

附件 5:

全国登革热监测方案

(试行)

一、概述

登革热是由 1~4 型登革病毒引起、经伊蚊传播的急性传染病，按照《中华人民共和国传染病防治法》的规定为乙类传染病。亚洲、大洋洲、美洲和非洲均有本病发生，是热带、亚热带地区的一个非常严重的公共卫生问题。

目前，世界上约有 25 亿人受到登革病毒感染的威胁，每年发生登革病毒感染患者超过 1 亿人，并且有 50 万人发展成为登革出血热或登革休克综合征，造成大约 25000 人死亡。在我国，20 世纪初本病就已经传入我国，20 世纪 20 年代和 40 年代曾造成上海、杭州、广州、汉口等地的广泛流行。1978 年 5 月本病在广东省佛山市发生流行，以后的十年中，疫情迅速在广东、广西、海南省流行。20 世纪 80 年代云南边境局部地区曾发生过登革热散发流行，并从白纹伊蚊分离到登革病毒 4 型 (DEN-4)。20 世纪 90 年代以来，本病主要在广东、福建流行，多为小规模流行或散发。1999 年和 2004 年因输入性病例导致福建和浙江等地发生暴发流行，其它省区近年来也常有输入性病例的发生。但是，由于登革热传播迅猛、发病率高，特别是近些年由于人员流动频繁和国际旅游的迅猛发展，使登革病毒的流行范围及其传播媒介埃及伊蚊和白纹伊蚊的分布范围也在相应扩大。登革病毒有四个血清型，在一个地区往往存在不同血清型病毒的交替流行，这更增加了登革出血热和登革休克综合征发生的可能性。登革出血热和登革休克综合征的病死率较高，不仅严重影响人民的身体健康，而且严重影响当地经济、贸易和旅游事业的发展。

监测是预防和控制登革热的重要措施之一，国内应全面开展登革热疫情监测，及时发现本地病例或输入病例；登革热好发地区，应常规开展媒介伊蚊监测。

二、监测目的

- (一) 了解我国登革热的疫情动态、流行规律，及早发现疫情；
- (二) 了解登革热媒介伊蚊种群 (包括孳生和密度变化) 的动态变化及登革病毒携带状况；
- (三) 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。

三、监测病例定义

(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) 诊断标准

1. 流行病学史

生活在登革热流行区或发病前 15 天内去过流行区，有蚊虫叮咬史。

2. 临床表现

2.1 突然发病，畏寒、发热（24~36 小时内可达 39~40℃，部分患者表现为双峰热），伴疲乏、恶心、呕吐等症状；

2.2 伴有较剧烈的头痛、眼眶痛以及肌肉、关节和骨骼痛；

2.3 伴面部、颈部、胸部潮红，结膜出血；

2.4 浅表淋巴结肿大；

2.5 皮疹：于病程 3~7 天出现为多样性皮疹（麻疹样、猩红热样）、皮下出血点等。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；

2.6 少数患者可表现为脑炎样脑病症状和体征；

2.7 有出血倾向（束臂试验阳性），一般在病程 5~8 天出现牙龈出血、鼻衄、消化道出血、皮下出血、咯血、血尿、阴道出血或胸腹腔出血；

2.8 多器官大量出血；

2.9 肝肿大；

2.10 伴有休克。

3. 实验室检查

3.1 末梢血检查：血小板减少（ $\leq 100 \times 10^9/L$ ）。白细胞总数减少，淋巴细胞和单核细胞分类计数相对增多；

3.2 血液浓缩：血细胞容积增加 20% 以上；

3.3 血清特异性 IgG 抗体阳性（见附件 1、2）；

3.4 血清特异性 IgM 抗体阳性（见附件 3）；

3.5 恢复期血清特异性 IgG 抗体比急性期有 4 倍及 4 倍以上增长（见附件 1、2）；

3.6 从急性期病人血清、脑脊液（发病 5 日内）或尸解脏器（脑、肝等）中分离到登革热病毒或检测到病毒序列或检测到病毒抗原（见附件 4、5、6、7）。

4. 病例分类

4.1 登革热疑似病例：具备 1、2.1、2.2 以及 2.3~2.7 之一以上者。

4.2 登革热临床诊断病例：疑似病例加 3.1（登革热流行已确定时）或再加 3.3（出现散发病例或流行尚未确定时）。

4.3 实验室确诊病例：

4.3.1 登革热：临床诊断病例加 3.4、3.5、3.6 中的任何一项。

4.3.2 登革出血热：登革热实验室确诊病例加 2.8、2.9 和 3.2。

4.3.3 登革休克综合征：登革出血热加 2.10。

四、监测内容和方法

（一）全国常规监测

1. 病例的发现和报告

按照《中华人民共和国传染病防治法》和《传染病疫情报告管理规范》，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发现疑似、临床诊断或实验室确诊登革热病例应在诊断后 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立即进行网络直报。

发生输入性病例和暴发疫情时，病例报告同上，暴发疫情报告按《突发公共卫生事件应急预案》进行报告。即责任报告单位发现输入性病例和暴发疫情事件后应在 2 个小时内用电话等方式向属地县级疾病控制机构报告；属地县级疾病控制机构接到报告后，应在 2 小时内向本级卫生行政部门和上级疾病控制机构报告，同时迅速组织流行病学调查与现场处置。

