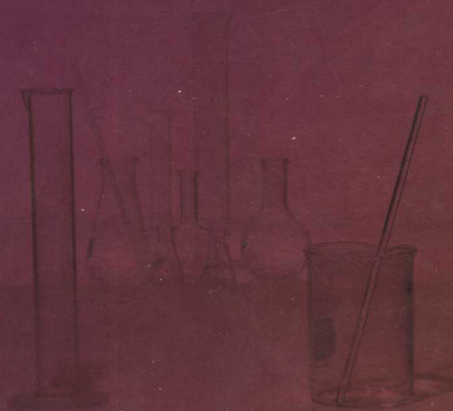


肝炎实验诊断 指南



主 编 刘锡光 祁自柏 熊诗松



人民卫生出版社

肝炎实验诊断指南

主 编 刘锡光 祁自柏 熊诗松

- 肝炎领域的实验诊断指导
- 简洁而实际的忠告
- 详细而权威的肝炎实验诊断指南
- 所有肝炎医师和实验技术人员的理想选择

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

肝炎实验诊断指南/刘锡光等主编. —北京:
人民卫生出版社, 2004. 6

ISBN 7-117-06115-4

I. 肝… II. 刘… III. 肝炎-实验室诊断
IV. R575.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 042066 号

肝炎实验诊断指南

主 编: 刘锡光 祁自柏 熊诗松

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 67616688)

地 址: (100078)北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: [http://www. pmph. com](http://www.pmph.com)

E - mail: [pmph @ pmph. com](mailto:pmph@pmph.com)

印 刷: 北京人卫印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 36.5

字 数: 846 千字

版 次: 2004 年 7 月第 1 版 2004 年 7 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-06115-4/R·6116

定 价: 68.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

编 者

(以姓氏笔画为序)

- | | |
|-----|---------------------|
| 于 洋 | 中国药品生物制品检定所 |
| 马 红 | 首都医科大学附属北京友谊医院 |
| 王 虹 | 广州第一军医大学 |
| 王少海 | 湖北中医学院 |
| 王雪萍 | 华中科技大学同济医学院附属协和医院 |
| 王亚新 | 上海申友生物技术有限责任公司 |
| 卢银平 | 华中科技大学同济医学院附属协和医院 |
| 宁 勇 | 湖北中医学院检验医学系 |
| 白东亭 | 中国药品生物制品检定所 |
| 石晓燕 | 首都医科大学附属北京友谊医院 |
| 庄 辉 | 北京大学医学院 |
| 刘锡光 | 湖北中医学院检验医学系 |
| 刘 忠 | 博易达(深圳)实业发展有限公司 |
| 刘 欣 | 郑州大学医学院, 河南省医学科学研究所 |
| 朱文斯 | 深圳匹基生物技术开发有限公司 |
| 成 军 | 中国人民解放军 302 医院 |
| 刑文革 | 中国疾病预防控制中心 |
| 江 南 | 湖北中医学院药学系 |
| 李文全 | 上海基达基因技术有限公司 |
| 李凌波 | 华中科技大学同济医学院 |
| 李振勇 | 华美生物工程公司 |
| 李 杰 | 北京大学医学院 |
| 李浩虹 | 首都医科大学附属北京友谊医院 |
| 李绍白 | 华中科技大学同济医学院附属同济医院 |
| 杨东亮 | 华中科技大学同济医学院附属同济医院 |
| 杨振华 | 卫生部临床检验中心 |
| 杨渝珍 | 华中科技大学同济医学院 |
| 杨 军 | 艾康生物技术(杭州)有限公司 |

吴海	上海博华基因芯片技术有限公司
杜绍财	北京大学附属人民医院
茅益民	上海仁济医院, 上海消化疾病研究所
祁自柏	中国药品生物制品检定所
郑怀竟	卫生部临床检验中心
金慰鄂	华中科技大学同济医学院附属协和医院
侯金林	广州第一军医大学附属南方医院
宋军	上海基达基因技术有限公司
邹光眉	湖北中医学院检验医学系
邹新	华中科技大学附属同济医院
周诚	中国药品生物制品检定所
施建荣	上海新波科技有限公司
段金玉	华中科技大学附属同济医院
郝连杰	华中科技大学附属同济医院
赵昕	北京医院检验科
赵西平	华中科技大学附属同济医院
胡佳杰	湖北中医学院检验医学系
徐克诚	广州复大肿瘤医院
夏懿	上海复星实业股份有限公司
唐望先	华中科技大学附属同济医院
唐淑珍	首都医科大学附属北京友谊医院
唐晓燕	上海新波科技有限公司
钱玉昆	北京大学医学院
黄道培	上海浩源生物科技有限公司
陆伦根	上海第二医科大学仁济医院, 上海消化疾病研究所
张大志	重庆医科大学第二临床学院
张晟	上海新波科技有限公司
张光曙	泰安解放军 88 军医院
曾民德	上海第二医科大学仁济医院, 上海消化疾病研究所
谢圣高	湖北中医学院
曹卫	上海基达基因技术有限公司
黄德庄	北京市佑安医院肝病研究所
熊诗松	郑州大学医学院
瞿史文	上海申友生物技术有限公司

