



中华人民共和国国家标准

GB 16394—1996

脊髓灰质炎诊断标准及处理原则

Diagnostic criteria and principle of management for poliomyelitis

1996-05-23 发布

1996-12-01 实施

国家技术监督局 发布
中华人民共和国卫生部

目次

前言	I
1 范围	1
2 诊断原则	1
3 诊断标准	1
4 处理原则	2
附录 A 病毒的分离与定型(标准的附录)	4
附录 B 特异性 IgM 抗体测定(标准的附录)	6

前 言

脊髓灰质炎是由脊髓灰质炎病毒引起的急性肠道传染病,临床表现主要为急性弛缓性麻痹,一部分病例可能有永久性的肢体麻痹。世界卫生大会通过要求在 2000 年全球消灭脊髓灰质炎。诊断标准和处理原则的制定,不仅关系到病例的正确诊断、疫情的统计、病人的处理和疾病的预防对策,而且关系到该地区是否已经实现了消灭脊髓灰质炎的目标。

我国目前从病例报告数和环境中毒循环的分布范围看,已经进入了消灭此病的后期阶段,为此应有一个统一的与国际接轨的诊断标准和处理原则。

本标准参考国际标准结合国内情况而制定。

本标准由中华人民共和国卫生部提出。

本标准负责起草单位:中国预防医学科学院病毒学研究所。

本标准主要起草人:张礼璧。

本标准由卫生部委托技术归口单位卫生部传染病监督管理办公室负责解释。

中华人民共和国国家标准

脊髓灰质炎诊断标准及处理原则

GB 16394—1996

Diagnostic criteria and principle of management for poliomyelitis

1 范围

本标准规定了脊髓灰质炎的诊断标准和处理原则。

本标准适用于全国各级医疗、卫生、防疫机构和人员对脊髓灰质炎的诊断、报告和处理。

2 诊断原则

脊髓灰质炎的诊断必须根据病史、临床症状、体检及实验室检查等进行综合分析,作出诊断。

2.1 病史

应注意流行病史及接触史。

2.2 体检

应作全面的体格检查,注意全身症状,四肢活动及肌力、肌张力、腱反射等体征,必要时作神经系统及其他系统的全面检查。

2.3 实验室检查

2.3.1 粪便查脊髓灰质炎病毒。

2.3.2 脑脊液或血清查特异性 IgM、IgG 抗体,或中和抗体。

2.3.3 麻痹病人死亡后必要时作病理检查。

3 诊断标准

3.1 疑似病例

病因不明的任何急性弛缓性麻痹(AFP),包括 15 岁以下临床初步诊断为格林-巴利综合征的病例

3.2 脊髓灰质炎临床符合病例和脊髓灰质炎野病毒确诊病例

3.2.1 病史

与确诊的脊髓灰质炎病人有接触史,经过 2~35d(一般为 7~14d)的潜伏期;或接触史不明显,有如下临床症状者。

3.2.2 临床表现

3.2.2.1 早期可有发热、烦躁不安、多汗、恶心、项背强直及腓肠肌触痛等症状。热退后出现不对称性弛缓性麻痹。神经系统检查发现肢体(或/和腹肌)不对称性(单侧或双侧)弛缓性麻痹,躯体或肢体肌张力减弱,深部腱反射减弱或消灭,但无明显感觉障碍。

3.2.2.2 麻痹后 60d 仍残留弛缓性麻痹,且未发现其他病因(后期可呈现肌萎缩)。

3.2.2.3 疑似病人死亡,不能提供否定脊髓灰质炎诊断依据者。

3.2.2.4 疑似病人 60d 后失访。

3.2.3 实验室检查

3.2.3.1 发病后从粪便、咽部、脑脊液、脑或脊髓组织中分离到病毒,并鉴定为脊髓灰质炎野毒株者。

国家技术监督局 1996-05-23 批准

1996-12-01 实施

3.2.3.2 发病前 6 周内未服过脊髓灰质炎活疫苗,发病后 1 个月内从脑脊液或血液中查到抗脊髓灰质炎病毒 IgM 抗体。

3.2.3.3 发病后未再服用脊髓灰质炎疫苗或未接触疫苗病毒,而恢复期病人血清中和抗体或特异性 IgG 抗体滴度比急性期有 4 倍升高者或脑脊液中特异性 IgG 抗体明显升高,血液与脑脊液 IgG 抗体滴度比例失常或倒置(正常值在血脑屏障无损伤时,血:脑脊液为 200~400:1)。