2. 个案调查

根据目前全国登革热疫情流行状况，在没有登革热疫情大规模暴发流行时，各省对所报告的登革热病例和疑似病例全部进行个案调查（个案调查表见附表 1）。

县级疾病预防控制机构于每月 10 日前将上一月个案调查表录入数据库，并逐级上报。省级疾病预防控制中心每月 20 日前将上一月登革热个案调查表数据库上报中国疾病预防控制中心。

发生输入性病例和暴发疫情时，按方案中四（二）5“输入性病例和暴发疫情监测”的要求进行调查。

3. 血清学核实诊断

采集急性期血清，由省级疾控中心采用 ELISA 等方法进行血清学检测（见附件 3），检测登革热 IgM 抗体；或采集病人急性期和恢复期血清，通过双份血清检测抗体，进一步确定诊断（见附件 1、2）。

各省进行血清学核实诊断的病例数至少占所报告病例总数的 10%（不少于 30 例），如果全省病例数低于 30 例，则全部进行检测，并将血清学诊断结果及时录入个案调查表数据库。

血清标本应在各个疫点采集。发生输入性病例和暴发疫情时，首发病例及首例临床诊断病例必须采集。

4. 病原学监测

采集急性期患者血清（发病 5 日内）进行病原学监测。

所有病例血清的采集都要考虑其流行病学意义，即在各个疫点采集，而且在发生输入性病例和暴发疫情时，首发病例及首例临床诊断病例必须进行病原学检测。

（1）核酸检测

各省采集不少于 15 例急性期患者血清，应用 RT-PCR 分型方法检测病毒核酸（见附件 7），如果病例数少于 15 例，则全部进行核酸检测（不包括监测点）。

（2）病毒分离

有条件的省疾病预防控制中心（以下称省疾控中心）每年可从病人血清和蚊标本中分离登革病毒，并将所分离的病毒送中国疾病预防控制中心（以下称中国疾控中心）。（见附件 4、5、6）

（3）序列测定

各省每年在 PCR 阳性的标本和当年分离的登革病毒中，应用 RT-PCR 的方法扩增 preM/E 基因并进行核苷酸序列测定，并将检测结果上报中国疾控中心。不具备序列测定条件的省份可将标本送中国疾控中心进行序列测定（参照附件 7）。

（4）结果的报告和反馈

省级疾病预防控制中心每年 7 月 15 日和次年 1 月 15 日将病原学监测结果表（包括核酸检测、病毒分离、序列测定）报中国疾病预防控制中心（见附表 8）。

中国疾病预防控制中心收到各省所送标本后，两个月内将检测结果反馈给各省级疾病预防控制中心。

5. 输入性病例和暴发疫情监测

(1) 定义

①输入性病例：发病前 15 天到过有登革热流行的国家或我国的台湾省，有蚊虫叮咬史；或登革热病人急性期血清的阳性 PCR 产物或分离到的病毒经序列测定，其 preM/E 序列与到过的国家或地区的相同序列高度同源。

②暴发疫情：一个最长潜伏期（15 天）内，在人口相对集中的地点（例如一个社区、居委会、学校、村庄等），发生 3 例或以上登革热病例的。暴发疫情可分为两种，一种是首发病例明确为输入性病例所引起的暴发疫情；另一种是首发病例明确为本地感染病例，或不能明确其感染来源的病例引起的暴发疫情。

(2) 输入性病例和暴发疫情的报告

同全国常规监测疫情报告。

(3) 输入性病例和暴发疫情的调查与核实诊断

①个案调查

根据暴发疫情的规模，对首发病例、首例临床诊断病例及其他病例进行调查；如果出现大规模暴发流行时，首发病例、首例临床诊断病例以外的其他病例以一览表的形式（见附表 2）进行调查。

