附件 1

登革热实验室检测方案

为指导各级医疗机构、疾控机构和相关实验室检测机构开展登革热实验室检测工作，规范检测程序，提高检测质量，制定本方案。

一、检测对象

登革热疑似病例、临床诊断病例和确诊病例，登革热媒介伊蚊成蚊和幼虫。

二、样本采集、保存和运输

（一）样本采集。

1.病例血清样本。用无菌真空干燥管，采集患者非抗凝血3mL—5mL，及时分离血清，分装 2 份保存于做好标记的、带螺旋盖、内有垫圈的冻存管内。

2.蚊媒样本。采集媒介伊蚊活动高峰期和登革热流行季节的伊蚊成蚊及幼虫，分类鉴定后，填写媒介伊蚊样本采集信息表，按照采集地点分装，每管 10—20 只，低温保存。

（二）样本保存。

24 小时内检测的样本可置于 4℃环境中保存，1 周内检测的样本应置于-20℃环境中保存，需长期使用的样本应置于-70℃或以下环境中保存。

（三）样本运输。

样本运输时应遵守国家相关生物安全规定，采用低温运输，

避免反复冻融。用于开展病原学监测的样本，应于48小时内运送至地市级或省级疾控中心。

三、病例实验室检测

（一）病原学。

1.抗原检测。常用NS1抗原检测，一般发病后5天内血液样本中NS1抗原检出率高，适用于现场快速检测，可用于早期诊断。

2.核酸检测。常采用实时荧光RT-PCR方法进行登革病毒核酸检测，可用于早期诊断和血清分型。

3.病毒培养分离。一般发病后5天内血液样本病毒培养分离率较高，通常将样本接种至蚊源细胞（C6/36）或哺乳动物细胞（BHK21、Vero）中进行分离与培养，待其出现病变特征后，采用抗原或核酸检测手段鉴定病毒种类。

4.基因组序列分析。采用一代Sanger法或扩增子技术进行E基因或全基因组测序，测序技术经质控合格后，方可用于后续生物信息分析。优先选择与登革病毒标准株、基因型明确以及分离日期和地区信息完整的病毒株基因组序列进行比较分析。二代测序平台覆盖深度应不低于10×，三代测序平台覆盖深度应不低于50×，全基因组测序覆盖度应不低于98%。

（二）血清学。

1.特异性IgM抗体。采用ELISA、免疫层析等方法检测，是辅助诊断登革热急性期或近期感染的重要指标。

2.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。

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。

四、蚊媒实验室检测

将分类分装后的媒介伊蚊成蚊或幼虫进行研磨，开展核酸分型检测，病毒核酸阳性的样本可由有能力或资质的地市级或省级疾控中心进行病毒培养分离和基因组序列分析。蚊媒核酸检测、病毒分离培养和基因组序列分析的检测方法同病例检测。

五、复核检测

地市级或省级疾控中心收到各县（市、区）首发病例或不同阶段聚集性疫情首发病例的样本后，需采用病原学或双份样本血清学方法复核检测，病毒核酸阳性样本应开展分型检测。

六、结果报送和反馈

各县（市、区）首例输入病例和本地病例的实验室检测结果应在24小时内反馈样本送检单位。

省级疾控中心应于每月中旬将上月登革热实验室检测与病原学监测结果报送至中国疾控中心。中国疾控中心应于每月底向国家疾控局报送上月检测报告，并向各省级疾控中心发布。

七、生物安全

登革热实验室检测应按照《人间传染的病原微生物目录》规定要求开展，做好生物安全工作。