

2019 新型冠状病毒感染疑似病例的 实验室检测

临时指导文件

2020 年 1 月 17 日



1. 前言

本指导文件的临时版本适用于开展 2019 新型冠状病毒（2019-nCoV）检测的实验室及相关组织或机构，以对符合中国武汉发现的新型冠状病毒相关肺炎疑似病例特征的患者进行实验室检测（来源：[Surveillance case definitions for human infection with novel coronavirus, Interim guidance](#)）。

通过对世卫组织现有的多份文件进行修订起草了本文件，包括世卫组织关于 MERS-CoV 的实验室指导文件 (1-11)。随着武汉聚集性肺炎的病原学、临床表现和疾病传播相关信息不断增加，世卫组织将持续关注疾病的发展，并在必要时对所提建议进行修订。

使用二代测序技术（NGS）对多份肺炎患者的临床样本和病毒培养样本进行测序，确定了武汉聚集性肺炎是由一种新型冠状病毒感染所致（与 SARS-CoV 和 MERS-CoV 同属 β 冠状病毒属）。电镜形态学观察发现该病毒具有冠状病毒典型的花冠样特征。根据测定的序列信息，中国疾病预防控制中心实验室检测团队研发了一系列的基因扩增（PCR）检测方法，迄今为止已经检测出了几十例病例。

病毒的全基因组序列信息已经正式共享，可通过世卫组织和 GISAID 平台（<https://www.gisaid.org/>）获得，这些信息将指导新型冠状病毒特异性诊断试剂的研发。预计不久将提供经过验证的 PCR 检测方案。在此之前，检测的目的是尽早明确常见肺炎的病原，为疾病防控提供支持，并与参比实验室合作进行冠状病毒的检测和序列测定。

2. 疑似病例定义

对于疑似病例的定义请参照：WHO Surveillance case definitions for human infection with novel coronavirus。

3. 样本收集和运输

首先要开展的工作是在专家的指导下快速收集并检测适当样本量的疑似病例。目前需要进行大量的检测以明确诊断 2019 新型冠状病毒，且其在混合感染中的作用尚未得到证实，因此可能需要对样本进行多次检测，建议采集足够多的临床样本。在样本采集时应当遵循当地指南获得患者或其监护人的知情同意，同意对其样本进行采集、检测及将来可能开展的研究工作。

确保制定相关的标准操作规范，并对相关人员进行培训，使其能够正确收集、保存、包装和运输标本。关于武汉发现的新型冠状病毒所致风险，目前信息仍很有限，但准备用于分子检测的样本可以像疑似人类流感的样本一样处理（2, 7-9）。尝试培养病毒可能需要加强生物安全控制措施。

需要收集的样本（样本收集和保存的具体信息见表 1）：

1. 呼吸系统分泌物*（门诊患者的鼻咽和口咽拭子和痰液（如有）和/或更严重呼吸道疾病患者的气管内抽吸物或支气管肺泡灌洗液）
2. 用于血清学检测的血清,包括急性期血清和恢复期血清（这是呼吸道分泌物之外的补充样本，一旦血清学检测诊断为阳性，将支持识别引起疾病的真正病原）

*上呼吸道或下呼吸道何种类型样本更适合冠状病毒的检测的将随着研究的进展进行修订。

一个单一的阴性检测结果，特别是来自上呼吸道的样本，不能排除新型冠状病毒感染。对于严重或进展性疾病，强烈建议重复取样和检测下呼吸道标本。即使检测到另一种病原体也不能排除新型冠状病毒的感染，因为目前对其混合感染的作用知之甚少。