谨此献给：

恩师姚克芳博士、简浩然博士！

邓瑞麟教授、费 敏教授！

并向一贯支持我写作的前辈们和同仁们深深鞠躬！

刘锡光敬上

热烈祝贺“肝炎实验
诊断指南”出版！

庄辉

中国工程院院士
中华医学会肝脏病学会主任委员

序

《肝炎实验诊断指南》一书是浓缩了《病毒性肝炎实验诊断学》的有关部分，又扩展了肝炎实验诊断的范围；本书增修的内容，注意反映了肝炎实验诊断的最新进展，因而作为肝炎领域的实验诊断的专著，对指导和规范肝炎实验诊断，统一操作规程，必将起到积极作用。可以说本书是一本详细而权威的肝炎实验诊断指南。

减少和控制肝炎需要全社会，尤其是广大医务人员的群策群力和通力合作，多年来《病毒性肝炎实验诊断学》和《肝炎实验诊断指南》为这一艰巨任务提供了重要的工具，因而也为我国肝病防治事业作出了贡献！

首都医科大学附属友谊医院教授

中华医学会肝病学会名誉主任委员



序 ■ 言 ■

刘锡光、祁自柏和熊诗松等教授曾编写了《肝炎实验诊断指南》一书，主要反映了国内外病毒性肝炎实验诊断方面的新进展，根据有关方面的了解，此书十分受同行的欢迎，而《肝炎实验诊断指南》是在前书的基础上拓宽肝病的范围，着重于肝炎实验室的需要，又增加了该领域的最新成果。作者细心倾听群众意见而贡献他们的知识，值得我们学习和感谢！预计它也会受到读者的欢迎和欣赏。当然，任何科学著作都不断地在实践中受到考验和充实的。预祝成功！

卫生部肝炎专家咨询委员会主任委员
中国药品生物制品检定所

李河民

前 言

肝炎以病毒性肝炎（包括甲型，乙型，丙型，丁型，戊型）对人类危害最大。此外，还有药物性、酒精性，非酒精性，自身免疫性，胆汁淤积性，遗传代谢性和其他感染因子，例如其他病毒、细菌、寄生虫等引起的肝炎或肝胆疾病。近年来特别在酒精性肝炎、非酒精性肝炎，自身免疫性肝炎和胆汁淤积性肝炎的研究方面有了长足的进步，本书拟能及时反映这些肝炎或肝胆疾病在实验诊断上的研究成果，以饕读者。

我们撰著第一版《病毒性肝炎实验诊断》的宗旨是以实验诊断为主，简介实验原理、实验方法和材料，力尽其详，并有临床意义和注意事项相配，出版后在社会上收到了良好的效果，读者把她作为一本案头书存放在自己的实验室，有的将她作为一本启蒙书带在身边踏入肝炎领域或到异国深造。第二版《病毒性肝炎实验诊断学》是从继续教育的角度出发，能让基层的医务人员学习到更多的病毒性肝炎的知识，故在深度和广度上增加了该书的内容，投入市场后同样受到了广大读者的欢迎，发行数量一次而再次扩大，承蒙著名肝脏病学家姚光弼教授赞誉该书是病毒性肝炎的“百科全书式的参考工具书”，并提议再写一本供医院和防疫站实验室使用的手册。

