

急性出血性结膜炎预防控制技术指南

(试行)

急性出血性结膜炎(acute hemorrhagic conjunctivitis) 也称为流行性出血性结膜炎, 是由肠道病毒引起的, 以结膜高度充血, 常见结膜下出血及角膜上皮点状剥脱为主要临床特征的传染病。一般可在 2~3 周痊愈, 属于自限性疾病, 预后良好。该病全年均可发病, 多见于夏秋季, 各年龄组人群均可发病。主要通过接触传播, 传染性极强, 传播速度快, 人群普遍易感, 易导致流行或暴发。为指导各地做好急性出血性结膜炎疫情控制工作, 制定本指南。

一、病原学

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主要病原体。腺病毒 11 型也可引起该病。

EV70 属微小核糖核酸病毒科 (Picornaviridae), 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。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。

CA24v 和 EV70 适合在温暖、潮湿的环境中生存与传播, 均耐酸、耐乙醚、耐碘苷。75% 的酒精是有效的消毒剂。

二、流行病学

(一) 传染源

患者是本病的主要传染源, 其眼部分泌物及泪液均含有病毒。发病后 2 周内传染性最强。该病潜伏期一般为 12-48 小时, 最长可达 6 天。

(二) 传播途径

该病主要是通过接触被患者眼部分泌物污染的手、物品或水等而发病, 部分患者的咽部或粪便中也存在病毒。

(三) 人群易感性

人群普遍易感, 各年龄组均可感染发病。可以由不同型别病毒单独感染发病, 也可发生两种病毒混合感染。病后免疫持久性差, 患者病愈后, 可以被不同病毒感染而再次发病, 亦可能在间隔数年后被同一种病毒再次感染而发病。

(四) 流行特征

该病曾在世界范围内发生多次流行。1969 年本病首先在西非加纳暴发流行, 沿西海岸迅猛蔓延到非洲大部分国家, 几乎同时, 印度尼西亚、新加坡、日本、印度等也暴发流行, 很快波及亚洲大部分国家及欧洲、中东国家, 澳洲、美洲也有流行报道。1971 年我国首次发生该病的流行, 除边远地区外, 遍

及包括香港、台湾在内的全国各省市。此后，在 80 年代和 90 年代，很多国家、地区及我国均有多次地区性小规模流行。柯萨奇病毒 A 组 24 型与肠道病毒 70 型（EV70）可以同时或先后引起流行。

该病全年均可发病，有明显的季节特点，以夏秋季多见。易在人口稠密、卫生条件差的地区流行，在托幼机构、学校、工厂企业等人群聚集的地方易发生暴发流行。医院门诊的交叉感染和口腔器械消毒不严格，也可造成传播。

三、病例的诊断和治疗

各级医疗机构医务人员可参考《急性出血性结膜炎诊疗方案》（附件 1），进行诊疗。

四、疫情报告

出血性结膜炎是我国传染病法规定报告报告的丙类传染病。各级各类医疗机构发现病例及暴发疫情时，应严格按照《中华人民共和国传染病法》和《突发公共卫生事件与传染病疫情监测信息报告管理办法》的规定，进行疫情报告。

五、流行病学调查

疾病预防控制机构接到暴发疫情报告后，可开展流行病学调查，重点调查分析引起暴发、流行的危险因素，阐明疾病传播的特点，以提高疫情控制措施的针对性。

六、实验室检测

发生急性出血性结膜炎暴发或流行时，各地可根据实验室条件，开展急性出血性结膜炎病原学检测工作，掌握流行毒株的特征。标本的采集、包装、运送和检测可参照《急性出血性结膜炎实验室检测方案》（附件 2）。

