E 基因全长序列扩增标准操作程序

一、目的

登革热患者、媒介伊蚊标本及病毒培养物中病毒核酸的提取及 E 基因扩增。

二、适用范围

适用于患者血标本、传播媒介标本和病毒培养物的扩增。

三、检测的环境条件

在标本中提取登革病毒 RNA 的实验要求在 BSL-2 实验室操作，E 基因扩增在专门 PCR 室或区域操作。

四、实验步骤

(一) 实验准备。

1.在标本或病毒培养物中提取登革病毒 RNA 要求在 BSL-2 实验室，E 基因扩增在综合实验室独立区域或专门 PCR 室操作。

2.进入实验场所之前，要事先准备好所需试剂，样品。预约实验场所，并看前一位实验者是否已经清场。

(二) RNA 的提取。

1.使用 QIAampViral RNA Mini 试剂盒提取血清标本、蚊媒标本悬液和病毒培养物中病毒 RNA。

(1)吸取 560 μ l 包含载体 RNA 的 AVL 缓冲液至 1.5ml 的离心管中。

(2) 向上述的液体中加入 140 μ l 样品，脉冲涡旋式混匀 15 秒，室温孵育 10 分钟，简单离心使离心管顶端液体落到底部。

(3) 在样品中加入 560 μ l 96—100%的乙醇，混匀 15 秒，再简单离心。

(4) 小心将 630 μ l 液体加入未浸湿的 QIAamp 小柱中，盖好盖，离心 8000rpm/min 1min,弃去收集管，将柱子置于一新的 2ml 收集管上。

(5) 打开 QIAamp 小柱的盖子，重复步骤 6，直至样品全部离心。

(6) 打开盖子，向柱中加入 500 μ l AW1 缓冲液，盖好盖，离心 8000rpm/min 1min，弃去收集管，将柱子置于一新的 2ml 收集管上。

(7)打开盖子,加入 500 μ lAW2 缓冲液,盖好盖,离心 14,000rpm/min 3min。

(8) 将柱子置于一新的 2ml 收集管上，空离 1min。

h.将柱子置于一新的 1.5ml 离心管上，加入 50 μ l AVE 洗脱缓冲液，室温孵育 1min,离心 8000rpm/min 1min。

2.RNeasy Mini Kit 提取媒介组织标本或血液标本病毒 RNA。

(1) 从 Kit 中取出 RLT 液，根据标本数量分装适量 RLT 液按照 1:100 体积比分别加入 β -巯基乙醇，分装至相应的预先标记好的微量离心管中，每管 600 μ L。

(2) 将 150 μ l 组织研磨混悬液分别加入相应的 RLT 液管中，充分混

匀。

(3) 混匀后依次加入 750 μ l 70%的乙醇，充分混匀。

(4) 从 Kit 中取出带收集管的滤柱，打开包装将其做好标记。取步骤 2 中的混合液 750 μ l 加入滤柱中，12000rpm，离心 15s，弃收集管中的离心液。

(5) 滤柱仍放回收集管上，将步骤 2 剩余的混合液全部转入滤柱中，12000rpm，离心 15s，弃离心液；

(6) 于滤柱中加入 700 μ l Wash Buffer RW1 液，12000rpm，离心 15s。

(7) 从 QIAGEN RNeasy Mini Kit 中取一支干净的 2mL 收集管，将离心后的滤柱移到新的收集管上，加入 500 μ l Wash Buffer RPE 液，12000rpm，离心 15s。

(8) 弃收集管中的离心液，再于滤柱中加入 500 μ l Wash Buffer RPE 液，13000~14000rpm，离心 2min。

(9) 将滤柱移到一个无 RNA 酶的干净的 1.5mL eppendorf 管上，向滤柱中加入 30-50 μ l 的 RNase-free Water,室温静置 1-3min。