脊髓灰质炎临床符合病例:疑似病例加 3.2.1 加 3.2.2.1;或疑似病例加 3.2.2.2;或疑似病例加 3.2.2.3;或疑似病例加 3.2.2.4;或疑似病例加 3.2.3.2;或疑似病例加 3.2.3.3。

脊髓灰质炎野病毒确诊病例:疑似病例加 3.2.3.1。

3.3 排除病例

3.3.1 疑似病例经实验室和临床检查证据确凿为非脊髓灰质炎的病例

- a) 格林-巴利综合征(经临床或/与脑脊液蛋白与细胞检测明确诊断);
- b) 有病毒分离或血清学依据确诊为其他肠道病毒感染;
- c) 横断性脊髓炎;
- d) 创伤性神经炎;
- e) 其他疾病(应注明诊断的病名和依据)。

3.3.2 疑似病例麻痹后 60d 随访无残留麻痹,粪便标本未分离到脊髓灰质炎野病毒或麻痹后两周内血清或脑脊液 IgM 抗体阴性。

3.3.3 疑似病例麻痹后 60d 虽残留麻痹,但对病例发病两周内,间隔 24~48h,收集两份粪便标本经 RD 和 Hep-2 两种细胞盲传两代,均未分离到脊髓灰质炎野病毒者。

3.3.4 疑似病例麻痹后 60d 虽残留麻痹,但发病四周内脑脊液或血液特异性 IgM 抗体阴性,恢复期血清中和抗体或特异性 IgG 抗体滴度比急性期无 4 倍以上升高者。

判断:凡符合 3.3.1 或 3.3.2 或 3.3.3 或 3.3.4 者可排除脊髓灰质炎。

3.4 疫苗相关病例

发生率极低,且往往见于免疫功能低下之儿童。

3.4.1 服苗者疫苗相关病例

服用活疫苗(多见于首剂服苗)后 4~35d 内发热,6~40d 出现急性弛缓性麻痹,无明显感觉丧失,临床诊断符合脊髓灰质炎。麻痹后未再服用脊髓灰质炎活疫苗,从粪便标本只分离到脊髓灰质炎疫苗株病毒者。如有血清学检测脊髓灰质炎 IgM 抗体阳性,或中和抗体或 IgG 抗体有 4 倍增高并与分离的疫苗株病毒型别一致者,则诊断依据更为充分。

3.4.2 服苗接触者疫苗相关病例

与服活疫苗者在服苗后 35d 内有密切接触史,接触 6~60d 后出现急性弛缓性麻痹,符合脊髓灰质炎的临床诊断。麻痹后未再服脊髓灰质炎活疫苗,粪便中只分离到脊髓灰质炎疫苗株病毒者,如有血清学特异性 IgM 抗体阳性或 IgG 抗体(或中和抗体)4 倍以上升高并与分离的疫苗株病毒型别相一致者则诊断依据更为充分。

4 处理原则

4.1 传染病报告与调查

4.1.1 在发现脊髓灰质炎疑似病例后城市 12h 内,农村 24h 内立即报告当地防疫单位,以后确诊或排除者再作进一步排除或确诊报告。

4.1.2 对报告病例必须在 48h 内进行个案调查,在发病的 14d 内未再服苗前收集二次粪便(间隔 24~48h,每份标本量 5~8g),在冷藏条件(4℃以下)送省级实验室作病毒分离。有条件者应尽量同时收集血液或脑脊液作出快速诊断。

