

ICS 11.020
C59
23227—2008

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS 286—2008

传染性非典型肺炎诊断标准

Diagnostic criteria for severe acute respiratory syndrome

2008-02-28 发布

2008-09-01 实施



中华人民共和国卫生部 发布

目 次

前言	Ⅲ
1 范围	1
2 术语和定义、缩略语	1
3 诊断依据	1
4 诊断原则	3
5 诊断标准	3
6 鉴别诊断	4
附录 A(规范性附录)传染性非典型肺炎实验室检测方法	5
附录 B(资料性附录)传染性非典型肺炎病原学、流行病学与临床表现	11

前 言

根据《中华人民共和国传染病防治法》制定本标准。

本标准的附录 A 是规范性附录,附录 B 是资料性附录。

本标准由卫生部传染病标准专业委员会提出。

本标准由中华人民共和国卫生部批准。

本标准起草单位:中国疾病预防控制中心、北京大学人民医院。

本标准主要起草人:杨维中、阮力、冯子健、高占成、余宏杰。

传染性非典型肺炎诊断标准

1 范围

本标准规定了传染性非典型肺炎的诊断依据、诊断原则、诊断和鉴别诊断。

本标准适用于全国各级医疗卫生机构及其工作人员对传染性非典型肺炎的诊断、报告。

2 术语和定义、缩略语

2.1 术语和定义

下列术语、定义和缩略语适用于本标准。

2.1.1 传染性非典型肺炎 severe acute respiratory syndrome

世界卫生组织将其命名为严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS),是由 SARS 冠状病毒(SARS-Coronavirus, SARS-CoV)引起的一种具有明显传染性,可累及多个脏器和系统,以肺炎为主要临床表现的急性呼吸道传染病。该病具有传染性强、人群普遍易感、病情进展快、预后较差和危害大的特点。

2.1.2 密切接触 close contact

治疗或护理、探视病例,与病例共同生活,以及通过其他方式直接接触病例的呼吸道分泌物、体液和排泄物(如粪便)等。

2.2 缩略语

SARS; severe acute respiratory syndrome, 严重急性呼吸综合征, 传染性非典型肺炎

SARS-CoV; SARS-Coronavirus, SARS 冠状病毒

WHO; world health organization, 世界卫生组织

ARDS; acute respiratory distress syndrome, 急性呼吸窘迫综合征

LDH; lactate dehydrogenase, 乳酸脱氢酶

AST; aspartate aminotransferase, 天冬氨酸转氨酶

ALT; alanine aminotransferase, 丙氨酸氨基转移酶

CK; creatine kinase, 肌酸激酶

PCR; polymerase chain reaction, 聚合酶链反应

ELISA; enzyme linked immunosorbent assay, 酶联免疫吸附试验

IFA; immunofluorescence assay, 免疫荧光试验

3 诊断依据

3.1 流行病学史

3.1.1 发病前 14d 内曾经接触过疑似或临床诊断或实验室确诊 SARS 病例,尤其是与其密切接触。

3.1.2 病例有明确传染他人,尤其是传染多人发病的证据,他人或多人被诊断为疑似或临床或实验室确诊 SARS 病例。

3.1.3 发病前 14d 内有与果子狸或相关野生动物的接触史,如曾经到过饲养、贩卖、运输、加工、烹饪果子狸或相关野生动物的场所和环境,直接接触过其分泌物和(或)排泄物等。

3.1.4 从事 SARS-CoV 检测、科研的相关实验室工作人员。

3.1.5 发病前 2 周内居住在或曾到过 SARS 流行的区域(由卫生部组织专家评估确定)。

3.2 临床表现(参见附录 B. 3. 1)

SARS 的潜伏期通常限于 2 周之内,一般 2d~10d。

3.2.1 临床症状

急性起病,自发病之日起 2 周~3 周内病情都可处于进展状态。主要有以下三类症状:

- a) 发热及相关症状:常以发热为首发和主要症状,体温一般高于 38℃,常呈持续性高热,可伴有畏寒、头痛、乏力、肌肉和关节酸痛。在早期,使用退热药可有效;进入进展期,通常难以用退热药控制高热。使用糖皮质激素可对热型造成干扰。
- b) 呼吸系统症状:咳嗽不多见,表现为干咳,少痰,少数患者出现咽痛。可有胸闷,严重者逐渐出现呼吸加速、气促,甚至呼吸窘迫。常无上呼吸道卡他症状。呼吸困难和低氧血症多见于发病 6d~12d 以后。
- c) 其他方面症状:部分患者出现腹泻、恶心、呕吐等消化道症状。

3.2.2 体征

SARS 患者的肺部体征常不明显,部分患者可闻及少许湿啰音,或有肺实变体征。偶有局部叩浊、呼吸音减低等少量胸腔积液的体征。

3.2.3 实验室检查

3.2.3.1 外周血象

- a) 多数患者白细胞计数在正常范围内,部分患者白细胞计数减低。
- b) 大多数 SARS 患者淋巴细胞计数绝对值减少,随病程进展呈逐步减低趋势,并有细胞形态学变化。判断淋巴细胞计数减低的临界值为 $1.2 \times 10^9/L$ 。淋巴细胞计数绝对值 $< 0.9 \times 10^9/L$ 。
- c) 发病后期常容易合并细菌感染,白细胞计数明显升高,中性粒细胞比例升高。

3.2.3.2 T 淋巴细胞亚群

CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 细胞计数减少,以 CD4⁺ 亚群减低为著。CD4⁺/CD8⁺ 正常或降低。

3.2.3.3 其他

部分患者伴有肝功能及肾功能异常,LDH、ALT、AST、CK 的升高。

3.2.4 影像学表现

SARS 患者的胸部 X 线和 CT 基本影像表现为磨玻璃密度影和肺实变影。

- a) 磨玻璃密度影:磨玻璃密度影在胸部 X 线和 CT 上的判定标准为病变的密度比血管密度低,其内可见血管影像。在 X 线胸片上磨玻璃密度影也可采用低于肺门的密度作为识别标准。磨玻璃密度影的形态可为单发或多发的小片状、大片状,或在肺内弥漫分布。在 CT 上有的磨玻璃影内可见细线和网状影,为肺血管分支、增厚的小叶间隔及小叶内间质的影像。磨玻璃密度影内若合并较为广泛、密集的网状影,称为“碎石路”(crazy paving)征。有的磨玻璃影内可见含有气体密度的支气管分支影像,称为“空气支气管”(air bronchogram)征。
- b) 肺实变影:在胸部 X 线和 CT 上肺实变影的判定标准为病变的密度接近或高于血管密度,其内不能见到血管影像,但有时可见空气支气管征。在 X 线胸片上肺实变影又可以以等于或高于肺门阴影的密度作为识别的依据。病变可为小片状或大片状,单发或多发。

