

加急

中国疾病预防控制中心文件

中疾控应急发〔2021〕54号

中国疾病预防控制中心关于印发 尼帕病毒病预防控制技术指南的通知

各省、自治区、直辖市及新疆生产建设兵团疾控中心：

为指导各地做好尼帕病毒病的预防控制工作，防范尼帕病毒病疫情输入我国并引起本地传播，我中心组织制定了《尼帕病毒病预防控制技术指南》。现印发给你们，请参照执行。

附件：尼帕病毒病预防控制技术指南

中国疾病预防控制中心

2021年11月7日



附件

尼帕病毒病预防控制技术指南

尼帕病毒病 (Nipah virus disease, 简称 NVD) 是由尼帕病毒 (Nipah virus, 简称 NiV) 引起的一种人畜共患传染病。通常引起发热、咳嗽、呼吸困难等急性呼吸道症状, 或出现头痛、头晕、意识改变、癫痫等神经系统症状, 甚至导致死亡。人感染尼帕病毒病死率可高达 40%-75% 甚至更高。

1998 年 9 月, 马来西亚首次发生尼帕病毒病暴发疫情。1999 年 3 月, 马来西亚病毒学家从一名来自尼帕村的患者样本中分离出一种新的病毒, 并将其命名为尼帕病毒。此后, 新加坡、印度、孟加拉国、菲律宾等国家陆续报道发生尼帕病毒病暴发疫情。柬埔寨和泰国在果蝠中检测到尼帕病毒。截至目前, 全球尼帕病毒病疫情仍主要发生在南亚和东南亚国家。我国尚无人感染尼帕病毒病的报告。

一、疾病概述

(一) 病原学。

尼帕病毒属于副粘病毒科 (*Paramyxoviridae*) 亨尼帕病毒属 (*Henipavirus*)。病毒颗粒呈多形性, 直径 150-300nm, 最外层为脂蛋白包膜, 核衣壳呈螺旋对称。基因组为单股负链 RNA, 全长约 18.2kb, 包含 6 个转录单位分别编码 6 个主要结构蛋白。病毒包

膜蛋白F和G是病毒发挥毒力作用的关键蛋白，它们通过与细胞表面受体ephrin-B2和ephrin-B3相互作用介导病毒的感染入侵。尼帕病毒只有一个血清型。根据病毒基因组序列可分为M亚型（马来西亚）和B亚型（孟加拉）两个亚型。

尼帕病毒可以在多种哺乳细胞中生长增殖。由于高度保守的ephrin-B2分子在脊椎动物的动脉内皮细胞、中膜平滑肌和神经元中广泛存在。尼帕病毒的宿主范围很广，包括蝙蝠、猪、马和人等。

目前已经从患者的呼吸道分泌物、脑脊液、尿液中分离到尼帕病毒。

尼帕病毒对热和一般消毒剂都较敏感。56℃加热30分钟即可使病毒结构受到破坏，常用含氯消毒剂和肥皂等清洁剂便可将其灭活。

（二）流行病学特征。

1. 宿主动物和传染源

（1）宿主动物

狐蝠科（*Pteropodidae*）狐蝠属（*Pteropus*）中的果蝠是尼帕病毒的自然宿主，主要分布在南亚、东南亚和澳大利亚。我国云南、广西、广东和海南等地区也均有果蝠分布。

尼帕病毒中间宿主主要为猪，此外还有马、羊、猫和犬等动物。

（2）传染源

人感染尼帕病毒病的传染源主要为被病毒感染的动物和人。

2. 传播途径

尼帕病毒主要通过以下方式传播到人：

（1）直接接触被病毒感染的动物（如果蝠、猪、马等）或其体液（如血液、尿液、唾液等）。

（2）食用被病毒感染动物的体液、分泌物或排泄物所污染的食品（如被果蝠污染的水果）。

（3）密切接触被病毒感染的病人或其体液（包括鼻咽分泌物、尿液或血液等）。尼帕病毒病人际间传播主要发生在病例家庭和医疗机构。

（4）有气溶胶传播的文献报道。

3. 人群易感性

人对尼帕病毒普遍易感。

4. 流行地区

目前，全球尼帕病毒病疫情主要发生在南亚和东南亚国家。

5. 季节性

孟加拉国和印度尼帕病毒病疫情发生在 12 月至次年 5 月。

（三）临床表现。

潜伏期一般为 4-14 天，但有时可达 45 天甚至更长时间。

尼帕病毒主要对中枢神经系统（90%）和呼吸系统（62%）造成损害，对肾脏、心脏和脾脏等影响较小。

有文献报道，人感染尼帕病毒病存在一定比例的无症状感染

者。典型病例常有发热，并主要表现为咽痛、咳嗽、呼吸困难、急性呼吸窘迫综合征等严重呼吸系统症状和/头痛、头晕、呕吐、肌张力降低、颈强直、癫痫、不同程度的意识障碍，于 24-48 小时内进展为昏迷等神经系统症状。部分患者出现迟发性脑炎或神经系统后遗症，个别病例可出现腹痛、腹泻、胃炎和便秘等消化系统症状。

文献报道，两个基因型，M 亚型（马来西亚）和 B 亚型（孟加拉）临床表现有较大差异，前者以神经系统症状为主，后者以呼吸系统症状为主。

（四）实验室检查。

1. 一般检查。

外周血白细胞计数正常或降低，血小板可减少。大部分患者脑脊液白细胞计数升高，单核细胞为主，蛋白水平升高，葡萄糖水平正常。

2. 血清和病原学检查。

早期发现和诊断尼帕病毒病对于提高感染者生存机会、防止传播给他人以及防止疫情暴发至关重要。在病程早期，可采集病人血液、脑脊液、尿液、鼻咽拭子等标本进行尼帕病毒逆转录 PCR 检测病毒 RNA，并开展病毒分离培养。

