

ICS 11.020

C59

备案号:25521—2009

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS 298—2008

甲型病毒性肝炎诊断标准

Diagnostic criteria of viral hepatitis A

2008-12-11 发布

2009-06-15 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。

按照国家质检总局、国家标准委公告(2005 年第 146 号),GB17010—1997《甲型病毒性肝炎诊断标准及处理原则》自本标准实施之日起废止。

本标准的附录 A 为规范性附录,附录 B 和附录 C 为资料性附录。

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:上海市疾病预防控制中心。

本标准主要起草人:袁政安、李燕婷、康来仪、巫善明、张曦、徐伟民。

甲型病毒性肝炎诊断标准

1 范围

本标准规定了甲型病毒性肝炎的诊断依据、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甲型病毒性肝炎的诊断、报告。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

甲型病毒性肝炎 viral hepatitis A

简称甲型肝炎,是由甲型肝炎病毒(hepatitis A virus, HAV)引起的以肝脏病变为主的急性传染病。

3 缩略语

HAV:甲型肝炎病毒。

ALT:丙氨酸氨基转移酶。

HRP:辣根过氧化物酶。

TBIL:血清总胆红素。

TMB:四甲基联苯胺。

抗-HAV:甲型肝炎病毒总抗体,主要为IgG抗体。

抗-HAV IgM:甲型肝炎病毒IgM抗体。

4 诊断依据

4.1 流行病学史(参见附录C的C.2)

发病前2周~7周内有不洁饮食史或不洁饮水史;或与甲型肝炎急性患者有密切接触史;或当地出现甲型肝炎暴发或流行;或有甲型肝炎流行区旅行史。

4.2 临床表现(详见附录C的C.3)

4.2.1 发热、乏力和纳差、恶心、呕吐或者腹胀、便秘等消化道症状。肝脏肿大,伴有触痛或叩痛。

4.2.2 有巩膜、皮肤黄染并排除其他疾病所致黄疸者。

4.3 实验室检查(见附录A、附录B)

4.3.1 血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)明显升高。

4.3.2 血清总胆红素(TBIL)大于正常上限数值一倍以上和(或)尿胆红素阳性。

4.3.3 血清学检测:抗-HAV IgM阳性或抗-HAV IgG双份血清呈4倍升高。

5 诊断原则

根据流行病学、临床症状、体征、实验室检查等进行综合分析和诊断。因为甲型肝炎的临床表现与其他急性病毒性肝炎极其相似,确诊依赖于特异性的血清学检查。

6 诊断标准

甲型肝炎分为急性无黄疸型和急性黄疸型。

6.1 临床诊断病例

6.1.1 甲型肝炎

符合下列一条即可诊断：

- 6.1.1.1 4.1 和 4.2 和 4.3.1；
- 6.1.1.2 4.1 和 4.2 和 4.3.1 和 4.3.2；
- 6.1.1.3 4.2 和 4.3.1；
- 6.1.1.4 4.2 和 4.3.1 和 4.3.2。

6.1.2 急性甲型肝炎(无黄疸型)

符合下列一条即可诊断：

- 6.1.2.1 4.1 和 4.2.1；
- 6.1.2.2 4.1 和 4.3.1；
- 6.1.2.3 4.2.1 和 4.3.1。

6.1.3 急性甲型肝炎(黄疸型)

符合下列一条即可诊断：

- 6.1.3.1 4.1 和 4.2.1 和 4.2.2 和 4.3.2；
- 6.1.3.2 4.1 和 4.2.2 和 4.3.1 和 4.3.2；
- 6.1.3.3 4.2.1 和 4.2.2 和 4.3.1 和 4.3.2。

6.2 确诊病例

6.2.1 甲型肝炎

临床诊断病例和 4.3.3。

6.2.2 急性甲型肝炎(无黄疸型)

临床诊断病例和 4.3.3。

6.2.3 急性甲型肝炎(黄疸型)