3.3 SARS-CoV 实验室检测

3.3.1 SARS-CoV 核酸(RNA)检测

应用逆转录聚合酶链反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)方法检测 SARS-CoV 的 RNA,检测方法见 A.1。RT-PCR 检测阳性结果应使用原始标本进行重复试验或在第二个实验室检测同一份标本。

3.3.1.1 任何一种标本经任何一间具备 RT-PCR 检测和生物安全资质的实验室检测阳性。

3.3.1.2 至少需要两种不同部位的临床标本检测阳性(例如血液和鼻咽分泌物或粪便)。

3.3.1.3 连续收集 2d 或以上的同一种临床标本送检,检测阳性(例如 2 份或多份鼻咽分泌物)。

3.3.1.4 在每一个特定检测中对原始临床标本使用两种不同的方法,或从原始标本重新提取 RNA,

RT-PCR 检测阳性。

3.3.2 SARS-CoV 特异性抗原 N 蛋白检测

以 ELISA 检测血清或血浆标本中 SARS-CoV 核衣壳(N)蛋白抗原阳性,重复一次试验,结果仍为阳性。检测方法见 A.2。

3.3.3 SARS-CoV 特异性抗体检测

急性期血清标本是指发病后 7d 内采集的标本,应尽可能早地采集;恢复期血清标本是指发病后 3 周~4 周采集的标本。WHO 推荐以 ELISA 和 IFA 作为血清 SARS-CoV 抗体检测方法,见 A.3、A.4。SARS-CoV 抗体中和试验(neutralization test)作为 SARS 血清学诊断的特异方法,有条件的实验室可以开展。

3.3.3.1 病例的任何一份血清抗体检测阳性。

3.3.3.2 平行检测急性期和恢复期血清,抗体阳转。

3.3.3.3 平行检测急性期和恢复期血清,抗体滴度升高 ≥ 4 倍。

4 诊断原则

SARS 的诊断需要依据病例的流行病学史、临床表现和实验室检测综合进行判断,确诊病例需要病原学或血清学检测证据,尤其是血清抗体阳转或急性期与恢复期有 4 倍以上增长的证据。为早期、及时发现疑似 SARS 病例,医务人员应详细询问患者的流行病学史。

流行病学方面有明确支持证据和从临床或实验室上能够排除其他疾病,是做出临床诊断最重要的支持依据。对于就诊时未能明确流行病学依据者,就诊后应继续进行流行病学追访。

动态观察病情演变(症状、氧合状况、肺部 X 线影像)、抗菌药物治疗效果和 SARS 特异性病原学检测结果,对于诊断具有重要意义。

传染性非典型肺炎病原学、流行病学与临床表现参见附录 B。

5 诊断标准

5.1 SARS 疑似病例

符合以下任何一项可诊断为 SARS 疑似病例:

5.1.1 具备 3.1 中的任一项,和 3.2 中 SARS 的相应临床表现,但尚没有典型 3.2.4 肺部 X 线影像学表现者;

5.1.2 具备 3.2 中 SARS 的相应临床表现,有或没有 3.2.4 肺部 X 线影像学表现者,同时具备 3.3.1.1;

5.1.3 具备 3.2 中 SARS 的相应临床表现,有或没有 3.2.4 肺部 X 线影像学表现者,同时具备 3.3.3.1。

5.2 SARS 临床诊断病例

具备 3.1 中的任一项和 3.2 中 SARS 的相应临床表现,尤其是 3.2.4 肺部 X 线影像学表现,并能排除其他疾病诊断者。

5.3 SARS 确诊病例

符合以下任何一项者为 SARS 确定病例:

5.3.1 具备 3.2 中 SARS 相应的临床表现及 3.3.1.2;

5.3.2 具备 3.2 中 SARS 相应的临床表现及 3.3.1.3;

5.3.3 具备 3.2 中 SARS 相应的临床表现及 3.3.1.4;

5.3.4 具备 3.2 中 SARS 相应的临床表现及 3.3.2;

5.3.5 具备 3.2 中 SARS 相应的临床表现及 3.3.3.2;

5.3.6 具备 3.2 中 SARS 相应的临床表现及 3.3.3.3。

6 鉴别诊断

需要与 SARS 进行鉴别的重点疾病包括上呼吸道感染、流行性感、人禽流感、细菌性肺炎、肺炎支原体肺炎、肺炎衣原体肺炎、军团菌性肺炎、真菌性肺炎、其他病毒性肺炎、肺结核。其他需要鉴别的疾病还包括艾滋病或其他使用免疫抑制剂(如器官移植术后等)患者合并的肺部感染、汉坦病毒肺综合征、肺部肿瘤、非感染性间质性肺疾病、肺水肿、肺不张、肺栓塞、肺血管炎、肺嗜酸粒细胞浸润症等。

附录 A

(规范性附录)

传染性非典型肺炎实验室检测方法

A.1 荧光定量实时 RT-PCR 方法检测 SARS-CoV 核酸

A.1.1 原理

该方法利用荧光能量共振转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)原理,即两荧光集团相靠小于 $10 \times 10^{-10} \text{ m} \sim 100 \times 10^{-10} \text{ m}$ ($10 \sim 100 \text{ \AA}$) 时,一个荧光基团所释放的能量就会使相邻的荧光基团发光。根据 FRET 原理,设计两条相邻探针,一条探针的 5' 端标记 FAM 荧光基团,另一探针的 3' 端标记 Red 640 荧光基团,当复性时,探针结合在模板上,有红色荧光信号产生。当变性时,探针游离,两基团距离远,该荧光信号消失,并且被相应的仪器检测到。所以能实时检测核酸每次扩增的信号,实现对核酸扩增的实时检测与定量。

SARS 患者发病期,不同样本中含有不同量的 SARS-CoV 或病毒核酸,本方法可用于 SARS 患者样品中 SARS-CoV 特异的核酸检测。

A.1.2 实验条件及主要材料

本试验应在符合国家生物安全规定和 PCR 检测标准的实验室中进行,并使用国家批准的 SARS-CoV 核酸荧光定量实时 PCR 检测试剂盒(例如深圳市匹基生物工程股份有限公司生产),所有仪器、材料及方法均按试剂盒说明书操作。须注意,不同的试剂盒的操作仪器、材料及方法会有所不同。