(10) 12000rpm，离心 1min，离心液即为病毒 RNA，立即检测或-70 $^{\circ}$ C 以下保存。

(三) 常规半套式 RT-PCR 方法检测登革病毒核酸。

1.引物：引物序列见下表。

引物名称	引物序列(5'-3')	位置	退火温度
D1F1	CACATGCCATAGGAACATCC	858-877	48°C
D1R1	ATGCTGGGTCTCAGCCACTT	1886-1865	53°C
D1F2	GGAAAYAGACAAGAYTTGCTGGT	1626-1674	51°C
D1R2	TGCCRCTTCCACATTTGAGT	2474-2455	49°C
D2F1	AGCAATCCTGGCATAACCATAG	849-871	52°C
D2R1	CCTTTGARCTGTAGTTTGTCCA	1823-1802	50°C
D2F2	CCTCGACTTCAATGAGATGGT	1506-1526	50°C
D2R2	TTGAAGGGGATTCTGGTTGGA	2542-2521	53°C
D3F1	CTACTAATGCTGGTCACYCCATCCA	905-929	55°C
D3R1	TTGCAAGGTGCATCTTCCCCTTTGTA	1929-1904	57°C
D3F2	GACCTACCYCTACCATGGACATCA	1571-1594	57°C
D3R2	AGYTCATTGGCTATTTGCTTCCACA	2637-2613	51°C
D4F1	AGCTGGATACTCAGAAACCCAGGATT	814-839	56°C
D4R1	ACATCCTGTCTCTTGGCATGAGG	1688-1666	55°C
D4F2	CCTCATGCCAAGAGACAGGATGT	1666-1688	55°C
D4R2	AATTTGTA CTGTTCTGTCCAAGTGTG	2525-2500	52°C

2.PCR 扩增。

临床标本和蚊媒悬液标本的扩增要选择 2 节段扩增,各实验室根据实验室内所使用病毒核酸 PCR 扩增试剂盒特点,登革热 I 型引物对分别使用 (D1F1,D1R1), (D1F2,D1R2);登革热 II 型引物对分别使用 (D2F1,D2R1), (D2F2,D2R2);登革热 III 型引物对分别使用 (D3F1,D3R1), (D3F2,D3R2);登革热 IV 型引物对分别使用 (D4F1,D4R1), (D4F2,D4R2) 配置 PCR 扩增体系,进行 PCR 扩增。推荐反应条件为: 94°C 预变性 2min, 然后 94°C 变性 30 秒, 50-55°C 退火 30 秒, 72°C 延伸 1 分钟, 反应 40 个循环, 最后 72°C 延伸 10 分钟。

病毒培养物的扩增可选择一次性扩增,各实验室根据实验室内所使用

病毒核酸 PCR 扩增试剂盒特点，登革热 I 型引物对分别使用（D1F1，D1R2）；登革热 II 型引物对分别使用（D2F1，D2R2）；登革热 III 型引物对分别使用（D3F1，D3R2）；登革热 IV 型引物对分别使用（D4F1，D4R2）配置 PCR 扩增体系，进行 PCR 扩增。推荐反应条件为：94℃预变性 2min，然后 94℃变性 30 秒，50-55℃退火 40 秒，72℃延伸 1 分钟，反应 40 个循环，最后 72℃延伸 10 分钟。

3. 1.5% 浓度琼脂糖电泳分析，确定 E 基因扩增情况。

4. 结果判读。

（1）阳性：

所扩增的片段大小与目标片段大小一致。

（2）阴性：无特异性核酸片段扩增。

5. 意义。

阳性结果可以进行 E 基因测序，可用于登革病毒的分子分型、分子溯源和病毒的变异分析。

附件 7

IgM 捕捉 ELISA 法 (MacELISA) 检测登革热 IgM 抗体

一、目的

检测出登革病毒特异性 IgM 抗体。

二、适用范围

适用于人血清或血浆中登革病毒特异性 IgM 抗体的快速检测。

三、样品接收和准备

(一) 核对被检样品 (血清或血浆) 患者的姓名、编号及检测项目等。

(二) 待测样品在检测前应放置于 2-8°C 冰箱或置于冰上。

四、检测项目及参数

本方法检测项目为检测血清或血浆中病毒特异性 IgM 抗体

五、检测仪器设备和材料

加样器、温箱、洗板机、含波长 450nm 的酶标仪、登革病毒 IgM 抗体检测试剂盒，或实验室自备材料：

(一) 抗原：

阳性抗原：采用 C6/36 细胞感染登革病毒培养物为阳性抗原。

阴性抗原：未接种病毒的正常 C6/36 细胞为阴性抗原对照。

(二) 抗人 IgM (μ 链) 单克隆抗体或多克隆抗体；

(三) 登革病毒 IgM 阳性、阴性对照血清；

(四) 辣根过氧化物酶标记登革病毒单克隆抗体;

(五) 缓冲液:

洗涤液: pH7.4 PBS-T (0.05%吐温-20);

稀释液: pH7.4 PBS (5%牛血清);

封闭液: pH9.6 碳酸缓冲液 (1%牛血清白蛋白);

(六) 显色液: A/B 液

(七) 终止液: 4N H₂SO₄

六、检测的环境条件

生物安全二级实验室 (BSL-2) 中进行,灭活后样本在生物安全一级实验室 (BSL-1) 内进行。

七、检测原理

本方法采用抗人 μ 链捕获人血清 IgM 抗体, 加辣根过氧化物酶标记的病毒抗原物, 用以检测出血热特异性 IgM 抗体。具有较高的敏感性、特异性和重复性。适用于出血热的早期特异性诊断及其它实验性研究。