临床诊断病例和 4.3.3。

7 鉴别诊断

发病早期与上呼吸道感染、肠道感染和关节炎等区别,同时需与其他型别的病毒性肝炎、药物性肝炎、中毒性肝炎、传染性单核细胞增多症、钩端螺旋体病、巨细胞病毒性肝炎和阻塞性黄疸区别。

附 录 A
(规范性附录)
甲型病毒性肝炎抗体的检测

A.1 标本的采集、运送和保存

采集患者急性期和恢复期的血清于密闭螺旋口小管中,置冰壶内送至实验室或-20℃低温冻存待检。

A.2 急性甲型病毒性肝炎的血清学检测

以抗体捕捉酶联免疫吸附法检测 HAV 感染后血清抗-HAV IgM,采用的试剂盒应有国家食品药品监督管理局批准的生产文号。

A.2.1 原理

本方法采用抗人 IgM(μ 链)包被塑料微孔反应板,与加入待检血清中的抗-HAV IgM 结合,再与加入的 HAV 抗原特异性结合,以辣根过氧化物酶(HRP)标记的抗 HAV 抗体为示踪物,形成抗人 IgM、抗-HAV IgM、HAV Ag、HRP-抗 HAV 复合物,经与底物四甲基联苯胺(TMB)作用后呈现蓝色反应,加硫酸(H_2SO_4)中止反应后蓝色即变为黄色,为阳性结果。反之,待检血清中无抗-HAV IgM 时,则不形成复合物,经与底物作用后不显色,即为阴性结果。

A.2.2 操作步骤和结果判断

具体操作时按试剂盒说明对加样、洗板、显色和终止等步骤进行操作,并判断结果。

A.2.3 检测抗-HAV IgM 的意义

抗-HAV IgM 是 HAV 急性感染的血清学标志,血清抗-HAV IgM 阳性可作为急性甲型肝炎的诊断依据。

A.3 甲型肝炎病毒总抗体(抗-HAV)的检测

本标准要求以竞争抑制酶联免疫吸附法检测 HAV 感染后血清抗-HAV,采用的试剂盒有国家食品药品监督管理局批准的生产文号。

A.3.1 基本原理

本方法采用抗-HAV IgG 包被塑料微孔板,与加入的 HAV Ag 结合,然后加入的待检血清和 HRP-抗-HAV 竞争结合 HAV-Ag,如待检血清中有抗-HAV 时,即形成 HAV-Ag、抗-HAV 复合物,经与底物作用后呈现无色反应为阳性结果。

当待检血清中无抗-HAV 时,则形成 HAV Ag、HRP-抗-HAV 复合物,经与底物 TMB 作用后,呈现蓝色反应,加硫酸(H_2SO_4)中止反应后蓝色即变为黄色,为阴性结果。

A.3.2 操作步骤和结果判断

具体操作时按试剂盒说明对加样、洗板、显色和终止等步骤进行操作,并判断结果。

A.3.3 检测抗-HAV 的意义

抗-HAV 是 HAV 感染后产生的总抗体,主要为抗-HAV IgG,对 HAV 感染有免疫力。抗-HAV 阳性,表明有 HAV 既往感染史或免疫史;如果恢复期抗-HAV 滴度比急性期高 4 倍以上,为 HAV 现症感染的依据。

附录 B
(资料性附录)

甲型病毒性肝炎病毒分离及病毒核糖核酸检测

B.1 甲型肝炎病毒分离

B.1.1 样本的采集和保存

采集潜伏期或急性期早期的患者粪便、血清或其他样本于密闭塑料容器中,置冰壶内送至实验室或 $-20^{\circ}\text{C}\sim-80^{\circ}\text{C}$ 低温冻存待检。

B.1.2 样本处理

粪便及其他固体样本 10g 用 pH7.4 的 PBS(0.01mol/L)或用 Hank's 液制成 20% 的悬液,反复冻融 3 次后离心,取上清液进行无菌过滤,处理后的样本 -20°C 以下低温保存。

