ICS 11.020
C59
23218—2008

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS 217—2008
代替 WS 217—2001

急性出血性结膜炎诊断标准

Diagnostic criteria for acute hemorrhagic conjunctivitis

2008-02-28 发布　　2008-09-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前　言

根据《中华人民共和国传染病防治法》制定本标准。

本标准代替 WS 217—2001《急性出血性结膜炎诊断标准及处理原则》，自本标准实施之日起，WS 217—2001 废止。

本标准与 WS 217—2001 相比主要变化如下：

——增加了病原学、流行病学、病毒微量中和实验鉴定技术、病毒快速鉴定技术（间接免疫荧光实验）、鉴别诊断及参考文献。

——删除了处理原则和治疗方法。

本标准的附录 A 是资料性附录，附录 B 是规范性附录。

本标准由卫生部传染病标准专业委员会提出。

本标准由中华人民共和国卫生部批准。

本标准起草单位：首都医科大学附属北京同仁医院、北京市疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：张风、金秀英、孙旭光、张文华、丁丽新。

本标准所代替的历次版本为：

——WS 217—2001。

急性出血性结膜炎诊断标准

1 范围

本标准规定了急性出血性结膜炎的诊断依据、诊断原则、诊断和鉴别诊断。

本标准适用于全国各级医疗卫生机构及其工作人员对急性出血性结膜炎的诊断、报告。

2 诊断依据

2.1 流行病学史

2.1.1 本病易导致流行或暴发流行，以夏秋季常见，流行期间无季节性。

2.1.2 患者多有明显的接触感染史，通过眼→手、物、水→眼的途径接触传染。

2.2 临床表现

2.2.1 临床症状

潜伏期短，起病急剧，自觉症状明显，双眼先后或同时患病；有剧烈的异物感、眼红、眼刺痛、畏光、流泪等刺激症状；早期分泌物为水性，重者带淡红色，继而为黏液性(参见附录 A)。

2.2.2 体征

眼睑红肿，睑、球结膜中、高度充血，多伴结膜下点、片状出血。早期角膜上皮点状剥脱，荧光素染色后裂隙灯检查可见角膜弥漫散在细小点状着染。

2.3 实验室检测

2.3.1 结膜细胞学检查见单个核细胞反应为主。

2.3.2 结膜拭子涂擦或结膜刮取物培养分离出病毒，并应用微量中和实验鉴定为 EV70 或 CA24v(见 B.1)。

2.3.3 结膜细胞涂片或细胞培养物涂片间接免疫荧光技术检测，查见 EV70 或 CA24v 抗原(见 B.2)。

2.3.4 双相血清学检查，患者恢复期血清抗 EV70 或抗 CA24v 抗体比急性期血清抗体滴度升高≥4 倍(见 B.3)。

3 诊断原则

根据流行病学史、临床症状、体征，结合结膜细胞学检查作出临床诊断。临床诊断结合病原学检查或血清学检查作出确诊。

4 诊断

4.1 疑似病例

同时符合 2.1、2.2 者；

4.2 临床诊断病例

同时符合 2.1、2.2 和 2.3.1 项者；

4.3 确诊病例

同时符合 2.1、2.2 以及 2.3.2、2.3.3、2.3.4 中任何一项者。

5 鉴别诊断

本病尚需与流行性角结膜炎、急性卡他性结膜炎、衣原体性结膜炎相鉴别(参见 A.4)。

附 录 A
（资料性附录）
急性出血性结膜炎的临床诊断

A.1 病原学

A.1.1 肠道病毒 70 型（enterovirus type 70，EV70）和柯萨奇病毒（Coxsackie virus）A 组 24 型变种（CA24v）是急性出血性结膜炎的病原体。

A.1.2 EV70 属微小核糖核酸（ribonucleic acid，RNA）病毒科，具有肠道病毒的理化及生物学特性。病毒呈球形，直径 22nm～30nm，基因组为单链 RNA，蛋白外壳呈对称排列的 20 面体，无包膜。病毒在敏感细胞胞浆内繁殖。EV70 的分离培养需用人胚肾细胞、人胚结膜组织或 HeLa 细胞，较难分离。不同流行期病毒基因常有变异，可引起世界范围大流行。