4.2 免疫预防

- 4.2.1 脊髓灰质炎三价混合减毒活疫苗能有效地预防脊髓灰质炎发病,基础免疫为婴儿出生后二月、三月、四月龄时各服活疫苗一剂,间隔一月。在4岁时给予加强免疫一次。
- 4.2.2 根据消灭脊髓灰质炎的要求,由卫生防疫部门根据需要可实施除基础免疫外的补充免疫,如应急免疫,不同范围的强化免疫活动。
- 4.2.3 强化免疫一般应在冬春季进行,对一定年龄组的儿童(如4岁以下),不论其过去是否服过疫苗,均应进行两轮免疫,间隔1个月。
- 4.3 病人的隔离与治疗
 - 4.3.1 病人应作消化道隔离,隔离期为40d,排出的粪便应经消毒处理后再排放。
 - 4.3.2 早期病人应卧床休息,对症治疗。
 - 4.3.3 肢体麻痹病人,妥善保护麻痹肢体免受外伤及压迫,并置于功能位。
 - 4.3.4 个别有呼吸肌麻痹,呼吸困难者可采用人工呼吸机,如有细菌性感染,给予抗菌药物。
 - 4.3.5 如有软腭麻痹者应注意清除咽喉分泌物,预防窒息,有吞咽困难者可予鼻饲。
 - 4.3.6 晚期麻痹者,可予以按摩、理疗、针灸、体疗、手术等康复治疗。
- 4.4 自然环境中野病毒的检测
 - 4.4.1 对每一个疑似脊髓灰质炎病人,在其发病一月内收集其五名(5岁以下)的密切接触者的粪便送指定的实验室进行病毒分离,定型和毒株性质的鉴定。
 - 4.4.2 无脊髓灰质炎病例的地区可收集托儿所正常健康儿童的粪便作脊髓灰质炎病毒分离、定型和毒株性质的鉴定。
 - 4.4.3 收集生活污水,处理后按国际规定方法作脊髓灰质炎病毒的分离、定型和毒株性质的鉴定。

附录 A

(标准的附录)

病毒的分离与定型

A1 标本的采集、运送

粪便是分离脊髓灰质炎病毒的主要标本,由于脊髓灰质炎病人粪便排出病毒主要是在麻痹前期和麻痹后二周内,排毒呈间歇性,故标本的采集应在病人麻痹后 14d 内采集二份粪便,二次采集的间隔为 24~48h,每份标本量 5~8g。

由于病毒对热和对紫外线的不稳定性,因此采集的粪便应放在无菌的干净容器内,4℃以下冷藏保存和带冰运送,采集后应按规定贴好标签,一周内送到指定的实验室进行病毒分离。

A2 病毒的分离

A2.1 将粪便标本的半量(4g)放入含有小玻璃珠的 50mL 耐三氯甲烷塑料(带盖)离心管中,加含 1/10 三氯甲烷的 pH7.0 的磷酸缓冲液(或 1/10 三氯甲烷的 Hank's 液),拧紧盖后用力振荡 10min,制成 20%的粪便悬液。

A2.2 3 000r/min,离心沉淀 30min,无菌法吸出不含三氯甲烷的悬液层,一部分接种细胞,一部分保存于-30℃中备用。

A2.3 将标本悬液接种到生长良好并刚成片的 Hep-2 细胞和 RD 细胞管,每种细胞至少接种 2 管,每管加 0.1mL 悬液,并加 0.9mL 含 2%牛血清的 Eagle's 液(pH7.2,内含青霉素 100 单位/mL,链霉素 100μg/mL),另留二管正常细胞不加病毒只加 1mL 2%牛血清的 Eagle's 液作为正常对照。

A2.4 试管放 36℃~37℃倾斜 5°静置培养。

A2.5 每天在显微镜下观察试管中的细胞病变,至少观察 10~14d,当出现“+++~++++”时(即 75%~100%病变时)将试管冻存于-20℃以下,备作病毒定型和型内鉴别应用。

A2.6 如第一代培养不出现细胞病变,则培养 10d 后将细胞冻化三次,取其悬液 0.1mL 再接种到同样的细胞管,进行盲目传代(接种和培养方法同第一代),逐日观察细胞病变,如阳性则冻存备用,如 14d 仍为阴性则作为病毒分离阴性。

