

中华人民共和国卫生行业标准

WS 215—2001

流行性斑疹伤寒和地方性斑疹伤寒 诊断标准及处理原则

Diagnostic criteria and principles of management
of epidemic and endemic typhus

2001-11-23 发布

2002-05-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

目 次

前言	Ⅲ
1 范围	1
2 诊断原则	1
3 诊断标准	1
4 治疗原则	2
5 预防原则	2
附录 A(标准的附录) 流行性斑疹伤寒和地方性斑疹伤寒血清学诊断方法	4
附录 B(提示的附录) 流行性斑疹伤寒与地方性斑疹伤寒的治疗方法	6
附录 C(标准的附录) 流行性斑疹伤寒的预防方法	6
附录 D(标准的附录) 地方性斑疹伤寒的预防方法	8
附录 E(提示的附录) 流行性斑疹伤寒与地方性斑疹伤寒的病原学诊断	11

前 言

流行性斑疹伤寒(epidemic typhus)和地方性斑疹伤寒(endemic typhus)是由斑疹伤寒群立克次体引起的急性传染病。前者的病原体是普氏立克次体,以衣虱为传播媒介,人是唯一的宿主,主要呈人-虱-人循环,故又称虱传斑疹伤寒(louse borne typhus);后者的病原体是莫氏立克次体,印鼠客蚤为主要传播媒介,鼠是自然宿主,人类因感染蚤的传播而患病,主要呈鼠-鼠蚤-人循环,故又称蚤传斑疹伤寒(flea borne typhus)或鼠型斑疹伤寒。因斑疹伤寒是我国传染病防治法中规定的病种,为了统一诊断和检测方法,特制定本标准。

本标准的附录 A、附录 C 和附录 D 都是标准的附录。

本标准的附录 B、附录 E 都是提示的附录。

本标准由卫生部疾病控制司提出。

本标准起草单位:中国预防医学科学院流行病学及微生物学研究所。

本标准主要起草人:张健之、毕德增。

本标准由卫生部委托卫生部传染病监督管理办公室负责解释。

中华人民共和国卫生行业标准

流行性斑疹伤寒和地方性斑疹伤寒 诊断标准及处理原则

WS 215—2001

Diagnostic criteria and principles of management of epidemic and endemic typhus

根据《中华人民共和国传染病防治法》及《中华人民共和国传染病防治法实施办法》制定本标准。

1 范围

本标准规定了流行性斑疹伤寒和地方性斑疹伤寒的诊断标准及处理原则。

本标准适用于各级各类医疗卫生保健机构,可规范医务人员对流行性斑疹伤寒和地方性斑疹伤寒病人的诊断和治疗。

2 诊断原则

根据流行病学、临床症状、体征及特异性血清学检查结果对流行性斑疹伤寒和地方性斑疹伤寒进行临床诊断,根据立克次体病原学检查结果进行确诊诊断。

3 诊断标准

3.1 流行性斑疹伤寒

3.1.1 流行病学 冬春季发病,有虱感染史。

3.1.2 临床症状 近期出现无其他原因可解释的突发高热并伴有剧烈头痛。

3.1.3 体征 起病4日~7日,80%以上的病人出现皮疹,初为淡红色斑疹或斑丘疹,2 mm~5 mm大小,压之褪色;一周后皮疹变为暗红或紫癜样皮损,压之不褪色,约1周~2周内消退,遗留色素沉着或脱屑。皮疹常初发于躯干上部,24 h内扩展至背腹四肢等处。重症者还出现神志迟钝、谵妄、狂躁或脑膜刺激症状。

3.1.4 实验室诊断

3.1.4.1 血清学诊断

a) 室温微量补体结合试验(CF) 普氏立克次体血清抗体滴度高于莫氏立克次体血清抗体滴度2倍以上且血清抗体滴度达到诊断滴度($\geq 1:8$ 为阳性、 $\geq 1:32$ 为诊断滴度);或恢复期血清抗体滴度高于急性期 ≥ 4 倍;(详见附录A)。

b) 微量间接免疫荧光试验(Micro-IF) 普氏立克次体血清抗体滴度高于莫氏立克次体血清抗体滴度2倍以上且血清抗体滴度达到诊断滴度($\text{IgM} \geq 1:16$ 、 $\text{IgG} \geq 1:80$ 为阳性; $\text{IgM} \geq 1:32$ 、 $\text{IgG} \geq 1:320$ 为诊断滴度);或恢复期血清抗体滴度高于急性期 ≥ 4 倍(详见附录A)。

c) 外斐氏反应(Weil-Felix) 变型杆菌 OX19 血清抗体滴度达到诊断滴度($\geq 1:160$ 为诊断滴度);或恢复期血清抗体滴度高于急性期 ≥ 4 倍(不能区分普氏立克次体和莫氏立克次体)。