A.1.2.1 荧光 PCR 检测仪(Roche LightCycler^①)。

A.1.2.2 病毒核酸(RNA)制备:使用试剂盒推荐的核酸提取试剂制备病毒核酸,详见 A.1.3。

A.1.2.3 PCR 反应毛细管:使用试剂盒提供的规格。

A.1.2.4 试剂:下述试剂详见说明书。

SARS PCR 反应液;

RT-PCR 酶;

增强剂(enhancer);

DEPC 水。

A.1.3 病毒核酸(RNA)的制备

A.1.3.1 样本要求:采集患者发病早期咽拭子(2mL/咽拭子)和全血或血清等样本。

A.1.3.2 提取试剂准备(在使用前进行)

a) Buffer AVL 工作液的制备 将试剂盒提供的 Buffer AVL 液 1mL 加入到 1 管冻干的 Carrier RNA 中,混合均匀,彻底溶解 Carrier RNA。在第 1 次使用前将溶解的 Carrier RNA 加入到 1 瓶 Buffer AVL 中,制成 Buffer AVL 工作液,保存于 $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ (稳定性为 6 个月)。在 $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 条件下,Buffer AVL/Carrier RNA 混合物可能会析出沉淀,可在使用前 80°C 温育使之溶解。

b) Buffer AW1 工作液的制备 试剂盒中 Buffer AW1 以浓缩液的状态提供。第 1 次使用前,按照试剂瓶上的说明向其中加入规定量的无水乙醇制备成工作液。Buffer AW1 工作液在室温条件下可稳定保存 1 年。

c) Buffer AW2 工作液的准备 试剂盒中 Buffer AW2 以浓缩液的状态提供。第 1 次使用前,按照试剂瓶上的说明向其中加入规定量的无水乙醇制备成工作液。Buffer AW2 工作液在室温条件下可稳定保存 1 年。

① 给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他产品有相同的效果,则可使用这些等效的产品。

A. 1.3.3 病毒核酸(RNA)提取步骤

所有试剂在使用前应平衡至室温;所有离心步骤应在室温下进行。

A. 1.3.3.1 取 n 个 1.5mL 灭菌离心管,作好标记。 n =样本数+3(1管强阳性对照,1管临界阳性对照和1管阴性对照)。

A. 1.3.3.2 每个离心管加 560 μ L Buffer AVL 工作液。

A. 1.3.3.3 裂解样本:将 140 μ L 待测样本及对照样本加到上述离心管中,振荡混匀 15s,室温孵育 10min。

A. 1.3.3.4 平衡样本:短暂离心后加入 560 μ L 无水乙醇,振荡混匀 15s,再短暂离心,以便上柱纯化核酸。

A. 1.3.3.5 上样吸附核酸

第一次加样:取步骤 A. 1.3.3.4 得到的混合物 630 μ L(一次上样的最大量),加入到 QIAamp RNA 提取柱中(带有 2mL 的集液管),盖上管盖,6 000r/min 离心 1min,以便将核酸吸附在柱上,并离去未吸附的成份。

第二次加样:更换新的集液管,将 A. 1.3.3.4 剩余的样本加入到 QIAamp RNA 提取柱中,盖上管盖,6 000r/min 离心 1min,以便将剩余样品中的核酸也吸附到同一个柱上。

A. 1.3.3.6 洗柱

第一次洗柱:更换新的集液管,打开管盖,加入 500 μ L Buffer AW1 工作液,6 000r/min 离心 1min,洗柱。

第二次洗柱:更换新的集液管,打开管盖,加入 500 μ L Buffer AW2 工作液,以 20 000r/min 离心 3min,再次洗柱。

第三次洗柱:更换新的集液管,以 20 000r/min 离心 1min,彻底离去柱系统中残余的洗液。

A. 1.3.3.7 洗脱加收核酸样本:将 QIAamp RNA 提取柱置于新的 1.5mL 离心管上,小心地打开管盖,加入 60 μ L 核酸洗脱液 Buffer AVE,盖上管盖,室温条件下孵育 1min,6 000r/min 离心 1min,收集核酸洗脱液,做好标记,4 $^{\circ}$ C 保存备用。

A. 1.4 荧光定量实时 RT-PCR 检测

A. 1.4.1 实时 RT-PCR 反应液的准备:每个待检样本反应液的组成为:SARS PCR 反应液 9.8 μ L,enhancer 0.2 μ L,RT-PCR 酶 1/2 粒;根据每个样本反应液的组成和待检测样本数量,确定总反应体积和配制反应液(因为试剂盒的酶是以一粒为单位提供的,2 个反应用一粒酶,所以当样本数为奇数时,应按增加 1 个样本数计算总反应体积,以确保反应体系的准确性),反应液配制完毕后充分混合,2 000r/min 离心 10s,按每管 10 μ L 分装至各 PCR 反应管中。

A. 1.4.2 加样:每反应管中加入核酸 15 μ L,盖紧管盖,室温下放置 5min,置于 PCR 检测仪上。

A. 1.4.3 扩增条件设定见表 A.1。

表 A.1 扩增条件设定

程序	循环数	设定温度($^{\circ}$ C)	反应时间(s)	温度变化率($^{\circ}$ C/s)	信号获取模式	分析模式
1	1	42	1 800	20	none	none
		92	180	20	none	none
		92	10	20	none	
2	5	52	20	2	none	none
		72	30	20	none	
3	40	92	5	20	none	quantification(定量)
		60	30	20	single(单通道)	
4	1	40	10	20	none	none

A. 1.4.4 仪器检测通道选择

使用 Roche LightCycler 荧光 PCR 检测仪时,选定 F1 通道,在 60℃ 时荧光信号收集方式设为 1。具体设置方法请参照各仪器使用说明书。

A. 1.4.5 结果分析阈值设定

使用 Roche LightCycler 进行结果分析时,用荧光记数值 F1 读取结果,阈值设定的原则是阈值线刚好超过正常阴性对照品扩增曲线的最高点,通常在 0.001~0.1 内调整,或可根据仪器噪音情况进行调整。

