

2019 新型冠状病毒核酸检测专家共识

中华医学会检验医学分会

通信作者:王成彬,解放军总医院第一医学中心医学检验中心,北京 100853, Email:

wangcb301@126.com;段勇,昆明医科大学第一附属医院医学检验科,昆明 650031,

Email:duanyong7@139.com

DOI:10.3760/ema.j.cn112137-20200206-00206

突发新型冠状病毒肺炎疫情以来,感染病例快速上升。随着疫情的发展,全国各地乃至境外均有病例报道^[1-4]。及时对急重症及疑似患者进行诊断需要快速有效的方法,2019 新型冠状病毒(2019 novel coronavirus, 2019-nCoV)核酸检测为诊断提供了直接证据^[5-6]。核酸检测过程中,因对病原体的传染途径和致病力尚未完全明确,工作人员存在较大的感染风险。此外,因为 2019-nCoV 基因结构与一般 RNA 差别较大,所以检验流程、检验质量和生物安全均需要进行有效地规范。本共识在参阅国家卫生健康委员会相关文件、查阅文献、咨询重疫区相关专家的基础上进行编写,以对实验室检测工作提出有指导性的建议。本共识适用于从事 2019-nCoV 核酸检测的所有实验室。

适用范围

适用于 2019-nCoV 核酸检测,如采用逆转录 PCR(RT-PCR)方法检测等。

工作程序

一、标本采集

(一)标本采集人员

采集人员必须经过医院感染管理部门或上级管理部门举办的生物安全培训,并考核合格。标本采集人员应按三级防护配备防护用品,包括工作服、一次性工作帽、双层手套、防护服、KN95/N95 及以上颗粒物防护口罩或动力送风过滤式呼吸器、防护面屏、工作鞋或胶靴、防水靴套,必要时可加穿防水围裙或防水隔离衣^[7-8]。配备防止病原微生物扩散和感染的设施,如处理感染性废弃物的垃圾桶、

处理紧急意外事件的药具、具备一定的通风条件等。

(二)受检人群

新型冠状病毒肺炎疑似病例、临床诊断病例(湖北省适用)、确诊病例或与上述人群有密切接触史者^[9]。

(三)标本采集及包装

标本采集优选顺序为鼻咽拭子、口咽拭子、痰液,为提高阳性率,可同时采集 1 份鼻咽拭子和 1 份口咽拭子于同一标本采集管中;为控制传染源可采集粪便进行检测,为观察疗效可对确诊患者的血液进行检测(需进一步研究支持)。标本采集容器先贴好条形码,条形码至少应包含待检者姓名、标本条码号、标本类型及采集日期和时间。

1. 鼻咽拭子:尽可能采集发病早期患者的鼻咽拭子标本。待检者背卧位平躺或充分后仰,以拭子测量鼻尖到耳垂的距离并用手指做标记,将拭子以垂直鼻子(面部)方向插入鼻腔,直至手指触及鼻尖(拭子深入距离最少应达耳垂部位到鼻尖长度的一半),使拭子在鼻内停留 15~30 s,轻轻旋转 3~5 次(图 1);迅速将拭子放入装有 2 ml 细胞裂解液(与核酸提取试剂盒中裂解液相同)的标本采集管或含

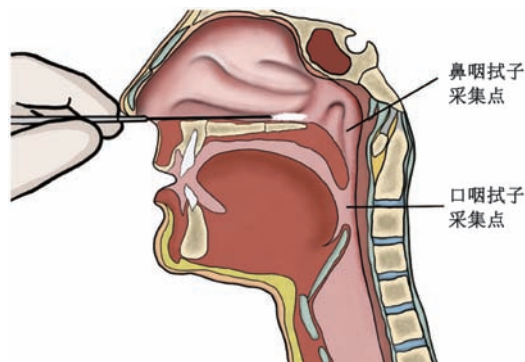


图 1 鼻咽拭子采集示意图

RNA 酶抑制剂的细胞保存液中,插入拭子后在靠近顶端处折断无菌拭子杆,旋紧管盖并用封口膜封闭^[10]。

2. 口咽拭子:尽可能采集发病早期患者的口咽拭子标本。宜用无菌植绒拭子采样,适度用力拭抹咽后壁部位,应避免触及舌部;迅速将无菌拭子放入用于采集鼻咽拭子的采集管中,在靠近顶端处折断无菌拭子杆,旋紧管盖并用封口膜封闭^[10]。