3.1.4.2 病原学诊断

从发热期患者采取的血标本中分离出普氏立克次体或从发热期患者采取的血标本中检出普氏立克

次体特异的 DNA 片段(有条件者可作,详见附录 E)。

疑似病例 具备 3.1.1 和 3.1.2。

临床诊断 疑似病例+3.1.3+3.1.4.1 项 a)、b)、a)+c)、b)+c)中任何一项。

确诊诊断 临床诊断+3.1.4.2 项中任何一项。

3.2 地方性斑疹伤寒

3.2.1 流行病学 多于秋冬季发生,但在温带、亚热带地区没有明显的季节性,有家鼠接触史或居住场所有大量家鼠与跳蚤或家有宠物。

3.2.2 临床症状 近期出现无其他原因可解释的突发性持续性发热,有剧烈的头痛。

3.2.3 体征 发热,一般在 38~40℃,呈稽留热或弛张热型,头痛并多伴有眼眶后痛,皮疹较少或不明显,神经系统症状常不明显。

3.2.4 实验室诊断

3.2.4.1 血清学诊断

a) 室温微量补体结合试验(CF) 莫氏立克次体血清抗体滴度高于普氏立克次体血清抗体滴度 2 倍以上且血清抗体滴度达到诊断滴度($\geq 1:8$ 为阳性、 $\geq 1:32$ 为诊断滴度);或恢复期血清抗体滴度高于急性期 ≥ 4 倍(见附录 A)。

b) 微量间接免疫荧光试验(Micro-IF) 莫氏立克次体血清抗体滴度高于普氏立克次体血清抗体滴度 2 倍以上且血清抗体滴度达到诊断滴度($\text{IgM} \geq 1:16$ 、 $\text{IgG} \geq 1:80$ 为阳性; $\text{IgM} \geq 1:32$ 、 $\text{IgG} \geq 1:320$ 为诊断滴度);或恢复期血清抗体滴度高于急性期 ≥ 4 倍(见附录 A)。

c) 外斐氏反应(Weil-Felix) 变形杆菌 OX19 血清抗体滴度达到诊断滴度($\geq 1:160$ 为诊断滴度);或恢复期血清抗体滴度高于急性期 ≥ 4 倍(不能区分普氏立克次体和莫氏立克次体)。

3.2.4.2 病原学诊断

从发热期患者采取的血标本中分离出莫氏立克次体或从发热期患者采取的血标本中检出莫氏立克次体特异的 DNA 片段(有条件者可作,见附录 E)。

疑似病例 具备 3.2.1 和 3.2.2。

临床诊断 疑似病例+3.2.3+3.2.4.1 项 a)、b)、c)中任何一项。

确诊诊断 临床诊断+3.2.4.2 项中任何一项。

4 治疗原则

4.1 流行性斑疹伤寒治疗原则

采用一般护理、对症治疗和特效药物治疗相结合的方法(见附录 B)。

4.2 地方性斑疹伤寒治疗原则

采用一般护理、对症治疗和特效药物治疗相结合的方法(见附录 B)。

5 预防原则

5.1 流行性斑疹伤寒预防原则

采取以灭虱和疫苗接种为主的综合性预防措施,抓好人间和虱间的疫情监测,及时报告疫情(见附录 C)。

5.1.1 人间疫情监测 采用普氏立克次体特异性诊断抗原,及时发现初发病例,在有病例报告的地区,及时采用灭虱和疫苗接种措施,防止疫情扩大。

5.1.2 灭虱计划 在疫区,每年冬、春季各进行一次灭虱行动。

5.1.3 个人防护 在有条件的人群中要勤洗澡,勤换洗衣服,防止虱子孳生,在与外人接触时防止虱子传播。

5.2 地方性斑疹伤寒预防原则

采取以防鼠、灭鼠和疫苗接种为中心的综合性预防措施,抓好人间和鼠间的疫情监测,及时报告疫情(见附录 D)。

5.2.1 灭鼠和防鼠 灭鼠应与防鼠相结合。在居民区,搞好环境卫生,清除鼠类栖息活动场所,堵住鼠洞,断绝老鼠食物来源,开展经常性灭鼠活动。在秋季,在居民区及周围进行一次大规模的灭鼠活动。

5.2.2 野外作业工地及宿营区的预防措施 进入前对施工作业工地及宿营区进行流行病学及疫源地的监测,施工期内做好防鼠灭鼠工作,加强个人防护措施。

5.2.3 个人防护 避免与鼠类以及其排泄物和分泌物接触,以减少受感染的危险。在野外作业应穿防蚤袜。

附录 A

(标准的附录)

流行性斑疹伤寒和地方性斑疹伤寒血清学诊断方法

A1 室温微量补体结合试验

室温微量补体结合试验是传统补体结合法之改进,在室温条件下使补体充分结合利用,特异性同热结合法,敏感性同冷结合法。因室温微量补体结合试验能区分普氏立克次体和莫氏立克次体,故可用作流行性斑疹伤寒和地方性斑疹伤寒的分型诊断。该法既可在临床上用于病人血清标本的分型诊断,又可在现场进行大量流行病学调查。

A1.1 预备试验(如用标化试剂,该过程可省略)

A1.1.1 溶血素滴定

从 1:1 000 至 1:40 000 的各个不同稀释度(每个相邻稀释度间隔 1:1 000),每个稀释度溶血素 0.2 mL 分别加入小试管内,每管再加补体(1:30)0.1 mL 及 2% 绵羊红细胞 0.2 mL,补充 0.5 mL 生理盐水,摇匀后置 37℃ 水浴 30 min,出现完全溶血现象的最高稀释度为 1 个单位。正式试验用两个单位,例如 1 个单位为 1:20 000,两个单位为 1:10 000。