A. 1.5 实时 RT-PCR 反应系统的质量控制

反应结果应同时符合以下 3 个条件,否则试验结果无效。

A. 1.5.1 阴性对照无扩增,为阴性。

A. 1.5.2 强阳性对照 $Ct < 25$ 。

A. 1.5.3 临界阳性对照 $Ct < 34$ 。

A. 1.6 结果判断

A. 1.6.1 阴性:无 Ct 值或 Ct 为 40。

A. 1.6.2 阳性: Ct 值 < 37 。

A. 1.6.3 Ct 值在 37~40 之间的样本建议重做,若重做结果 $Ct < 40$,则该样本判断为阳性,否则为阴性。

A. 1.7 试验结果的解释

A. 1.7.1 符合下列情况之一可以报告患者样本 SARS 病毒核酸检测结果阳性:

A. 1.7.1.1 至少 2 个同一时间收集的不同类型的临床样本(例如血浆、粪便)检测结果阳性。

A. 1.7.1.2 从发病第 2 天起不同时间收集的相同类型的临床样本检测结果均为阳性。

A. 1.7.1.3 使用 2 种不同的检测方法或试剂(基于其他反应原理或其他企业产品),对同一临床样本重复检测结果均为阳性;或从原始标本重新提取 RNA,RT-PCR 检测阳性。

A. 1.7.2 由于样本的质量和检测方法等因素的限制,检测结果为阴性时,尚不能完全排除样本中含有病毒核酸。

A. 2 ELISA 检测血清中 SARS-CoV 核衣壳抗原(N 蛋白)

A. 2.1 原理

用抗 SARS-CoV N 蛋白的特异性单克隆抗体包被聚苯乙烯微孔反应板,加入待检血清标本,再加入兔抗 N 蛋白抗体形成双抗体夹心免疫复合物,然后加入羊抗兔酶标抗体,形成(抗体-病毒抗原-二抗-抗二抗酶标记物)免疫复合物,用相应的酶底物催化显色,通过酶标仪进行定性和定量测定。

SARS 患者早中期血清中含有较高滴度的 SARS-CoV N 蛋白,本方法可用于 SARS 患者的早期诊断。

A. 2.2 实验条件及主要材料

本试验应在符合国家生物安全规定和血清学检测标准的实验室中进行,并使用国家批准的检测血清中 SARS-CoV 核衣壳蛋白抗原的 ELISA 试剂盒,所有仪器、材料及方法均按试剂盒说明书操作。须注意,不同的试剂盒的操作仪器、材料及方法会有所不同。

A. 2.2.1 主要材料

- a) 包被抗 SARS-CoV N 蛋白特异性单抗的反应板;
- b) 兔抗 SARS-CoV N 蛋白抗体;
- c) 酶标记的羊抗兔 IgG 抗体;
- d) 洗涤液;
- e) 底物显色液;
- f) 终止液;

g) 阴、阳性对照血清。

A. 2. 2. 2 主要仪器

- a) 洗板机;
- b) 酶标仪;
- c) 37℃恒温箱。

A. 2. 3 操作步骤

A. 2. 3. 1 样本要求

采集患者发病早中期血清样本,并将血清样本 56℃温育 90min 灭活处理。

A. 2. 3. 2 试验步骤

a) 将不稀释的待检血清、阴性对照和阳性对照样本各 100 μ L 加入已包被抗 SARS-CoV N 蛋白特异性单抗的反应孔中,每次试验设阴性对照 3 孔、阳性对照 2 孔和空白对照 1 孔(空白孔不加液体),置 37℃温育 60min。

b) 弃去各孔中液体,每孔加满洗涤液,反复洗涤 5 次,每次需静止 30s,吸净各孔中的洗涤液。

c) 除空白孔外,每孔加入兔抗 SARS 冠状病毒 N 蛋白抗体 100 μ L,置 37℃温育 60min。

d) 弃去各孔中的样本,洗涤反应板。方法同步骤 b)。

e) 除空白孔外,每孔加入酶标羊抗兔 IgG 抗体 100 μ L,置 37℃温育 60min。

f) 弃去各孔中的样本,洗涤反应板。方法同步骤 b)。

g) 每孔加入酶底物反应液 100 μ L,置 37℃避光温育 10min。

h) 每孔加入终止液 50 μ L,混匀后立即以空白孔调零,置酶标仪 450nm 波长下测定 OD 值。

A. 2. 4 反应体系质量控制

阳性对照 OD 值有效范围: ≥ 0.5 ,阴性对照 OD 值有效范围: ≤ 0.20 ,否则试验无效。

A. 2. 5 结果判定

A. 2. 5. 1 阴、阳性对照和被检血清样本各自的 OD 值减去空白对照 OD 值为计算值。

A. 2. 5. 2 临界值 $=0.09 + \text{阴性对照平均 A 值}$ (当阴性对照平均 A 值小于 0.10 时,按 0.10 计算;当阴性对照平均 A 值大于或等于 0.10 时按实际值计算)。

A. 2. 5. 3 被检样本血清的 OD 值 $\geq$ 临界值应判为抗原阳性,小于临界值判定为阴性反应。临界值附近建议重新检测,复测阳性判定为阳性,否则判定为阴性。

A. 2. 6 试验结果的解释

A. 2. 6. 1 检测结果阳性只表明该样品中含有 SARS-CoV N 蛋白抗原。

A. 2. 6. 2 注意事项:检测结果为阳性,需要密切结合临床指征及其他测定结果进行综合分析,可疑及阳性血清标本应进行第 2 次试验加以复核,并进行双孔测定。检测结果为阴性的标本,不能完全排除 SARS-CoV 感染。SARS 患者病程早期(3d~10d)的标本,SARS-CoV N 蛋白有相对较高的阳性检出率;发病 10d 以上患者标本,阳性率逐渐下降,此时应当同时进行抗体检测。

A. 3 间接 ELISA 检测血清中 SARS-CoV IgG 抗体

A. 3. 1 原理

先将 SARS-CoV 裂解液包被聚苯乙烯微孔反应板,再将待检血清标本和酶标抗人 IgG 与反应板上的抗原特异性结合,洗去游离的成分。加入相应的酶底物催化显色。用酶标仪进行定性和定量测定。

SARS 患者在发病中晚期血清 IgG 抗体较高,本方法可用于 SARS 患者血清中特异 IgG 抗体的检测。

A. 3. 2 实验条件及主要材料

本试验应在符合国家生物安全规定和血清学检测标准的实验室中进行,并使用国家批准的检测血清中 SARS-CoV IgG 抗体的 ELISA 试剂盒,所有仪器、材料及方法均按试剂盒说明书操作。须注意,不同的试剂盒的操作仪器、材料及方法会有所不同。

A.3.2.1 主要材料

- a) SARS 冠状病毒裂解液包被板;
- b) 酶标记抗人 IgG 抗体;
- c) 样本稀释液;
- d) 洗涤液;
- e) 底物显色液;
- f) 终止液;
- g) 阴、阳性对照血清。