A.1.3 CA24v 也属微小 RNA 病毒科，生物学特性基本同 EV70，可用 HeLa 细胞等多种传代细胞培养，易分离。曾引起亚洲、中南美等地区大流行。

A.1.4 EV70 和 CA24v 均耐酸、耐乙醚、耐碘苷。75%的乙醇是有效的消毒剂。

A.2 流行病学

A.2.1 1969 年本病首次暴发流行于非洲加纳，之后相继发生多次大流行，波及非洲、亚洲、欧洲、美洲等地的数百万人群。病原体分别为 EV70 和 CA24v。2002 年又在韩国暴发流行，已证实病原体为 CA24v。我国于 1971 年首次暴发流行，并于 1975 年、1979 年、1981 年、1984 年多次小规模流行，病原体主要为 EV70；1986 年、1988 年和 1994 年的流行主要为 CA24v 感染。

A.2.2 本病易在人口稠密、卫生条件差的地区流行。患者眼部分泌物及泪液均含有病毒，为本病的主要传染源，通过眼→手、物、水→眼的途径接触传染，发病后 2 周内传染性最强，人群普遍易感，疫后 7 年～8 年内人群有一定免疫力，之后可再次感染。

A.3 临床表现

A.3.1 潜伏期很短，数小时至 48 小时，一般为 12 小时～24 小时。起病急，常双眼先后或同时发病，自觉症状很快加重，眼红、刺痛、异物感，伴畏光、流泪及水样分泌物，有时为血性分泌物。

A.3.2 检查可见眼睑及结膜水肿，睑、球结膜中、高度充血，常见点、片状结膜下出血，出血最早多出现于颞上近穹隆部球结膜，易融合成片但吸收快。早期即出现角膜上皮多发性点状剥脱，少见上皮下浸润。睑结膜、穹隆部结膜可见滤泡增生，偶见假膜形成。

A.3.3 耳前淋巴结常肿大，有压痛。

A.3.4 自然病程 7 日～10 日，炎症渐消退，可自愈。抗菌药物治疗无效。

A.3.5 少数患者可发生前葡萄膜炎，一般无后遗症。部分患者可出现上呼吸道感染症状。极个别患者可出现神经系统症状，如下肢弛缓性麻痹、面神经麻痹等。

A.4 鉴别诊断

A.4.1 流行性角结膜炎

常由腺病毒 8、19、37 等亚型感染引起。潜伏期 5 日～12 日，接触传染，传染性强，可暴发或小范围流行，常年均可见散发病例。可先有上呼吸道感染、发热史。结膜明显充血、水肿，滤泡增生，少数可引起不同程度的结膜下出血。水样分泌物，常伴假膜形成。耳前淋巴结肿大。起病 7 日～10 日内，出现浅层点状角膜炎，2 周左右角膜中央出现数目不等的上皮下圆形浸润斑点，影响视力。角膜损害可持续

数月或数年后消失或遗留云翳。

A.4.2 急性卡他性结膜炎

由细菌感染引起，潜伏期1日～2日，常见的致病菌为肺炎链球菌、Koch-Weeks杆菌、流感嗜血杆菌、金黄色葡萄球菌等。属接触传染，表现为结膜充血、水肿，黏液脓性分泌物，一般不波及角膜。如由Koch-Weeks杆菌或肺炎链球菌感染，结膜可出现小点状出血。

A.4.3 衣原体性结膜炎

由衣原体感染引起的急性滤泡性结膜炎，潜伏期3日～4日。表现为眼睑红肿、结膜高度充血、乳头增生、穹隆部布满滤泡。另外也可通过成人衣原体性生殖泌尿系感染的分泌物或污染的游泳池水引起。病程持续数周至数月。

附 录 B
（规范性附录）
急性出血性结膜炎的实验室检测

B.1 病毒的分离与鉴定

B.1.1 标本的采集、运送和保存

B.1.1.1 患眼结膜囊泪液、分泌物是分离 EV70、CA24v 的主要标本。标本采集应在起病 1 日～3 日以内。

B.1.1.2 用灭菌棉拭子涂擦翻转的上、下睑结膜并拭取泪液立即投入装有灭菌生理盐水或 Eagle 液或 0.5%水解乳蛋白 Hanks 液 2mL 的小试管中，贴好标签，置冰壶内携至实验室或低温（－20℃～－70℃）冻存。