A1.1.2 补体滴定

将补体在小试管内分别稀释成 1:10,1:20,1:30,1:40,1:50,1:60,1:70,1:80,1:90,从每个管内取出 1 滴(0.025 mL)加入 U 型 96 孔有机玻璃板的一排孔内,每孔再加 2 滴(0.05 mL)盐水,同时将 2% 绵羊红细胞和两个单位的溶血素等量混合,每孔加 2 滴,总量 0.125 mL,置 37℃ 水浴箱内作用 30 min,观察结果,以完全溶血的最高稀释度为 1 个单位。正式试验用两个单位,例如 1 个单位为 1:60,正式试验用 1:30。

A1.1.3 抗原滴定

抗原滴定采用方阵法,用 96 孔 U 型板,先将生理盐水 0.025 mL 分别加在横向每排(共 8 排)各孔内,将免疫血清分别在板上作倍比稀释。先将血清稀释成 1:4,在板的横向第 1 孔(共 7 孔)内各加 1 滴,用 0.025 mL 稀释棒依次稀释到第 7 排孔。抗原先在小试管内稀释,从 1:2 至 1:128,第 1 排孔至第 8 排孔 A 列加 1:2, B 列加 1:4, C 列加 1:8,以此类推, G 列加 1:128, H 列不加,作血清对照,第 8 排为抗原对照。每个孔内再加 0.025 mL 两个单位的补体。在 H 列和第 8 排孔内各补加 1 滴盐水(0.025 mL)。

抗原滴定应设以下对照:

- a) 已知抗原抗体对照 1 滴两个单位的抗原,1 滴两个单位补体,1 滴阳性血清。
- b) 阴性血清对照 1:8 阴性血清 1 滴,两个单位补体 1 滴,已知两个单位抗原 1 滴。
- c) 补体对照 2 个单位,1.5 单位,1 单位,0.5 单位补体各 1 滴分别加到孔内,再每孔加 2 滴生理盐水。
- d) 致敏红细胞对照 先加 3 滴盐水。

以上都加完后,放室温(18~20℃)4 h,低于 18℃ 放置 5 h,高于 20℃ (不能超过 22℃) 放置 3 h,放入 37℃ 水浴箱 30 min,每孔加入 2 滴致敏的溶血系统,再放 37℃ 水浴 30 min 观察结果,或看补体对照 2 单位、1.5 单位完全溶血,1 个单位半溶,0.5 单位不溶时,可以记录结果。

结果判定:将板上各排不溶血孔连一条线,线的中点所对应的抗原稀释度为抗原效价,线的中点所对应的血清稀释度为血清效价。

A1.2 正式试验

A1.2.1 被检血清标本室温微量补体结合试验

血清标本先用生理盐水 1:8 稀释, 56℃ 30 min 灭活, 放置 4℃ 冰箱备用。

取 96 孔 U 型板, 被检血清在板上作倍比稀释, 每孔 0.025 mL, 每孔加入两个单位抗原及两个单位补体各 1 滴 (0.025 mL), 振荡混匀, 放室温 4 h 使补体充分结合利用, 按温度高低可缩短或延长时间, 另将 1.5% 绵羊红细胞及两个单位溶血素等量混合, 放 37℃ 先作用 15 min, 每孔加入致敏红细胞 2 滴 (0.05 mL) 一起放置 37℃ 15~30 min, 待补体对照 2 单位、1.5 单位完全溶血, 1 个单位半溶, 0.5 单位不溶时, 可以记录结果。以完全不溶或微溶作为最终滴度。

正式试验所需对照

a) 被检血清抗补体对照 1:8 血清 0.025 mL, 两个单位补体 0.025 mL, 盐水 0.025 mL, 再加致敏红细胞 0.05 mL。

b) 补体对照 同抗原滴定的补体对照一样, 补体 2、1.5、1 及 0.5 单位各 0.025 mL, 分别加入 4 孔内, 再加 0.025 mL 两个单位抗原或生理盐水 0.025 mL, 致敏红细胞 0.05 mL。待补体 2、1.5 单位全溶, 1 单位半溶, 0.5 单位不溶时, 即记录试验结果。被检血清若出现抗补体时, 可用正常豚鼠血清 (两个单位补体) 代替生理盐水稀释消除之。

c) 溶血系对照 补体 0.025 mL, 盐水 0.05 mL, 致敏红细胞 0.05 mL, 应完全溶血。

d) 致敏红细胞对照 生理盐水 0.075 mL, 致敏红细胞 0.05 mL, 应完全不溶血。

e) 阳性及阴性血清对照 方法同抗原滴定的对照。

A1.2.2 结果判定

a) 以出现完全不溶或微溶孔最高的血清稀释倍数为最终滴度。1:8 为阳性, 1:32 为现患诊断。

b) 同源血清抗体滴度高于异源 ≥ 2 倍者可做血清学分型诊断。

A2 微量间接免疫荧光试验

A2.1 试验准备

A2.1.1 抗原片 玻片中每孔内固定有密度梯度离心纯化的立克次体抗原。

A2.1.2 第二抗体 荧光素标记的 IgM 和 IgG。

A2.1.3 缓冲液 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液 (PBS) pH7.4~7.6。