A.3.2.2 主要仪器

- a) 洗板机;
- b) 酶标仪;
- c) 37℃ 恒温箱。

A.3.3 操作步骤

A.3.3.1 样本要求

采集患者发病早、中期及恢复期血清样本,并将血清样本 56℃ 温育 90min 灭活处理。

A.3.3.2 试验步骤

- a) 每次试验设空白对照、阳性对照 1 孔、阴性对照 2 孔。空白孔不加液体。
- b) 每孔加入 1:10 稀释的血清样本 100 μ L,置 37℃ 温育 30min。
- c) 弃去各孔中的样本,每孔加满洗涤液,反复洗涤 5 次。每次需静止 30s。吸净各孔中的洗涤液。
- d) 除空白孔外,每孔加入酶标记抗人 IgG 抗体 100 μ L。置 37℃ 温育 20min。
- e) 弃去各孔中的样本,洗涤反应板。方法同步骤 c)。
- f) 每孔加入酶底物反应液 100 μ L,置 37℃ 避光温育 10min。
- g) 每孔加入终止液 50 μ L,混匀后立即以空白孔调零,置酶标仪 450nm 波长下测定 OD 值。

A.3.4 反应体系质量控制

阳性对照 OD 值有效范围: ≥ 0.50 ,阴性对照 OD 值有效范围: ≤ 0.10 ,否则试验无效。

A.3.5 结果判定

A.3.5.1 阴、阳性标本和被检样本血清各自的 OD 值减去空白对照 OD 值为计算值。

A.3.5.2 若阴性对照血清 OD 均值小于 0.05 按 0.05 计算。

A.3.5.3 临界值的设定:临界值=0.13+阴性对照标本 OD 均值。

A.3.5.4 被检样本血清的 OD 值大于临界值应判为 SARS-CoV IgG 抗体阳性,小于临界值判定为阴性反应,临界值附近建议重新检测,复测阳性判定为阳性,否则判定为阴性。

A.3.6 试验结果的解释

A.3.6.1 根据机体感染后产生抗体的基础理论,SARS-CoV IgG 抗体检测结果应依据机体从感染病毒到产生抗体的时间,样品采集时间,抗体强度的个体差异及临床指征等情况,并结合其他测定结果综合考虑。

A.3.6.2 抗体检测为阴性者,并不能排除存在 SARS-CoV 感染。

A.3.6.3 早期和恢复期 SARS 冠状病毒抗体阳转或病程中 SARS-CoV 抗体 4 倍升高都具有确定诊断价值。

A.4 间接 ELISA 检测血清中 SARS-CoV IgM 抗体

A.4.1 原理

先将 SARS-CoV 裂解液包被聚苯乙烯微孔反应板,再将待检血清标本和酶标抗人 IgM 抗体与反应板上的抗原特异性结合,洗去游离的成分。加入相应的酶底物催化显色。用酶标仪进行定性和定量测定。

SARS 患者在发病中晚期血清 IgM 抗体较高,本方法可用于 SARS 患者血清中特异 IgM 抗体的检测。

A. 4.2 实验条件及主要材料

本试验应在符合国家生物安全规定和血清学检测标准的实验室中进行,并使用国家批准的检测血清中 SARS-CoV IgM 抗体的 ELISA 试剂盒,所有仪器、材料及方法均按试剂盒说明书操作。须注意,不同的试剂盒的操作仪器、材料及方法会有所不同。

A. 4.2.1 主要材料

- a) SARS-CoV 裂解液包被板;
- b) 酶标记抗人 IgM 抗体;
- c) 样本稀释液;
- d) 洗涤液;
- e) 底物显色液;
- f) 阴、阳性对照血清。

A. 4.2.2 主要仪器

- a) 洗板机;
- b) 酶标仪;
- c) 37℃ 恒温箱。

A. 4.3 操作步骤

A. 4.3.1 样本要求

采集患者发病各期血清样本,并将血清样本 56℃ 温育 90min 灭活处理。

A. 4.3.2 试验步骤

- a) 每次试验设空白对照、阳性对照 1 孔、阴性对照 2 孔。空白孔不加液体。
- b) 每孔加入 1:100 稀释的血清样本 100 μ L,置 37℃ 温育 60min。
- c) 弃去各孔中的样本,每孔加满洗涤液,反复洗涤 5 次。每次需静止 30s。吸净各孔中的洗涤液。
- d) 除空白孔外,每孔加入酶标抗人 IgM 抗体 100 μ L。置 37℃ 温育 20min。
- e) 弃去各孔中的样本,洗涤反应板。方法同步骤 c)。
- f) 每孔加入酶底物反应液 100 μ L,置 37℃ 避光温育 10min。
- g) 每孔加入终止液 50 μ L,混匀后立即以空白孔调零,置酶标仪 450nm 波长下测定 OD 值。

A. 4.4 反应体系质量控制

阳性对照 OD 值有效范围: ≥ 0.50 ,阴性对照 OD 值有效范围: ≤ 0.10 ,否则试验无效。

A. 4.5 结果判定

A. 4.5.1 阴、阳性标本和被检样本血清各自的 OD 值减去空白对照 OD 值为计算值。

A. 4.5.2 若阴性对照血清 OD 均值小于 0.05 按 0.05 计算。

A. 4.5.3 临界值的设定:临界值=0.11+阴性对照标本 OD 均值。

A. 4.5.4 被检样本血清的 OD 值大于临界值应判为 SARS-CoV IgM 抗体阳性,小于临界值判定为阴性反应,临界值附近建议重新检测,复测阳性判定为阳性,否则判定为阴性。

A. 4.6 试验结果的解释

A. 4.6.1 根据机体感染后产生抗体的基础理论,SARS-CoV IgM 抗体检测结果应依据机体从感染病毒到产生抗体的时间,样品采集时间,抗体强度的个体差异及临床指征等情况,并结合其他测定结果综合考虑。

A. 4.6.2 抗体检测为阴性者,并不能排除存在 SARS-CoV 感染。

A. 4.6.3 SARS 冠状病毒 IgM 抗体阳转或抗体持续升高都具有 SARS 冠状病毒感染辅助诊断价值。

附录 B

(资料性附录)

传染性非典型肺炎病原学、流行病学与临床表现

B.1 病原学

B.1.1 概述

2002 年 11 月在中国广东省部分地区出现的 SARS, 在经历了两个多月的始发期后, 扩散到中国大陆 24 个省、自治区、直辖市。在全球共波及亚洲、欧洲、美洲等 29 个国家和地区。自 2003 年 1 月以来, SARS 疫情引起了众多中外科学家的关注。作为疫情的首发地, 中国科学家在排除了大量常见病因后, 将目光集中到“新病原”的寻找上。2003 年 3 月 17 日, 世界卫生组织 (WHO) 建立了全球网络实验室, 开始了 SARS 病原的联合攻关。经过全球 9 个国家 13 个网络实验室的科学家从病毒形态学、分子生物学、血清学及动物实验等多方面研究, 4 月 16 日 WHO 在日内瓦宣布, 一种新的冠状病毒是 SARS 的病原, 并将其命名为 SARS 冠状病毒 (SARS-CoV)。