B.1.2 病毒分离

B.1.2.1 取出标本，无菌条件下揉洗棉拭子，压挤出标本液，加 10%青霉素、链霉素（原浓度青霉素、链霉素各 1 万 U/mL），置 4℃作用 4 小时后用作病毒分离。

B.1.2.2 细胞培养用生长单层的 HeLa 细胞或人胚肺二倍体细胞或其他敏感细胞，生长液为 10%牛血清 Eagle 液，含青霉素 100U/mL，链霉素 100U/mL，pH 7.2～7.4。

B.1.2.3 倾去细胞管内生长液。每细胞管接种标本液 0.2mL 吸附 10 分钟。每份标本液接种 4 个细胞管。加维持液（含 2%牛血清的 Eagle 液，pH 7.2～7.4）0.8mL/管。余标本液置－20℃或－70℃冻存。细胞对照管 4 管，每管加维持液 1.0mL。37℃温箱静置培养。每日光学显微镜下观察细胞病变。3 日～4 日更换维持液一次，连续观察 7 日。

B.1.2.4 细胞管出现细胞病变，表现为细胞圆缩、分散、胞浆内颗粒增加，最后细胞自管壁脱落，为分离阳性结果。细胞病变达“＋＋＋～＋＋＋＋”时，将细胞收留冻存于－20℃或－70℃，备 $TCID_{50}$ 滴定及病毒鉴定。第 1 代培养见可疑细胞病变时继续传代，待细胞病变稳定出现后－20℃或－70℃冻存。第 1 代培养培养 7 日不出现细胞病变时连续盲传 2 代，如仍无细胞病变则为分离阴性结果。

B.1.3 病毒 $TCID_{50}$ 滴定

B.1.3.1 阳性细胞管冻融 3 次。2 000r/min 离心 10 分钟，吸取上清，加 Eagle 液 10 倍系列稀释为 10^{-1} 至 10^{-8} 病毒液，各加入细胞板内，每孔 25μL，每稀释度 4 孔细胞。

B.1.3.2 每孔加细胞悬液 25μL，同时设细胞对照（25μL 稀释液＋25μL 细胞悬液），37℃培养 7 日，观察细胞病变。

B.1.3.3 按 Reed-Muench 法计算出分离病毒株的 $TCID_{50}$。

B.1.4 病毒鉴定（微量中和实验）

B.1.4.1 将 EV70 或 CA24v 的标准血清稀释至 20 个单位（例如：血清效价为 1∶160 时，进行 1∶8 稀释）。

B.1.4.2 在 96 孔细胞培养板中每孔加入 20 个单位的标准抗血清 25μL 和 100 个 $TCID_{50}$ 病毒 25μL，37℃作用 1 小时，最后加入 HeLa 或其他敏感细胞悬液 25μL。同时设以下对照：

B.1.4.2.1 病毒滴度核实对照：第一孔加 100 个 $TCID_{50}$ 病毒 25μL，从第二孔开始进行倍比稀释病毒最后每孔加稀释液 25μL 及细胞悬液 25μL；