A3 病毒的鉴定和定型

A3.1 准备 4 份组合的脊髓灰质炎病毒标准抗血清,各组的组合如下:

- 1) 组合抗 1,2,3 型 3 个型的血清,每型血清在 0.05mL 内含 20 个单位的中和抗体;
- 2) 组合抗 1 和 2 型血清,每型血清在 0.05mL 内含 20 个单位的中和抗体;
- 3) 组合抗 1 和 3 型血清,每型血清在 0.05mL 内含 20 个单位的中和抗体;
- 4) 组合抗 2 和 3 型血清,每型血清在 0.05mL 内含 20 个单位的中和抗体。

A3.2 4 份组合血清,每份用 1 个吸头吸 0.05mL 加到 96 孔微量板的指定各个孔里,如图 A1,每组 4 孔,另 4 孔只加 0.05mL 维持液。

A3.3 用维持液将分离株的病毒分别稀释成 10^{-3} 和 10^{-4} 。

A3.4 加 0.05mL 10^{-3} 病毒液于已加混合抗血清的孔内 4 组,每组只加 2 孔,另 2 孔则各加 10^{-4} 病毒悬液。

		混合 P1+P2+P3	混合 P1+P2	混合 P1+P3	混合 P2+P3	病毒对照	细胞对照
		1 2	3 4	5 6	7 8	9 10	11 12
病毒分离株 X-3 -4	A	○ ○	○ ○	○ ○	● ●	● ●	○ ○
	B	○ ○	○ ○	○ ○	● ●	● ●	○ ○
病毒分离株 Y-3 -4	C	○ ○	○ ○	● ●	○ ○	● ●	○ ○
	D	○ ○	○ ○	● ●	○ ○	● ●	○ ○
滴定分离株 X	E	● ●	● ●	● ●	○ ○	○ ○	○ ○
	F	● ●	● ●	● ●	○ ○	○ ○	○ ○
分离株 Y	G	● ●	● ●	● ○	○ ○	○ ○	○ ○
	H	● ●	● ●	● ○	○ ○	○ ○	○ ○

-3 -4 -5 -6 -7 -8

● = CPE ○ = 无 CPE ○ = 未用孔

图 A1 用 96 孔微量板鉴定脊髓灰质炎病毒分离株

A3.5 病毒对照孔为 0.05mL 10^{-3} (或 10^{-4})病毒加 0.05mL 维持液,细胞对照孔为 0.1mL 维持液各加 0.1mL 细胞悬液。

A3.6 同时在 E 至 H 排分别做病毒分离株的滴定,每滴度加 4 孔,从 10^{-8} 加起至 10^{-3} 。

A3.7 充分振荡,混合后放 37℃ 30min,于 96 孔板的每孔中各加 0.1mL 细胞悬液,含细胞 10^4 /0.1mL。

A3.8 加盖后再摇匀并放 37℃ 二氧化碳孵箱培养,逐日观察每孔的细胞病变,至少观察 7~10d。

A3.9 结果的判定如下:

表 A1

混合 P1+P2+P3	混合 P1+P2	混合 P1+P3	混合 P2+P3	病 毒 鉴 定
0	0	0	+	POLIO 病毒 1 型
0	0	+	0	POLIO 病毒 2 型
0	+	0	0	POLIO 病毒 3 型
0	0	+	+	POLIO 病毒 1 和 2 型混合
0	+	0	+	POLIO 病毒 1 和 3 型混合
0	+	+	0	POLIO 病毒 2 和 3 型混合
0	+	+	+	POLIO 病毒 3 个型混合
+	+	+	+	不是 POLIO 病毒或是 POLIO 病毒与其他肠道病毒混合
				+=有病变(CPE) 0=无病变(无 CPE)

A4 野毒株与疫苗株的鉴别

目前国际上采用的方法有:

1) 单克隆组合抗体中和试验;

- 2) 疫苗株核酸探针杂交试验;
- 3) 多聚酶链扩增试验;
- 4) 多聚酶链扩增后内切酶切割电泳分析;
- 5) 核酸序列分析;
- 6) ELISA 法型内差异检测。