经典冠状病毒感染主要发生在冬春季节, 广泛分布于世界各地。该病毒包括三个群, 第一、二群主要为哺乳动物冠状病毒, 第三群主要为禽类冠状病毒。人冠状病毒有两个血清型 (HCoV-229E 和 HCoV-OC43), 是人呼吸道感染的重要病原之一, 人类 20% 的上呼吸道感染是由冠状病毒引起。冠状病毒也是成人慢性气管炎急性加重的重要病因之一。基因组学研究结果表明, SARS-CoV 的基因与已知三个群经典冠状病毒均不相同, 第一群病毒血清可与 SARS-CoV 反应, 而 SARS 患者血清却不能与已知的冠状病毒反应。作为一种新的冠状病毒, 根据无根进化树分析, 有人建议将 SARS-CoV 归为第四群 (图 B.1)。最近, 有人对 SARS-CoV 和已知的三个群经典冠状病毒通过有根进化树分析, 认为虽然 SARS-CoV 与已知的三个群经典冠状病毒都有区别, 但与第二群的关系最近, 不能将其列为独立的一群, 而应该列为第二群里的一个亚群 (图 B.2), 原来的第二群冠状病毒可称为 2a 亚群, SARS-CoV 称为 2b 亚群。

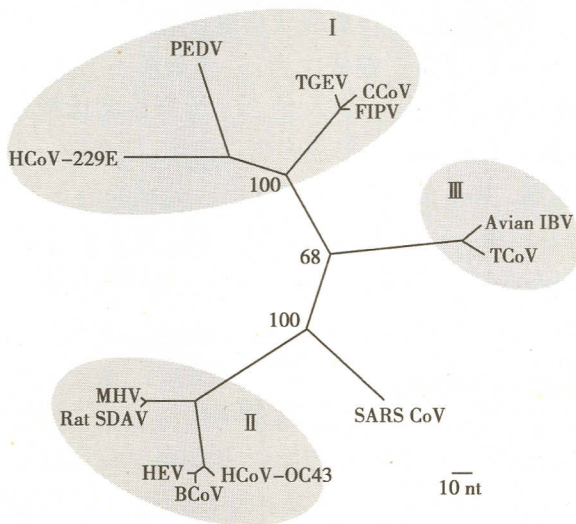


图 B.1

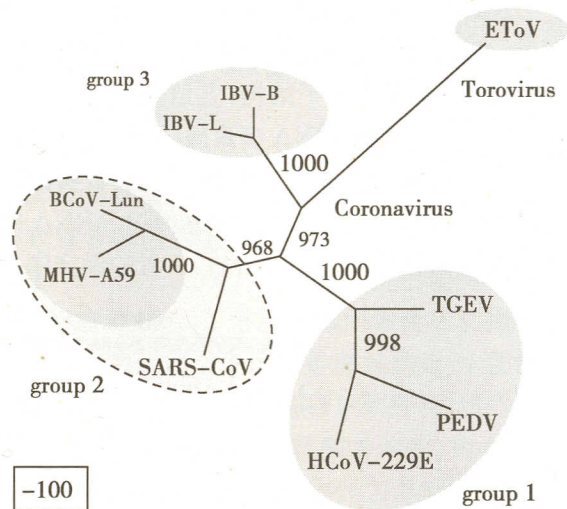


图 B.2

B.1.2 形态结构

SARS-CoV 属冠状病毒科冠状病毒属, 为有包膜病毒, 直径多为 60nm~120nm, 包膜上有放射状排列的花瓣样或纤毛状突起, 长约 20nm 或更长, 基底窄, 形似王冠, 与经典冠状病毒相似。病毒的形态发生过程较长而复杂, 成熟病毒呈圆球形、椭圆形, 成熟的和未成熟的病毒体在大小和形态上都有很大差异, 可以出现很多古怪的形态, 如肾形、鼓槌形、马蹄形、铃铛形等 (图 B.3), 很容易与细胞器混淆。在大

小上,病毒颗粒从开始的 400nm 减小到成熟后期的 60nm~120nm。在患者尸体解剖标本切片中也可见到形态多样的病毒颗粒。

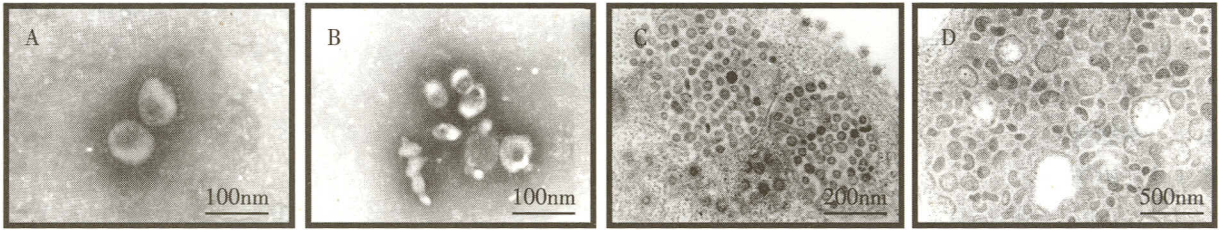


图 B.3 SARS-Cov 的多形性

(A、B 为负染电镜观察结果,C、D 为超薄切片电镜观察结果,B、D 示病毒的多形性)

B. 1.3 生物学特性

病毒在细胞质内增殖,由 RNA 基因编码的多聚酶利用细胞材料进行 RNA 复制和蛋白合成,组装成新病毒并出芽分泌到细胞外。与以往发现的冠状病毒不同,利用 Vero-E6 或 Vero(绿猴肾细胞)细胞很容易对 SARS-CoV 进行分离培养,病毒在 37℃条件下生长良好,细胞感染 24h 即可出现病变,可用空斑进行病毒滴定,早期分离株的培养滴度一般可达 1×10^6 pfu/mL 左右。在 RD(人横纹肌肿瘤细胞)、MDCK(狗肾细胞)、293(人胚肾细胞)、2BS(人胚肺细胞)等细胞系上也可以培养,但滴度较低。