A2.1.4 伊文思兰 1:4 000 伊文思兰。

A2.1.5 90% 甘油 甘油: PBS=9:1。

A2.1.6 盖玻片。

A2.1.7 荧光显微镜。

A2.2 正式试验

A2.2.1 试验步骤

a) 取出抗原片, 吹干。

b) 将待检病人血清用 0.01 mol/L PBS 以 1:16, 1:32 及 1:80, 1:320 稀释, 滴 1 滴于抗原片各孔中, 每玻片设一阳性对照、一阴性对照、一空白对照。

c) 置抗原片于 37℃ 湿盒中反应 1 h。

d) 用 0.01 mol/L PBS 洗三次, 蒸馏水洗一次, 吹干。

e) 加入荧光素标记的 IgM 和 IgG 抗体 (1/4 000 伊文思兰稀释), 置 37℃ 湿盒中反应 1 h。

f) 用 0.01 mol/L PBS 洗三次, 蒸馏水洗一次, 吹干。

g) 用 90% 甘油封片, 镜检。

A2.2.2 结果判定

a) 在阳性对照、阴性对照和空白对照都成立的情况下。以玻片上出现有小杆状翠绿色荧光者为阳性。

b) 血清抗体滴度以呈现++小杆状翠绿色荧光者最高的血清稀释倍数为最终滴度。

- c) IgM $\geq$ 1:16、IgG $\geq$ 1:80 为阳性;IgM $\geq$ 1:32、IgG $\geq$ 1:320 为诊断滴度。
d) 同源血清抗体滴度高于异源 $\geq$ 2 倍者可做血清学分型诊断。

附 录 B

(提示的附录)

流行性斑疹伤寒与地方性斑疹伤寒的治疗方法

流行性与地方性斑疹伤寒的治疗原则基本相同,只是流行性斑疹伤寒症状较重,容易产生并发症及后遗症,治疗时应考虑及早预防。

B1 一般护理

对流行性斑疹伤寒患者要进行彻底灭虱,防止传播。对地方性斑疹伤寒患者要在屋内或庭院进行灭鼠灭蚤,防止传播给他人。环境要求安静,空气新鲜流通,注意口腔及皮肤卫生。皮疹严重者,应保持皮肤清洁,要注意不要抓破,以防止其他细菌的合并感染。给予足够的水分,每日总摄入量保持 3 000 mL,必要时给输液以减轻毒血症。对谵妄患者须密切观察,防止意外损伤发生。对昏迷患者应经常帮助翻转体位,防止发生褥疮及沉积性肺炎。体温高者可采取物理降温方法,在头上放冰袋或用酒精擦浴。

B2 对症治疗

流行性斑疹伤寒一般症状较重,容易产生并发症,在治疗时应多加注意,及时采取措施,避免严重后果出现。对出现脑部症状的患者,如神志昏迷,可采用醒脑类药物。对有精神症状的患者,可采用安神类药物,用水化氯醛效果较好,其他镇静安眠类药物也有效。对烦躁不安者,也可用镇静剂。对脑痛难忍者,用可卡因减轻疼痛,也可选用其他止痛剂。如出现心衰者,可注射强心剂。避免使用巴比妥类药物,易产生不良后果。高烧时忌用大剂量的阿斯匹林类药物,防止退热过快引起大量出汗或虚脱。

B3 特效药物治疗

普氏立克次体及莫氏立克次体对青霉素、链霉素不敏感,因而当诊断为斑疹伤寒病时,使用青霉素、链霉素是无效的。广谱抗生素对本病有特效,首选药物是强力霉素(多西霉素),成人每次口服 0.2~0.3 g,每日 1 次,连服二天。必要时第 4 天再服 1 次。对免疫功能低下者,每次口服 0.2 g,每日 4 次,连服三天,必要时第 4 天再服 1 次。也可选用氯霉素、四环素等抗生素或其替代产品。

附 录 C

(标准的附录)

流行性斑疹伤寒的预防方法

C1 防制方法

流行性斑疹伤寒疫情防制采取以灭虱为主的综合性措施,对发病人群进行控制,对周围群众进行疫苗接种或预防性治疗。

C1.1 灭虱

衣虱是流行性斑疹伤寒的传播媒介,灭虱是控制流行性斑疹伤寒流行的重要措施,灭虱必须加强组织领导,加强宣传,使每个家庭和个人都知道灭虱的意义。

C1.1.1 灭虱方法

C1.1.1.1 药物灭虱 采用化学杀虫剂灭虱是常用的灭虱方法,只要用药得当,收效显著。

a) 1%敌敌畏乳剂 每件衣服 50~100 mL,用喷雾器喷到衣服上,喷后包裹起来,50 min 后虱子死亡,或用 0.2%敌敌畏水溶液,浸泡衣服,经 30 min 至 45 min 虱子死亡。