多年来美国 F·奥斯伯等 (Frederick M. Ausubel) 的《精编分子生物学实验指南》(Short Protocols in Molecular Biology) 被誉为现代分子生物科学技术的“圣经”；J·萨姆布鲁克 (J. sambrook) 等的《分子克隆实验指南》(Molecular Cloning: A Laboratory Manual) 被称为经典性著作，实验手册和优秀的教材书。有医学界的前辈希望我们能将“肝炎实验诊断”一书写成实验指南，这种鼓励和我们的初衷是一致的，现在又有可借鉴的蓝本，故这一版书名定名为《肝炎实验诊断指南》这意味着本书向前迈进了一步，所涉及的面扩大了，而不仅仅局限在病毒性肝炎方面；所谓实验诊断指南既是实验工作者的实验指南，又是临床医师实验诊断的指南。

我们鼓励多一些肝炎实验室第一线的年青科学工作者参加撰稿，以上述两本书为蓝本，设有【概述】（即试验原理和一般情况介绍），【实验方法】下设1. 仪器和试剂2. 操作步骤3. 结果判断4. 质量控制，【注意事项】，【临床意义】，每个实验有关背景材料的参考文献，供读者进一步查阅。实验方法要求标准化，逐步统一操作，使实验结果有可比性，并逐步与国际接轨。本书已出两版，前后共走过15个春秋，在社会上得到认可，深受读者欢迎，这都应归功于前辈们的支持，同道和青年人的积极参与，认真写作，团结一致，通力合作，为我国肝炎防治出力，也培育了我们团结奋进的民族精神！在此我向您们深深鞠躬以表谢意！在今后的工作中一定更加认真细致，鞠躬尽瘁的做好工作。使该书成为深受广大读者信赖和爱戴的肝炎实验诊断指南！。

承蒙郑怀竟主任，贾继东主任，祁自柏主任，杜绍财主任协助组稿。郝连杰教授为本书编写提纲提供宝贵意见，并在撰稿过程中给予指导。邹光楣教授为本书生化检测提供宝贵意见，湖北药检高等专科学校（湖北中医学院）领导，卫生部临床检验中心，中国药品生物制品检定所的有关方面给予大力支持，在此一并致谢！

由于科学技术日新月异的发展，加之认识水平的局限性，本书遗误之处在所难免，请各位同道和读者提宝贵意见或指正！

主编 刘锡光 祁自柏 熊诗松

2004年初

目 录

第 1 章 肝炎的实验诊断概述	1
一、概述	1
(一) 病毒性肝炎	1
(二) 自身免疫性肝病	1
(三) 酒精性肝炎和非酒精性脂肪肝	3
(四) 药物性肝炎	6
(五) 细菌感染引起的肝病	6
(六) 其他病毒引起的肝炎	7
(七) 寄生虫感染引起的肝脏病变	7
(八) 遗传代谢性肝病	8
二、病毒性肝炎新病原体的探索	8
(一) GB 病毒感染	8
(二) TTV 感染	9
(三) SEN 病毒感染	10
三、病毒性肝炎实验诊断存在的问题和展望	10
(一) 存在的问题	10
(二) 展望	12
第 2 章 肝炎病毒及其标志物检验的诊断用品和质量控制	15
一、概述	15
二、甲型肝炎病毒及其标志物检验的诊断用品和质量控制	16
(一) 甲型肝炎病毒 RNA 检测	16
(二) 甲型肝炎病毒抗原检测	16
(三) 抗-HAV IgM 检测	16
(四) 抗-HAV 总抗体测定	17
(五) 国家对甲型肝炎病毒诊断试剂的管理及参考品	17
三、乙型肝炎病毒及其标志物检验的诊断用品和质量控制	18
(一) 乙型肝炎诊断试剂简介	18
(二) 各种乙型肝炎诊断试剂及其方法	18
(三) 国家质控参考品和标准	19

(四) 乙型肝炎诊断试剂质量检定情况	20
四、丙型肝炎病毒及其标志物检验的诊断用品和质量控制	21
(一) 简介	21
(二) HCV 抗体的检测	21
(三) HCV 基因及抗原的检测	22
(四) 国内丙型肝炎诊断试剂的现状及其质量控制	22
五、丁型肝炎病毒及其标志物检验的诊断用品	25
(一) 丁型肝炎病毒及其标志物检验	25
(二) HDVAg 的检测	25
(三) 抗-HD 的检测	26
(四) HDV RNA 的检测	26
六、戊型及庚型肝炎病毒标志物检验的诊断用品	26
(一) 戊型肝炎病毒标志物的诊断用品	26
(二) 庚型肝炎病毒标志物诊断用品的初步研究	27
七、肝炎实验诊断生物芯片产品和质量控制要点	27
(一) 制造的基本要求	28
(二) 专用原材料	28
(三) 专用仪器	28
(四) 制备程序	29
(五) 半成品检定	29
(六) 成品检定	29
第3章 肝炎病毒检测实验室的质量管理	30
一、适用范围	30
二、依据和目的	30
三、定义	30
四、建立质量管理体系	31
第4章 病毒性肝炎检验标本的收集、运送和保存以及标本检测中的注意事项	37
一、概述	37
(一) 标本的来源	37
(二) 常见标本的收集、运送和保存	38
二、病毒性肝炎标本收集、运送和保存的一般原则	40
(一) HAV 标本的收集、运送和保存	40
(二) HBV 和 HDV 标本的加工及其职业安全准则	41
(三) HCV 标本的收集	41
(四) HEV 标本的收集和运送	42
(五) 标本检测中的注意事项	42

