

• 专家述评 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.13.001

## COVID-19 疫情下临床检验面临的挑战与对策

赵林<sup>1</sup>, 向瑜<sup>2</sup>, 赖晓霏<sup>2</sup>, 周发春<sup>1△</sup>

重庆医科大学附属第一医院:1. 重症医学科;2. 检验科, 重庆 400016

**摘要:** 新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的暴发和流行给临床检验带来了巨大的挑战,检验科承担了疑似和确诊患者标本的相关实验室指标的检测,而患者的标本都具有较强的传染性。核酸检测为诊断 COVID-19 的主要方法,但假阴性率较高。因此,在 COVID-19 疫情下临床检验需要在做好防护的同时提高 COVID-19 的诊断效率。

**关键词:** 新型冠状病毒肺炎; 核酸检测; 临床检验

**中图分类号:** R512.99

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1672-9455(2020)13-1793-03



周发春

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)属于有包膜的 $\beta$ 属冠状病毒,与严重急性呼吸综合征(SARS)冠状病毒基因的同源性达到 85% 以上<sup>[1-2]</sup>,但是否来源于蝙蝠尚存争议<sup>[3]</sup>。目前该病毒主要通过呼吸道飞沫传播<sup>[4]</sup>。感染者早期有发热、乏力、干咳,严重者出现急性呼吸窘迫综合

征和多器官功能障碍综合征,甚至死亡<sup>[5-8]</sup>;尸检结果提示,肺部病变及肺泡细胞损伤与透明膜形成有关<sup>[9]</sup>。目前将新型冠状病毒肺炎(COVID-19)纳入乙类传染病,并采取甲类传染病的预防、控制措施进行管理。因此,为有效地控制疫情传播,需要进一步提高核酸检测的阳性率,避免漏诊。本文从临床检验的角度分析疫情下面对的挑战和应实施的对策。

## 1 COVID-19 患者的常规检测结果

COVID-19 患者的常规检查结果主要表现为早期白细胞总数正常或降低,淋巴细胞计数减少<sup>[2,4,10-13]</sup>,外周血淋巴细胞中 B 细胞数明显下降,CD4<sup>+</sup>及 CD8<sup>+</sup>T 细胞水平不断下降<sup>[4,10-13]</sup>。部分患者伴有 C 反应蛋白和红细胞沉降率的升高,降钙素原正常,重型、危重型患者常伴有白细胞介素-6(IL-6)的升高;大多数患者出现 D-二聚体升高,以及出现天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)异常<sup>[10]</sup>。这些指标虽然没有诊断特异性,但是如何从这些常规结果中筛选出可有效预测患者重症倾向的指标也具

有重要意义。

## 2 SARS-CoV-2 的特异性检测

SARS-CoV-2 感染人体后,在呼吸道上皮细胞内大量繁殖,因此,目前 COVID-19 患者的确诊仍然依靠病毒核酸的检测。但核酸检测易出现假阴性结果,若患者在检测后出现假阴性结果,会导致隔离不及时,可能造成疾病的传播,因此,准确的诊断对于疫情的防控和患者的治疗具有重要的意义<sup>[14]</sup>。目前 SARS-CoV-2 常用的检测方法包括:(1)实时荧光定量 PCR(RT-PCR);(2)病毒基因二代测序技术;(3)COVID-19 病毒的抗体检测。以下就这 3 种检测方法的优缺点进行逐一介绍。

**2.1 SARS-CoV-2 的 RT-PCR 检测** 采用 RT-PCR 检测 SARS-CoV-2 的核酸结果为阴性时不能排除 SARS-CoV-2 感染,需要排除可能产生假阴性的因素,包括标本的采集部位及标本质量,标本采集的时间与病毒载量,标本的保存、运输和处理,试剂盒本身的局限性,以及其他原因<sup>[15]</sup>。

**2.1.1 标本的采集部位及标本质量** 目前临床主要采集上呼吸道标本进行 SARS-CoV-2 核酸检测,要求患者和采样人员相互配合,若采集鼻咽拭子、口咽拭子深度不够,易导致采集到的标本中病毒载量较低,检测结果就出现假阴性。下呼吸道标本(深咳痰液、肺泡灌洗液、支气管灌洗液等)比上呼吸道标本(鼻咽拭子、口咽拭子等)更易检出病毒,尸检结果也证实该结论<sup>[9]</sup>。然而 COVID-19 患者多表现为干咳,深部痰液标本难以获取。肺泡灌洗液和支气管灌洗液等标本采集难度大,采样人员感染风险大,通常对实施气管插管的患者和重症患者优先采集下呼吸道标本。但是采集下呼吸道标本的患者所占比例小,对大多数