室温 24℃条件下,病毒在尿液里至少可存活 10d,在腹泻患者的痰液和粪便里能存活 5d 以上,在血液中可存活约 15d,在塑料、玻璃、马赛克、金属、布料、复印纸等多种物体表面均可存活 2d~3d。

病毒对温度敏感,随温度升高抵抗力下降,37℃可存活 4d,56℃加热 90min、75℃加热 30min 能够灭活病毒。紫外线照射 60min 可杀死病毒。

病毒对有机溶剂敏感,乙醚 4℃条件下作用 24h 可完全灭活病毒,75%乙醇作用 5min 可使病毒失去活力,含氯的消毒剂作用 5min 可以灭活病毒。

B. 1.4 分子生物学特点

SARS-Cov 基因组为单股正链 RNA,由大约 3 万个核苷酸组成,与经典冠状病毒仅有约 60%的同源性,但基因组的组织形式与其他冠状病毒相似。基因组从 5'端到 3'端依次为:5'-多聚酶-S-E-M-N-3'。5'端有甲基化帽子结构,其后是 72 个核苷酸的引导序列。基因组 RNA 约 2/3 为开放阅读框架(ORF)1a/1b,编码 RNA 多聚酶(Rep),该蛋白直接从基因组 RNA 翻译,形成多蛋白前体,后者进一步被病毒主要蛋白酶 3CL^{pro}切割,主要负责病毒的转录和复制。Rep 的下游有 4 个 ORF,分别编码 S、E、M、N 四种结构蛋白,它们从亚基因组 mRNA 中翻译,亚基因组 mRNA 以不连续转录的机制合成,其转录由转录调控序列(TRS)启始,后者的保守序列为 AAACGAAC。基因组 3'端有 polyA 尾(图 B.4)。

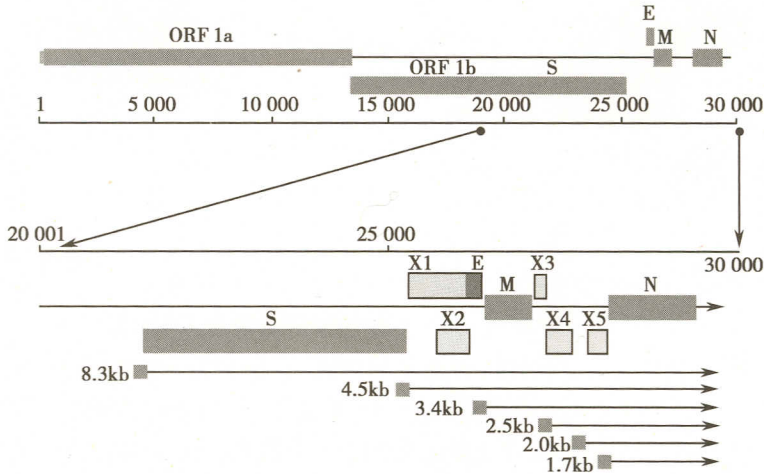


图 B.4 SARS-Cov 的基因组结构示意图

病毒包膜为双层脂膜,外膜蛋白包括糖蛋白 S、M 和小衣壳 E 蛋白。M 糖蛋白与其他冠状病毒糖蛋白不同,仅有短的氨基末端结构域暴露于病毒包膜的外面。长而弯曲的螺旋状核衣壳结构由单一分子的基因组 RNA、多分子的碱性 N 蛋白以及 M 蛋白的羧基末端组成。病毒的模拟结构如图 B.5 所示。S 蛋白负责细胞的黏附、膜融合及诱导中和抗体,相对分子质量为 150 000~180 000,包括胞外域、跨膜结构域以及短羧基末端的胞质结构域。在经典冠状病毒中,E 蛋白和 M 蛋白可能组成最小的装配单位,E 蛋白对病毒的组装发挥关键作用,M 蛋白对于病毒核心的稳定发挥重要作用。与其他冠状病毒不同的是,SARS-CoV 在 S 和 E 之间以及 M 和 N 之间有多于 50 个氨基酸的多肽潜在编码序列(S 和 E 之间的 X1 为 274 个氨基酸,X2 为 154

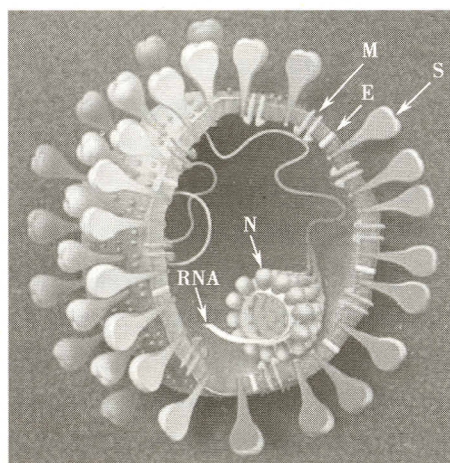


图 B.5 ARS-Cov 的结构模拟示意图

个氨基酸;M 和 N 之间的 X3 为 63 个氨基酸,X4 为 122 个氨基酸,X5 为 84 个氨基酸),M 和 N 之间还有少于 50 个氨基酸的多肽潜在编码序列。同源性搜索结果表明,这些潜在多肽与任何其他蛋白都没有序列的相似性。

国内外科学家已经报道了多株 SARS-CoV 的全基因组序列,发现其变异程度不高,从来自新加坡 4 株、加拿大 1 株、美国 1 株、中国香港 2 株、北京 4 株和广东 1 株共 13 个毒株中发现了 129 处变异。根据其进化树,可以将目前的流行株分为两个基因组:一组包括中国北京 4 个毒株(BJ01-BJ04)、广州 1 株(GZ01)和香港中文大学测定的 1 个毒株(CUHK),其他毒株属于另外一组。中国 SARS 分子流行病学协作组结合流行病学与病毒遗传进化分析,对 2003 年流行早、中、晚期分离的 63 株毒株进行研究,发现各期 SARS-CoV 基因型各具特征。其中早期的 SARS-CoV 基因型与动物的类 SARS-CoV 相似,同时发现 SARS-CoV 的基因组变异率比较恒定(8.26×10^{-6}),与其他已知的 RNA 病毒类似,大约相当于人类免疫缺陷病毒(HIV)的三分之一。在 SARS-CoV 基因组的 Orf8 区观察到两类主要缺失,一是流行中、晚期分离的毒株缺失了在早期及动物来源的毒株中存在的一段 29 个核苷酸的序列,另一个是在某些毒株中缺失了一段 82 个核苷酸的序列。分析病毒的变异特征,有可能为追踪病毒来源提供线索。对 63 株 SARS-CoV 的遗传进化分析,支持人 SARS-CoV 来源于动物的假说。