②收集临床资料

采集病人的急性期血清，参照常规监测的血清学核实诊断和病原学检测进行。

③根据流行病学调查内容、临床资料和血清学检测结果进行核实诊断。

(4) 媒介调查

有媒介伊蚊分布或媒介伊蚊分布本底不清的，按照监测点媒介监测的内容进行。

(5) 自然因素和社会因素调查

①自然因素：自然地理资料（包括人口、地形、地貌、河流、植被、海拔、气温、降雨量、土壤等）、既往登革热流行情况；

②社会因素：人员流动情况、供水及储藏情况。

(6) 流行病学分析

重点统计罹患率，分析“三间”分布，提出可能的传染源、传播媒介，分析暴发或流行原因。

(7) 疫情控制措施

根据“三间”分布、流行特征、可能的传播因素实施疫情控制措施，包括现

患的隔离治疗、密切接触者的医学观察；开展主动疫情监测；加强宣传教育，提高居民防蚊灭蚊意识；翻盆倒罐，清除积水，及其他消毒、灭蚊的工作。

（8）分析总结

最后应对暴发或流行的原因、传播方式、流行特点、流行趋势、措施评价及经验教训等进行总结。

（二）监测点的监测

以县为单位，建立国家级监测点，开展人间疫情和媒介伊蚊监测。

1. 国家级监测点选择原则

（1）有主要媒介埃及伊蚊和白纹伊蚊分布，曾发生过登革热流行，或从伊蚊体内分离到登革病毒的地区；

（2）监测点具有一定的登革热工作基础，能够积极配合完成监测任务；

（3）各省可结合原有监测点进行选择；

（4）国家根据疫情变化情况，将适时调整监测点。

根据国家级监测点选择原则，将国家级监测点设置如下（共 5 省 16 个监测点）：

广东（4）：广州市（海珠区）、汕头市（金平区）、中山市（该市无县区）、湛江（徐闻县）；

福建（3）：福州市（台江区）、福州市（连江县）、泉州市（石狮市）；

云南（3）：红河州（河口县）、西双版纳州（勐海县）、德宏州（陇川县）；

广西（3）：北海市（市辖区）、北海市（合浦县）、钦州市（市辖区）；

海南（3）：儋州市、陵水县、临高县。

2. 人间疫情监测

（1）疫情报告

同全国常规监测的疫情报告。

（2）个案调查

同全国常规监测的个案调查。

（3）血清学诊断

采集全部临床诊断和疑似病例急性期血清，由省级疾控中心或有条件的市疾控中心采用 ELISA 等方法进行血清学检测（见附件 3），检测登革热 IgM 抗体；采集病人急性期和恢复期血清，通过双份血清监测抗体，进一步确定诊断（见附件 1、2）。并将血清学诊断结果立即录入个案调查表数据库。

(4) 病原学监测

各监测点采集急性期患者血清（发病 5 日内），并送省疾控中心进行病原学检测。所有病例血清的采集都要考虑其流行病学意义。

1) 核酸检测

各监测点采集不少于 30 例急性期患者血清应用 RT-PCR 分型方法检测病毒核酸（见附件 7），如果病例数少于 30 例，则全部进行核酸检测。

2) 病毒分离

流行季节的高峰期（6~10 月份），每月在医院门诊对临床诊断和疑似登革热病人，采集发病 5 日内静脉血 3ml，分离血清，-20℃短期保存，尽快分离病毒。（见附件 4、5、6）

有条件的省疾控中心每年从病人血清中分离登革病毒，并送中国疾控中心进一步鉴定。

3) 序列测定

各省每年在 PCR 阳性的标本中，应用 RT-PCR 的方法扩增 preM/E 并进行测序，测序数量不少于 15 株；所分离的病毒全部测序（参照附件 7）。不具备序列测定条件的省可将标本送中国疾控中心进行序列测定。

4) 结果的报告和反馈

省级疾病预防控制中心每年 7 月 15 日和次年 1 月 15 日将病原学监测结果表（包括核酸检测、病毒分离、序列测定）报中国疾病预防控制中心（见附表 8）。

中国疾病预防控制中心收到各省所送标本后，两个月内将检测结果反馈给各省级疾病预防控制中心。

(5) 人群抗体水平调查

在流行季节的前、后期随机抽取正常人群（注意各年龄组均衡的原则）血清各 100 份，-20℃保存，用 IFA 或 ELISA 法及时进行登革热血清学检测（见附件 1、2），以了解当地人群抗体水平，分析流行趋势。具备条件的省份可以对阳性血清进行进一步分型，中国疾控中心将抽取部分阳性血清标本进行分型。

3. 媒介监测

采用定时、定点、定人调查法，同时也可进行流动监测，对登革病毒的主要传播媒介白蚊伊蚊、埃及伊蚊的分布、种群、孳生环境、伊蚊幼虫指数和成蚊密度及带病毒情况进行监测（见附表 3、4、5、6）。

登革热高峰季节 6~10 月份开展监测，每月一次，有条件的省（区）可全年

进行监测。

(1) 伊蚊幼虫密度和成蚊种群、密度监测

①伊蚊幼虫密度监测

在辖区媒介伊蚊初步普查的基础上，在两个有一定距离的乡镇，各选一个有一百幢房屋以上，登革媒介幼虫密度处于中高水平（BI 在 40 以上）的村庄或居委会作为监测点，开展伊蚊幼虫密度监测。每点随机抽样调查 50 户。

统计指标为：布雷图指数（BI）、房屋指数（HI）、容器指数（CI）、千人指数。

②阳性容器调查

最好分类。按性质分为室内、室外，按性质分为永久性（如水缸、水池等）、暂时性（如花瓶、轮胎、废弃瓶罐等）容器，可分别统计计算指数，便于指导清除伊蚊孳生地工作，观察评价措施的针对性、有效性。

③统计指标计算

· 布雷图指数（BI）

$$\frac{\text{伊蚊幼虫或蛹阳性容器数}}{\text{检查房屋数}} \times 100$$

· 房屋指数（HI）

$$\frac{\text{伊蚊幼虫或蛹阳性房屋数}}{\text{检查房屋数}} \times 100$$

· 容器指数（CI）

$$\frac{\text{伊蚊幼虫或蛹阳性容器数}}{\text{检查容器数}} \times 100$$

· 千人指数

$$\frac{\text{伊蚊幼虫或蛹阳性容器数}}{\text{检查房屋内人数}} \times 1000$$

④成蚊的种群和密度调查

成蚊监测点的选择原则同幼虫，也可于幼虫监测点开展。蚊媒监测于每月中旬，选择天气晴朗的日子开展调查，成蚊调查的时间在 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。