第 5 章 肝炎病毒免疫学的检测方法	44
一、概述	44
(一) 肝炎病毒及其免疫学的检测项目	44
(二) 肝炎病毒免疫学检测的基本原理	45
二、甲型肝炎病毒抗体的检测	46
(一) 抗-HAV IgM 检测	46
(二) 抗-HAV 总抗体测定	47
三、乙型肝炎病毒抗原和抗体的检测	48
(一) HBsAg 检测	48
(二) 抗-HBs 检测	55
(三) HBeAg 检测	58
(四) 抗-HBe 检测	61
(五) 抗-HBc 检测	63
(六) pre-s1 抗原检测	67
(七) pre-s2 抗原检测	69
(八) 抗-pre-s2 检测	70
四、丙型肝炎病毒抗体的检测	71
(一) 丙型肝炎病毒抗体酶联免疫法	72
(二) 丙型肝炎病毒抗体免疫印迹法	76
(三) 丙型肝炎病毒抗体蛋白芯片检测试剂	78
五、丁型肝炎病毒抗原和抗体的检测	80
(一) 丁型肝炎病毒抗原 (HDVAg) 的检测	80
(二) 抗-HDV IgM 的检测	81
(三) 丁型肝炎抗体抗-HDV 的检测	83
六、戊型肝炎病毒抗体的检测	84
(一) 酶联免疫法检测抗-HEV IgG 抗体	84
(二) EIA 检测血清中抗-HEV IgM 抗体	87
七、肝炎病毒免疫复合物的检测	88
(一) HBV CIC 的检测	89
(二) 单特异性 CIC 的检测	92
(三) 双特异性 CIC 的检测	93
(四) 丙型肝炎循环免疫复合物的检测	96
第 6 章 肝炎病毒的基因诊断技术	100
一、概述	100
(一) 基因诊断的方法	100
(二) PCR 的抗污染问题	102
二、抗原捕捉聚合酶链反应检测甲型肝炎病毒 RNA	103
三、乙型肝炎病毒的基因诊断技术	106

(一) 荧光定量 PCR 检测 HBV DNA	106
(二) 定量酶联杂交 PCR 检测 HBV DNA	110
(三) 使用 PCR 和微流芯片技术定量 HBV DNA 及 HBV 变异株 (1896C 及 YMD)	113
(四) 免疫杂交梳 PCR 检测 HBV DNA	117
(五) UniArray 技术检测 HBV 拉米夫定耐药突变	120
(六) PCR 双探针杂交用于 HBV DNA 定量及基因分型检测	123
四、丙型肝炎病毒的基因诊断技术	127
(一) 免疫杂交 PCR 检测 HCV RNA	127
(二) 实时荧光 PCR 定量检测 HCV RNA	130
(三) 通用信号模板扩增核酸技术检测 HCV RNA	133
(四) NASBA 用于 HCV RNA 的定量检测	136
(五) 基因芯片法联合检测 HBV DNA-HCV RNA	139
五、丁型肝炎病毒的基因诊断技术	142
(一) 逆转录-聚合酶链反应测定 HDV RNA	142
(二) 原位杂交检测肝组织中的 HDV RNA	144
六、戊型肝炎病毒的基因诊断技术	146
 第 7 章 各型病毒性肝炎的血清学反应图解及其标志物的临床意义	150
一、概述	150
二、甲型肝炎的血清学反应图解及其标志物的临床意义	151
三、乙型肝炎血清学反应图解及其标志物的临床意义	152
四、丙型肝炎血清学反应图解及其标志物的临床意义	159
五、丁型肝炎血清学反应图解及其标志物的临床意义	161
六、戊型肝炎血清学反应图解及其标志物的临床意义	163
七、肝炎病毒血清学标志物	164
 第 8 章 肝炎病毒的变异性及其检测方法	166
一、肝炎病毒变异的临床意义	166
(一) 乙型肝炎病毒变异的临床意义	166
(二) 丙型肝炎病毒变异的临床意义	173
二、肝炎病毒变异的检测方法	175
(一) 核酸序列分析	175
(二) 限制性片段长度多态性	176
(三) 聚合酶链反应 单链构象多态性分析	178
(四) 异源双链电泳	178
(五) 5'端酶解法	179
 第 9 章 病毒性肝炎病理学检查	180