B.1.4.2.2 阳性对照：加 100 个 $TCID_{50}$ 病毒 25μL 、稀释液 25μL 和细胞悬液 25μL；

B.1.4.2.3 阴性对照：加稀释液 50μL 和细胞悬液 25μL；

B.1.4.2.4 阴性血清对照：每孔加 100 个 $TCID_{50}$ 病毒 25μL 、不含特异性抗体的血清 25μL 和细胞悬液 25μL；

B.1.4.2.5 将细胞板轻轻摇匀，37℃、5%CO_2 温箱培养 7 日。

B.1.4.3 观察细胞病变，以完全病变为判断标准，不发生细胞病变的证明其病毒能被标准血清所中和，以此鉴定病毒。

B.2 间接免疫荧光试验法

B.2.1 眼结膜细胞涂片

B.2.1.1 用棉拭子取结膜细胞，涂于清洁的玻片上，室温干燥，冷丙酮于 4℃固定 10 分钟。

B.2.1.2 一个患者标本作两个涂片，分别用抗 EV70 及抗 CA24v 单克隆抗体作间接免疫荧光试验，检查结膜细胞中的病毒抗原。

B.2.2 细胞培养物涂片

B.2.2.1 眼拭子标本接种于细胞培养管中，出现可疑细胞病变时，取其中一管用毛细吸管吹打下细胞，经 PBS 洗涤做细胞涂片，室温干燥，冷丙酮固定。

B.2.2.2 分别用抗 EV70 及抗 CA24v 单克隆抗体作间接免疫荧光试验检查病毒抗原，既可以确定分离是否为阳性，又可以及时鉴定出病毒型别。

B.2.3 间接免疫荧光试验法

B.2.3.1 上述结膜细胞涂片或病毒分离涂片，分别加适当稀释的抗 EV70 及抗 CA24v 单克隆抗体，将玻片置于 37℃湿盒内 30 分钟。

B.2.3.2 取玻片用 pH 7.2～7.4 的 PBS 洗涤 3 次，每次 3 分钟～5 分钟。

B.2.3.3 加适当稀释的抗鼠 IgG 荧光素结合物，置于 37℃湿盒内 30 分钟。

B.2.3.4 取出玻片，同上法用 P.B.S 洗涤 3 次，加 50%中性甘油 P.B.S 封片镜检，在荧光显微镜下细胞浆内见黄绿色荧光为阳性。

B.2.3.5 在实验中设阴性或阳性对照。

B.3 血清学检查

B.3.1 发病 1 日～3 日内采取患者急性期血清，发病后 2 周～4 周采取恢复期血清，分别－20℃冻存备检。

B.3.2 双份血清 1∶5 稀释，56℃，30 分钟灭活。

B.3.3 在 96 孔细胞培养板上将上述血清从 1∶5 开始倍比稀释至 1∶1 280，每孔量为 25μL。

B.3.4 每孔加 100 个 $TCID_{50}$ 病毒 25μL，37℃作用 1 小时，加细胞悬液 25μL，置 37℃、5% CO_2 温箱培养 7 日。以完全病变为判断标准，与哪型病毒中和即判断为该型病毒感染。

B.3.5 光学显微镜下观察细胞病变，以不产生细胞病变的血清最高稀释度的倒数为终点效价。

参 考 文 献

1. 金秀英. 眼科微生物学//李凤鸣. 眼科全书. 北京：人民卫生出版社，1996：492-493
2. 吴欣怡. 角结膜疾病学. 济南：山东科学技术出版社，2002：96
3. 徐锦堂，孙秉基，方海洲. 眼表疾病的基础理论与临床. 天津：天津科学技术出版社，2002：288
4. 张文华. 急性出血性结膜炎//杜平，朱关福，刘湘云. 现代临床病毒学. 北京：人民军医出版社，1991：651-653
5. 金秀英. 眼耳鼻喉临床病毒学//杜平，朱关福，刘湘云. 现代临床病毒学. 北京：人民军医出版社，1991：633-668
6. Maitreyi RS, Dar L, Muthukumar A, et al. Acute hemorrhagic conjunctivitis due to enterovirus 70 in India. Emerg Infect Dis, 1999, 5：267-269
7. Ghazali O, Chua KB, Ng KP, et al. An outbreak of acute haemorrhagic conjunctivitis in Melaka, Malaysia. Singapore Med J, 2003, 44：511-516
8. 沐桂藩，吕华，顾方舟. 免疫荧光试验在肠道病毒鉴定中的应用. 中国免疫杂志，1988(4)：307
9. 沐桂藩等. 柯萨奇病毒 A_{24} 变异株引起的急性出血性结膜炎快速诊断研究. 中华流行病学杂志，1990(11)：154
10. 张文华，范俊，郭玉华，等. ABC-McAb ELISA 和 BA-FA 技术 HSV 抗原及其在眼科临床诊断中的应用. 眼科研究，1992(10)：260-262

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

中华人民共和国
卫生行业标准
急性出血性结膜炎诊断标准
WS 217 — 2008
*
出版发行：人民卫生出版社（中继线 010-67616688）
地　　址：北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼
邮　　编：100078
网　　址：http://www.pmph.com
E - mail：pmph @ pmph.com
购书热线：010-67605754　010-65264830
印　　刷：北京新丰印刷厂
经　　销：新华书店
开　　本：880×1230　1/16　　印张：0.75
字　　数：22 千字
版　　次：2009 年 1月第 1 版　2009 年 1月第 1 版第 1 次印刷
书　　号：14117 · 206
定　　价：9.00 元
版权所有，侵权必究，打击盗版举报电话：010-87613394
（凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换）

WS 217—2008