血清样本无菌过滤后 -20°C 以下低温保存。

B.1.3 病毒分离

最常用的是组织培养分离法。一般选用肺二倍体细胞或非洲绿猴肾细胞(FRHK4)。

B.1.3.1 取新近生长成单层的 25mL 正常细胞培养管,弃培养液,用不含牛血清的培养液清洗细胞。

B.1.3.2 接种经处理的样本,每管细胞接种 0.5mL, 37°C 吸附 1h 后,加入细胞维持液, 37°C 培养。同时设置细胞对照。逐日观察细胞,一般不产生病变作用。每周换一次维持液。培养至 30d 时,收获细胞悬液。鉴定可用中和试验检测病毒,间接免疫荧光法检测抗原,或用 PCR 方法检测病毒的核酸。若病毒、抗原为阳性、或检测到病毒核酸,可判断病毒分离阳性。

B.1.3.3 第一代细胞培养为阴性的样本,需盲传一代,若鉴定后仍为阴性结果,可报告为未分离到病毒。

B.1.4 病毒分离的意义

在粪便中分离到病毒,表明患者仍具有排毒性;在血液中检测到病毒,表明患者具有病毒血症,为 HAV 感染的依据。

B.2 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测甲型肝炎病毒核糖核酸(HAV-RNA)

PCR 的基本原理是利用双链脱氧核糖核酸(DNA)在高温下发生解链(变性),变为单链 DNA 的热变性现象,在体外模拟 DNA 聚合酶存在下的 DNA 复制过程。

B.2.1 样本的采集、保存和运送

采集患者潜伏期或急性期的粪便、其他样本于密闭螺旋口管中,置冰壶内送至实验室或 $-20^{\circ}\text{C}\sim-80^{\circ}\text{C}$ 低温冻存。

B.2.2 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)基本原理

将样本制备成悬浮液,反复冻溶,高速离心后,取上清液。提取病毒的 RNA 核酸。应用 RNA 反转录技术产生与 RNA 病毒组互补的 cDNA 基因组,作为 PCR 的模板。

扩增 DNA 的长度由两个寡核苷酸引物所决定,选择 HAV 基因保守区合成引物,两端的引物必须与相对 DNA 的核苷酸互补。首先以高于解链温度的温度使双链 DNA(模板)变性,随后在低于解链温度的温度下使两段寡核苷酸引物与变性模板单链退火(复性),再于适当的温度由耐热 DNA 聚合酶(Taq DNA 聚合酶)催化合成 DNA 新链,如此反复循环,使每轮循环所合成的 DNA 链重新作为下轮反应的模板,使 DNA 分子不断倍增。经过充分的扩增后,通过电泳可检测 PCR 产物。

B.2.3 实时荧光 PCR 基本原理

实时荧光 PCR 技术,是指在 PCR 反应体系中加入荧光基团,利用荧光信号积累实时监测整个 PCR

进程,最后通过标准曲线对未知模板进行定量或定性分析的方法。

B. 2. 4 操作步骤和结果判断

参考试剂盒说明书进行操作和判断结果。

B. 2. 5 检测 HAV RNA 的意义

粪便中 HAV RNA 阳性表明患者仍具有排毒性,在血液检测到 HAV RNA 表明患者具有病毒血症,为 HAV 感染的依据。

附录 C

(资料性附录)

甲型病毒性肝炎病原学、流行病学及临床特点

C.1 病原学

甲型肝炎病毒(HAV)属小核糖核酸病毒科嗜肝病毒属。病毒直径 27nm~32nm,无包膜,呈球形二十面体,含单股正链 RNA,由 7 500 个核苷酸组成。甲型肝炎病毒为同一血清型,可分为 7 个基因型,不同毒株基因组之间的核苷酸序列差异为 5%~10%。

HAV 的敏感动物为狨猴和黑猩猩,在多种人或猴细胞中可以生长、复制和传代,如非洲绿猴肾细胞、猴肺细胞、人胚肺二倍体细胞、人胚胎肾细胞、人肝癌传代细胞等。甲型肝炎病毒在细胞中生长缓慢,接种后数周才可检出抗原,病毒在体外培养过程中不引起明显的细胞病变,细胞可以带病毒生存,并可传代分裂繁殖。