八、检测步骤

(一) 用稀释液按效价稀释抗人 μ 链单克隆抗体, 100 μ l/孔, 加盖, 4 $^{\circ}$ C过夜;

(二) 弃去抗人 μ 链, 用洗涤液重复洗 3 次, 甩干, 加封闭液, 100 μ l/孔, 置 37 $^{\circ}$ C水浴孵育 2 小时;

(三) 弃封闭液, 用洗涤液重复洗 3 次, 甩干。

(四) 将待检血清用稀释液从 1:10 开始作 2 或 4 倍连续稀释, 加入酶标板孔中, 100 μ l/孔, 同时加入已 1:10 稀释的阳性血清、阴性血清对照各 4 孔, 100 μ l/孔, 置 37 $^{\circ}$ C 水浴孵育 2 小时;

(五) 弃去血清, 用洗涤液重复洗 3 次, 甩干, 分别加 4 个型 DV 抗原及阴性抗原对照, 100 μ l/孔, 4 $^{\circ}$ C 过夜;

(六) 弃抗原, 用洗涤液重复洗 3 次, 甩干, 加用稀释液稀释至工作浓度的相应的登革热酶标单克隆抗体, 正常抗原加 4 个型混合的酶标单克隆抗体, 100 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C 水浴 2 小时;

(七) 弃去标记物, 用洗涤液重复洗 3 次, 甩干, 于各反应孔内加 A/B 液各一滴, 37 $^{\circ}$ C, 避光 3-5 分钟;

(八) 加终止液于每反应孔, 一滴/孔。

九、结果判断

(一) 目测方法:

阳性对照孔呈明显蓝色, 阴性对照孔呈无色, 对照成立; 若待检血清孔呈明显淡蓝色或深蓝色 (TMB), 则标本为登革热 IgM 抗体阳性, 反之阴性。

(二) 酶联免疫检测仪检测:

于 450nm (TMB) 阳性对照孔 OD 值/阴性对照孔 OD 值, 即 $P/N \geq 2.1$, 对照成立; 若待检血清孔 OD 值与阴性对照孔 OD 比值 ≥ 2.1 , 则标本为登革热 IgM 抗体阳性, 反之阴性。(阴性对照孔 OD 值小于 0.05 按

0.05 记，若大于 0.05 按实际数值计算)

十、意义

阳性结果，提示患者新近登革病毒感染，用于登革热早期临床诊断。

附件 8

酶联免疫法检测登革病毒 IgG 抗体标准操作程序

一、目的

检测出登革病毒特异性 IgG 抗体。

二、适用范围

适用于人血清或血浆中登革病毒特异性 IgG 抗体的快速检测。

三、实验前准备

(一) 核对被检样品(血清或血浆)患者的姓名、编号及检测项目等。

(二) 待测样品在检测前应放置于 2-8℃冰箱或置于冰上。

四、检测项目及参数

本方法检测项目为检测血清或血浆中病毒特异性 IgG 抗体

五、检测仪器设备和材料

加样器、温箱、洗板机、含波长 450nm 的酶标仪、登革病毒 IgG 抗体检测试剂盒，或实验室自备材料：

(一) 抗原：

阳性抗原：采用 C6/36 细胞感染登革病毒培养物为阳性抗原。

阴性抗原：未接种病毒的正常 C6/36 细胞为阴性抗原对照。

(二) 辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG 抗体；

(三) 缓冲液:

包被液: pH9.6 碳酸缓冲液;

稀释液: pH7.4 PBS (含 5%脱脂奶)

洗涤液: pH7.4 PBS-T (0.05%吐温-20);

(四) 显色液: A/B 液

(五) 终止液: 4NH₂SO₄

(六) 酶标板、酶标仪。

六、检测的环境条件

生物安全二级实验室 (BSL-2) 中进行,灭活后样本在生物安全一级实验室 (BSL-1) 内进行。

七、检测步骤

(一) 用包被液按工作浓度稀释抗原, 100 μ l/孔, 4 $^{\circ}$ C过夜;

(二) 弃去包被液, 用 PBS-T 重复洗涤 3-5 次, 甩干;

(三) 将待检血清用稀释液从 1: 100 开始作 2 或 4 倍连续稀释, 加入抗原孔, 100 μ l/孔, 同时设阴、阳性对照, 37 $^{\circ}$ C水浴 1 小时;

(四) 弃去血清, 用洗涤液洗涤 5-6 次;