相关标本的采集、包装、运送和实验室检测等具体内容参见《尼帕病毒实验室检测技术方案》（附件 2）。

（五）脑部影像学检查。

头部磁共振(MRI)检查,典型表现为脑皮质下层和深白质区不均匀分布细小的病灶,即在T2WI上出现多个2-7mm的高信号灶,不伴有脑水肿或占位效应。最常见部位为皮层下和大脑半球深部白质,也可累及脑室周围、胼胝体、丘脑等。部分病例可伴软脑膜强化、脑实质内病灶强化,或一个月后,在脑皮层等部位出现广泛分布的T1WI灶状高信号影。也有患者头颅MRI未见异常。

二、诊断

结合流行病学史、临床表现、实验室检查综合分析做出诊断。

(一) 疑似病例

有流行病学史中的任何1条,且符合临床表现中任意2条;无明确流行病学史的,须同时符合临床表现中的3条。以上两种情况,均须排除其他病原体所致疾病。

1.流行病学史

(1) 14天内有疫区旅居史;

(2) 14天内与患者或蝙蝠、猪、马等宿主动物有密切接触史,或直接接触其分泌物、排泄物、体液等;

(3) 14天内直接接触过流行地区进口的动物、动物制品以及可能污染的食品如椰枣、生椰枣汁等。

(4) 生猪养殖场或肉类加工厂从业人员等职业暴露人群;

(5) 聚集性发病(2周内,在流行地区小范围如家庭、办公室、学校班级等场所,出现2例及以上发热、呼吸道症状和/或神经系统症状的病例)。

2.临床表现

(1) 发热、呼吸道症状和/或神经系统症状等相关临床症状；

(2) 具有典型的头颅核磁影像学表现；

(3) 外周血白细胞计数正常或减低，血小板可减少，和/脑脊液白细胞计数升高，单核细胞为主，蛋白水平升高。

(二) 确诊病例

疑似病例同时具备以下病原学或血清学证据之一者：

1. 标本中分离到尼帕病毒；

2. 尼帕病毒核酸检测阳性。

三. 鉴别诊断

由于尼帕病毒病患者在发病早期无特异性症状，因此应尽早进行病毒分离、核酸检测，以尽快明确诊断。

1. 流行性乙型脑炎（乙脑）：乙脑与尼帕病毒病临床表现难以鉴别。特异性乙脑 IgM 抗体检测或病毒 PCR 检查可以确定诊断。

2. 化脓性脑膜炎：包括流行性脑脊髓膜炎（简称流脑），冬春季节多见，起病急，典型病例可见瘀点、瘀斑，重者病后 1~2 天内即可进入昏迷。流脑。肺炎链球菌脑膜炎、葡萄球菌脑膜炎以及其他化脓性脑膜炎可由肺炎、中耳炎、乳突炎、鼻窦炎或皮肤化脓病灶进展而来，或者伴有以上疾病。可依据脑脊液检查、细菌培养、多重 PCR 核酸检测等方法鉴别。

3. 病毒性脑炎、脑膜炎、脑膜脑炎：除乙脑病毒以外，还要与其他病毒（如肠道病毒、流行性腮腺炎病毒等）导致的神经系

统病变等鉴别。

4. 还要与脑型疟疾、中毒型菌痢、登革热、西尼罗病毒病等鉴别。

四. 治疗和预后

(一) 治疗

疑似及确诊病例应在具备有效隔离条件和防护条件的定点医院隔离治疗。疑似病例应单人单间隔离治疗，确诊病例可多人收治在同一病室。病情危重者应尽早收入 ICU 治疗。

1. 一般治疗

(1) 卧床休息：对患者要避免不必要的刺激。

(2) 保持呼吸道通畅，昏迷患者注意定时翻身、拍背、吸痰，吸氧，防止发生褥疮。

(3) 注意精神、意识、体温、呼吸、脉搏、血压以及瞳孔的变化。

(4) 给足够的营养及维生素，保持水及电解质平衡。

(5) 室温控制在 30℃ 以下，可采用空调降温。

2. 对症治疗

(1) 降温：高热者以物理降温为主，药物降温为辅。如效果不佳，可采用亚冬眠疗法，肌肉注射氯丙嗪及异丙嗪治疗。

(2) 惊厥或抽搐：针对病因治疗，辅以镇静措施。可给予地西泮、水合氯醛、苯巴比妥钠等治疗。

(3) 脑水肿或脑疝所致者，应立即采用 20%甘露醇脱水治疗。

(4) 呼吸衰竭：常规氧疗，包括鼻导管吸氧、面罩吸氧、经鼻高流量吸氧；必要时气管插管、气管切开，及时机械通气治疗。效果不佳者，改用 ECMO 进行呼吸支持。

3. 抗病毒治疗

目前尚无特异性抗病毒药物。

利巴韦林对治疗尼帕病毒脑炎可能有效。

(二) 预后

人感染尼帕病毒病的病死率高达 40%-75% 甚至更高。

约 20% 的病例会出现持续性神经系统后遗症和认知功能障碍，以及抑郁、人格改变等精神障碍。

五. 预防控制措施

目前尚无有效的疫苗可以预防尼帕病毒病，控制传染源是预防和控制尼帕病毒病的主要措施，因此要加强国境卫生检疫，严防本病传入我国。

(一) 预防性措施。

1. 加强宿主动物监测。近年来，尼帕病毒在东南亚多国果蝠中持续检出。果蝠主要分布在我国海南、福建、广东、广西、云南、西藏等南部和西南部省份，且果蝠标本中也检测出尼帕病毒或抗体。应在我国南部和西南边境省份如云南、贵州、广西、海南、广东等对自然环境中的果蝠开展尼帕病毒携带状况本底调查和持续监测。

2. 密切关注尼帕病毒病疫情态势。卫生健康部门要密切关注

全球尤其是南亚和东南亚等国家疫情流行情况，及时掌握疫情动态，动态开展风险评估，并及时做出预警和风险提示。

3. 加强国境检疫，防止疫情传入。对来自南亚和东南亚等流行地区的人员、动物和货物做好检疫工作，严防尼帕病毒病传入我国，尤其加强对可疑病例、染疫动物和来自疫情国家或地区的进口食品（猪肉制品、水果蔬菜等）的检疫。口岸检疫部门一旦发现可疑病例或染疫动物，须及时通报卫生健康部门做好疫情调查和处理。