b) 2%倍硫磷粉剂 撒在衣服或被上,每套衣服 30 g,经 8 h 虱子死亡,对人无传染性;或用 0.1%的乳剂浸泡衣服,浸泡 24 h 后虱子死亡。

c) 0.04%二氯苯醚菊酯乳剂 用喷雾器喷到衣物上,每套衣服 100 mL,喷后包裹 24 h 后虱子死亡。

d) 环氧乙烷原液 每千克衣物 5 mL,装入袋内熏蒸,4 h~6 h 死亡,此方法适用各种衣物,对纤维无伤害。

C1.1.1.2 物理灭虱法

a) 水煮法 虱子怕热,在 50℃经 30 min 就可杀死虱子和虱卵。将有虱的衣物放入搪瓷或金属盆内,加入清水,在火上煮沸后可杀死虱子和虱卵,这种方法经济、简便。

b) 蒸汽法 将有虱子的衣物放在笼屉内蒸,上满汽 30 min 可杀死虱子和虱卵。

以上两法不适用于皮衣。

c) 干热法 在有条件的地方,可用干热法灭虱,最好有干热灭虱房间,烤箱也可以,温度控制在 100℃,1 h 可杀死虱子和虱卵。

d) 冷冻法 虱子在 -20℃时经 9 h 可冻死虱子和虱卵。在北方冬季或高寒山区,当最低温度达到 -15℃以下时,可将衣物放在室外,经一整夜可杀死虱子和虱卵。

干热法和冷冻法适用于各类衣物。

C2 疫情监测

流行性斑疹伤寒的疫情监测包括人间疫情监测(人的发病情况和带菌情况)和虱间疫情监测(人的带虱指数和虱的感染率),通过监测为流行性斑疹伤寒的防制提供依据。

C2.1 人间疫情监测

C2.1.1 监测内容

a) 在历史上发病的老疫区,以地、市为单位设立监测点,结合现有的疾病监测点,每个点设立一个负责人,管理疫情和监测,及时上报辖区内的疫情及发病数字,每年绘出分布图;统计发病数、死亡数、发病率、病死率,分析疫情动态和发展趋势。

b) 对临床可疑病例,应采血检查抗体,作出确定诊断。并根据确定的误诊和漏诊病例,及时纠正疫情报告数字。

c) 可疑病例、散发病例,进行个案调查,核实传染源及传播途径。

d) 对病人抽样采血,用微量室温补体结合法或微量免疫荧光实验或外斐氏反应对抗体进行效价检查和分型试验,明确病例的型别;对正常人群进行抗体水平检查。

C2.1.2 监测方法

首先将固定监测点疫情的人群间、时间、空间分布进行系统描述和分析,分析疫情分布的方法是:将报来的疫情资料(姓名、性别、年龄、职业、住址、发病和死亡时间等)按人群、时间、地区统计,计算发病数、发病率、死亡数和死亡率、病死率。在描述疫情分布时,应观察全人口和全人口中的所有病例。要核实疫情的可靠性,并作疫情误诊和漏报调查,用微量室温补体结合法做血清学分型检查,修正疫情数字。

C2.2 虱间疫情监测

衣虱是流行性斑疹伤寒的主要传播媒介,衣虱的疫情变化,可直接反应人间疫情是否流行的可能性。

C2.2.1 监测内容

a) 人群带虱率,见式(C1)。

- b) 带虱指数, 见式(C2)。
c) 虱子带菌率, 见式(C3)。

$$f_1 = \frac{a}{b} \times 100 \quad \dots\dots\dots (C1)$$

$$f_2 = \frac{c}{b} \quad \dots\dots\dots (C2)$$

$$f_3 = \frac{d}{e} \times 100 \quad \dots\dots\dots (C3)$$

式中: f_1 ——人群带虱率;

a ——带虱人数;

b ——被检查人数;

f_2 ——带虱指数;

c ——检虱子总数;

f_3 ——虱子带菌率;

d ——阳性虱数;

e ——被检虱子总数。

d) 菌株毒力检测, 将虱子分组接种鸡胚或感染细胞, 分离立克次体, 将分离菌株测半数致死量, 以确定菌株毒力强度。

C2.2.2 监测方法

a) 在监测点内, 每个点抽样 100 个人, 进行虱子检查, 主查内衣, 用放大镜在衣缝内寻找, 将虱子收集起来, 用作菌株分离材料和带菌率的检查。带有虱子的人数除以检查人数再乘以 100 即为带虱的百分数。

b) 检出的虱子总数除以被检人数为带虱指数。

c) 将虱子在载物片上研碎, 涂片, 用 Gimenez 法染色, 油镜检查, 有红色短杆状立克次体者为阳性, 阳性数除以被检虱子数乘以 100 为带菌率。

d) 将菌株纯培养物, 经稀释后取 1 μ L 在血球计数板上涂片, 用 Gimenez 法染色, 计算菌数, 将小白鼠分组, 每组 10 只, 共分 5 组, 选择不同数量的立克次体, 接种小白鼠, 每组一个剂量, 按死亡情况, 计算半数致死量, 以确定该菌株的毒力强度。

附 录 D

(标准的附录)