一、一般病理学检查	180
(一) 病毒性肝炎的病理变化	180
(二) 肝脏组织取材与保存	181
(三) 肝脏组织的固定	181
(四) 肝脏组织的速冻保存	184
(五) 肝脏组织病理切片及染色技术	184
二、免疫病理学检查	189
(一) 免疫荧光组织化学方法	189
(二) 免疫酶组织化学方法	190
(三) 免疫金-银染色法	193
(四) 亲和免疫组织化学方法	194
(五) 抗原抗体效价的测定	195
(六) 对照设置	196
(七) 微波在免疫组织化学中的应用	196
三、分子病理学检查	197
(一) Southern blot	197
(二) 免疫转印技术	201
(三) 原位杂交	207
(四) PCR 和原位 PCR	209
(五) 细胞凋亡研究技术	213
第 10 章 酒精性肝病和非酒精性脂肪肝的实验诊断	219
一、概述	219
二、天门冬氨酸转氨酶和丙氨酸转氨酶测定	220
(一) 天门冬氨酸转氨酶测定——连续监测法	220
(二) 丙氨酸转氨酶测定——连续监测法	221
三、谷氨酸脱氢酶测定	222
四、胆红素的测定、红细胞平均容量	224
(一) 胆红素的测定	224
(二) 红细胞平均容量	226
五、尿酸的测定——过氧化物酶偶联法	226
六、血脂测定	228
(一) 胆固醇氧化物酶测定法	228
(二) 甘油三酯磷酸甘油氧化酶测定法	228
(三) 高密度脂蛋白胆固醇测定——抗体阻碍法	229
(四) 低密度脂蛋白胆固醇测定	230
(五) 脂蛋白(α)测定——免疫比浊法	231
(六) 载脂蛋白测定	231
(七) 载脂蛋白 AI 测定	232

七、血浆总蛋白及白蛋白测定	233
(一) 血浆总蛋白测定 (双缩脲法)	233
(二) 血浆白蛋白测定 (溴钾酚绿法)	233
八、血清相关酶测定	233
(一) γ -谷氨酰转移酶测定——连续监测法	233
(二) 谷胱甘肽转移酶测定——连续监测法	234
(三) 胆碱酯酶测定——连续监测法	235
(四) 天门冬氨酸氨基转移酶同工酶	235
(五) 碱性磷酸酶测定——连续监测法	236
(六) 鸟氨酸氨基甲酰转移酶	237
九、血清转铁蛋白测定——免疫散射比浊法	238
十、组织病理学变化	239
(一) 酒精性肝病	239
(二) 非酒精性脂肪肝	239
第 11 章 肝纤维化的实验诊断	241
一、肝脏细胞的分离培养	241
二、其他肝脏细胞的分离方法	243
三、肝组织羟脯氨酸测定	243
四、肝脏细胞外基质成分的检验	244
(一) III型前胶原氨基端肽	244
(二) 层连蛋白	246
(三) IV型胶原	248
(四) 金属蛋白酶组织抑制因子	250
(五) 透明质酸	252
(六) 脯氨酸羟化酶	254
第 12 章 肝内胆汁淤积性疾病和自身免疫性肝炎的实验诊断	257
一、抗核抗体的临床意义及检测方法	257
(一) 抗核抗体的新概念	257
(二) 抗核抗体检测的临床意义	258
(三) 抗核抗体的检测方法	258
(四) 抗核抗体检测的实验操作	259
二、抗脱氧核糖核酸抗体的临床意义及检测方法	260
(一) 抗-DNA 抗体概述	260
(二) 抗-DNA 抗体临床意义	260
(三) 抗-dsDNA 抗体的检测方法	261
(四) 抗-dsDNA 检测实验操作 (马疫锥虫间接免疫荧光法)	261
三、自身免疫性肝病相关自身抗体临床意义及检测方法	262