4. 对前往疫情国家旅游人员做好相关知识健康宣教。前往疫情国家旅游人员应避免接触猪等宿主动物及其体液、分泌物、排泄物等；避免与病人接触；与可疑病人或染疫动物接触时要采取必要的个人防护措施；不要食用可能被果蝠污染的果品，野生果品应在彻底清洗、消毒或剥皮后食用。自疫区归国后一旦出现发热、头痛等症状，应立即就医，并向医生告知疫区旅行史。

5. 加强技术人员培训。对口岸检疫、医疗和疾控人员应加强尼帕病毒病相关知识专业培训，提高对尼帕病毒病的早期识别和发现能力，并做好实验室检测能力和试剂等储备，做到早发现、早诊断、早报告、早隔离、早治疗，防止疫情扩散。

（二）控制措施。

1. 报告。各级各类医疗卫生机构发现符合病例定义的疑似和确诊病例时，应参照甲类传染病的报告要求通过《中国疾病监测信息报告管理系统》进行网络直报，报告疾病类别选择“其他传

染病”。如为输入性病例须在备注栏注明来源地区,统一格式为“境外输入/X 国家或地区”或“境内输入/X 省 X 市 X 县”。符合《国家突发公共卫生事件相关信息报告管理工作规范(试行)》要求的,按照相应的规定进行报告。

2. 流行病学调查。疾控人员接到疑似和确诊病例报告后,要立即开展流行病学调查,查找感染来源,并及时追踪密切接触者和共同暴露者。

3. 病例和密切接触者管理。对疑似和确诊病例,须转运至专业传染病治疗机构进行严格隔离治疗。对疑似病例应严格单人单间隔离,并尽快采样开展实验室病原学检测以明确诊断。对疑似和确诊病例的密切接触者要进行登记、隔离、医学观察,医学观察期限为 14 天。

4. 感染控制。严格做好各类人员个人防护和消毒等感染预防与控制工作(见附件 3 和附件 4),降低尼帕病毒病在医疗机构内等发生传播的风险。

5. 开展公众宣传教育。采取各种形式,积极、广泛地宣传尼帕病毒病防治知识,使公众掌握相关预防知识,及时、有效地采取预防手段,并正确引导舆论,避免社会恐慌。

6. 实验室生物安全。根据我国《人间传染的病原微生物名录》,尼帕病毒危害程度分类属于第一类。尼帕病毒培养应在 BSL-4 级实验室内进行操作,动物感染实验应在 ABSL-4 级实验室内操作,未经培养的感染材料应在 BSL-3 级实验室内操作,灭活

材料应在 BSL-2 级实验室内操作，无感染性材料可在 BSL-1 级实验室内操作。

- 附件：
1. 尼帕病毒病流行病学个案调查表
 2. 尼帕病毒实验室检测技术方案
 3. 尼帕病毒个人防护工作方案
 4. 尼帕病毒消毒工作方案

附件 1

尼帕病毒病流行病学个案调查表

问卷编号：_____

身份证号：_____

一、基本信息

1. 姓名：_____ 如患者年龄<14岁，则家长姓名：_____

联系电话/家长联系电话：_____

2. 性别：☐男 ☐女

3. 年龄：_____岁

4. 家庭住址：_____省_____市_____县/区_____乡（镇/街道）_____村（居委会）

5. 工作单位：_____

6. 职业：

☐ 幼托儿童 ☐ 散居儿童 ☐ 学生 ☐ 教师 ☐ 保育保姆

☐ 饮食从业人员 ☐ 商业服务 ☐ 医务人员 ☐ 工人 ☐ 民工 ☐ 农民

☐ 牧民 ☐ 渔（船）民 ☐ 干部职员 ☐ 离退人员 ☐ 家务待业 ☐ 其他

7. 是否为境外输入病例：☐是 ☐否

如是，请填写以下信息：

国籍：_____ 护照号码：_____

入境原因：☐留学 ☐旅行 ☐探亲访友 ☐商贸往来 ☐公务 ☐其他_____

入境前居住或旅行的国家或地区（可多选）：_____

入境前途经国家和地区：_____

入境日期：_____年_____月_____日

入境口岸：_____省_____（请填写入境机场、车站或码头等）

入境交通方式（航班号、车次、船号等）：_____

入境后到经地区及停留时间：

地点 1：_____；日期：_____年_____月_____日至_____年_____月_____日

地点 2：_____；日期：_____年_____月_____日至_____年_____月_____日

二、发病与临床症状

8. 病例发现途径：☐入境筛查 ☐主动就诊 ☐密接管理发现 ☐其他_____

9. 发病日期：_____年_____月_____日

10. 首发症状：_____

11. 症状和体征：

☐ 发热（38℃以上）：最高温度_____℃

☐ 肌痛 ☐ 咽痛 ☐ 流涕 ☐ 咳嗽 ☐ 胸闷 ☐ 胸痛 ☐ 肺炎 ☐ 呼吸困难

<input type="checkbox"/> 头痛 <input type="checkbox"/> 头晕 <input type="checkbox"/> 烦躁 <input type="checkbox"/> 嗜睡 <input type="checkbox"/> 意识障碍 <input type="checkbox"/> 颈强直 <input type="checkbox"/> 肌张力降低 <input type="checkbox"/> 昏迷 <input type="checkbox"/> 恶心 <input type="checkbox"/> 呕吐 <input type="checkbox"/> 腹痛 <input type="checkbox"/> 腹泻 <input type="checkbox"/> 胃疼 <input type="checkbox"/> 便秘 <input type="checkbox"/> 其他_____

12. 有无并发症：☐有 ☐无
 如有，请选择（可多选）：☐脑膜炎 ☐脑炎 ☐癫痫 ☐神经系统后发症
☐急性肺损伤/ARDS ☐急性肾损伤 ☐癫痫 ☐继发细菌性肺炎 ☐其他_____

13. 脑部磁共振(MRI)检查是否有影像学特征：☐有 ☐无 ☐未检查
 如检查，检查日期____年__月__日

14. 出院日期：____年__月__日

三、就诊情况

就诊日期	就诊医院名称	入院日期	出院日期	备注

四、危险因素与暴露史

15. 是否为以下特定职业人群：☐否 ☐医务人员 ☐蝙蝠等宿主动物接触人员
☐猪、马等养殖人员 ☐果园或果汁生产加工人员 ☐其他_____
 如为医务人员，请选择具体工作性质：
☐医生 ☐护士 ☐疾控流调或采样人员 ☐实验室检测人员 ☐其他_____