地方性斑疹伤寒的预防方法

D1 防制方法

地方性斑疹伤寒疫情防制采取以灭鼠、防鼠为主的综合性防制措施。

D1.1 灭鼠和防鼠

采取以灭鼠和防鼠为主的综合性防制措施, 必须加强组织领导, 充分发挥三级卫生网的作用; 争取农业、林业、畜牧业和基本建设部门的合作与支持, 认真搞好环境卫生整治; 在居民区清除杂物, 堵住鼠类栖息环境条件; 坚持灭鼠和防鼠相结合, 开展以药物灭鼠为主的综合性灭鼠措施; 在秋季粮食收获到家以后, 鼠类活动向住户集中, 这时要进行一次以居民区为主的药物灭鼠。地方性斑疹伤寒疫区广泛, 有鼠类活动的区域都可能是有疫源地存在, 因此, 灭鼠应与其他与鼠类有关的疾病联合进行。

灭鼠区域的选择, 以疫情监测结果为依据。一般原则为:

- a) 在地方性斑疹伤寒流行区要随时进行以药物灭鼠为主的综合性灭鼠。
- b) 在鼠密度升高的区域要随时进行灭鼠。
- c) 菌株毒力升高的区域要随时进行灭鼠。

D1.2 结合灭鼠进行灭蚤

跳蚤是地方性斑疹伤寒的主要传播媒介,杀灭跳蚤是切断地方性斑疹伤寒流行的环节之一。灭蚤主要从防蚤开始,蚤的繁殖和生存,需有适宜的孳生条件和充足的血源,因此搞好室内卫生,改善环境,管好家禽家畜,控制和消除鼠类,断绝血源,是防蚤灭蚤的根本,在消灭跳蚤中,应采取综合防治,防灭结合,才能取得较好的效果。具体方法如下:

D1.2.1 物理灭蚤

- a) 在室内泥土地上铺一层柴草点火烧,特别注意四周和墙角,用此方法可杀灭成虫、幼虫、卵、蛹。但要防火,注意安全。
- b) 粘捕法 用粘纸放在墙脚和家具下面,当蚤跳上时被粘住,2~3天后将粘纸收集烧掉。

D1.2.2 药物灭蚤

1%敌百虫水溶液,每平方米100 mL喷洒;2.5%敌百虫粉剂,每平方米40 g喷撒。8 h~16 h杀死;0.1%敌敌畏乳剂,每平方米100 mL喷洒,1 h~2 h杀死;2%倍硫磷粉剂,每间房100 g撒播地面,12 h~24 h杀死;2%害虫敌粉剂每平方米50 g喷撒,24 h蚤死亡。

D1.3 野外作业工地的预防措施

水利、农垦、矿产、国防、交通等大型野外作业工地,进驻前应进行流行病学调查和疫源地监测,如属地方性斑疹伤寒流行危险区,进行灭鼠防鼠的宣传和有组织地进行灭鼠灭蚤工作;对进驻工地的人群应进行疫苗接种或预防性治疗。

D1.4 个人防护

加强宣传使每个人都懂得个人防护的重要性,尽量避免与鼠类及其排泄物和分泌物接触,野外作业时穿防蚤袜,防止接触感染。

D2 监测方法

地方性斑疹伤寒疫情监测包括人间疫情监测(人群感染及发病情况)和鼠间疫情监测及蚤类疫情监测等。通过监测,为确定地方性斑疹伤寒防制对策和措施提供依据。

D2.1 人间疫情监测

人间疫情监测同C2.1。

D2.2 鼠间疫情监测

D2.2.1 监测内容

- a) 以地、市为单位设点查清居民区及野外的鼠种构成、分布、密度、带菌率及感染率。
- b) 在该病流行的危险地区,对主要宿主鼠种的密度和带菌率进行定点监测,根据需要对其他可能有疫情爆发的地区进行不定期的监测,监测应在秋季进行。
- c) 重点疫源地的主要宿主动物要进行病原体分离工作,分离出来的菌株进行毒力测定,以判定该地区流行可能性的大小。
- d) 对疫区内实验动物饲养场的鼠类动物每年应进行一次抗体检测,发现感染要及时采取措施。

D2.2.2 鼠间疫情监测方法

D2.2.2.1 监测地区选择 应选择不同地理景观(平原、丘陵、山区、居民区等)地区。居民区应选择居住条件、生活条件、卫生条件较差的地区;野外应选择在河流、道路、田埂、坟地、场院、粪坑、池塘等鼠类栖息活动的地方;货运站的仓库也应监测。

D2.2.2.2 监测时间 每年秋季分别在居民区和野外同时进行监测。

D2.2.2.3 监测对象和数量 各个监测点应在居民区和野外各捕获当地优势鼠种100只以上,进行

检测。

D2.2.2.4 监测和计算方法

D2.2.2.4.1 居民区放鼠夹或鼠笼方法 每 15 m² 房间放鼠夹或鼠笼一个,大于 15 m² 小于 30 m² 房间放两个,大于 30 m² 小于 45 m² 的房间放鼠夹或鼠笼 3 个,以此类推。诱饵选用花生米、油条、油饼等,一个地区最好选用同一种诱饵。晚上天黑前将鼠夹或鼠笼放在墙根、屋角等处,放鼠夹后晚上 10 时检查一次,取回获得鼠,以免鼠尸体降温后鼠蚤逃离。次日清晨全部取回,将捕获鼠放入塑料袋或白布袋内扎好口袋口,编上号码,做好记录。