3. 痰液:收集痰液标本时不宜开放气道收集标本。收集深部咳嗽痰液于一次性无菌旋盖采样杯中,采样杯中装入 2 ml 蛋白酶 K(1g/L)^[11]。收集痰液后旋紧杯盖并用封口膜封口,尽可能 30 min 内送检。如果需长距离运输标本,不宜先添加蛋白酶 K。

4. 肺泡灌洗液(BALF):重症患者或病情进展迅速的肺炎患者,由临床医生无菌操作,吸取 ≥ 5 ml BALF 到带螺帽的 50 ml 无菌容器中。收集标本后旋紧标本盖并用封口膜封口。

5. 粪便:如发病早期出现腹泻等消化道症状的患者,则留取粪便标本 3~5 g(黄豆大小)。标本收集于含 2 ml 生理盐水(有条件时可添加 RNA 酶抑制剂)的带螺帽标本采集管中并用封口膜封口。

6. 血液:发病后 7 d 内或危重症患者,或考虑病毒血症的患者,可采集血液标本。使用含有乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝剂的真空采血管采集血液标本 2~4 ml。

7. 标本包装:标本采集后用 75% 乙醇喷洒标本采集管外部,立即放入标有“生物危险”密封袋中并封严封口;再用 75% 乙醇喷洒密封袋外部,然后放入标本转运容器,并对转运容器进行外部消毒,及时送检。

二、标本运输

标本应送至具备检测资质并经省级卫生行政主管部门批准可从事 2019-nCoV 核酸检测的基因扩增检测实验室^[12]。

1. 送检时间和温度控制:标本采集后应尽快送检,采集后应尽可能在 2~4 h 内送到实验室;在 2~8 °C 下转运,运送时间应不超过 24 h。如超过 24 h,应在 -70 °C 或更低的温度下保存和转运。血液标本应分离血浆后进行保存和转运^[9,13]。

2. 运输容器:标本运输容器应当防水、防破损、防泄露、耐高(低)温和高压。运输容器和包装材料上应有相关规定的生物危害标识、警示语和提示语。运输容器应使用三层包装系统,即内层容器、

中层包装和外层包装。防漏的内层容器包装后贴上生物危害标识,装入中层容器,将“感染性物品”标记贴在外层包装上。内层容器和中层容器间应放置足量的吸水性材料,中层容器应固定在硬质外层容器中。中层容器与外层容器间应放置凝胶冰袋^[9,14]。

3. 院内运输:标本运送人员进行二级防护并随身携带 75% 乙醇,以便发生意外时及时处理,标本运送时宜派两人同行,条件允许时应配备标本转运监控装置。

4. 长距离运输:若标本需要长距离运输,应当按照《可感染人类的高致病性病原微生物菌(毒)种或样本运输管理规定》办理《准运证书》^[15]。2019-nCoV 标本运输包装属于 A 类,对应的联合国编号为 UN2814。转运者安全防护按二级防护要求佩戴,并随身携带 75% 乙醇。司机佩戴外科口罩或 N95 口罩,通过专用车辆运输。如果经航空运输,包装还应符合国际民航组织文件 Doc9284-AN/905 《危险品航空安全运输技术细则》^[16] 的 PI602 分类包装要求^[9]。至少由 1 名标本运送人员和司机同时转运标本,宜配备标本转运过程监控设施。

三、标本接收

1. 生物安全防护:标本接收人员按二级防护佩戴防护设备。

2. 标本签收:标本运送人员和接收人员对标本进行双签收。接收标本前应检查标本转运容器外包装有无破损,打开容器前用 75% 乙醇对标本转运容器进行喷洒或擦拭消毒。将标本转运容器放入生物安全柜,在安全柜中打开标本转运容器并立即用 75% 乙醇喷洒/擦拭消毒,取出标本密封袋后,对密封袋用 75% 乙醇喷洒或擦拭消毒,并检查是否密封好,立即将标本放入专用冰箱冷藏保存^[17]。