(五) 加酶结合物, 用稀释液按工作浓度稀释, 100 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C水浴 1 小时;

(六) 弃去酶标抗体, 用洗涤液洗涤 6 次, 甩干;

(七) 加显色液: 于各反应孔内加 A/B 液各一滴, 37 $^{\circ}$ C, 避光 3-5

分钟；

(八) 加终止液于每反应孔，100 μ l/孔。

八、结果判断

于 450nm (TMB) 阳性对照孔 OD 值/阴性对照孔 OD 值，即 $P/N \geq 2.1$ ，对照成立；若待检血清孔 OD 值与阴性对照孔 OD 比值 ≥ 2.1 ，则标本为登革热 IgG 抗体阳性，反之阴性。(阴性对照孔 OD 值小于 0.05 按 0.05 记，若大于 0.05 按实际数值计算)

九、意义

阳性结果，表明曾受到 DV 感染；恢复期血清抗体阳转，或抗体滴度比急性期抗体滴度有 4 倍及以上升高则可确诊。

附件 9

免疫荧光法检测登革病毒 IgG 抗体标准操作程序

一、目的

免疫荧光法（IFA）检测抗登革病毒 IgG 抗体。

二、适用范围

适用于人血清或血浆中登革热病毒特异性 IgG 抗体的快速检测。

三、实验前准备

（一） 核对被检样品（血清或血浆）患者的姓名、编号及检测项目等。

（二） 待测样品在检测前应放置于 2-8℃冰箱或置于冰上。

四、检测项目及参数

本方法检测项目为检测血清或血浆中抗登革热病毒 IgG 抗体

五、检测仪器设备和材料

（一） DV1~4 型抗原片：DV 标准毒株感染 VERO 或 BHK21 细胞制备，低温干燥保存；

（二）对照：登革热患者恢复期血清（阳性对照），非登革热患者血清阴性对照）；

（三）羊抗人（或兔抗人）IgG 荧光素标记抗体；

(四) 常用稀释液：pH7.2 - 7.4 PBS、伊文思兰等；

(五) 荧光显微镜。

六、检测的环境条件

生物安全二级实验室 (BSL-2) 中进行，样本灭活后可在生物安全一级实验室 (BSL-1) 内进行。

七、检验步骤：

(一) 用 pH7.4, 0.02mol/L PBS 稀释待检血清，从 1:20 开始做 2 倍连续稀释至需要的稀释度。

(二) 取出抗原片，用蒸馏水漂洗后，风干。

(三) 用加样器依次从高稀释度到低稀释度逐个加入已稀释的待检血清，加入量以覆盖细胞抗原面为准 (若为双份血清，最好上排为急性期血清，下排为恢复期血清)，在 37°C 水浴箱湿盒孵育 30 分钟 (每次试验同时设阳、阴性对照)。

(四) 用 PBS 震荡洗涤 3 次，每次 5 分钟，再用蒸馏水洗涤 1 次脱盐，风干。

(五) 用含 1: 3 万的伊文思兰 PBS 按工作浓度稀释荧光结合物，滴加各孔 (以覆盖细胞抗原面为准)，在 37 °C 水浴箱湿盒孵育 30 分钟，然后同 (4) 洗涤、漂洗、吹干。

(六) 荧光显微镜观察结果。

八、结果判断：

细胞内病毒特异性荧光为黄绿色颗粒，分布在感染细胞的胞浆内。根据特异性荧光颗粒多少、荧光亮度、阳性细胞在细胞总数中所占比例，可将免疫荧光反应大致区分为 1- 4 个“+”。可参考阳性细胞数：<25%为“+”，25% -50%为“++”，51% - 75%为“+++”，>75%为“++++”；无特异性荧光者为“—”（阴性）。检测抗体滴度时，以能观察到明显特异性荧光反应(>“+”)最高血清稀释度的倒数表示。

九、意义：

阳性结果，表明曾受到登革病毒感染，恢复期血清抗体滴度比急性期抗体滴度有 4 倍或 4 倍以上升高则可确诊。

附件 10

伊蚊标本采集与处理操作程序

一、目的

采集登革病毒媒介伊蚊标本，编号、分装和检测前处理。

二、操作步骤

(一) 伊蚊成蚊捕获时间应定在 8:30-10:00 或 18:00-20:00。埃及伊蚊分布区采用入户搜捕的方法，在监测点按东、南、西、北、中方位各选 1 户，在住户厨房和住房寻找伊蚊，采用电动捕蚊器捕捉，每户 12 分钟。白纹伊蚊可在房前屋后周围选择东、南、西、北、中 5 个捕蚊点，每点 12 分钟。