按国际规定只有被指定的国家级实验室或地区参考实验室和世界卫生组织总部参考实验室的结果才被认可,故方法从略。

附录 B

(标准的附录)

特异性 IgM 抗体测定

脊髓灰质炎病毒感染机体, IgM 抗体的免疫应答反应最早在感染后 10~15d 即可被捕捉 ELISA 法检测到。一般持续一个月后消失。在疑似脊髓灰质炎病人血液中,尤其是脑脊液中查到 IgM 抗体有助于本病的诊断,由于方法简便,而且可以分型诊断,一般在 2d 内即可得到结果,故是一种早期快速特异诊断的方法。早期确诊有利于争取时间采取防治应急措施。但目前所测的 IgM 抗体不能区别疫苗株和野毒株,故 IgM 阳性的意义,只有在明确近期无服苗的情况下才能应用。但从脑脊液中查到特异性 IgM 抗体,如血脑屏障正常,则即可结合病史诊断为疫苗相关病例或为野毒病例。在 AFP 病人因故未收集到合格的粪便标本如在麻痹一月内血液 IgM 抗体阴性有助于排除诊断。

B1 捕捉法 ELISA 法检测 IgM 抗体

- B1.1 加 0.1mL 抗人 IgM μ 链抗体于塑料微孔板, 37℃ 过夜。
- B1.2 倒掉液体, 不洗, 用 10% 牛血清的 0.05% 吐温 (Tween-20) 生理盐水 0.2mL 封闭每孔, 放于 37℃。
- B1.3 1h 后倒去上述牛血清封闭液加 1:100 稀释的待测病人血清 (或 1:2 稀释的待测病人脑脊液), 37℃ 作用 1.5~2h。
- B1.4 倒出待测血清 (或脑脊液), 用 0.05% 吐温生理盐水液洗三次, 然后分别于上述孔内分别加已知 1 型、2 型和 3 型的脊髓灰质炎抗原, 每型加 2 孔, 每孔 0.1mL, 置 4℃ 过夜。
- B1.5 吸出抗原, 洗 3 次后, 各相应孔加已知对应的抗血清 (即加 1 型病毒抗原孔加 1 型抗血清, 2 型抗原孔加 2 型血清……) 0.1mL。
- B1.6 37℃ 1~1.5h 后倒去抗体, 洗三次后各加酶标抗抗体 0.1mL。
- B1.7 37℃ 结合 1~1.5h 后倒出酶标抗体, 用洗液洗三次, 加邻苯二胺底物¹⁾, 每孔 0.1mL。
- B1.8 避光作用 5~15min。
- B1.9 待加正常细胞为对照抗原的孔, 即将显色之时各孔立即加 0.05mL 2mol/L 硫酸终止反应。
- B1.10 在 490nm 光源下测定 OD 值。
- B1.11 结果的判断

$$\frac{\text{病毒抗原孔的 OD 值} - \text{空白对照孔 OD 值}^{2)}}{\text{正常抗原孔的 OD 值} - \text{空白对照孔的 OD 值}} \geq 2.1 \text{ 时即为阳性。}$$

1) 邻苯二胺底物的配制为 10mL pH5.0 柠檬酸磷酸缓冲液加邻苯二胺 4mg 再加 30% 过氧化氢 5 μ L。

2) 空白对照即为抗 μ 链抗体包被孔加邻苯二胺底物加硫酸的对照。

- 1 型抗原孔阳性即为 1 型 IgM 阳性；
2 型抗原孔阳性即为 2 型 IgM 阳性，余类推。
-

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
脊髓灰质炎诊断标准及处理原则
GB 16394—1996

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

电 话:68522112

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售
版权专有 不得翻印

*

开本 880×1230 1/16 印张 3/4 字数 13 千字
1996 年 10 月第一版 1998 年 3 月第二次印刷
印数 1 501—2 500

*

书号:155066·1-13178 定价 10.00 元

*

标 目 299—57



GB 16394—1996