3. 标本接收后保存:标本接收后,若无法及时检测,可于 4 °C 条件下短期(从采集时间开始总时长不超过 24 h)保存,若需长期保存,可将标本于 -70 °C 或更低的温度下保存^[9]。

四、试剂准备

1. 试剂选择参考意见:至少含 2019-nCoV 基因的两个位点(开放读码框 1a/b、核壳蛋白 N 或包膜蛋白 E)^[9],反应体系大,加样量大;检测试剂能与自动化核酸提取仪和扩增仪配套使用,此外可选用不同引物的试剂盒便于对结果复核。

2. 安全防护:建议按三级防护要求进行防护;当条件不允许时试剂配制人员至少应按《医疗机构

临床基因扩增检验工作导则》^[18]穿戴工作服、一次性医用口罩、一次性医用帽子和单层手套。

五、标本前处理

标本前处理及核酸提取操作的工作人员应进行三级防护。标本前处理应在具有外排功能的生物安全柜中操作。操作过程中宜两人或据工作量由两人以上操作,生物安全柜中应配备含 0.55%~1% 含氯消毒液的废弃物桶^[19]。标本处理完后,用 75% 乙醇消毒,弃去外层手套,对内层手套用 75% 乙醇消毒后更换新外层手套。

(一)不同类型标本的处理

1. 鼻咽拭子和口咽拭子:添加了细胞裂解液的标本可直接用于核酸提取,当实验室条件不够时可增加病毒灭活步骤^[9]。

2. 痰液:先在 55℃ 下孵育 15 min 进行液化,再进行病毒灭活^[11]。如果痰液采集杯中无预加蛋白酶 K,则应在病毒灭活后重复此步骤。

3. 肺泡灌洗液和粪便:连同密封袋一起将标本充分振荡混匀后进行病毒灭活。

4. 血液:1 500×g 离心 10 min,离心后冰浴 3~5 min 或室温静置一段时间(建议 10 min 以上),吸取血浆提取核酸。

(二)病毒灭活

提前将水浴箱预热至选定的灭活温度。病毒灭活可选择 56℃、30 min 或 60~65℃、20 min^[20-21],应注意病毒灭活处理时间是指标本达到设定温度后的有效作用时间,因标本采集容器不同,在水浴时标本达到设定温度的时间也不同,病毒灭活前应测试标本达到设定温度的时长。在生物安全柜内用 75% 乙醇喷洒装有标本的密封袋,用吸水纸擦拭后放入水浴锅中的试管架上,标本盖上搁置重物,防止标本采集管漂浮。每隔 10 min 将标本摇匀 1 次(动作轻柔)。可根据提取试剂在标本裂解时所采用的温度调整灭活温度,但不能低于 56℃;提高温度后可适当缩减灭活时间。灭活条件的优化最好有实验表明优化条件后对核酸检测无明显影响。

注意:病毒灭活可能会降低核酸检测的灵敏度。

六、核酸提取和加样

1. 实验前去残余核酸处理:为尽量减少残余核酸产生污染的可能,可用 75% 乙醇对生物安全柜的内壁和台面以及核酸提取仪内壁和空间进行处理,并紫外线照射 30 min。有条件时可在生物安全柜操作台面铺一层吸水性材料^[14]。

2. 标本准备:将灭活后的标本从水浴锅中取出,在生物安全柜内对密封袋用 75% 乙醇喷洒/擦拭消毒,打开密封袋后,即时用 75% 乙醇喷洒/擦拭标本管外部,取出标本冰浴 3~5 min 或室温静置一段时间(建议 10 min 以上),1 500×g 离心 5 min 后冰浴 3~5 min 或室温静置一段时间(时长同前)。在生物安全柜内打开标本采集管,按核酸提取试剂说明书要求吸取一定量标本(动作轻柔)加入核酸提取试剂中。为保证人员安全,核酸提取纯度和效率,宜采用自动化核酸提取方法。