参考文献 2, 3, 7

表 1. 收集有临床症状患者的标本

样本采集指导（根据参考文献 5 修改）

样本类型	病料收集	运输至实验室	检测前样本保存	备注
鼻咽拭子和口咽拭子	涤纶或涤纶棉签*	4°C	≤5 天: 4°C >5 天: -70°C	鼻咽拭子和口咽拭子应放置在同一根管中, 以增加病毒载量。
支气管肺泡灌洗液	无菌容器*	4°C	≤48 小时: 4°C >48 小时: -70°C	病原体可能会被稀释, 但仍然是非常有价值的样本
气管抽吸物、鼻咽抽吸物或洗鼻液	无菌容器*	4°C	≤48 小时: 4°C >48 小时: -70°C	
痰	无菌容器	4°C	≤48 小时: 4°C >48 小时: -70°C	确保样本来自下呼吸道
组织切片或尸检, 包括肺组织	无菌盐水容器	4°C	≤24 小时: 4°C >24 小时: -70°C	
血清 (2 份, 包括急性期和急性期后 2-4 周的恢复期采集)	血清分离器 (成人: 收集 3-5 毫升全血)	4°C	≤5 天: 4°C >5 天: -70°C	收集双份样本: • 急性期——发病的第 1 周 • 恢复期——发病后 2 至 3 周
全血	收集管	4°C	≤5 天: 4°C >5 天: -70°C	用于抗原检测, 特别是在发病的第一周
尿液	尿液收集容器	4°C	≤5 天: 4°C >5 天: -70°C	

* 运送样本进行病毒检测时, 应使用含有抗真菌和抗菌素的 VTM (病毒运输液)。对于细菌或真菌培养, 干燥运输或仅含少量的无菌水。避免反复冻融。

除了表中所示的特定的收集材料之外, 还需配备其他材料和设备: 如运输容器和样本收集袋及其外包装、冷却器和冰袋或干冰, 无菌采血设备(如针头、注射器和试管), 标签和永久的标记, 个人防护装备 (PPE)、物品表面消毒剂等。

样本收集和运输过程中的生物安全规程

所有为实验室检测而收集的样本应当被视为具有潜在的感染性, 收集或运输临床样本的卫生工作者应严格遵守的感染预防和控制指南和危险品 (感染性物质) 运输的国家或国际法规, 以减少暴露于病原体的可能性(14)。相关活动需要进行适当的感染预防和控制措施, 关于 2019 新型冠状病毒的感染预防和控制指导已经起草(11)。

确保实验室间良好的信息沟通及支持

为了确保样品的正确和快速处理, 并确保实验室采取适当的生物安全措施, 交流和信息共享至关重要。在寄出样品之前, 一定要把样本的生物危险程度通知接收

的实验室。同时确保样本进行正确标记, 正确填写检测申请表, 提供临床信息 (见方框: 需记录的信息)。

需要记录的信息

- 病人资料-姓名、出生日期、性别及居住地址、唯一识别号码、其他有用资料 (例如病人医院编号、监测识别号码、医院名称、医院地址、病房号码、医生姓名及联络方式、报告接收人的姓名及地址),
- 采样日期和时间,
- 样本采集的解剖部位和位置,
- 检测要求,
- 临床症状和相关病史 (包括接种疫苗和接受抗菌素治疗、流行病学信息、危险因素)。

2019 新型冠状病毒样本采集过程中的感染预防措施(传播途径未知,但怀疑是呼吸道感染)

确保收集样本的卫生工作者遵循以下指南并使用适当的个人防护装备,相关内容可在以下文件中查询: Infection prevention and control during health care when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected, interim guidance, January 2020 (11) and other IPC guidance (10, 15-17).

要确保卫生工作者在实施可能产生气溶胶的操作(如无创通气、气管切开、气管插管、心肺复苏、支气管镜检查)时使用额外的防护措施(详情请参阅上述详细指南):

- 医用防护口罩(NIOSH 认证的 N95、欧盟 FFP2 或同等防护级别或更高级别)。佩戴一次性颗粒口罩时,一定要检查口罩的密封性/适用性。注意,面部毛发(如胡须)的存在可能会妨碍佩戴者佩戴合适的医用防护口罩。在一些国家,使用动力送风过滤式呼吸器(PAPR)代替医用防护口罩。
- 眼睛保护(如护目镜或防护面屏)。
- 干净的长袖隔离衣和手套。如果隔离衣不能防水,应考虑增加防水的围裙以防止液体穿透隔离衣。
- 在通风良好的房间进行操作:自然通风条件下保证气流至少 160 升/秒/病人,或负压房间保证每小时至少换气 12 次,当使用机械通风时要控制气流方向
- 将房间内的人数限制在病人护理和治疗所需的最低限度;
- 遵循世界卫生组织关于穿戴和脱下个人防护装备步骤的指导。与患者及其周围环境接触之前后,以及在脱去个人防护装备之后,都要进行手部卫生。
- 废物管理和消毒程序:确保所有使用过的材料都得到适当的处理。工作区域的消毒和可能沾染了患者血液或体液的物品消毒应遵循经过验证的方法进行,通常使用含氯消毒液。