白纹伊蚊可用人工捕蚊法进行捕捉，在房前屋后及村寨周围选择东、南、西、北、中 5 个捕蚊点，每点 12 分钟。统计其人工小时捕捉的伊蚊成蚊数。

(2) 病原学监测

1) 核酸检测

各监测点在流行季节捕获伊蚊成蚊，10~20 只为一份，每月检测 20 份，由省级疾控中心用 RT-PCR 的方法进行核酸检测（见附件 7）。

2) 病毒分离

对 RT-PCR 阳性的标本进行病毒分离，并将分离的病毒株送中国疾控中心进一步鉴定（见附件 4、5、6）。

3) 序列测定

各省每年在 PCR 阳性的标本和所分离的病毒中，应用 RT-PCR 的方法扩增 preM/E 并进行测序。不具备序列测定条件的省可将标本送中国疾控中心进行序列测定（参照附件 7）。

4) 结果的报告和反馈

省级疾病预防控制中心每年 7 月 15 日和次年 1 月 15 日将病原学监测结果表（包括核酸检测、病毒分离、序列测定）报中国疾病预防控制中心（见附表 8）。

中国疾病预防控制中心收到各省所送标本后，两个月内将检测结果反馈给各省级疾病预防控制中心。

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组成。其职责分别是：

(一) 卫生部和各级卫生行政部门

卫生部领导全国登革热监测工作，各级卫生行政部门负责组织开展本辖区内登革热的监测工作，并提供所需监测经费，保证监测工作的顺利开展。

(二) 中国疾病预防控制中心

1. 组织全国监测方案的起草、论证、修改、调整和完善，为全国登革热监测提供技术指导。

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

3. 组织对全国省级疾控中心和国家级监测点的专业技术人员的培训。

4. 设计监测数据的收集流程、方式，负责全国监测数据的收集、整理，定期

对监测系统的全部数据进行分析、反馈。每年对全国登革热监测系统进行年度工作总结。

5. 为各省疾控中心和国家级监测点推荐相应的血清学诊断、检测试剂。
6. 对各省疾控中心 RT-PCR 检测阳性标本和分离的病毒进行深入鉴定。
7. 组织专家定期对全国登革热监测系统进行督导、评价。
8. 组织召开全国登革热监测年度工作总结研讨会。

（三）省级疾病预防控制中心

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

2. 负责本省监测专业技术人员培训工作；

3. 指导下级暴发疫情事件调查，参与新发疫点或规模较大的暴发疫情事件调查与处置。

4. 对监测点采集的各种标本进行病例核实诊断、血清学检测、病原学检测；并按时上报和反馈结果。

5. 对全省常规监测、监测点监测资料进行汇总、分析，以简报形式上报与反馈有关部门。

6. 承担本省国家级监测点的管理、质量控制，参与国家 CDC 对国家级监测点的监测工作检查、考核。

（四）市级疾病预防控制中心

1. 本市登革热疫情汇总、分析及哨点监测工作的具体实施；

2. 对本市暴发疫情进行调查处理；

3. 协助省疾控中心完成本地区监测点的监测任务和管理、业务指导；参与本地区监测点的监测工作。

（五）县级疾病预防控制中心

1. 对报告的登革热疑似病例、临床诊断病例进行个案调查及时组织流行病学调查，编制调查报告。

2. 负责登革热疑似病例、临床诊断病例标本的采集、运送工作。

3. 负责常规监测资料的收集、汇总、分析，按时上报。

4. 开展蚊媒监测，负责各种蚊媒标本的采集、运送工作。

（六）监测点所在地医疗机构

应按照《中华人民共和国传染病防治法》的规定报告病例，隔离治疗病人，

协助各级疾控机构进行个案调查、采集标本、填写疑似登革热病人检材送检一览表和疑似登革热病例送检表等（见附表 7、9）

六、数据收集、分析、反馈

（一）数据收集内容

1. 疫情报告卡
2. 个案调查表（附表 1）、登革热病例调查一览表/登革热发病情况入户调查登记表（附表 2）
3. 媒介伊蚊监测孳生地调查登记表及统计报表、伊蚊成蚊密度调查表（附表 3、4、5）
4. 疑似登革热病例送检表、疑似登革热病人检材送检登记表、病原学检测结果一览表、媒介伊蚊登革病毒分离送检登记表（附表 6、7、8、9）

（5）实验室检测记录

（二）统计分析指标

1. 发病数（例）、死亡数（例）、发病率（/10 万）、病死率（%）和死亡率（/10 万）；
2. 逐月发病数、死亡数；病人年龄、性别、职业分布；
3. 蚊虫名录、分布、密度、带毒情况；
4. 病毒分离及基因变异情况。

（三）定期报告、反馈资料

1. 发现登革热或疑似登革热疫情后，必须按照乙类传染病的规定及时进行网上直报。疫情证实后，应通报相邻有关市县（区）乡镇，并向其它相关部门通报相关情况。

2. 县级疾病预防控制中心每月 10 日前将前一个月登革热的个案调查表录入数据库，并逐级汇总上报。各级省疾控中心每月 20 日前上报中国疾控中心（个案调查表见附表 1）。