16. 是否为孕妇：☐是，孕周____ ☐否

17. 既往病史和基本情况（可多选）：☐无 ☐有
 如有，请选择（可多选）：
☐高血压 ☐糖尿病 ☐心脑血管疾病 ☐哮喘
☐慢性肺部疾病（☐慢性阻塞性肺部疾病，☐其他_____）
☐肿瘤（☐肺癌 ☐其他_____）
☐慢性肾病 ☐慢性肝病 ☐免疫缺陷类疾病 ☐产后（6周以内）☐其他_____

发病或检测阳性前 14 天内是否有以下暴露史或接触史：

18. 是否有境外疫情国家或地区的旅行史或居住史：☐旅行史 ☐居住史 ☐否
 如有，请填写国家或地区：_____

19. 是否曾到过境内有病例报告的地区：☐旅行史 ☐居住史 ☐否
 如有，请填写：_____省 _____地（市） _____县（区）

20. 是否接触过境内有病例报告社区的发热和/或呼吸道/或神经系统症状的患者：
☐是 ☐否 ☐不清楚

21. 是否接触过境外有疫情国家或地区的发热和/或呼吸道/或神经系统症状的患者：
☐是 ☐否 ☐不清楚

22. 是否曾有确诊病例或无症状感染者的接触史：☐是 ☐否 ☐不清楚

五、共同暴露者健康状况

23. 患者同一家庭/工作单位/入境同行人员等有无聚集性发病：☐有 ☐无 ☐不清楚

如有，请填写以下信息：

家中人口数：____人，出现类似症状者：____人；

工作单位所在部门人数：____人，出现类似症状者：____人；

入境同行人员数：____人，出现类似症状者：____人。

请将出现类似症状的家庭成员/同事/入境同行人员的相关情况填入下表：

姓名	与患者关系	性别	年龄	发病日期	就诊情况	采样日期	备注

六、实验室检测

标本类型		采样时间	检测时间	检测结果
脑脊液				
尿液				
粪便/肛拭子				
上呼吸道 标本	咽拭子			
	鼻拭子			
	鼻咽拭子			
下呼吸道 标本	气管分泌物			
	气管吸取物			
	肺泡灌洗液			
血标本	核酸检测			
	IgM			
	IgG			
	IgM+IgG			
	IgG 4 倍及以上升高*			
其他_____（填写标本名称）				

*如果恢复期血标本 IgG 4 倍及以上升高，则检测结果处选择阳性。

七、基因测序

24. 是否进行基因测序：☐是 ☐否 ☐不清楚

调查单位：_____

调查者签名：_____

调查日期：____年__月__日

附件 2

尼帕病毒实验室检测技术方案

尼帕病毒（Nipah virus, NiV）属于副粘病毒科（Paramyxoviridae）亨尼帕病毒属（Henipavirus）的成员，病毒颗粒呈多形性，直径 150-300nm，最外层为脂蛋白包膜，核衣壳呈螺旋对称。基因组为单股负链 RNA，全长约 18.2kb。尼帕病毒只有一个血清型，根据病毒基因组序列特征可分为 M 亚型（马来西亚亚型）和 B 亚型（孟加拉亚型）。

尼帕病毒的检测方法包括病毒核酸检测、抗体检测（IgM、IgG 和中和抗体等）和病毒分离等。由于尼帕病毒的高致病性，病毒的分离培养需要在生物安全四级（BSL-4）实验室进行，采集的病毒相关样本的实验室检测需要在生物安全三级（BSL-3）实验室灭活后方可进行。

一、检测对象

1. 疑似病例、确诊病例及其密切接触者。
2. 涉疫地区的媒介生物（果蝠、猪等）和食品（猪肉制品、水果蔬菜等）；原产地近期涉疫的进口食品（猪肉制品、水果蔬菜等）。

二、技术人员基本要求

- （一）采样人员。

从事尼帕病毒实验室检测的标本采集技术人员应当经过生物安全培训（培训合格），熟悉标本种类和采集方法，熟练掌握标本采集操作流程及注意事项，做好标本信息的记录，确保标本质量符合要求、标本及相关信息可追溯。

（二）检测人员。

实验室检测技术人员应当经过生物安全培训（培训合格），熟悉标本种类、标本处理和相应的检测技术，以保证及时、熟练地进行实验和报告结果，保证结果的准确性。

三、标本采集、保存和运输

（一）病例标本采集。

对怀疑感染尼帕病毒的患者，要尽早采集脑脊液、血液、尿液、鼻拭子和咽拭子。

1. 脑脊液标本。

脑脊液标本由临床医师以无菌手续对腰椎穿刺抽取，然后留取脑脊液标本于3个无菌试管中，每个试管1~2ml。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管用于本地/本省生物安全三级（BSL-3）实验室检测，2管用于上级疾病预防控制机构复核。

2. 血液标本。

血液标本由临床医师用无菌真空干燥管，采集患者非抗凝血3管，每管5ml。采集完成，标记清楚后及时置于4~8℃冰箱低温暂存，待血清析出后及时置于-20~-80℃冰箱冻存。其中1管

用于本地/本省生物安全三级（BSL-3）实验室检测，2 管用于上级疾病预防控制机构复核。对病例应尽可能采集双份血液标本，两份标本之间相隔 14 天为宜，住院病例可于入院当天和出院前 1 天各采集一份。

3. 鼻拭子、咽拭子。

采样人员按照标准操作，对每一位被采集人员采集 3 份样本，分别保存于带螺旋盖、内有垫圈的含 2~3ml 病毒保存液的采集管中。其 1 管用于本地/本省生物安全三级（BSL-3）实验室检测，其余 2 管用于上级疾病预防控制机构复核。