样本运输至实验室:

- 确保运输样本的人员经过生物安全操作规范和溢洒消毒处理的培训。
- 遵守国家或国际危险品(感染性物质)运输管理规定中的相关要求(14)。
- 尽可能手工递送所有标本。不要使用气压输送管系统运输标本。
- 在随附的申请表上清楚地说明该疑似病例的全名、出生日期。尽快通知接收的实验室样本正在运输中。

包装和运输到另一个实验室

在同一国家境内运输样本应符合适用的本国的相关规定或国际运输法规。新型冠状病毒标本应遵循联合国《示范条例》和根据使用的运输方式而制定的任何其他适用条例。更多信息可参见《世界卫生组织关于感染性物质运输条例 2019-2020 年指导》(自 2019 年 1 月 1 日起适用)(14)。传染病管理手册的工具箱 4 中也有关于传染性物质运输的介绍(1)。

4. 全球实验室网络的有效利用

对病例样本进行及时准确的实验室检测是控制新发传染病的重要组成部分。所有国家的实验室(无论是国内还是国际)根据意愿都应有机会获得可靠的实验室检测方法对病例进行首诊、确诊和新病原检测。世卫组织目前正在与各合作单位和专家密切合作,以确保迅速研发出经过验证的诊断方法。如有需要,世卫组织可协助会员国利用国际间实验室进行检测。

5. 2019-nCoV 的实验室检测

符合疑似病例定义的新型新型冠状病毒检测

对于符合 2019 新型冠状病毒感染的疑似病例应当使用 PCR 方法进行病毒筛查(细节如下)。如果病例管理需要,还应根据当地指南筛查其他常见的呼吸道疾病病原体(1,5,7)。由于可能发生合并感染,无论是否检测到常见的其它呼吸道病原体,所有符合疑似病例定义的患者仍需进行 2019-nCoV 检测。如果没在具有资质的专业或参比实验室进行检测,鼓励将样本送至具有其他冠状病毒或 2019-nCoV 特异检测能力的区域、国家或国际间的参比实验室进行确认。世卫组织可协助会员国确定能够提供这种支持的实验室。

新型冠状病毒(2019-nCoV)的核酸扩增检测

2019-nCoV 的全基因组序列近期已被公布,可以设计特异的 PCR 方法进行核酸序列检测。PCR 方法的设计和优化是一个复杂的过程,有效的方法是联系有经验的实验室,请求其提供相关的 PCR 检测方法和反应条件。

实验室希望能够用通用引物对所有冠状病毒都能进行扩增,然后通过扩增子对非保守区进行测序来完成多种冠状病毒的诊断。常见的四种人类冠状病毒(HCoV-229E、HCoV-NL63、HCoV-HKU1 和 HCoV-OC43)被用来验证通用引物设计的可靠性和有效性。HCoV-HKU1 和 HCoV-OC43 与新型冠状病毒同属于 β 冠状病毒属,还有两种引起人兽共患病的 β 冠状病毒,分别为通过接触单峰骆驼感染 MERS-CoV,通过果子狸和穴居马蹄蝠感染 SARS-CoV。

另外,新型冠状病毒特异性序列的扩增和检测可用于诊断,无需进一步测序。对于偶尔进行检测或经验不足的实验室,应向参比实验室寻求帮助进一步验证检测结果或进行的复核检测。

一旦特异性的核酸扩增检测(NAAT)被开发出来并得到验证,就可以通过逆转录酶聚合酶链反应(RT-PCR)对新型冠状病毒核酸的特异性序列进行检测,从而

确认新型冠状病毒感染病例。具有高效、操作简便优点的 NAAT 技术可能会越来越普及。

血清学检测

血清学检测有助于明确诊断来自于同一个特异的病毒家族病原体：如冠状病毒。对于病例的明确诊断需要收集双份血清（急性期和恢复期血清）。

暴发期的测序检测

病毒序列对于了解病毒的起源及其传播方式提供了有价值的信息。世卫组织发布了与疫情有关的遗传序列数据库的准则草案（见 https://www.who.int/blueprint/what/norms-standards/gsdraftcodeconduct_forpublicconsulting-v1.pdf?ua=1）。对于数据提供者寻求保留其数据所有权的情况，可使用具有数据访问协议的模型（如 GISAID）来促进快速共享遗传序列数据。鼓励实验室与世卫组织和科学界共享序列数据，以帮助在具有传播风险的国家迅速开发和分发诊断试剂。序列数据的上传和公开访问应该在期刊发表之前进行。医学期刊应确保其政策积极支持在发表前共享病原体遗传序列数据并适当确认。世卫组织可协助会员国确定能够提供支持的实验室，并就与暴发有关的序列数据的管理向它们提供建议。