(二) 吸过血的可疑媒介蚊，用 0.5mol/L (10%) 葡萄糖液喂养，至胃血完全消化

(三) 按蚊种及捕获地点分组，每 10-20 只/组，按捕获蚊种类-地点-序列号的规则编号，并填写调查表。

(四) 用含双抗（青霉素、链霉素，终浓度各 1000U/ml）的 Hank's 液冲洗 3 次后，用研磨器研碎，每组加含双抗（青霉素、链霉素，终浓度各 1000U/ml）的 Hank's 液 0.5ml，2000 转/分钟离心 15 分钟，取上清用于登革病毒核酸检测和/或病毒分离。

(五) 如不能及时检测，应将标本保存于-70℃以下冰箱，并记录标本量和盒中位置。

附件 12

实验室测结果一览表

地区：

标本编号	标本类型	发病日期	采集日期	检测结果						型别	检测日期
				NS1	核酸检测	病毒分离	IgM	IgG	序列测定		

填表时间：____年__月__日

第六节 风险评估基本方法与要求

各级疾控中心承担登革热疫情及媒介监测工作的同时,应有计划地开展登革热疫情风险评估与预警工作。

一、区域性风险评估与预警

(一) 县(区)级评估与预警。

当辖区内蚊媒密度中布雷图指数超出 20, 或辖区内发现输入性病例时, 由县(区)疾控中心向政府部门提交风险评估报告, 并向社会发布预警提示。上述情形未结束前, 县(区)级疾控中心至少每月开展一次风险评估与预警信息发布。同时, 当辖区内出现本地登革热流行时, 县(区)疾控中心应每周开展一次风险评估与预警信息发布。

(二) 地市级评估与预警。

辖区内发现本地散发病例时; 辖区内发生本地暴发事件时; 或 6-10 月期间辖区内举办多个国家或省市参与、持续时间较长的大规模人群聚集活动(如大型运动会、商贸洽谈会及展览会等)等情形; 由地市疾控中心向政府部门提交风险评估报告, 并向社会发布预警提示。上述情形未结束前, 地市级疾控中心至少每月开展一次风险评估与预警信息发布。同时, 当辖区内出现本地登革热流行时, 地市疾控中心应每周开展一次风险评估与预警信息发布。

(三) 省级评估与预警。

每年4月-12月，省疾控中心应根据全省每月疫情和蚊媒监测结果向政府部门提交全省疫情风险评估报告，并向社会发布预警提示。全省2个及以上地级市发生本地登革热流行时，省疾控中心至少每周开展一次风险评估与预警信息发布。

二、风险评估的实施

风险评估包括计划和准备、实施和报告等三个过程。计划和准备包括确定时间、评估方法、人员、数据资料等；实施过程包括风险识别、风险分析、风险评价和提出风险管理（预警、控制措施等）建议；报告包括风险评估报告的撰写和报送等。风险评估方法可选取专家会商法、德尔菲法、风险矩阵法和分析流程图法中的一种或多种开展。

三、风险评估报告

评估报告应包括背景资料、风险等级识别、风险管理建议等。

背景资料扼要介绍当前国内外及省内或辖区内疫情、与近年同期比较、蚊媒监测结果、重点区域疫情及蚊媒控制情况、部门行动与社会动员及效果分析等。

风险等级识别部分重点说明其风险等级、高风险区域、疫情的可能发展趋势等描述。必要时详细提供高风险区域的疫情和蚊媒监测数据。

风险管理建议部分提出相关部门职责、当前控制措施、公众预警与风险沟通等建议。

第七节 广东省医疗机构登革热病例管理指引

本指引适用于各级各类医疗机构对登革热病例的诊断、报告与病例管理。

一、非流行期病例监测与管理

适用于当地及毗邻地区未出现登革热暴发及流行的情形。

(一) 监测病例定义。

参照国家卫计委《登革热诊疗指南（2014年第2版）》疑似病例的定义：符合登革热临床表现，有流行病学史（发病前14天内到过登革热流行区，或居住地有登革热病例发生），或有白细胞和血小板减少者。

(二) 监测方法。

各级各类医疗机构发现监测病例后，进行疑似病例诊断，并按相关规范进行疫情的网络直报（同时将病例情况通报辖区疾控部门）；做好病例登记（登记内容包括病例基本信息：姓名、性别、年龄、联系电话、现住址，发病情况：发病日期、主要症状，以及流行病学史概况等）；立即采集病例血液标本送检。有登革病毒病原学检测能力的医疗机构应立即对标本进行检测，无相应检测条件的医疗机构应尽快将标本转送至有检测能力的疾控中心开展登革热病原学相关项目检测。