**专家简介:**周发春,主任医师,教授,硕士生导师,现任重庆医科大学附属第一医院重症医学科主任,急诊医学教研室主任,重庆市第三批学术技术带头人。重庆市第八批援湖北医疗队医疗组专家,重庆市抗击新型冠状病毒肺炎医疗救治专家组副组长,中华医学会重症医学分会常务委员,中国医学救援学会灾害救援分会第一届理事会常务理事,中国医师协会重症医学分会委员会常务委员,中国病理生理学会危重病医学专业委员会全国委员。

**作者简介:**赵林,男,主治医师,主要从事重症医学临床与研究。△ 通信作者,E-mail:zfc88@126.com。

患者仍采集易于获取的上呼吸道标本,因此易导致假阴性结果的出现。

**2.1.2 标本采集时间与病毒载量** COVID-19 的潜伏期为 1~14 d,多为 3~7 d<sup>[11]</sup>,绝大多数患者就诊时可能已经迁延了数天至数周,咽拭子检测时是否为最佳时期,标本内病毒载量是否仍然在商品化核酸检测试剂盒的检测范围内还有待确定。若咽拭子中的病毒载量小,低于试剂盒的最低检测限,易导致核酸结果呈现假阴性。根据以往研究经验,标本的病毒载量从高到低依次为下呼吸道标本、上呼吸道标本、血液标本和粪便标本。但 COVID-19 患者随着机体免疫系统的变化,体内病毒载量也随着病程的不断变化而发生着动态变化。

**2.1.3 标本的保存、运输和处理** RNA 病毒标本的保存、运输和处理对于核酸检测至关重要。SARS-CoV-2 是一种 RNA 病毒,体外较易发生降解,因此,对保存、运输和处理的要求很高。《新型冠状病毒肺炎防控方案(第五版)》规定用于病毒分离和核酸检测的标本应尽快进行检测,能在 24 h 内检测的标本可置于 4℃ 保存;24 h 内无法检测的标本则应置于 -70℃ 或以下保存(如无 -70℃ 保存条件,则于 -20℃ 冰箱暂存),标本运送期间应避免反复冻融<sup>[13]</sup>。COVID-19 流行前期,本市的患者均在所在医院采集标本,然后由医院的工作人员将标本送至区级或市级疾病预防控制中心统一检测。从采样到运输至疾病预防控制中心的时效性以及标本保存和低温运输过程是否达标,对于 SARS-CoV-2 核酸检测结果准确性也至关重要。

**2.1.4 试剂盒本身的局限性** 为积极应对 COVID-19 的严重疫情,试剂生产商试剂盒研发时间短,可能存在对试剂优化不充分以及试剂批次间存在较大差异的情况。目前不同厂家的商品化的试剂盒一般只检测 1~2 个部位的标本,只做一次扩增反应,缺乏标本间、标本内的重复也可能是造成假阴性结果的原因。所以尽可能采集同一患者不同部位的标本(上呼吸道、下呼吸道、血液、粪便标本),并用不同厂家的商品化的试剂盒进行平行检测,可最大限度地避免核酸检测假阴性结果的出现。

**2.1.5 其他原因** SARS-CoV-2 待测靶序列的变异或其他原因导致出现的序列改变可能会导致假阴性结果的出现。试剂或扩增反应中存在未经验证的其他干扰或 PCR 抑制因子也可能导致出现假阴性结果。

**2.2 病毒基因二代测序技术** 利用病毒基因二代测序技术检测 SARS-CoV-2 在《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第一版)》中已被列为确定诊断的标准,符合病例的定义,即采集痰液、咽拭子等呼吸道标本进行病毒全基因组测序,与已知的 SARS-CoV-2 高度同源<sup>[2]</sup>。病毒基因测序虽然准确性高,但是耗时

长、成本高,不能广泛应用于疫情流行期大量标本的检测。在目前已经具有商品化试剂盒的情况下,疫情暴发后大量标本需要检测,病毒基因测序技术非首选的诊断方案,但可以用于疑难病例的诊断与鉴别诊断。