3. 血清学试验应及时进行，并将血清学诊断结果立即录入个案调查表数据库。由省、市级疾控中心进行的血清学实验应及时将结果反馈给标本送检单位，以便及时录入个案调查表数据库。

4. 各监测点伊蚊幼虫及成蚊密度调查结果于下月 10 日前报中国疾控中心。（见附表 3、4、5）

5. 省级疾病预防控制中心每年 7 月 15 日和次年 1 月 15 日将病原学监测结

果（包括核酸检测、病毒分离、序列测定）报中国疾病预防控制中心（见附表 6、7、8）。

中国疾病预防控制中心收到各省所送标本后，两个月内将检测结果反馈给省级疾病预防控制中心。

6. 中国疾控中心每月以简报形式反馈监测工作。

七、监测系统的质量控制

（一）人员培训

每年对国家级监测点所在县有关业务人员进行 1 次培训，由中国疾病预防控制中心负责指导、各国家级监测点所在省疾病预防控制中心具体实施。

（二）所采用的实验室方法，试剂应统一标准，由中国疾控中心推荐；

（三）病例的核实工作

省疾控中心负责对监测点所报病例按至少 30% 进行抽样核实，抽样合格率不低于 90%；

（四）血清学试验的核实工作

省病控中心应对监测点所在县进行的血清学试验按至少 30% 进行抽样检查，抽样合格率不低于 90%；

（五）病原学试验的核实工作

中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所对所分离的登革病毒及分型工作进行核实，抽样不低于 30%，抽样合格率不低于 90%。

（六）报告的及时性、核实诊断的及时性。

（七）技术资料档案管理，原始记录，总结等。

八、附件

附表 1 登革热（登革出血热）个案调查表

附表 2 登革热病例调查一览表/登革热发病情况入户调查登记表

附表 3 登革热媒介伊蚊监测孳生地调查登记表

附表 4 登革热媒介伊蚊成蚊密度调查表

附表 5 登革热媒介伊蚊成蚊密度调查表

附表 6 媒介伊蚊登革病毒分离送检登记表

附表 7 疑似登革热病人检材送检一览表

附表 8 病原学检测结果一览表

- 附表 9 疑似登革热病例送检表（临床）
- 附件 1 免疫荧光法（IFA）检测 IgG 抗体
- 附件 2 酶联免疫吸附试验（ELISA）检测单份和/或双份血清 IgG 抗体
- 附件 3 IgM 捕捉 ELISA 法（MacELISA）检测登革热 IgM 抗体
- 附件 4 C 6/36（或 BHK21）细胞分离登革热病毒
- 附件 5 乳鼠分离登革热病毒
- 附件 6 免疫荧光法检测 DV 抗原
- 附件 7 RT-PCR 检测 DV 基因及分型

附表 1

登革热（登革出血热）个案调查表

县（市）名称：_____ 国标码：□□□□□□ 病例编号：□□□□□□

一、基本情况

1. 患者姓名：_____（如患者年龄<14岁，则家长姓名：_____）
2. 性别： 1 男, 2 女
3. 年龄：_____岁
4. 民族：1 汉族, 2 壮族, 3 维吾尔族, 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. 所在单位：_____；联系电话：_____
7. 家庭住址：_____省（自治区/直辖市）_____县（市区）_____乡（镇/居委会）_____村（街道）

二、发病情况

1. 发病日期：_____年_____月_____日 //
2. 就诊日期：_____年_____月_____日 //
3. 发病地点：_____
4. 住院医院：_____
5. 住院号：_____
6. 住院日期：_____年_____月_____日 //
7. 出院日期：_____年_____月_____日 //
8. 入院诊断：
- 1 登革热疑似病例, 2 临床诊断病例, 3 实验室确诊病例, 4 其他_____
9. 临床诊断日期：_____年_____月_____日 //
10. 出院诊断：
- 1 登革热疑似病例, 2 临床诊断病例, 3 实验室确诊病例, 4 其他_____
11. 临床分型：1 典型, 2 轻型, 3 重型, 4 其他
12. 转归：1 痊愈, 2 好转, 3 死亡（日期：_____年_____月_____日）