非登革热流行期，登革病毒抗原（NS1）检测结果作为初筛依据，应以登革病毒分离、核酸检测阳性或特异性IgG抗体4倍增长等检测结果为

确诊依据。

(三) 病例管理。

对符合监测病例定义者，建议收治医疗机构对其实施留院观察，并在留院观察期间做好防蚊隔离。

1.如实验室检测结果排除了登革病毒感染，可停止留观，并在“大疫情网”将该病例诊断及时订正。

2.如实验室检测结果确认为登革病毒感染，收治医疗机构应按照《登革热诊疗指南（2014年版）》中有关规定，进行临床诊断病例和实验室诊断病例的订正诊断，并按相关规范进行疫情的网络直报，并将病例转送至指定收治医疗机构进一步隔离治疗。

二、流行期病例监测与管理

情形一：当地或毗邻地区已出现登革热局部暴发疫情。

(一) 监测病例定义。

发热（腋下体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ）且满足以下条件2项及以上，且不能明确诊断为其他疾病者：1、明显疲乏；2、头痛；3、眼眶痛；4、肌肉痛或骨关节痛；5、颜面或胸部皮肤潮红；6、结膜充血；7、皮疹；8、出血症状（皮肤粘膜出血点、鼻衄，牙龈出血，咳血等）；9、白细胞进行性降低或低于 $4.0\times 10^9/\text{L}$ ；10、血小板低于 $100\times 10^9/\text{L}$ 。

(二) 监测方法。

各级各类医疗机构发现监测病例后，做好病例登记（登记内容参见上

述“非流行期病例监测与管理”部分),同时采集病例血液标本送检。有登革病毒病原学检测能力的医疗机构应立即对标本进行检测(同时将病例情况通报辖区疾控部门),无相应检测条件的医疗机构应尽快将标本转送至有检测能力的疾控中心开展登革热病原学相关项目检测。

(三) 病例管理。

对符合监测病例定义者,建议收治医疗机构对其实施留院观察,并在留院观察期间做好防蚊隔离。如监测病例中符合下述“留院观察病例”定义者,必须对病例落实留院观察措施。

1.留院观察病例定义

发热(腋下体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$)伴白细胞 $\leq 4.0 \times 10^9/\text{L}$,同时满足以下条件1项及以上,且不能明确诊断为其他疾病者:①明显疲乏;②较剧烈的头痛;③眼眶痛;④肌肉痛及骨关节痛;⑤颜面或胸部皮肤潮红;⑥结膜充血;⑦皮疹;⑧出血症状(皮肤粘膜出血点、鼻衄,牙龈出血,咳血等);⑨血小板低于 $100 \times 10^9/\text{L}$ 。

2.留院观察病例的处置。

(1) 医院发现符合留院观察病例定义者,均须立即对其落实留院观察落实,并做好防蚊隔离。

(2) 根据留院观察病例实验室检测结果和临床表现,按照原卫生部《登革热诊断标准》(WS216-2008)进行疑似病例、临床诊断病例和实验室诊断病例诊断,并按相关规范进行疫情的网络直报,同时将病例转送至

定点医疗机构进一步隔离治疗。如根据实验室检测结果和临床表现排除了登革病毒感染，可停止留观。

3.对于不符合“留院观察病例”者，但结合实验室检测结果和临床表现仍诊断为登革热确诊病例的，由收治医疗机构转介至病例现住址所在社区卫生服务中心。病例应在社区卫生服务中心医务人员指导下进行居家隔离。社区卫生服务中心应对辖区内所有居家隔离的登革热确诊病例进行登记造册，开展随访，直至痊愈。

情形二：当地已出现登革热流行。

（一）监测病例定义。

依据《登革热诊断标准》（WS216-2008）和《登革热诊疗指南》（2014年第2版）中规定的疑似病例、临床诊断病例和实验室诊断病例定义。

1.疑似病例。

符合下面两项条件之一者：

（1）发病前14天内去过登革热流行区；同时急性起病，发热（24-36h内达39°C-40°C，少数为双峰热），较剧烈的头痛、眼眶痛、全身肌肉疼痛、骨关节痛及明显疲乏等，可伴有面部、颈部、胸部潮红，结膜充血等症状。

（2）急性起病，发热（24-36h内达39°C-40°C，少数为双峰热），较剧烈的头痛、眼眶痛、全身肌肉疼痛、骨关节痛及明显疲乏等，可伴有面部、颈部、胸部潮红，结膜充血等症状；白细胞计数减少，血小板减少（低

于 $100 \times 10^9/L$)。

2.临床诊断病例。

符合下面两项条件之一者：

(1) 符合疑似病例定义，同时居住或工作场所周围（如半径 100m 范围）1 个月内出现过登革热病例，白细胞计数减少，血小板减少（低于 $100 \times 10^9/L$ ）。