实验室生物安全措施的细节

确保卫生实验室遵守适当的生物安全规范。对符合疑似病例定义患者的临床标本进行的任何检测均应由接受过相关技术和安全程序培训的工作人员在配备适当设备设施的生物安全实验室中进行。在任何情况下都应遵循本国的实验室生物安全相关法规或指南。有关实验室生物安全指南的一般信息，参见世卫组织的实验室生物安全操作手册（第三版）(8)。有关新报道的武汉新型冠状病毒带来的风险十分有限，但用于分子检测的样本可以像疑似人类流感的样本一样处理(2, 7-9)。

建议在实验室环境中对来自疑似或确诊的新型冠状病毒病例的样本进行所有操作时，均应遵循世卫组织的以下建议：https://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/Biosafety_InterimRecommendations_NovelCoronavirus2012_31Oct12.pdf?ua=1可引起严重呼吸道疾病的 SARS 病毒，一种 β 冠状病毒的相关生物安全信息可从以下网址：https://www.who.int/csr/sars/biosafety2003_04_25/en/和其它指导获得。

表 2. 在专业的实验室对符合病例定义的标本进行检测

实验室检测	样本类型	备注
在具有已验证的能够使用 RT-PCR 进行多种冠状病毒检测能力的实验室，建议对照已发表的 2019-nCoV 序列核对引物，并检查引物是否匹配，是否适用于检测 2019-nCoV。对阳性结果应进行测序，以确定正确检测到病毒（例如，在非保守区域用扩增子进行测序）。	呼吸道样本	随时收集。 由专业实验室完成。
NAAT 方法检测 2019n-CoV(目前正在验证中)	呼吸道样本	正在收集。 验证完成前由专业实验室完成
全基因组测序	呼吸道样本	正在收集。 由专业实验室完成。
血清学，最好用双份血清进行广谱冠状病毒血清学诊断	血清	需要双份的样本进行明确诊断，第一份血清在发病的第一周内采集，第二份血清在发病3-4周后采集。 如果只收集单个血清样本，则至少在症状出现后3周收集。 由专业实验室完成，需要更多实验数据对其方法进行验证

6. 病例和检测结果的报告

实验室应遵守所在国家传染病报告要求，但一般而言，实验室收到样本后应立即向有关公共卫生当局报告疑似病例，即使还未对样本进行检测。所有检测结果，无论阳性或阴性，都应立即向国家当局报告。如果感染蔓延，无论确认检测是否会延迟，实验室应立即将每一个新确诊病例或阳性筛查检测结果通知公共卫生当局。实验室还应定期向公众卫生报告阴性检测结果的数量。

提醒《国际卫生条例》缔约国，它们有义务使用《国际卫生条例（2005）》附件1中的决策工具，与世卫组织共享通报世卫组织的事件的相关公共卫生信息(18)。

检测到可能引起严重的急性呼吸道疾病的新发病原时，应立即通知当地、省级和国家级的公共卫生部门。这将使这些当局能够立即决定是否展开调查和采取何种程度的反应措施。对此类病例的检测应触发对传统和非传统卫生服务提供者、医院和门诊的通报。机构和社区领导人应积极促进当地居民和旅行者中的病例的发现。遵循《国际卫生条例（2005）》的现行标准，国家卫生主管部门必须在 24 小时内将所有可能构成国际关注的突发公共卫生事件通知世卫组织。可使用《国际卫生条例》决策工具来确定是否将某一事件通知世卫组织。关于《国际卫生条例》决策工具的进一步使用指导，包括其应用实例是可以找到的。国家动物卫生部门必须将在其境内发现的某些特定动物疾病通知世界动物卫生组织。应与世界动物卫生组织联络中心联系，以了解更多详情。