3. 标本处理后消毒:采用 75% 乙醇对生物安全柜、工作台面、移液器等用品进行喷洒/擦拭消毒处理^[14]。

4. 核酸扩增体系的准备:核酸提取完成后,立即将提取物进行封盖处理。在生物安全柜内将提取后核酸样本加至 PCR 扩增反应体系中。

5. 废弃物处理:实验过程中产生的废弃物应通过污物通道立即转移出实验区,建议采用双层或三层医疗废物包装袋包装。

6. 实验室及设备消毒和去核酸处理:用 75% 乙醇对核酸提取仪内壁和其他可用乙醇处理的设备部件进行喷洒处理并紫外线照射 30 min。75% 乙醇或 0.55%~1% 含氯消毒液擦拭工作台面(如用含氯消毒液处理则应在处理完后一定时间内用清水再次擦拭),开启实验室紫外灯照射 30 min,可同时采用过氧化氢消毒仪进行终末消毒^[22]。可依据工作量来决定地面消毒频次,建议至少每周 1 次,地面消毒可在紫外线消毒后进行,工作人员可着一次性医用帽子、一次性医用口罩、单层手套、隔离服和鞋套进入实验室用 0.55%~1% 含氯消毒液处理地面,消毒后开启实验室通风装置通风 1 h,然后用清水清洁台面和地面^[17],因含氯消毒液对设备的腐蚀性强,不建议消毒频次过于频繁且不宜使用过高的浓度。

七、核酸扩增

1. 安全防护:建议按三级防护要求进行防护,当条件不允许时扩增区工作人员可适当降低防护要求,建议至少穿工作服、隔离衣,戴一次性医用帽子、一次性医用防护口罩、鞋套和单层手套。按试剂说明进行操作。

2. 核酸扩增:将扩增体系放入扩增仪,核对扩增程序是否与试剂说明书相符,启动扩增程序,待反应开始后离开实验室。

3. 扩增产物处理:将扩增产物用一次性医疗垃圾袋装好扎紧,经污物通道转移至扩增产物废弃物

处理区。

4. 实验室消毒: 扩增完成后用紫外线照射 30 min。可据标本量决定地面清理的频次(建议至少每周 1 次), 进行地面清洁时可按第六条第 6 点进行。

结果解释

一、报告方式

依据《新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南》^[9], 建议报告为“阳性”、“阴性”, 应进行充分的结果解释, 并对下一步工作提出建议。

二、判读条件

1. 判读为“阳性”的条件: 需满足以下任意一条: (1) ORF1ab 和 N 基因同时阳性时, 判定为阳性^[9]; (2) 若仅 ORF1ab 或 N 基因其中之一检测结果阳性时, 需重新采样复查, 复查后 ORF1ab 或 N 基因仍为阳性时, 判定为阳性, 或采用其他试剂或方法进行确认(如基因测序法)。

2. 判读为“阴性”结果的处理: 两个检测位点无 Ct 值或 Ct \geq 40(具体参照试剂说明书), 可报告“阴性”, 并对结果进行解释。阴性结果不能完全排除 2019-nCoV 感染, 此情况可能是病毒载量低于检出限, 应结合临床分析。当临床表现及其他检查高度怀疑 2019-nCoV 感染时, 建议重新采集标本或更换部位采集标本再次检测。

3. 处于“灰度区”结果的处理: 当出现 Ct 值在 37~40 之间时为灰度区(具体情况参照试剂说明书)。可能存在下列情况: (1) 2 个位点的检测结果均处于“灰度区”; (2) 1 个位点判读为阳性, 另 1 个位点的结果处于“灰度区”; (3) 1 个位点判读为阴性, 另 1 个位点的结果处于“灰度区”。出现以上情况时宜重新提取原标本的核酸, 并与该标本前一次提取的核酸同时扩增检测。分析两次检验结果, 单个位点两次阳性或两个位点为阳性, 则报告“阳性”; 两次结果均处于“灰度区”则报告“阴性”。

检测结果处于“灰度区”时, 实验室可采取以下措施: (1) 核查检验过程是否有影响, 如样本质量、标本类型、样本采集时机(是否处于病毒载量较低的时期)、标本保存、运输和标本处理是否存在问题等; (2) 更换不同厂家的试剂盒重复实验, 或在条件允许时采用敏感度更高的方法进一步确定(如数字 PCR 方法); (3) 建议临床重新采集标本或更换部位采集标本再次检测, 甚至多次采样进行检测。