(2) 急性起病，发热（24-36h 内达 $39^{\circ}C-40^{\circ}C$ ，少数为双峰热），较剧烈的头痛、眼眶痛、全身肌肉疼痛、骨关节痛及明显疲乏等，可伴有面部、颈部、胸部潮红，结膜充血等症状；白细胞计数减少，血小板减少（低于 $100 \times 10^9/L$ ）；单份血清特异性 IgG 抗体或 IgM 抗体阳性。

3.确诊病例。

临床诊断病例同时具备以下条件之一者：

- (1) 急性期血清检测出 NS1 抗原或病毒核酸；
- (2) 分离出登革病毒；
- (3) 恢复期血清特异性 IgG 抗体滴度呈 4 倍以上升高。

(二) 监测方法。

各级各类医疗机构发现监测病例后，对符合临床诊断病例者，要求采样进行登革热特异性检测，结果为阳性时，应在疫情网络上订正，并在备注中注明检测结果。

(三) 病例管理。

现症病例应住院隔离治疗，住院期间要做好防蚊措施。

特殊情况下，经评估后，可将病例转介至其现住址所在地的社区卫生服务机构，由社区卫生服务机构医务人员指导病例进行居家隔离。社区卫生服务机构应对辖区内所有居家隔离的登革热病例进行登记造册，开展随访，直至痊愈。

三、重症与死亡病例的诊断与管理

（一）重症病例的预警指征。

1.高危人群：二次感染患者；老人或婴幼儿；肥胖或严重营养不良者；孕妇；伴有糖尿病、高血压、冠心病、肝硬化、消化性溃疡、哮喘、慢阻肺、慢性肾功能不全等基础疾病者。

2.临床指征：退热后病情恶化；腹部剧痛；持续呕吐；血浆渗漏表现；嗜睡、烦躁；明显出血倾向；肝肿大 $>2\text{cm}$ ；少尿。

3.实验室指征：血小板快速下降；HCT升高。

（二）重症病例的诊断。

有以下情况之一者：

1.严重出血，包括皮下血肿、呕血、黑便、阴道流血、肉眼血尿、颅内出血等；

2.休克；

3.重要脏器功能障碍或衰竭：肝脏损伤（ALT和/或AST $>1000\text{IU/L}$ ）、ARDS、急性心功能衰竭、急性肾功能衰竭、脑病（脑炎、脑膜脑炎）等。

(三) 重症病例和死亡病例的管理。

1.各地市应指定 2-3 家登革热重症病例定点收治医院。

2.各级各类医疗机构，应密切关注收治的登革热确诊病例病情变化，对符合“重症病例的预警指征”者，应立即转送至重症病例定点收治医院进一步治疗。

3.登革热重症病例定点收治医院，对收治的病例应做好病例登记，每天向当地市级卫生行政部门及疾控中心报告病例病情转归。对于确诊为“重症病例”者应立即向当地市级卫生行政部门及疾控中心报告。

4.各级各类医疗机构对收治的登革热确诊病例中的死亡病例应立即向当地市级卫生行政部门和疾控中心报告，同时按照有关规范进行传染病卡的订正报告。

四、解除防蚊隔离标准

解除防蚊隔离标准：病程超过 5 天，并热退 24 小时以上可解除。

第八节 广东省登革热病例居家隔离社区管理工作指引

为加强登革热传染源管理，做好登革热轻症患者的管理工作，依据《传染病防治法》和《广东省登革热疫情应急预案》，特制订本工作指引。

一、做好登革热轻症病例居家隔离和社区管理工作的目的是尽可能减少传染，同时随访病例病情变化，及时提醒病例复诊，减少重症，降低病死率。

二、原则上，登革热病例应隔离治疗。重症病例及具有重症登革热预警指征的病例应住院隔离治疗；对于尚处于传染期的轻症病例按“自愿”和“知情同意”原则劝谕住院治疗。任何医院应接诊、收治登革热病例，不得拒绝推诿。重症病例及具有重症登革热预警指征的病例应及时转送定点收治医院。接诊医院、收治医院应协助配合疾控部门开展流行病学调查工作。

三、对于轻症病例、拒绝住院治疗的病例，接诊医生应向患者（或其家属、监护人）出具书面的“登革热轻症病例居家隔离指引”，并指导患者做好防蚊灭蚊措施，医嘱有关病情变化和复诊要求。