三、症状和体征及一般实验室检查

1. 起病急：1 是, 0 否
2. 乏力：1 有, 0 无

3. 发热： 1 有， 0 无
- 如有，则热型为：1 双峰热，2 稽留热，3 弛张热，4 其他
4. 头痛： 1 有， 0 无
5. 颜面潮红： 1 有， 0 无
6. 眶后痛：1 有， 0 无
7. 肌痛： 1 有， 0 无
8. 关节痛： 1 有， 2 无
9. 胸红： 1 有， 0 无
10. 结膜出血：1 有， 2 无
11. 鼻衄： 1 有， 2 无
12. 牙龈出血： 1 有， 2 无
13. 呕血： 1 有， 2 无
14. 便血： 1 有， 2 无
15. 血尿： 1 有， 2 无
16. 呕吐： 1 有， 2 无
17. 结膜充血：1 有， 2 无
18. 眼睑浮肿：1 有， 2 无
19. 黄疸： 1 有， 2 无
20. 皮肤出血点：1 有， 2 无
- 如有，则出血点为：1 散在，2 条/线状，3 簇状，4 其它_____
21. 皮疹：1 有， 2 无
- 如有，则皮疹为：1 斑丘疹、，2 麻疹样皮疹条/线状，3 猩红热样皮疹簇状，4 红斑疹，
 5 其它_____
- 皮疹部位：1 全身，2 四肢，3 躯干，4 面部
22. 烦躁： 1 有， 2 无
23. 昏迷： 1 有， 2 无
24. 休克： 1 有， 2 无
25. 肝大： 1 有， 2 无
26. 脾大： 1 有， 2 无
27. 淋巴结大：1 有， 2 无
28. 束臂试验： 1 阳性，2 阴性，3 未做此项检查，4 不详
29. 白细胞计数：1 正常，2 增多，3 减少，4 未做此项检查
30. 中性粒细胞(%)：
31. 淋巴细胞(%)：

32. 血小板减少: 1 有, 2 无, 3 未做此项检查
33. 红细胞压积:
34. 出血时间: 1 正常, 2 延长, 3 缩短, 4 未做此项检查, 5 不详
35. 凝血时间: 1 正常, 2 延长, 3 缩短, 4 未做此项检查, 5 不详
36. 脑脊液: 1 正常, 2 异常, 3 未做此项检查
37. 尿常规: 1 正常, 2 异常, 3 未做此项检查
38. 肝功能: 1 正常, 2 异常, 3 未做此项检查

四、血清学及病原学检测结果 (未做者请注明为“未做”)

项目		标本采集时间	检测方法	检测结果
登革抗体	IgG			
	IgM			
登革病毒分离				
登革病毒抗原				

五、病例分类

1. 是否首例: 1 是, 2 否
2. 病例类别: 1 输入性病例, 2 本地病例, 3 不明感染原因病例
3. 病例分类: 1 疑似病例, 2, 临床诊断病例, 3 实验室诊断病例

六、既往史

1. 过去身体是否健康: 1 是, 2 否
2. 既往是否患过登革热或“乙脑”: 1 是, 2 否
3. 乙脑疫苗接种: 1 是, 2 否

七、接触史及有关因素调查

1. 发病前 2 周内是否有外出 (或旅游) 史: 1 是, 2 否
- 如是, 到何地: _____; 外出时间: _____天
- 返回时间: _____年____月____日
2. 发病后到过何处: _____; 停留时间: _____天
3. 病家及院内人口:
- 3.1 0~4 岁_____人
- 3.2 5~9 岁_____人
- 3.3 10~19 岁_____人
- 3.4 20~29 岁_____人

- 3.5 30~39 岁 _____人
- 3.6 40~49 岁 _____人
- 3.7 50~59 岁 _____人
- 3.8 60 岁及以上 _____人
4. 有无家庭其他成员出现过类似症状：1 有，0 无，9 不详
- 如有，最近一例发病时间（患者除外）： ____年 ____月 ____日 //
5. 发病处院内或周围环境：
- 5.1 积水容器数： _____个
- 5.2 阳性容器数： _____个
- 5.3 积水容器类型： 1 花瓶，2 瓦盆，3 铁罐，4 碗碟缸 5 池塘，6 树洞，7 竹桩，8 假山，9 盆景，10 其它 _____
6. 防蚊设备： 1 蚊帐，2 蚊香，3 纱门，4 灭蚊剂，5 其它： _____

（病例编号填写说明：年号（两位数）、流水号（后边三位））

调查日期： _____年 ____月 ____日

调查地点： _____

调查者： _____

附表 3

登革热媒介伊蚊监测孳生地调查登记表

监测点名称: _____

监测点编号: □□□□□□

调查时间: ____年__月__日

□□□□/□□/□□

户编号	门牌	永久性积水容器						暂时性容器		合计容器		伊蚊蚊种鉴定	备注
		水池缸		其它		小计		数	+	数	+		
		数	+	数	+	数	+						