质量控制

1. 人员培训: 标本采集人员应熟练掌握采集方法; 实验室工作人员应准确掌握工作流程和操作。

2. 标本采集: 标本采集管中如果加入了细胞裂解液或蛋白酶 K, 应注意有效期和保存条件符合要求。

3. 标本运输: 标本要及时送检, 院内运输最好在 2~4 h 内送检, 且送检时间越短越好, 送检时标本包装容器中应放置含凝胶的冰块。

4. 标本接收与处理: 标本接收后应及时处理, 特别是痰液和口/鼻咽拭子, 因为这些标本中加入了痰液液化剂或细胞裂解液, 操作时间延长将导致核酸的降解。

5. 质控品的使用: 试剂盒中阳性质控品(应注意试剂盒中提供的是对照品还是质控品, 确保正确使用)应及时取出, 放置于标本制备区的冰箱中。实验室条件允许的情况下, 可将阳性标本灭活后当作阳性质控品使用, 阳性质控应选用浓度相对较低的标本。当室间质评机构能提供相应质控物时, 应参加室间质量评价。

6. 设置充分的对照: 包括试剂对照、阴性对照和阳性对照。试剂对照即扩增反应体系中仅含 PCR 扩增反应试剂。阴性对照可选用无菌水, 每天实验结束后配制 3~5 份无菌水(2 ml 试管加入无菌水)分别放置于标本制备区和扩增区的不同位置, 用于实验室污染控制。阳性对照建议选择阳性样本的核酸。阴性对照和前述的质控品均应与标本平行操作。

7. 正确使用 75% 乙醇: 在实验过程中合理减少 75% 乙醇的使用量, 降低安全事故发生的风险和对抗基因扩增反应抑制的可能性。

8. 降低气溶胶形成风险: 标本前处理过程中动作应轻柔, 减少气溶胶形成, 标本应静置或冰浴足够的时长。

9. 优化工作流程: 应积累经验, 合理安排工作流程, 特别是核酸提取之前的工作流程越紧凑越有利于减少核酸降解。为降低实验室各区间核酸交叉污染, 进行 2019-nCoV 核酸检测宜分工合作。

废弃物处理

1. 人员要求: 处理废弃物的人员必须经过医院感染管理部门或上级管理部门举办的生物安全培

训,取得培训合格证书,并具备相应的专业技能。

2. 感染性废弃物处理:与标本接触过的医疗废物,如吸头(tip 头)、采样管、小离心管(如 EP 管)等应用 0.55%~1% 含氯消毒液处理,用三层医疗废物包装袋(标有“感染性废物”)装好扎紧后转出实验区,经高压灭菌后按医疗废物处理^[23]。防护服、鞋套、手套、口罩等用 75% 乙醇消毒后收集于三层医疗废物包装袋,外层包装袋上应有中文标签,标签内容包括:医疗废物产生单位、产生部门、产生日期、类别,并在特别说明中标注“新型冠状病毒感染的肺炎”或者简称为“新冠”。经高压后按医疗废物处理^[24]。

3. 处理核酸的废弃物处理:提取与加样过程中与核酸接触过的材料,如 tip 头、EP 管、核酸提取槽等浸泡于 0.55%~1% 含氯消毒液中,建议浸泡时间不少于 1 h,浸泡后用医疗废物包装袋装好并扎紧,经高压后按医疗废物处理。

4. 核酸扩增产物终处理:建议扩增产物在专门的房间进行终处理,将含产物的扩增反应管在 0.55%~1% 含氯消毒液中开盖,切记不能在空气中开盖,经 0.55%~1% 含氯消毒液处理后(建议 1 h 以上)按医疗废液处理。

5. 废弃物的安全管理:操作人员应及时处理废弃物,并做好登记。不得私自将废弃物带离实验区。医疗废弃物应按《医疗卫生机构医疗废物管理办法》^[23]进行处理,能够焚烧的,应当及时焚烧;不能焚烧的,应当消毒后集中填埋。

执笔者:刘子杰(昆明医科大学第一附属医院检验科);童永清(武汉大学人民医院检验医学中心);伍均(上海市第一人民医院检验医学中心);杜鲁涛(山东大学第二医院检验医学中心);魏超君(甘肃省人民医院临床研究与转化医学研究所)