4. 尿液标本。

采集尿液标本 15ml，分装 3 管（各 5ml），保存至带螺旋盖、内有垫圈的无菌 15ml 离心管。其中 1 管用于本地/本省生物安全三级（BSL-3）实验室检测，2 管用于上级疾病预防控制机构复核。

（二）果蝠、猪、进口食品（猪肉制品、水果蔬菜）标本采集。

采集疫区所在地的果蝠唾液、尿液；疫区所在地养殖场生猪的鼻-咽拭子和血清。如果市场存在来自于国外疫区的进口冷冻猪肉制品、水果蔬菜，需要采集这些进口食品的表面。填写媒介标本采集信息表，按照采集地点、种类进行分装。

（三）标本保存、运送。

如标本能够在 24 小时内开展实验室检测，应将标本置于 2~8℃ 冰箱保存；不能及时检测的标本应尽快置于 -20~-80℃ 冰箱保

存。

标本运送时采用低温冷藏运输，避免冻融，样本运输应遵守国家关于一类病原体的相关生物安全规定。

四、实验室管理基本要求

（一）实验室资质要求。

开展核酸检测的实验室，应当符合《病原微生物实验室生物安全管理条例》（国务院令 第 424 号）和《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》（卫办医政发〔2010〕194 号）有关规定，具备经过卫生健康行政部门审核备案的生物安全三级（BSL-3）及以上实验室条件，以及临床基因扩增检验实验室条件。独立设置的医学检验实验室还应当符合《医学检验实验室基本标准（试行）》《医学检验实验室管理规范（试行）》等要求。

（二）实验室分区要求。

原则上开展尼帕病毒核酸检测的实验室应当设置以下区域：试剂储存和准备区、标本制备区、扩增和产物分析区。这 3 个区域在物理空间上应当是完全相互独立的，不能有空气的直接相通。各区的功能分别是：

1. 试剂储存和准备区：贮存试剂的制备、试剂的分装和扩增反应混合液的制备，以及离心管、吸头等消耗品的贮存和准备。

2. 标本制备区：转运桶的开启、标本的灭活，核酸提取及其加入至扩增反应管等。

3. 扩增和产物分析区：核酸扩增和产物分析。

根据使用仪器的功能，区域可适当合并。如采用标本处理、核酸提取及扩增检测为一体的自动化分析仪，标本制备区、扩增和产物分析区可合并。

（三）主要仪器设备。

实验室应当配备与开展检验项目相适宜的仪器设备，包括核酸提取仪、医用 PCR 扩增仪、生物安全柜、病毒灭活设备（如水浴锅等）、保存试剂和标本的冰箱和冰柜、离心机等。

五、实验室检测方法

尼帕病毒的检测方法包括病毒核酸检测、血清学检测和病毒分离等。尼帕病毒与亨尼帕病毒属（Henipavirus）其他病毒具有较强的血清学交叉反应，易产生假阳性。

（一）核酸检测。

实验室接到标本后，应当在生物安全三级（BSL-3）实验室中的生物安全柜内对标本进行清点核对，并对标本进行灭活处理。按照标准操作程序进行试剂准备、标本前处理、核酸提取、核酸扩增、结果分析及报告。实验室应当建立可疑标本和阳性标本复检的流程。

1. 试剂准备。

应当选择国家药品监督管理部门批准的试剂盒（国内暂无）或参考国际通用的尼帕病毒实验室检测方法。在选择标本保存液和核酸提取试剂时，使用试剂盒说明书上建议的配套试剂。核酸提取方法与标本保存液和灭活方式相关，有些核酸提取试剂（如

磁珠法或者一步法)，容易受到胍盐或保存液中特殊成分的影响，特别是一步法提取多需要使用试剂厂家配套的标本保存液。

2. 标本前处理。

已经使用含胍盐的灭活型标本保存液的实验室，这一环节无需进行灭活处理，直接进行核酸提取，而使用非灭活型标本保存液的实验室，则有 56℃ 孵育 30 分钟热灭活、化学灭活的处理方式。

3. 核酸提取。

将灭活后的标本取出，在生物安全柜内打开标本采集管加样。核酸提取完成后，立即将提取物进行封盖处理。在生物安全柜内将提取核酸加至核酸检测反应体系中。

4. 核酸检测方法一（实时荧光定量 RT-PCR 方法）。

本方法是由世界动物卫生组织（World Organisation for Animal Health, OIE）推荐，适用于各类临床和环境标本，通过 TaqMan 实时荧光定量 RT-PCR 方法对提取的标本核酸进行尼帕病毒实验室检测。

4.1 引物、探针序列。

尼帕病毒特异性引物和探针序列见表 1，检测的靶基因是尼帕病毒的 N 基因。

表 1 尼帕病毒实时荧光定量 RT-PCR 引物及探针信息表（1）

检测名称	引物/探针类型	序列（5'—3'）
NiV_TQM_N	上游引物	TCA-GCA-GGA-AGG-CAA-GAG-AGT-AA
	下游引物	CCC-CTT-CAT-CGA-TAT-CTT-GAT-CA
	荧光探针	FAM-CCT-CCA-ATG-AGC-ACA-CCT-CCT-GCA-G-TAMRA

4.2 反应条件。

反应条件根据实验室具体使用的商业化 Realtime RT-PCR 试剂盒为准，以 QIAGEN 公司 OneStep RT-PCR 试剂盒为例。核酸扩增检测的反应体系配制见表 2，反应程序见表 3。每次检测均需配制阳性对照和阴性对照作为实验室检测质控。

表 2 尼帕病毒实时荧光定量 RT-PCR 反应体系（1）

试剂类型	工作浓度	体积
5×OneStep RT-PCR Buffer	5×	5 μL
dNTP Mix	每种 dNTP 各 10 mM	1 μL
OneStep RT-PCR Enzyme Mix	-----	1 μL
上游引物	10 μM	1 μL
下游引物	10 μM	1 μL
探针	5 μM	1 μL
待测样本核酸/阳性对照/阴性对照	-----	1~5 μL
无核酶水	-----	补至 25 μL
总体积		25 μL