**2.3 SARS-CoV-2 的抗体检测** 由于 RT-PCR 检测 SARS-CoV-2 具有假阴性率较高的缺点,病毒基因二代测序的费用高、耗时长,如能够在不同时期对患者体内抗体进行检测可以有效缓解诊断该病时面临的困境。目前已经有重庆、浙江等地的科研机构成功研发出针对 SARS-CoV-2 检测的免疫球蛋白(Ig)M、IgG 试剂盒,主要方法包括化学发光法和胶体金法两种。化学发光法灵敏度高,易检测出低水平抗体,假阳性率偏高;胶体金法的 Cut-Off 值较高,检测灵敏度较低,易出现假阴性结果。最好采用两种方法进行检测,互为补充。由于抗体检测是血清学的检测,患有肝脏疾病、类风湿关节炎、系统性红斑狼疮等免疫性疾病的患者会发生非特异性反应,出现部分假阳性结果。目前,抗体检测已经应用于临床,主要针对疑似病例和无症状感染者的血清学检查,作为核酸检测的重要补充。总之,针对抗体检测的试剂盒具有快速、高通量和低成本的特点,可用于 COVID-19 的早期诊断、流行病学筛查和临床转归的预测。

### 3 COVID-19 流行时期临床检验面临的挑战与对策

为了避免含有病毒的标本在采集、运送、检测以及后续处理的环节中传播疾病,检验人员也必须采取相应的防护措施。其中气溶胶传播也是可能传播途径之一,而标本在运输、操作和处置过程中均可产生气溶胶<sup>[16-17]</sup>,防护措施也要包含避免通过气溶胶感染的措施<sup>[4]</sup>。中华医学会检验医学分会制定了《新型冠状病毒肺炎临床实验室检测的生物安全防护指南(试行第一版)》,明确说明指导临床检验时需进行有效的生物安全防护<sup>[18]</sup>。

**3.1 标本的采集和运输中的防护要求** 采集标本由临床医生操作完成,要求进行三级生物安全防护,不建议检验人员进入隔离区采集标本。标本采集后要求置于两层一次性密封袋内密封。采集后的抽血针、棉签等,需放入相应的医疗锐器盒或废物箱<sup>[19]</sup>。标本院内运输由专人运送入实验室,确认装箱前有消毒环节,参与运输的人员应严格做好防护;院外送检的标本,需严格按照《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》要求执行<sup>[20]</sup>。

**3.2 标本的前处理、检验过程中的防护** 实验室接收和处理标本,应进行三级生物安全防护,操作人员应穿戴防护服、口罩、防护镜等。手工检测的项目要求在生物安全柜中进行。标本开箱或开袋尽可能在生物安全柜里完成检验操作,血液标本在离心前避免试管破损或者泄漏等。拔试管帽时防止标本飞溅,消毒后再上机离心,防止气溶胶的形成。实验室环境应

符合二级或三级生物安全实验室规范。RT-PCR 的操作人员应该具有资质,操作的环境应符合要求,开展前应由省级卫生行政部门审核后报国家卫生健康委员会批准<sup>[18]</sup>。

**3.3 检测后的防护** 操作完成以后,要按照操作规定完成防护设备的脱卸。检验后的标本应确保密封严密;盛装标本的试管,在生物安全柜中重新加盖新的塞子,然后密封在袋子中,避免在移动过程产生气溶胶。操作根据情况尽量集中时间统一操作,操作完成后的实验室应按照要求采用紫外线灯照射、75%乙醇溶液或有效氯的消毒液喷雾全面消毒。废弃物可以参照《新型冠状病毒实验室生物安全指南(第二版)》进行处理<sup>[19]</sup>。

**3.4 特殊情况的处理** 检测标本在操作时发生飞溅、试管破损等造成小范围的污染时,使用含有效氯消毒液进行消毒至少 30 min。若造成实验室污染时,应保持实验室空间密闭,避免污染物扩散。使用含有效氯消毒液的毛巾覆盖污染区域,消毒至少 30 min。当大量的污染物溢洒时,应采用过氧乙酸加热熏蒸实验室<sup>[18-19]</sup>。

## 4 总 结

临床检验在做好患者的常规检查外,加强与临床一线医生共同分析探讨重症患者预后相关的指标具有重要的意义。其次,重视在核酸检测时造成假阴性结果的多种因素,提高检测效率的同时与相关机构合作研发出灵敏度和特异度高的检测方法也是遏制疫情的有效措施。最后,针对检验中可能存在的暴露因素,按照实验室生物安全的规章制度做到有效的防护,降低检验人员的感染风险也至关重要。