D2.2.2.4.2 野外放鼠夹或鼠笼方法 应选择有鼠类活动的地方,原则上每 100 m² 放鼠夹或鼠笼一个,行距 10 m,夹或笼距 10 m。诱饵统一。天黑前将鼠夹或鼠笼放完,鼠夹或鼠笼放在隐蔽处。如果放鼠夹,在晚上 10 时前检查一次,取回在晚上 10 时前鼠类第一个活动高峰时被捕获的鼠,防止鼠死后体温下降后鼠蚤逃离。70%~80% 的鼠是在晚上 10 时前鼠类第一个活动高峰时被捕获的,次日晨将鼠夹或鼠笼全部取回,收集捕获的鼠类。

D2.2.2.4.3 捕获鼠分类鉴定 根据或参考《医学动物分类鉴定》确定鼠名。

D2.2.2.4.4 剖取鼠肝脏、脾脏和采集血标本 取分类鉴定的鼠,活鼠先挖眼球或腋下放血,取血标本,离心,分离血清,留血清学检测用;血块留作病原学检测之用;残死鼠在解剖的同时用滤纸条(7 cm×1 cm)沾取血液,干后放液氮保存,用作血清学检测之用;将鼠体用来苏水浸泡后,剪开腹腔,取肝脏、脾脏保存备用,血标本和脏器标本均应编号记录,放入液氮或低温冰箱保存。

D2.2.2.4.5 有条件的单位可用多聚酶链反应(PCR)方法扩增血标本和脏器标本,作为病原学诊断(详见附录 E)。

D2.2.2.4.6 有条件的单位可进行病原体分离(详见附录 E)。

D2.2.2.4.7 血清学检测 血清经 1:8 稀释,56℃ 30 min 灭活,用微量室温补体结合法检测(详见附录 A)。如果是滤纸片血标本,将滤片浸泡在 0.5 mL 生理盐水中,经 30 min 后摇动滤纸片,使血清成分充分溶下来,取出滤片,其浸液作 1:10 稀释,可用免疫荧光法、外斐氏反应或微量室温补体结合法检测。

D2.2.2.4.8 鼠种构成比例按式(D1)计算。

$$X_1(\%) = \frac{h}{g} \times 100 \quad \dots\dots\dots (D1)$$

式中: X_1 ——鼠种构成,%;

h ——每种鼠只数;

g ——捕获总的鼠只数。

D2.2.2.4.9 相对总鼠密度及相对每种鼠密度分别按式(D2)、式(D3)计算。

$$X_2(\%) = \frac{g}{j} \times 100 \quad \dots\dots\dots (D2)$$

式中: X_2 ——总鼠密度,%;

g ——捕获总鼠只数;

j ——放鼠夹(笼)总数。

$$X_3(\%) = \frac{k}{j} \times 100 \quad \dots\dots\dots (D3)$$

式中: X_3 ——每种鼠密度,%;

k ——每种鼠捕获数;

j ——放鼠夹总数。

D2.2.2.4.10 鼠总带菌率及每种鼠带菌率分别按式(D4)、式(D5)计算。

$$X_4(\%) = \frac{l}{m} \times 100 \quad \dots\dots\dots (D4)$$

式中: X_4 ——鼠总带菌率, %;

l ——各种鼠阳性总数;

m ——各种鼠检测总数。

$$X_5(\%) = \frac{n}{q} \times 100 \quad \dots\dots\dots (D5)$$

式中: X_5 ——每种鼠带菌率, %;

n ——每种阳性鼠只数;

q ——每种鼠检测只数。

D2.2.2.4.11 带菌鼠指数计算见式(D6)。

$$X_6 = \frac{r}{s} \quad \dots\dots\dots (D6)$$

式中: X_6 ——带菌鼠指数;

r ——鼠密度;

s ——鼠带菌率。

D2.2.2.4.12 鼠的带蚤指数计算见式(D7)。

$$X_7 = \frac{z}{y} \quad \dots\dots\dots (D7)$$

式中: X_7 ——鼠的带蚤指数;

z ——检出蚤的总数;

y ——被检出蚤的鼠总数。

D2.3 蚤间疫情检测

D2.3.1 监测内容

a) 按鼠种不同分别检蚤,按蚤种不同分别记录。

b) 同种蚤集中在一起,分组检查带菌情况,用PCR方法扩增立克次体DNA片段,出现特异性DNA电泳带者为阳性。

c) 分组的蚤制成悬液,接种鸡胚或豚鼠或细胞,分离地方性斑疹伤寒病原体(详见附录E)。

D2.3.2 监测方法

a) 检蚤方法 将装有捕获鼠的鼠袋打开口,放入周边涂有来苏原液的白色大搪瓷盘中,解开袋口,将鼠倒在盘中央,将口袋翻过来,检查是否有蚤,如有将蚤捡下来,装入青霉素小瓶中,用小镊子翻开鼠毛寻找蚤,耳朵和腋下都要找到,做好记录。

b) 用PCR法扩增立克次体DNA片段 将分好组的蚤放入灭菌乳钵内,加入少量海砂研细,再加入蔗糖磷酸盐缓冲液(SPG)或生理盐水稀释成1:100悬液,低速离心,去掉沉渣,离心的上清用作PCR的模板和分离材料(详见附录E)。

c) 立克次体分离试验 将b)中的蚤悬液,直接接种到6~7日龄鸡胚或豚鼠或细胞进行立克次体分离试验(详见附录E)。

附 录 E

(提示的附录)