四、临床医生一旦对患者作出“疑似登革热”、“登革热临床诊断病例”和“登革热实验室诊断病例”，应依法报病，并详细填报病例现住址。

五、县（区）级市疾控中心接到登革热病例报告后，应在接报后 24 小时内完成流行病学调查，并启动疫点处置工作，同时及时将病例信息通报至病例所在社区卫生服务中心。

六、社区卫生服务中心接报辖区内病例后，应立即对病例居家环境进行调查和消杀，对病例进行调查和访视，了解病例发病情况和收治情况。指导病例做好个人防护措施，要求病例家庭做好家居环境防蚊灭蚊措施。

七、社区卫生服务中心专业人员依据病例发病时间，确定病例是否具备传染性。对仍具备传染性的病例，应出具“登革热轻症患者居家隔离通知书”，告知居家隔离注意事项，并由患者（或其家属、监护人）签收。居家隔离通知书应标明相关社区卫生服务中心人员联系方式，便于需要时联络。

八、对于需居家隔离的病例，社区卫生服务中心应每日上门或电话随访，了解病例病情变化，指导隔离和合理膳食，关注病情变化，必要时要求病例复诊。随访期限至病例病程超 5 天且热退后 24 小时。

九、社区卫生服务中心应建立辖区居家隔离病例的随访记录，记录应记载病例每日体温情况、自我隔离情况、是否已配备防蚊设施等。

十、各市、县（区）级卫生行政部门应加强对病例居家隔离工作的监督检查。市、县（区）疾控中心应加强对病例居家隔离工作的指导；卫生监督部门应加强监督执法。

- 附件：1.登革热轻症病例居家隔离指引（医疗机构使用）
2.登革热轻症病例居家隔离告知书（社区卫生服务中心）
3.轻症登革热病例居家隔离治疗一览表

附件 1

登革热轻症患者居家隔离指引

(医疗机构使用)

您好：

您因（发热、皮疹、出血、其他）症状来我院就诊，根据临床表现和检测结果，诊断为“登革热”。登革热病例原则上应住院隔离治疗。由于您未入院隔离治疗，我们建议您在发病期间应居家隔离，避免将病毒传播给他人，有关事项告知如下：

一、我院依法将您的就诊信息、疾病诊断信息报告给疾病预防控制部门，疾控中心或社区卫生服务中心的专业人员会与您取得联系，指导做好居家隔离工作，请保持通讯方式的通畅。

二、患病期间尽量不要外出，在家卧床休息。发热可采用冰敷等物理降温的方式，避免使用阿司匹林、安乃近等药物进行降温，避免引发出血。

三、发热持续 3 天以上未退，出现出血（牙龈出血、便血、咳血等）、持续呕吐、病情加重等表现应尽快复诊。

四、居家隔离期间应多休息，注意营养，清淡饮食、多喝水、食用富含维生素的果汁等，增强身体抵抗力。

五、建议三天复诊。

_____ 医院

联系电话：_____ 日期：_____

附件 2

登革热轻症患者居家隔离告知书

您好：

根据你的就诊记录，你已被诊断为“登革热”病例。由于未入院隔离治疗，我们建议你在发病期间应做好居家隔离，避免将病毒传播给他人，为做好居家隔离健康防护措施。有关事项告知如下：

一、街社区卫生服务中心（卫生院）工作人员每日会与您取得联系，了解您的病情变化，请您配合。如你需要了解有关登革热疾病防治知识，也可致电（医生）或 12320 卫生热线。

二、为了您和家人的健康，请立即做好家居环境的防蚊灭蚊。

（1）采用市售杀虫剂对家居室内外环境进行灭蚊；

（2）及时清理家中的蚊媒孳生地，如水生植物，阳台、天台、房前屋后闲置的积水容器，花盆托盘等；

（3）建议安装防蚊纱门纱窗；睡觉一定要使用蚊帐。

（4）居家期间，请穿长衣长袖，使用“蚊怕水”等蚊虫趋避剂。

二、患病期间尽量不要外出，发热可采用冰敷等物理降温的方式，避免使用阿司匹林、安乃近等药物进行降温，避免引发出血。

三、居家隔离期间应多休息，注意营养，多喝水、食用富含维生素的果汁等，增强身体抵抗力。

四、发热持续 3 天以上未退，出现出血（牙龈出血、便血、咳血等）、

病情加重等表现应尽快到医院就诊。

五、家人应做好防护，使用驱蚊剂，尽量穿长袖长裤，防止蚊虫叮咬，一旦出现发热也请及时到医院就诊。

登革热可通过蚊虫叮咬传播，为了家人、朋友身体健康，也为了登革热疫情得到有效控制，请你配合落实以上措施。

患者签名：

告知人（社区卫生服务中心）：

日期：