七、预防控制措施

该病没有特异性的预防措施。发生疾病暴发或流行时，各级医疗卫生机构应在做好病例管理工作的同时，积极开展健康教育，指导公众做好个人防护，保持良好个人卫生习惯。

（一）对病人进行规范治疗，防止眼部并发症发生，病人一般不需住院治疗。

（二）病人病后 7~10 天内，应尽量居家治疗休息，减少公共场所活动。

（三）病人接触过的物品应擦拭消毒、煮沸消毒或开水浇烫。病人的洗漱用品要严格做到与其他家庭成员或同居室人员分开，不能混用，避免交叉污染。如接触病人使用过的物品，应充分清洁或消毒手部。

（四）发生疾病暴发或流行时，学校和托幼机构要强化晨检制度，工厂等集体机构要建立健康检视制度。一旦发现病人，应要求病人脱离学习、工作环境，居家治疗休息。

（五）医疗机构应加强预检分诊和消毒措施的落实。医务人员检治病人后，必须认真消毒双手，未对双手消毒前，不得再接触其他病人。诊疗病人过

程中所使用的仪器、物品要擦拭消毒。疾病流行期间，医院应专辟诊室或诊台接诊病人，避免交叉感染。

（六）加强对游泳池、浴池、理发室、旅馆的卫生管理与监督。劝阻患者进入公共场所或参与社交活动。暴发流行期间，相关管理部门可根据疫情控制需要，关闭游泳池、浴池等公共场所。

（七）平时要加强健康教育，普及手卫生和爱眼护眼知识，养成勤洗手、不共用毛巾脸盆等个人生活用品的卫生习惯。

（八）一般不宜采用集体滴眼药等方式，进行该病的群体预防。

附件：

附件 1 急性出血性结膜炎诊疗方案

附件 2 急性出血性结膜炎实验室检测方案

附件 1

急性出血性结膜炎诊疗方案

一、诊断

根据流行病学、病史、临床症状、体征，结合一般实验室检查对急性出血性结膜炎作出临床诊断。

（一）诊断依据

1. 流行病学史

1.1 本病易导致流行或暴发，以夏秋季常见。

1.2 患者多有明显的接触感染史。健康人可经接触患者眼部分泌物污染的手、物品或水而感染。

2. 临床表现

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，继而为粘液性。

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。

3. 实验室检测

3.1 结膜细胞学检查见单核细胞反应为主，以排除细菌性感染。

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 CA24v 或 EV70（见附件 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 CA24v 或 EV70 抗原（见附件 2）。

3.4 双相血清学检查，病人恢复期血清抗 CA24v 或抗 EV70 抗体比急性期血清抗体滴度升高 ≥ 4 倍（见附件 3）。

（二）诊断原则

根据流行病学、病史、临床症状、体征，结合结膜细胞学检查作出临床诊断。

根据病原学检查分离出 CA24v 或 EV70 病毒；或间接免疫荧光技术检测出病毒抗原；或双相血清学检查，患者恢复期血清特异性中和抗体滴度较急性期血清特异性中和抗体滴度升高 ≥ 4 倍，结合临床诊断进行确诊。

（四）诊断标准

疑似病例：应同时符合 1 和 2；

临床诊断病例：应同时符合 1、2 和 3.1；

确诊病例：应同时符合 1、2 及 3.2、3.3、3.4 中任何一项。

（五）鉴别诊断

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。

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 5~12 天，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，常伴伪膜形成。耳前淋巴结肿大。起病 7~10 天内，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。

2. 急性卡他性结膜炎：由细菌感染引起，潜伏期 1~2 天，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，粘液脓性分泌物，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。

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 3~4 天。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。

二、治疗

临床上可用抗病毒眼液如 0.5% 病毒灵眼液，5% 吗啉双胍眼液，鱼腥草滴眼液，开始时每小时一次，3 天后逐渐减少次数，晚间涂更昔洛韦眼膏或抗生素眼膏。有角膜上皮病变的患者加用表皮生长因子眼液或眼表面润滑剂或人工泪液促进上皮修复及保护上皮。