## 参考文献

- [1] WU F, ZHAO S, YU B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China[J]. Nature, 2020, 579(7798):265-269.
- [2] 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诊疗方案(试行第一版)[EB/OL]. (2020-02-08) [2020-04-05]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/index.shtml>.
- [3] LI Q, GUAN X, WU P, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia[J]. N Engl J Med, 2020, 382(12):1199-1207.
- [4] 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诊疗方案(试行第六版)[EB/OL]. (2020-02-19) [2020-02-25]. [http://www.gov.cn/zhengce/2020-02/19/content\\_5480958.htm](http://www.gov.cn/zhengce/2020-02/19/content_5480958.htm).
- [5] HUANG C, WANG Y, LI X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. The Lancet, 2020, 395(10223):497-506.
- [6] ZHU N, ZHANG D, WANG W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019[J]. N Engl J Med, 2020, 382(8):727-733.
- [7] MUNSTER V J, KOOPMANS M, VAN DOREMALEN N, et al. A Novel Coronavirus Emerging in China-Key Questions for Impact Assessment[J]. N Engl J Med, 2020, 382(8):692-694.
- [8] ZHANG J, DONG X, CAO Y, et al. Clinical characteristics of 140 patients infected by SARS-CoV-2 in Wuhan, China[J/OL]. Allergy. (2020-02-19) [2020-02-25]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32077115/>.
- [9] XU Z, SHI L, WANG Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome[J]. Lancet Res Med, 2020, 8(4):420-422.
- [10] 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诊疗方案(试行第二版)[EB/OL]. (2020-01-22) [2020-02-25]. <http://www.nhc.gov.cn/bgt/>.
- [11] 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诊疗方案(试行第三版)[EB/OL]. (2020-01-23) [2020-02-25]. [http://www.nhc.gov.cn/zxygj/s7653p/202001/f492c9153ea9437bb587ce2ffcbee1fa\\_shtml](http://www.nhc.gov.cn/zxygj/s7653p/202001/f492c9153ea9437bb587ce2ffcbee1fa_shtml).
- [12] 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诊疗方案(试行第四版)[EB/OL]. (2020-01-27) [2020-02-25]. [http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-01/28/content\\_5472673.htm](http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-01/28/content_5472673.htm).
- [13] 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诊疗方案(试行第五版)[EB/OL]. (2020-02-05) [2020-02-25]. [http://www.nhc.gov.cn/zxygj/s7652m/202002/e84bd30142ab4d8982326326e4db22ea\\_shtml](http://www.nhc.gov.cn/zxygj/s7652m/202002/e84bd30142ab4d8982326326e4db22ea_shtml).
- [14] CORMAN V M, LANDT O, KAISER M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR[J]. Eurosurveillance, 2020, 25(3):2000045.
- [15] 莫茜, 秦炜, 傅启华, 等. 正确认识新冠病毒核酸检测的影响因素[J/OL]. 中华检验医学杂志, 2020, 43. (2020-02-08) [2020-04-05]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1180120.htm>.
- [16] 潘湛, 王勤熙. 气溶胶病毒富集与检测研究进展[J]. 温州医科大学学报, 2008, 38(6):579-581.
- [17] WAX R S, CHRISTIAN M D. Practical recommendations for critical care and anesthesiology teams caring for novel coronavirus (2019-nCoV) patients[J]. Can J Anesth, 2020, 67(5):568-576.
- [18] 中华医学会检验医学分会. 2019 新型冠状病毒相关实验室检测的生物安全指南(试行第一版)[EB/OL]. (2020-01-31) [2020-02-25]. [https://www.cma.org.cn/art/2020/1/31/art\\_1822\\_32236.html](https://www.cma.org.cn/art/2020/1/31/art_1822_32236.html).
- [19] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒实验室生物安全指南(第二版)[EB/OL]. (2020-01-23) [2020-04-05]. <http://www.nhc.gov.cn/qjjys/s3590/202001/592dff68bdce45f19bb504e739e9c358.shtml>.
- [20] 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]. (2006-02-01) [2020-02-25]. [http://www.gov.cn/gongbao/content/2006/content\\_453197.htm](http://www.gov.cn/gongbao/content/2006/content_453197.htm).