表 3 尼帕病毒实时荧光定量 RT-PCR 反应程序（1）

步骤	反应条件	循环数
1. 反转录阶段	50℃，30 分钟	无循环
（Reverse Transcription）	95℃，15 分钟	
2. 扩增阶段	95℃，30 秒	40 循环
	55℃，30 秒	
（Polymerase Chain Reaction）	72℃，60 秒，读取荧光信号	

4.3 检测结果判读。

尼帕病毒核酸实时荧光定量 RT-PCR 方法实验室检测有效性判读条件：（1）阳性对照 Ct 值<35；（2）阴性对照无 Ct 值（无扩增曲线）。同时满足上述两个条件，实验室检测结果有效；上述任一条件不满足，实验室检测结果无效。

待测标本核酸实验室检测结果判读：（1）待测标本 Ct 值<35，标本为尼帕病毒阳性；（2）待测标本 Ct 值>38，标本为尼帕病毒阴性；（3）待测标本 Ct 值≥35 且 Ct 值≤38，标本需要再次提

取核酸进行复核检测。

5. 核酸检测方法二（实时荧光定量 RT-PCR 方法）。

本方法是由中国疾病预防控制中心推荐，适用于各类临床和环境标本，通过 TaqMan 实时荧光定量 RT-PCR 方法对提取的标本核酸进行尼帕病毒实验室检测。

5.1 引物、探针序列。

尼帕病毒特异性引物和探针序列见表 4，检测的靶基因是尼帕病毒的 N 基因。

表 4 尼帕病毒实时荧光定量 RT-PCR 引物及探针信息表（2）

检测名称	引物/探针类型	序列（5'—3'）
NiV_IVDC	上游引物	GAAC TAACAT TTTTGC ACTTGATGTG
	下游引物	GTGTAAAAGCAGCTCCA ACTTTC
	荧光探针	HEX- ATCTCCGAGTGCWG CCGAGTCAA -BHQ1

5.2 反应条件。

反应条件根据实验室具体使用的商业化 Realtime RT-PCR 试剂盒为准，以 Thermo 公司 TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix 试剂盒为例。核酸扩增检测的反应体系配制见表 5，反应程序见表 6。每次检测均需配制阳性对照和阴性对照作为实验室检测质控。

表 5 尼帕病毒实时荧光定量 RT-PCR 反应体系（2）

试剂类型	工作浓度	体积
4×TaqPath™ 1-Step Multiplex Master Mix	4×	5 μL
上游引物	10 μM	1 μL
下游引物	10 μM	1 μL
探针	5 μM	1 μL
待测样本核酸/阳性对照/阴性对照	-----	1~5 μL
无核酶水	-----	补至 20 μL
总体积		20 μL

表 6 尼帕病毒实时荧光定量 RT-PCR 反应程序 (2)

步骤	反应条件	循环数
1. 反转录阶段 (Reverse Transcription)	25℃, 2 分钟	无循环
	50℃, 10 分钟	
	95℃, 2 分钟	
2. 扩增阶段 (Polymerase Chain Reaction)	95℃, 15 秒	40 循环
	60℃, 60 秒, 读取荧光信号	

5.3 检测结果判读。

尼帕病毒核酸实时荧光定量 RT-PCR 方法实验室检测有效性判读条件：(1) 阳性对照 Ct 值 <35 ；(2) 阴性对照无 Ct 值（无扩增曲线）。同时满足上述两个条件，实验室检测结果有效；上述任一条件不满足，实验室检测结果无效。

待测标本核酸实验室检测结果判读：(1) 待测标本 Ct 值 <35 ，标本为尼帕病毒阳性；(2) 待测标本 Ct 值 >38 ，标本为尼帕病毒阴性；(3) 待测标本 Ct 值 ≥ 35 且 Ct 值 ≤ 38 ，标本需要再次提取核酸进行复核检测。

(二) 血清学检测方法

尼帕病毒可与亨尼帕毒属其它病毒如亨德拉病毒产生血清学交叉反应，血清学检测易产生假阳性。目前尚无商业化血清学检测试剂盒。

(三) 病毒分离

病毒核酸阳性的标本进行病毒分离。分离出尼帕病毒是本病感染的确证性指标。

可用于尼帕病毒分离的标本包括且不限于病人血清、脑脊液、鼻拭子、咽拭子、尿液、脑组织和病猪的肺、肾等组织。

不同类型的标本需要采用适合的前处理的方法。对于组织标本，对其称重后，按照重量/体积比 (W/V) =10，加入 10 倍体积磷酸盐缓冲液 (PBS) 至标本中混匀后在组织研磨器匀浆破碎；对于血清标本，需加入 10 倍体积磷酸盐缓冲液 (PBS) 进行稀释；对于其它体液标本，不需要特别处理。

上述经过处理的各种标本，在进行尼帕病毒分离培养之前，需通过孔径为 0.22 μ m 的无菌滤器过滤，常规接种于 Vero 细胞中培养，当细胞发生病变形成合胞体时即可获得病毒。

目前已经从脑脊液、尿液、鼻咽腔分泌物中分离到该病毒，并且从不同部位分离到的病毒都表现为相同的基因组特征。尼帕病毒毒力高、传染性强，与其培养及扩增有关的实验均应在生物安全 4 级实验室 (BSL-4) 内进行。

六、生物安全

根据我国《人间传染的病原微生物名录》，尼帕病毒其危害程度分类属于第一类。病毒分离、培养等涉及活病毒的操作必须在生物安全四级实验室 (BSL-4) 进行；未经培养的感染材料的操作在生物安全三级实验室 (BSL-3) 进行；灭活材料可以在生物安全二级实验室 (BSL-2) 操作；无感染性材料可以在生物安全一级实验室 (BSL-1) 操作。活病毒动物实验必须在动物生物安全四级实验室进行 (ABSL-4)。所有操作应严格按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》等相关规定要求进行，从事尼帕病毒相关材料实验室操作的人员应根据暴露风险评估结果。

病毒培养物的运输应满足国际民航组织文件《危险品航空安全运输技术细则》（Doc9284 号）A 类感染性物质的包装要求，对应的联合国编号为 UN2814；未经培养的感染性材料运输时应满足 B 类感染性物质的包装要求，对应的联合国编号为 UN3373。开展相关运输活动须按照《可感染人类的高致病性病原微生物菌（毒）种或样本运输管理规定》（中华人民共和国原卫生部令第 45 号）进行审批后，方可实施运输。