共识制定专家组成员(按姓氏汉语拼音排序):崔巍(中国医学科学院肿瘤医院检验科);曹永彤(中日友好医院检验科);陈鸣(西南医院检验科);蔡贞(南方医科大学南方医院检验科);陈葳(西安交通大学第一附属医院检验科);段勇(昆明医科大学第一附属医院检验科);丁海涛(内蒙古自治区人民医院检验科);杜鲁涛(山东大学第二医院检验医学中心);关明(复旦大学附属华山医院检验科);郭玮(复旦大学附属中山医院检验科);高春芳(第二军医大学附属东方肝胆外科医院检验科);郝晓柯(空军军医大学西京医院检验科);胡成进(解放军第 960 医院实验诊断科);黄山(贵州省临床检验中心);姜艳芳(吉林大学第一医院基因诊断中心);李金明(国家卫生健康委员会临床检验中心);刘子杰(昆明医科大学第一附属医院检验科);李萍(湖南中医药大学

第一附属医院医学检验与病理中心);李卓(西安医学院第一附属医院检验科);明亮(郑州大学第一附属医院检验科);潘世扬(南京医科大学第一附属医院检验学部);沈佐君(中国科学技术大学附属第一医院科研处);苏建荣(首都医科大学附属北京友谊医院检验科);孙自镛(华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科);童永清(武汉大学人民医院检验医学中心);王成彬(中国人民解放军总医院医学检验中心);王辉(北京大学人民医院检验科);汪俊军(东部战区总医院检验科);伍均(上海市第一人民医院检验医学中心);魏超君(甘肃省人民医院临床研究与转化医学研究所);许斌(江苏省肿瘤医院省临检中心);于农(上海交通大学附属新华医院苏州分院检验科);郑磊(南方医科大学南方医院检验科);张义(山东大学齐鲁医院检验科);张新(新疆生产建设兵团医院检验科);张樱(中国人民解放军总医院医学检验中心)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染的肺炎治疗方案(试行第五版)[EB/OL]. 2020-02-04.
- [2] Jiang S, Xia S, Ying T, et al. A novel coronavirus (2019-nCoV) causing pneumonia-associated respiratory syndrome[J / OL]. *Cell Mol Immunol*, 2020 [2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1038%2Fs41423-020-0372-4>. [published online ahead of print Feb 5, 2020]. DOI: 10.1038/s41423-020-0372-4.
- [3] Rahman Qureshi UU, Saleem S, Khan A, et al. Outbreak of novel corona virus (2019-nCoV); implications for travelers to Pakistan? [J / OL]. *Travel Med Infect Dis*, 2020: 101571 [2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.tmaid.2020.101571>. [published online ahead of print Feb 4, 2020]. DOI: 10.1016/j.tmaid.2020.101571.
- [4] Kim JY, Choe PG, Oh Y, et al. The first case of 2019 novel corona virus pneumonia imported into Korea from Wuhan, China: implication for infection prevention and control measures[J]. *J Korean Med Sci*, 2020, 35(5):e61. DOI: 10.3346/jkms.2020.35.e61.
- [5] Chu DKW, Pan Y, Cheng SMS, et al. Molecular diagnosis of a novel coronavirus (2019-nCoV) causing an outbreak of pneumonia[J / OL]. *Clin Chem*, 2020: hvaa029 [2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1093%2Fclinchem%2Fhvaa029>. [published online ahead of print Jan 31, 2020]. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa029.
- [6] Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR[J]. *Euro Surveill*, 2020, 25(3): 2000045. DOI: 10.2807 / 1560-7917. ES.2020.25.3.2000045.
- [7] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 医疗机构内新型冠状病毒感染预防与控制技术指南(第一版)[EB/OL]. 2020-01-22.
- [8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染的肺炎防护中常见医用防护用品使用范围指引(试行)[EB/OL]. 2020-01-27.
- [9] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南(第三版)[EB/OL]. 2020-01-28.