甲型肝炎病毒在体外抵抗力较强,耐酸、碱、乙醚和热,在 pH2~10 之间稳定,20%乙醚不能灭活病毒。60℃ 6h 才能完全灭活,100℃ 5min 可全部灭活;贝类(牡蛎、蛤蜊等)中的 HAV 在水中能存活数天至数月,置于 4℃ 冰箱中,24h~48h 仍保持稳定;1.5mg/L 余氯 1h 仍存活,5%~8%甲醛和 70%乙醇能迅速灭活,1:4 000 的甲醛 72h 可使其失去感染性而保留免疫原性。

人感染 HAV,其主要在肝细胞的胞浆内复制。往往发病前有短暂的病毒血症,病毒通过胆汁从粪便中排出。排毒早于血清 ALT 值升高,其高峰出现在潜伏期末或急性早期,一般发病后 1 周内 45% 患者排毒,发病 2 周排毒仅占 10%~15%,发病后 3 周很少在粪便中检出,传染期是从潜伏期末至发病早期。人体感染后在出现症状时可从血液中检出抗-HAV IgM,在发病后 3 周其滴度可达高峰,随即下降,可维持 6 个月左右。抗-HAV IgG 比 IgM 出现晚,其滴度高峰见于起病后 3~12 个月内,可维持多年。

C.2 流行病学

甲型肝炎在我国各地区的发病存在差异,生活、卫生条件较差的农村地区为甲型肝炎高流行区,存在明显的季节性和周期性;大中城市为甲型肝炎低流行区,季节性和周期性不明显,但时有暴发流行的可能,如 1988 年上海地区因摄食 HAV 污染的毛蚶引起甲型肝炎大流行,造成 30 余万人罹患甲型肝炎。

C.2.1 传染源

包括急性临床患者和亚临床型感染者。急性患者排毒量大,尤其在黄疸出现之前传染性最强;虽然亚临床型感染者的排毒量不及临床患者,但因其活动不受限制,前者与后者的比例为(3~10):1。

C.2.2 传播途径

主要是粪一口途径,通过日常生活接触、水和食物三种方式传播。日常生活接触传播是维持一个地区甲型肝炎地方性流行的方式。水和食物传播 HAV,在我国西南地区较常见,常引起不同程度的暴发流行,我国东部和沿海地区出现食用不洁贝类水生动物而造成的暴发流行。

C.2.3 人群易感性

人群对甲型肝炎病毒普遍易感,幼年儿童的亚临床型感染比例要比成年人高,甲型肝炎病毒感染后可获得持久免疫力。

C.3 临床表现

甲型肝炎病毒潜伏期为 14d~49d,平均为 30d,临床分为三期:黄疸前期、黄疸期和恢复期。大多急

性起病,典型患者有发热畏寒、厌食纳减,乏力,恶心,呕吐,关节酸痛及上腹不适等症状,持续数日至 2 周。主要体征有肝区压痛,肝肿大。少数有皮疹,荨麻疹,出血倾向和心率异常。

大约发病后 1 周,尿色加深,巩膜、皮肤出现黄染,肝功能检测主要为血清 ALT 升高、血清总胆红素增高,常增加至正常上限数值一倍以上,黄疸期持续时间为 2 周以上。如非典型患者,上述症状不明显或缺如,也不出现黄疸。妊娠妇女患甲型肝炎一般不加重病情或延长病程,不发生母婴垂直传播,也不影响正常妊娠和分娩,但妊娠晚期除外。甲型肝炎患者恢复快,病程一般在 3 周~4 周,大多于 3 个月内恢复健康,一般不转为慢性。甲、乙型肝炎病毒重叠感染患者可加重病情,甚至出现腹水和肝功能衰竭,延长病程。个别免疫力低下或服用免疫抑制剂的甲型肝炎患者,其病程可延长至半年甚至一年以上。