有前房炎症时加用散瞳剂或非甾体抗炎药。

中药金银花、野菊花、板蓝根、桑叶、薄荷等热熏敷或提取液滴眼对缓解症状有一定疗效。

眼分泌物多时，可用温生理盐水或 3%硼酸液清洗结膜囊。

抗生素、磺胺药可以作为预防混合感染或继发细菌感染用药。

三、预后

该病病程呈自限性，自然病程为 1~3 周，一般预后良好，但偶有出现神经系统并发症。

附件 2

急性出血性结膜炎的实验室检测

一、病毒的分离与鉴定

(一) 标本的采集、运送和保存

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

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。

(二) 病毒分离

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 4h 后用作病毒分离。

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，pH7.2-7.4。

3. 倾去细胞管内生长液。每细胞管接种标本液 0.2mL 吸附 10min。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。3-4 天更换维持液一次，连续观察 7 天。

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 TCID₅₀ 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，如仍无细胞病变则分离结果为阴性。

(三) 病毒 TCID₅₀ 滴定

1. 阳性细胞管冻融 3 次。2000rpm 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 25 μl，每稀释度 4 孔细胞。

2. 每孔加细胞悬液 25 μ l, 同时设细胞对照 (25 μ l 稀释液+25 μ l 细胞悬液), 37 $^{\circ}$ C 培养 7 天, 观察细胞病变。

3. 按 Reed-Muench 法计算出分离病毒株的 TCID₅₀。

(四) 病毒鉴定 (微量中和实验)

1. 将 CA24v 或 EV70 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)。

2. 在 96 孔细胞培养板中每孔加入 20 个单位的标准抗血清 25 μ l 和 100 个 TCID₅₀ 病毒 25 μ l, 37 $^{\circ}$ C 作用 1 小时, 最后加入 HeLa 或其它敏感细胞悬液 25 μ l。同时设以下对照:

(1) 病毒滴度核实对照: 第一孔加 100 个 TCID₅₀ 病毒 25 μ l, 从第二孔开始进行倍比稀释病毒最后每孔加稀释液 25 μ l 及细胞悬液 25 μ l;

(2) 阳性对照: 加 100 个 TCID₅₀ 病毒 25 μ l、稀释液 25 μ l 和细胞悬液 25 μ l;

(3) 阴性对照: 加稀释液 50 μ l 和细胞悬液 25 μ l;

(4) 阴性血清对照: 每孔加 100 个 TCID₅₀ 病毒 25 μ l、不含特异性抗体的血清 25 μ l 和细胞悬液 25 μ l;

(5) 将细胞板轻轻摇匀, 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 温箱培养 7 天。

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。

二、间接免疫荧光试验法

(一) 眼结膜细胞涂片

1. 用棉拭子取结膜细胞, 涂于清洁的玻璃片上, 室温干燥, 冷丙酮于 4 $^{\circ}$ C 固定 10min。

2. 一个患者标本作两个涂片, 分别用抗 CA24v 及抗 EV70 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。

(二) 细胞培养物涂片

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。

2. 分别用抗 CA24V 及抗 EV70 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。

(三) 间接免疫荧光试验法

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 CA24v 及抗 EV70 单克隆抗体, 将玻片置于 37 $^{\circ}$ C 湿盒内 30min。

2. 取玻片用 pH 7.2-7.4 的 PBS 洗涤 3 次, 每次 3min-5min。

3. 加适当稀释的抗鼠 IgG 荧光素结合物, 置于 37 $^{\circ}$ C 湿盒内 30 min。

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。

5. 在实验中设阴性或阳性对照。

(三) 血清学检查

1. 发病 1~3 天内采取患者急性期血清，发病后 2~4 周采取恢复期血清，分别-20℃冻储备检。
2. 双份血清 1:5 稀释，56℃，30 分钟灭活。
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 1:1280，每孔量为 25 μl。
4. 每孔加 100 个 TCID₅₀ 病毒 25 μl，37℃作用 1 小时，加细胞悬液 25 μl，置 37℃、5%CO₂ 温箱培养 7 天。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。
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。