7. 致谢

以下人员参与了本指导文件的起草：英国公共卫生部 Maria Zambon；德国 Christian Drosten, Charité - Universitätsmedizin Berlin；荷兰 Marion Koopmans, Erasmus MC, Rotterdam；美国罗格斯医学院 David Alland；中国疾病预防控制中心高福。

世界卫生组织突发卫生事件规划：Katelijin Vandemaele, Magdi Samaan, Christian Fuster, Wenqing Zhang, C éline Barnadas, Lisa Stevens, Chris Oxenford, Sebastian Cognat, Kazunobu Kojima, Carmen Dolea, Maria Van Kerkhove, Mark D Perkins and Karin von Eije。世卫组织科学部门：Vasee Moorthy

8. 参考文献

- 1) Managing epidemics, key facts about major deadly diseases. Geneva: World Health Organization; 2018. (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/272442>)
- 2) WHO Global Influenza Surveillance Network Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza, WHO, 2011 (https://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/manual_diagnosis_surveillance_influenza/en/)
- 3) Investigation of cases of human infection with Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV), interim guidance, World Health Organization, updated June 2018 WHO/ERS/SUR/15.2 Revision 1 (https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/178252/WHO_MERS_SUR_15.2_eng.pdf;sequence=1)
- 4) Surveillance for human infection with Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV), interim guidance, Updated June 2018, WHO/MERS/SUR/15.1 Revision 1 (https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/177869/WHO_MERS_SUR_15.1_eng.pdf;sequence=1)
- 5) Protocol to investigate non-seasonal influenza and other emerging acute respiratory diseases. Geneva: World Health Organization; 2018. (https://www.who.int/influenza/resources/publications/outbreak_investigation_protocol/en/)

- 6) WHO Recommended Surveillance Standards *WHO/CDS/CSR/ISR/99.2*
(<https://www.who.int/csr/resources/publications/surveillance/whocdscsr992.pdf>)
- 7) Guideline for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks
WHO/CDS/CSR/EDC/200.4 (https://www.who.int/ihr/publications/WHO_CDS_CSR_EDC_2000_4/en/)
- 8) WHO laboratory biosafety manual, third edition. Geneva: World Health Organization; 2004.
(http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/)
- 9) Laboratory biorisk management for laboratories handling human specimens suspected or confirmed to contain novel coronavirus: Interim recommendations. Geneva: World Health Organization; 2013.
(https://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/Biosafety_InterimRecommendations_NovelCoronavirus_19Feb13.pdf)
- 10) Infection prevention and control of epidemic- and pandemic-prone acute respiratory infections in health care. Geneva: World Health Organization; 2014.
(https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112656/9789241507134_eng.pdf?sequence=1)
- 11) Infection prevention and control during health care when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected, interim guidance, January 2020. . Geneva: World Health Organization; 2020.
- 12) 武汉病毒性肺炎疫情病原体初步判定为新型冠状病毒， accessed on 9 januari 2020,
(<http://www.chinanews.com/m/sh/2020/01-09/9054817.shtml>)
- 13) Surveillance case definitions for human infection with novel coronavirus. Interim guidance v1, January 2020. Geneva: World Health Organization; 2020.
- 14) Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019–2020. Geneva: World Health Organization; 2019. (<https://www.who.int/ihr/publications/WHO-WHE-CPI-2019.20/en/>)
- 15) World Health Organization. (2019). Infection prevention and control during health care for probable or confirmed cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection: interim guidance: updated October 2019. World Health Organization. (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/174652>)
- 16) WHO guidelines on hand hygiene in health care. Geneva: World Health Organization; 2009.
(https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44102/9789241597906_eng.pdf?sequence=1)
- 17) World Health Organization. Five moments for hand hygiene. 2014
(http://www.who.int/gpsc/tools/Five_moments/en/)
- 18) World Health Organization. International Health Regulations (2005), third edition. Geneva: World Health Organization; 2016 (<http://www.who.int/ihr/publications/9789241580496/en/>)

ISBN 978-92-4-000127-5 (网络版)

ISBN 978-92-4-000128-2 (印刷版)

©世界卫生组织 2020。部分版权保留。作品署名-非商业性使用-相同方式共享的政府间组织 3.0 版本适用于该作品 ([CC-BY-NC-SA 3.0 IGO](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/))。