- [10] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. WS/T 640-2018 临床微生物学检验标本的采集和转运[EB/OL].2018-12-11.
- [11] Sung H, Yong D, Ki CS, et al. Comparative evaluation of three homogenization methods for isolating middle east respiratory syndrome coronavirus nucleic acids from sputum samples for real-time reverse transcription PCR[J]. Ann Lab Med, 2016, 36(5):457-462. DOI: 10.3343/alm.2016.36.5.457.
- [12] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 国家卫健委办公厅关于医疗机构开展新型冠状病毒核酸检测有关要求的通知[EB/OL]. 2020-01-22.
- [13] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M].4版.北京:人民卫生出版社,2015.
- [14] 国家质量监督检验检疫总局.GB 19489-2008 实验室生物安全通用要求[EB/OL]. 2008-12-06.
- [15] 中华人民共和国卫生部. 可感染人类的高致病性病原微生物(毒)种或样本运输管理规定[EB/OL]. 2005-11-24.
- [16] 国际民用航空组织.Doc9284-AN/905 危险品航空安全运输技术细则. 2017—2018 年版. 第 1 号增编/更正[S].2017-04-17.
- [17] 中华人民共和国卫生部.WS 233-2002 微生物和生物医学实验室生物安全通用准则[EB/OL].2002-12-03.
- [18] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构临床基因扩增检验工作导则(卫办医政发[2010] 194 号)[EB/OL].2010-12-06.
- [19] Fischer M, Renevey N, Thür B, et al. Efficacy assessment of nucleic acid decontamination reagents used in molecular diagnostic laboratories [J]. PLoS One, 2016, 11(7): e0159274. DOI: 10.1371/journal.pone.0159274.
- [20] Leclercq I, Batéjat C, Burguière AM, et al. Heat inactivation of the Middle East respiratory syndrome coronavirus[J]. Influenza Other Respir Viruses, 2014, 8(5): 585-586. DOI: 10.1111/irv.12261.
- [21] Farcet MR, Kreil TR. Zika virus is not thermostable: very effective virus inactivation during heat treatment (pasteurization) of human serum albumin[J]. Transfusion, 2017,57(3 pt 2):797-801. DOI: 10.1111/trf.13953.
- [22] 《协和新型冠状病毒肺炎防护手册》编辑组. 协和新型冠状病毒肺炎防护手册[M]. 北京:中国协和医科大学出版社, 2020.
- [23] 中华人民共和国卫生部. 医疗卫生机构医疗废物管理办法[EB/OL].2003-08-14.
- [24] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎防控方案(第四版)[EB/OL].2020-02-07.

(收稿日期:2020-02-06)

(本文编辑:张媛)

·读者·作者·编者·

本刊“疑难病例析评”栏目征稿

中华医学杂志开辟“疑难病例析评”栏目,论文性质等同本刊论著。结构分“病历摘要”和“分析与讨论”两部分。

1. 病例选择:(1)疑难病例,特别是涉及多学科、多领域的疑难病例。(2)误诊且有经验教训的病例。(3)诊断已经明确,但病情危重或有诸多并发症,治疗上甚为棘手的病例。(4)罕见病例。(5)其他对临床实践有指导或提示意义的病例。以上病例须最终获得明确诊断或成功治疗,临床资料应齐全,能提供实验室、影像学和(或)病理确诊证据。

2. 写作格式:文题可用主要症状、体征或诊断命题,各短语之间用一字线连接。正文分“病历摘要”和“分析与讨论”两部分。“病历摘要”部分:交代清楚患者主诉、病史(包括既往史)、作者接诊后的诊治经过等。应提供必要的实证

图片。字数以不超过 1 000 字为宜(不包括图片)。“分析与讨论”部分:要求逻辑性强,条理清楚,能较好地体现正确的临床思维,对读者的临床工作有实际借鉴意义。重点部分可采用序号标示法,以突出层次。写作上应满足以下要求:(1)开门见山,首先说明本例需要从哪几个方面讨论;(2)写清诊断和治疗思路,如何发现并优先处理疾病的关键问题;(3)请将疑点、鉴别诊断要点另列出,通过什么手段排除相关疾病;(4)给出本例的最后诊断和诊断依据;(5)若为误诊,则总结经验教训;(6)若为罕见病,则介绍目前国内外的最新进展;(7)列出相关的国内外主要参考文献。字数以控制在 2 000 ~ 2 500 字为宜。