附件 3

尼帕病毒个人防护工作方案

诊治或护理病例的医务人员、采集和处理病例标本的人员、对病例可能污染的物品或环境进行消毒处理的人员等都应严格做好个人防护。

一、防护装备

1. 手套

进入污染区域或进行诊疗操作时，根据工作内容，佩戴一次性使用橡胶或丁腈手套，在接触不同患者或手套破损时及时消毒，更换手套并进行手卫生。

2. 医用防护口罩

进入污染区域或进行诊疗操作时，应佩戴医用防护口罩或动力送风过滤式呼吸器，每次佩戴前应做佩戴气密性检查，穿戴多个防护用品时，务必确保医用防护口罩最后摘除。

3. 防护面屏或护目镜

进入污染区域或进行诊疗操作，眼睛、眼结膜及面部有被血液、体液、分泌物、排泄物及气溶胶等污染的风险时，应佩戴防护面屏或护目镜，重复使用的护目镜每次使用后，及时进行消毒干燥，备用。

4. 防护服

进入污染区域或进行诊疗操作时，应更换个人衣物并穿工作

服（外科刷手服或一次性衣物等），外加防护服。

二、个人防护

1. 隔离病区及医学观察场所工作人员

建议穿戴工作服、一次性工作帽、一次性手套、防护服、医用防护口罩或动力送风过滤式呼吸器、防护面屏或护目镜、工作鞋或胶靴、防水靴套等。

2. 病例转运人员

建议穿戴工作服、一次性工作帽、一次性手套、防护服、医用防护口罩或动力送风过滤式呼吸器、防护面屏或护目镜、工作鞋或胶靴、防水靴套等。

3. 环境清洁消毒人员

建议穿戴工作服、一次性工作帽、一次性手套和长袖加厚橡胶手套、防护服、KN95/N95 及以上颗粒物防护口罩或医用防护口罩或动力送风过滤式呼吸器、防护面屏、工作鞋或胶靴、防水靴套、防水围裙或防水隔离衣，使用动力送风过滤式呼吸器时，根据消毒剂种类选配尘毒组合的滤毒盒或滤毒罐，做好消毒剂等化学品的防护。

4. 标本采集人员

建议穿戴工作服、一次性工作帽、双层手套、防护服、KN95/N95 及以上颗粒物防护口罩或医用防护口罩或动力送风过滤式呼吸器、防护面屏、工作鞋或胶靴、防水靴套。必要时，可加穿防水围裙或防水隔离衣。

5. 实验室工作人员

建议至少穿戴工作服、一次性工作帽、双层手套、防护服、KN95/N95 及以上颗粒物防护口罩或医用防护口罩或动力送风过滤式呼吸器、防护面屏或护目镜、工作鞋或胶靴、防水靴套。必要时，可加穿防水围裙或防水隔离衣。

6. 流行病学调查人员

对疑似和确诊病例调查时，建议穿戴工作服、一次性工作帽、一次性手套、防护服、KN95/N95 及以上颗粒物防护口罩或医用防护口罩、防护面屏或护目镜、工作鞋或胶靴、防水靴套等。

对密切接触者调查时，穿戴一次性工作帽、医用外科口罩、工作服、一次性手套，与被调查对象保持 1 米以上距离。

三、注意事项

1. 脱卸时尽量少接触污染面。

2. 医务人员包括参与现场工作的所有人员在日常工作中均应严格采取手卫生措施，脱卸防护装备的每一步均应进行手消毒，所有防护装备全部脱完后再次洗手、手消毒。

3. 脱下的防护眼罩、长筒胶鞋等非一次性使用的物品应直接放入盛有消毒液的容器内浸泡；其余一次性使用的物品应放入黄色医疗废物收集袋中作为医疗废物集中处置。

附件 4

尼帕病毒消毒工作方案

按照医疗机构相关标准规范，在做好诊疗器械的清洗消毒灭菌的同时，加强病房、门诊等院内环境的随时消毒和病例居住或活动过的场所等的终末消毒。

一、消毒范围和消毒对象

根据流行病学调查结果，确定现场消毒的范围和对象。对病例住院、转运期间可能污染的环境和物品，进行随时消毒。对病例居住或活动过的场所，如居所、工作学习场所、诊疗场所、转运工具，及其他可能受到污染的场所，在其离开后（如住院、转院、出院、死亡），进行终末消毒。

二、消毒方法选择

（一）医疗机构消毒。

复用诊疗用品应首选压力蒸汽灭菌，不耐热物品可选择化学消毒剂或低温灭菌设备进行消毒或灭菌。

（二）环境物体表面消毒。

可选择含氯消毒剂、二氧化氯、过氧乙酸、过氧化氢等消毒剂擦拭、喷洒或浸泡消毒。

（三）手消毒。

使用速干手消毒剂进行擦拭消毒，也可选择碘伏、过氧化氢等消毒剂。

三、消毒种类

（一）随时消毒。

对病例住院和转运期间，病例的排泄物、呕吐物、体液及其污染的环境和物品，及时进行随时消毒，所用消毒产品应符合国家卫生健康部门管理要求。

（二）终末消毒。

应确保终末消毒后的场所及其中的各种物品不再有病原体的存在。

1. 病家。在病例住院或死亡后，应对其居所进行终末消毒，包括：地面、墙壁等环境表面，桌、椅等家具表面，玩具，开关、门把手等高频接触部位，患者使用的餐（饮）具、衣服、被褥等生活用品等。

2. 医疗机构。在病例出院、转院或死亡后，应对患者衣服等生活用品、相关诊疗用品和桌、椅、床单进行终末消毒；病房无病人后，应对地面、墙壁、卫生间等所有环境和物品进行终末消毒。

3. 交通运输工具。病例离开后，应对交通运输工具进行终末消毒，包括：舱室内壁、座椅、卧铺、桌面等物体表面，患者使用的餐（饮）具，所用寝（卧）具等纺织品，排泄物、呕吐物及其污染的物品和场所，卫生间等。