注: 1. “+”指有伊蚊幼虫孳生的容器数

2. 调查时天气情况: 气温: _____℃, 最高_____℃, 最低_____℃ 晴 雨 阴

湿度: _____

填表日期: _____年__月__日, 调查地点: ____省__市__县__乡__村

调查单位: _____, 调查者: _____

附表 4

登革热媒介伊蚊监测孳生地调查统计报表

监测点名称: _____

监测点编号: □□□□□□

调查时间: ____年____月____日

□□□□/□□/□□

月	旬	调查地点	调查户数	阳性户数	永久性容器		暂时性容器		合计容器		蚊幼指数			
					数	+	数	+	数	+	BI	CI	HI	千人指数

注: 1. “+”指有伊蚊幼虫孳生的容器数

2. BI (布雷图指数) = 合计阳性容器数/调查户数 × 100

CI (容器指数) = 合计阳性容器数/合计容器数 × 100

HI (房屋指数) = 阳性户数/调查户数 × 100

千人指数 = 伊蚊幼虫或蛹阳性容器数/检查房屋内人数 × 1000

填表日期: _____年____月____日 调查单位 (盖章): _____; 填表人: _____

附表 8

病原学检测结果一览表

监测点名称：_____

国标码：□□□□□□

标本编号	标本类型	采集日期	采集人	检测结果			型别	检测日期	检测人
				核酸检测	病毒分离	序列测定			

注：对于核酸检测中的序列测定，报送结果中应包括原始测序彩图文件和序列文件的电子版拷贝。

填表时间：_____年__月__日 单位（盖章）：_____； 填表人：_____

附表 9

疑似登革热病例送检表（临床）

送检单编号：_____

疑似登革热病例送检单	
送检或住院号：_____	检验室编号：_____
姓名：_____	性别：_____ 年龄：_____
地址：_____	
入院日期：_____	发病日期：_____
临床诊断：_____	
入院主诉：_____	
临床表现：	
1. 发热：_____℃（最高）持续：_____天	
2. 头痛：（1）有；（2）无	
3. 关节、肌肉痛：（1）有；（2）无	
4. 束臂试验：_____，皮肤淤点：_____ 鼻衄：_____ 呕血：_____ 其它出血： _____	
5. 血压：_____kPa	
6. 脉搏：_____/分钟	
流行病学史：	
临床化验：	
血小板：_____×10 ⁹ （起病后第_____天）	
红细胞压积：_____	
血标本：	
采血日期：_____（1）入院时 （2）出院时 （3）恢复期	
检测项目：（1）登革热病毒分离 （2）登革热抗体检测	
送检医师：_____ 单位：_____	
送检日期：_____	

注：标本管上必须注明相应的姓名、送检编号或住院号。

免疫荧光法 (IFA) 检测 IgG 抗体

试验材料:

- (1) DV1~4 型抗原片: DV 标准毒株感染 C6/36 或 BHK21 细胞制备, 低温干燥保存;
- (2) 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);
- (3) 羊抗人 (或兔抗人) IgG 荧光素标记抗体;
- (4) 常用稀释液: pH7.2~7.4PBS、伊文思兰等;
- (5) 荧光显微镜。

检测步骤:

- (1) 用 pH7.4, 0.02mol/L PBS 稀释待检血清, 从 1:20 开始做 4 倍连续稀释至需要的稀释度。
- (2) 取出抗原片, 用蒸馏水漂洗后, 冷风吹干。
- (3) 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℃ 水浴箱湿盒孵育 30 分钟 (每次试验设阳、阴性对照)。
- (4) 用 PBS 震荡洗涤 3 次, 每次 5 分钟, 再用蒸馏水洗涤 1 次脱盐, 冷风吹干。
- (5) 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℃ 水浴箱湿盒孵育 30 分钟, 然后同 (4) 洗涤、漂洗、吹干。
- (6) 荧光显微镜观察结果。

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 “+”。

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。

意义:

阳性结果, 表明曾受到 DV 感染, >1: 80 有诊断参考意义;

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 2 酶联免疫吸附试验（ELISA）检测单份和/或
双份血清 IgG 抗体

试验材料：

(1) 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。

(2) 辣根过氧化物酶标记的抗人 IgG 抗体；

(3) 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）；

(4) 显色液：A/B 液

(5) 终止液：4N H₂SO₄

(6) 酶标板、酶标仪。

检测步骤：

(1) 用包被液按工作浓度稀释抗原，100 μl/孔，4℃过夜；

(2) 弃去包被液，用 PBS-T 重复洗涤 3~5 次，甩干；

(3) 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 μl/孔，同时设阴、阳性对照，37℃水浴 1 小时；

(4) 弃去血清，用洗涤液洗涤 5~6 次；

(5) 加酶结合物，用稀释液按工作浓度稀释，100 μl/孔，37℃水浴 1 小时；

(6) 弃去酶标抗体，用洗涤液洗涤 6 次，甩干；

(7) 加显色液：于各反应孔内加 A/B 液各一滴，37℃，避光 3~5 分钟；

(8) 加终止液于每反应孔，100 μl/孔。

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 \geq 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）

意义:

阳性结果, 表明曾受到 DV 感染, >1: 100 有诊断参考意义;

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

试验材料:

(1) 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。

(2) 抗人 IgM (μ 链) 单克隆抗体或多克隆抗体;

(3) 登革病毒 IgM 阳性、阴性对照血清;

(4) 辣根过氧化物酶标记登革病毒单克隆抗体;

(5) 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);

(6) 显色液: A/B 液

(7) 终止液: 4N H_2SO_4

(8) 酶标板、酶标仪。

检测步骤:

(1) 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;

(2) 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;

(3) 弃封闭液, 用洗涤液重复洗 3 次, 甩干。

(4) 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;

(5) 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;

(6) 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;

(7) 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℃，避光 3~5 分钟；

(8) 加终止液于每反应孔，一滴/孔。

结果判断：

(1) 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。

(2) 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）

意义：

阳性结果，表明患者新近 DV 感染，用于登革热早期诊断。

标本:

(1) 患者血清: 无菌采集发病后 5 日内登革患者静脉血 3ml, 分离血清, 接种细胞培养; 不能及时接种细胞者可置 -70°C 保存。污染的血清要加双抗(青霉素、链霉素, 终浓度各 1000U/ml), 4°C 2 小时处理后接种细胞。