流行性斑疹伤寒与地方性斑疹伤寒的病原学诊断

E1 病原体的分离

流行性斑疹伤寒与地方性斑疹伤寒的病原学诊断包括分离立克次体及检测核酸。这两种方法均是

确诊流行性斑疹伤寒与地方性斑疹伤寒最可靠的方法,但这二法手续繁杂,有一定条件的实验室才能做,目前尚难以常规应用,故在诊断标准中未正式列入此项。

E1.1 立克次体的分离

E1.1.1 标本收集

发病1周内未用抗生素治疗的患者,抽取其静脉血加肝素或柠檬酸钠抗凝做接种用;如已用抗生素或发病超1周者,抽血分离血清作血清学检测,其血凝块加入3~4 mL SPG(或生理盐水)研磨后再接种。

E1.1.2 分离立克次体

a) 取上述血液标本接种体重200 g~300 g雄性豚鼠腹腔2~3 mL,逐日测体温,经7 d~10 d豚鼠出现发热反应,39.5℃连续2 d以上为特异性发热,阴囊红肿(流行性-,地方性+),其恢复期血清对斑疹伤寒抗原反应阳性者,表示有立克次体感染,可作出病原学初步诊断;分离立克次体需进一步取感染豚鼠发烧期血液或发热后的豚鼠脾脏或睾丸鞘膜制成10% SPG(或生理盐水)悬液,按b)法接种鸡胚卵黄囊。

b) 或接种 Vero 或 L929 细胞。

c) 或取上述血液标本接种6日龄鸡胚卵黄囊内,逐日观察鸡胚,待鸡胚死亡后继续培养至7 d,解剖鸡胚,取卵黄囊膜涂片,染色,镜检,镜下发现有立克次体者可作出病原学初步诊断;

d) 或用患者身上虱制成悬液,按上述程序分离立克次体。

立克次体传代及增殖达到纯培养(+++)才算获得菌株。

E1.1.3 菌株鉴定

用已知的流行性斑疹伤寒和地方性斑疹伤寒血清用室温微量补体结合试验,以同源高于异源 ≥ 2 倍者为准,或用上述两病原体种特异性单克隆抗体检测分离株,作血清学初步鉴定。进一步用蛋白免疫印迹,PCR/RFLP及分子杂交技术等做菌株分类鉴定。

E2 多聚酶链反应(PCR)

多聚酶链式反应(PCR)检测斑疹伤寒立克次体感染豚鼠早期血液中的微量立克次体DNA,感染后第1 d起一直到36 d观察期的血液标本都可查出PCR阳性扩增带,该法早期、敏感、特异。并可用于分型诊断。

E2.1 引物来源

根据普氏立克次体E株169 KD蛋白基因序列和普氏、莫氏立克次体17 KD蛋白基因序列设计,其序列:

R17-1 5' GCTCTTGCAACTTCTATGTTA 3'

R17-2 5' GACCTGCACTGTTCTCTATAA 3'

R169-1 5' GGAATTCATGGGTGCTGCTATG 3'

R169-2 5' TATTGATCCTAGCCCGCT 3'

E2.2 试剂

碘化钠(AR级),TaqDNA聚合酶(国产),10xPCR缓冲液,4XdNTP,DNA分子量标准为 λ DNA/EcoR I+Hind III。

E2.3 标本处理方法

采用碘化钠(NaI)法,全血标本加等体积6 mol/L NaI,室温下反复摇匀,等体积氯仿-异戊醇抽提至界面层消失,取上清加2倍体积冷乙醇置-40℃ 4 h沉淀DNA,高速离心,70%乙醇洗涤沉淀,真空抽干,加适量双蒸水溶解,95℃ 15 min灭活,冻存待用。

E2.4 PCR扩增

取10 ng模板DNA,加入5 μ L 10xPCR缓冲液,4 μ L 2.5 mmol/L dNTP,100 ng各引物,双蒸水补

至 49.5 μL 体积。混匀后, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min, 加 0.5 μL TaqDNA 聚合酶(5 U/L), 上面覆盖石蜡油 50 μL , 置自动热循环仪上循环扩增 30~40 次。循环参数为 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 65 $^{\circ}\text{C}$ 复性 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 最后一循环在 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 7 min。

E2.5 琼脂糖凝胶电泳

取 20 μL PCR 扩增产物做 1% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色, 紫外透射下观察结果。凡出现 340 bp 和 432 bp 两种扩增产物者或只出现 340 bp 扩增产物者为阳性。

E2.6 对照

- (1) 阳性对照: 已知普氏立克次体 DNA 为模板加其他所有反应体系成分。
- (2) 阴性对照: 正常全血按上述 NaI 法处理的材料为模板加其他所有反应体系成分。
- (3) 扩增系统对照: 双蒸水加除引物外的其他所有反应体系成分。

E2.7 结果判定

在对照管成立的情况下, 在实验管中出现 340 bp 和 432 bp 两种扩增产物者为普氏立克次体, 只出现 340 bp 一种扩增产物者为莫氏立克次体。