四、常见污染对象的消毒方法

（一）污染物（患者血液、分泌物和呕吐物）。

少量污染物可用一次性吸水材料（如纱布、抹布等）沾取有效氯 5000mg/L-10000mg/L 的含氯消毒液（或能达到高水平消毒的消毒湿巾/干巾）小心移除。大量污染物应使用含吸水成分的消毒粉或漂白粉完全覆盖，或用一次性吸水材料完全覆盖后用足量的有效氯 5000mg/L-10000mg/L 的含氯消毒液浇在吸水材料上，作用 30 分钟以上（或能达到高水平消毒的消毒干巾），小心清除干净。清除过程中避免接触污染物，清理的污染物按医疗废物集中处置。

患者的分泌物、呕吐物等应有专门容器收集，用有效氯 20000 mg/L 的含氯消毒剂，按物、药比例 1:2 浸泡消毒 2 小时。清除污染物后，应对污染的环境物体表面进行消毒。盛放污染物的容器可用有效氯 5000mg/L 的含氯消毒剂溶液浸泡消毒 30 分钟，然后清洗干净。

（二）粪便和污水。

具有独立化粪池时，在进入市政排水管网前需进行消毒处理，定期投加含氯消毒剂，池内投加含氯消毒剂（初次投加，有效氯 40mg/L 以上），并确保消毒 1.5 小时后，总余氯量达 6.5mg/L-10mg/L。消毒后污水应当符合《医疗机构水污染物排放标准》（GB18466-2005）。无独立化粪池时，使用专门容器收集排泄物，消毒处理后排放。用有效氯 20000mg/L 的含氯消毒液，按粪、药比例 1:2 浸泡消毒 2 小时；若有大量稀释排泄物，应用含有效氯 70%-80%漂白粉精干粉，按粪、药比例 20:1 加药后充分搅匀，消毒 2 小时。农村旱厕消毒时，旱厕内泥土或木板等地面可

采用有效氯 2000mg/L 的含氯消毒剂溶液喷洒消毒，喷药量 200mL/m²-300mL/m²。粪坑内粪便可用漂白粉或生石灰覆盖，封闭 14 天以上。

（三）地面、墙壁。

有肉眼可见污染物时，应先完全清除污染物再消毒。无肉眼可见污染物时，可用有效氯 1000mg/L 的含氯消毒液或 500mg/L 的二氧化氯消毒剂擦拭或喷洒消毒。地面消毒先由外向内喷洒一次，喷药量为 100mL/m²-300mL/m²，待室内消毒完毕后，再由内向外重复喷洒一次。消毒作用时间应不少于 30 分钟。

（四）物体表面。

诊疗设施设备表面以及床围栏、床头柜、家具、门把手、家居用品等有肉眼可见污染物时，应先完全清除污染物再消毒。无肉眼可见污染物时，用有效氯 1000mg/L 的含氯消毒液或 500mg/L 的二氧化氯消毒剂进行喷洒、擦拭或浸泡消毒，作用 30 分钟后清水擦拭干净。

（五）衣服、被褥等纺织品。

在收集时应避免产生气溶胶，建议均按医疗废物集中处理。无肉眼可见污染物时，若需重复使用，可用流通蒸汽或煮沸消毒 30 分钟；或先用有效氯 500mg/L 的含氯消毒液浸泡 30 分钟，然后按常规清洗；或采用水溶性包装袋盛装后直接投入洗衣机中，同时进行洗涤消毒 30 分钟，并保持 500mg/L 的有效氯含量；怕湿的衣物可选用环氧乙烷或干热方法进行消毒处理。

（六）手消毒。

参与现场工作的所有人员均应加强手卫生措施，可选用速干手消毒剂，或直接用 75%乙醇进行擦拭消毒；醇类过敏者，可选择季铵盐类等有效的非醇类手消毒剂；特殊条件下，也可使用 3%过氧化氢消毒剂、0.5%碘伏或 0.05%含氯消毒剂等擦拭或浸泡双手，并适当延长消毒作用时间。有肉眼可见污染物时，应先使用洗手液在流动水下洗手，然后按上述方法消毒。

（七）皮肤、粘膜。

皮肤被污染物污染时，应立即清除污染物，再用一次性吸水材料沾取 0.5%碘伏或过氧化氢消毒剂擦拭消毒 3 分钟以上，使用清水清洗干净；粘膜应用大量生理盐水冲洗或 0.05%碘伏冲洗消毒。

（八）餐（饮）具。

餐（饮）具清除食物残渣后，煮沸消毒 30 分钟，也可用有效氯 500mg/L 的含氯消毒液浸泡 30 分钟后，再用清水洗净。

（九）交通运输和转运工具。

应先进行污染情况评估：火车、汽车和轮船有可见污染物时，应先使用一次性吸水材料沾取有效氯 5000mg/L-10000mg/L 的含氯消毒液（或能达到高水平消毒的消毒湿巾/干巾）完全清除污染物，再用有效氯 1000mg/L 的含氯消毒液或 500mg/L 的二氧化氯消毒剂进行喷洒或擦拭消毒，作用 30 分钟后清水擦拭干净；对飞机机舱消毒时，消毒剂种类和剂量按中国民航的有关规定进行。织

物、坐垫、枕头和床单等建议按医疗废物集中处理。

（十）患者生活垃圾。

患者生活垃圾按医疗废物处理。

（十一）医疗废物。

医疗废物的处置应遵循《医疗废物管理条例》和《医疗卫生机构医疗废物管理办法》的要求，规范使用双层黄色医疗废物收集袋封装后按照常规处置流程进行处置。

（十二）尸体处理。

患者死亡后，要尽量减少尸体移动和搬运，并由经培训的工作人员在严密防护下及时进行处理。用浸有消毒液的双层布单包裹尸体，装入双层尸体袋中，由民政部门派专用车辆直接送至指定地点尽快火化。

抄送：国家卫生健康委办公厅、国家卫生健康委卫生应急办公室、国家疾病预防控制中心、国家卫生健康委疾病预防控制中心，病毒病预防控制所、办公室。

中国疾病预防控制中心办公室

2021 年 11 月 7 日印发

校对：王亚丽