(2) 尸检材料: 脑、肝等。

(3) 蚊: 采集吸过血的伊蚊或其它可疑媒介蚊, 用 0.5mol/L (10%) 葡萄糖液喂养, 至胃血完全消化后置 -70°C 保存, 死后按蚊种及捕获地点分组, 5~10 只/组, 生理盐水冲洗数次后, 用研磨器研碎, 每组加 0.5ml Hank' s 液, 2000 转/分钟离心 15 分钟, 取上清加双抗(青霉素、链霉素, 终浓度各 1000U/ml), 4°C 过夜, 备用。

病毒分离:

将培养好的单层细胞上清弃掉, 用 Hank' s 液洗涤 2 遍, 接种用 Hank' s 液稀释成 10^{-1} 的患者血清 0.1ml 或组织悬液或蚊悬液 0.2ml。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, C6/36 细胞在 28°C 培养, BHK21 细胞在 37°C 培养。第二天开始观察细胞病变情况。一般 BHK21 细胞 4 天左右出现病变, C6/36 细胞需要在 28°C 培养 7 天。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。按附件 6 进行鉴定。

标本：

同附件 4。

病毒分离：

(1) 每一检材接种一窝 1~2 日龄乳鼠，脑内接种 0.01ml/只。接种后 48 小时内死亡者按非特异性死亡处理，弃去。

(2) 存活者观察 10 天，若仍未发病，则解剖其中 2 只，取脑，用 pH8.0 肉汤制成 10% 悬液，盲传一窝 1~2 日龄乳鼠，存活鼠和盲传鼠均观察到第 4 周，未发病为阴性结果；

(3) 在观察期内发病（活动力降低、站立不稳、肢体抽搐、不全麻痹等症状）者，解剖，取半边脑，按盲传法制成 10% 悬液，接种一窝 1~2 日龄乳鼠，并作无菌试验；另半边脑置 5.43mol/L (50%) 甘油缓冲液中低温保存。无菌试验阴性而重复以上症状者作为可以毒种传代、保存，并按附件 6 进行鉴定。

免疫荧光法检测 DV 抗原

材料:

(1) 细胞抗原片的制备:

出现“++”细胞病变的 C6/36 细胞或 BHK21 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，2000 转/分钟离心 5 分钟，弃去 PBS，沉渣用 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，-20℃保存备用；

(2) 脑、肝组织片：冷冻切片机切片，吹干，冷丙酮固定 10 分钟，PBS 冲洗 2 次，蒸馏水漂洗 1 次，吹干，-20℃保存备用；

(3) 荧光标记单克隆抗体；

(4) 荧光显微镜。

方法:

(1) 制备的抗原片或组织片，吹干，按顺序滴加 4 个型的荧光标记单克隆抗体，2 孔/型，对照 2 孔（加 PBS），置湿盒内 37℃水浴 30 分钟；

(2) 取出，用 PBS 冲洗 3 次，蒸馏水漂洗 1 次，吹干；

(3) 荧光显微镜观察结果。

结果判断:

特异性免疫荧光呈黄绿色颗粒，分布在胞浆中，正常组织细胞呈橙红色或暗红。

意义:

从病人血清、组织或蚊媒中分离出 DV 或查到抗原，可确诊 DV 感染和病毒型别。

材料:

- (1) 附件 6 和分离的 DV
 (2) 引物: (供参考)

引物	序列 (5' ~3')	靶序列 (基因)	片段 (bp)
1~4 通用引物	+)GTGCACACATTGACAGAACA —)CTTTCTATCCAATAACCCAT	NS1	539
型特异性引物			
DEN-1	+)GGACTGCGTATGGAGTTTTG —)ATGGGTTGTGGCCTAATCAG	E-NS1	490
DEN-2	+)GTTCTCTGCAAACACTCCA —)GTGTTATTTTGAGTTTCCTTG	E	230
DEN-3	+)GTGCTTACACAGCCCTGTTT —)TCCATTCTCCCAATCTCCTG	E-NS1	320
DEN-4	+)CCATTATGGCTGTGTTGTTT —)CTTCATCCTGCTTCACTTCT	NS _{2a} -NS _{2b}	398

方法:

- (1) 病毒 RNA 的提取: 采用 TRIzol 按说明提取, 制备模板 RNA;
 (2) 逆转录、合成 cDNA: 采用 SuperScrip™II 或 AMV 逆转录酶, 按说明书进行;
 (3) PCR 扩增: 反应条件为 95℃ 预变性 10 分钟, 94℃ 60 秒、55℃ 60 秒、72℃ 45 秒、扩增 30~35 个循环, 72℃ 延伸 12 分钟。
 (4) 扩增产物用 1~2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定。若条带的分子量与预期片段大小相同, 则表明为特异性扩增产物。

必要时, 可进行:

- (5) PCR 片段的回收和核苷酸序列测定: 切下特异分子量条带, 用 QIAquick 凝胶回收试剂盒回收 (按其说明书进行), 自动测序仪测序。

意义:

扩增到特异性条带可确诊 DV 并明确其型别, 序列测定还可以对 DV 的变异情况进行研究。