B.1.5 免疫学特征

大多数情况下,SARS-CoV 感染时,人体免疫系统能够激发体液免疫和细胞免疫反应并逐渐控制感染、清除病毒。有许多证据表明,SARS-CoV 感染可导致患者淋巴细胞明显减少和外周淋巴组织的病理损伤。多数 SARS 患者外周血白细胞计数正常或降低,而 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T 淋巴细胞明显低于正常人,病情越重,T 淋巴细胞计数下降越明显。SARS 患者恢复后,T 淋巴细胞的数量和功能逐渐恢复正常。SARS-CoV 感染早期(1d~10d)出现病毒血症时,从患者血清中可以检测到病毒 N 蛋白和核酸。临床症状出现后 5d 可以从患者鼻咽分泌物中检测到病毒核酸,第 10 天左右达到高峰,然后开始降低。有文献报道,发病后 21d 时,约 47% 的患者鼻咽分泌物检测 SARS-CoV 核酸为阳性,约 67% 粪便标本为阳性,约 21% 尿液标本为阳性。患者体内出现的病毒 N 蛋白和核酸可以作为 SARS-CoV 早期感染的标志。N 蛋白能诱发较强的免疫反应,因此可用于抗体检测。对于抗体的检测表明,一般发病后 1 周,患者体内的 IgM 开始产生,最多可持续 3 个月;7d~10d IgG 开始产生,随后逐渐升高,1 个月左右抗体滴度达到高峰并全部阳转,至患者恢复后 1 年以上仍可呈阳性。

B.2 流行病学

B.2.1 传染源

现有资料表明,SARS 患者是最主要的传染源。极少数患者在刚出现症状时即具有传染性。一般情况下传染性随病程而逐渐增强,在发病的第 2 周最具传染性。通常认为症状明显的患者传染性较强,

特别是持续高热、频繁咳嗽、出现急性呼吸窘迫综合征(ARDS)时传染性较强,退热后传染性迅速下降。尚未发现潜伏期内患者以及治愈出院者有传染他人的证据。

并非所有患者都有同等传染力,有的患者可造成多人甚至几十人感染(即超级传播现象),但有的患者却未传播他人。老年人以及具有中枢神经系统、心脑血管、肝脏、肾脏疾病或慢性阻塞性肺病、糖尿病、肿瘤等基础性疾病的患者,不但较其他人容易感染 SARS-CoV,而且感染后更容易成为超级传播者。造成超级传播的机制还不清楚,但与所接触的人群频繁接触以及防护不当有关。其中有一些超级传播者由于症状不典型而难以识别,当二代病例发生后才被回顾诊断。影响超级传播的因素还包括病例与易感者的接触方式和频次、个人免疫功能等,没有证据表明超级传播者的病原具有特殊的生物学特征。

已有研究表明,SARS-CoV 感染以显性感染为主,存在症状不典型的轻型患者,并存在隐性感染者。根据在中国南方开展的一项回顾性流行病学调查显示,在 SARS 流行的早期,既发现了未传代的症状不典型的轻型患者,也发现了一些隐性感染者。在一些特殊人群中,如广东省饲养、销售野生动物的人员中,有一定比例的 SARS-CoV 抗体阳性者。迄今为止,尚未发现隐性感染者的传染性。

SARS 作为一种新发传染病,其传染来源尚未明确。但已有越来越多的流行病学和分子生物学的证据支持 SARS-CoV 由某种动物宿主传播给人类的观点。

2003 年广东 SARS 暴发早期约有 1/3 的病例发病前从事宰杀、售卖、制作动物性食品的职业,未发现 13 个地市 SARS 首发病例存在相互传播的流行病学线索;2003 年 12 月至 2004 年初广州市 4 例散发 SARS 病例间无流行病学联系,未发生人与人之间的传播,其中 3 例可能与果子狸及其污染的环境有直接或间接的接触,这些流行病学证据提示 2003 年广东各地 SARS 早期病例和 2004 年的广州 SARS 病例存在本地感染的可能。2003 年中国流行早、中、晚期分离出的 SARS-CoV 毒株的分子流行病学与病毒遗传进化分析结果,也进一步支持人类 SARS-CoV 来源于动物的假说。

目前已从蝙蝠、猴、果子狸、蛇等动物体内检测到冠状病毒基因,基因序列与 SARS-CoV 的基因序列高度同源,说明 SARS-CoV 广泛存在于野生动物体内。血清学、病原学、分子生物学和果子狸 SARS-CoV 的感染模型等诸多方面的研究结果证明果子狸等野生动物是 SARS-CoV 的主要载体之一。人类 SARS-CoV 可能来源于果子狸等野生动物,但仍需要更多的证据加以证实。

B.2.2 传播途径

近距离呼吸道飞沫传播,即通过与患者近距离接触,吸入患者咳出的含有病毒颗粒的飞沫,是 SARS 经呼吸道传播的主要方式。气溶胶传播,即通过空气污染物气溶胶颗粒这一载体在空气中作中距离传播,是经空气传播的另一种方式,被高度怀疑为严重流行疫区的医院和个别社区暴发的传播途径之一。其流行病学意义在于,易感者可以在未与 SARS 患者见面的情况下,有可能因为吸入了悬浮在空气中含有 SARS-CoV 的气溶胶而感染。密闭空间内极易导致经空气传播。通过身体接触传播是另一种重要的传播途径,是因易感者的手直接或间接接触了患者的分泌物、排泄物以及其他被污染的物品,再经手接触口、鼻、眼黏膜致病毒侵入机体而实现的传播。目前尚不能排除经肠道传播的可能性,已有从患者泪液、汗液等体液中分离出 SARS-CoV 的报道,但其流行病学意义尚不确定。尚无经过血液途径、性途径传播和垂直传播的流行病学证据。尚无证据表明苍蝇、蚊子、蟑螂等媒介昆虫可以传播 SARS-CoV。

影响传播的因素很多,其中密切接触是最主要的因素,包括治疗或护理、探视患者;与患者共同生活;直接接触患者的呼吸道分泌物或体液等。在医院抢救、护理危重患者和进行吸痰、气管插管、咽拭子取样、面罩吸氧和面罩或人工通气等操作,是医护人员感染的重要途径,应格外警惕。医院病房环境通风不良、患者病情危重、医护或探访人员个人防护不当使感染危险性增加。另外如飞机、电梯等相对密闭、不通风的环境都是可能发生传播的场所。

B.2.3 人群易感性

一般认为人群普遍易感,但儿童感染率较低,原因尚不清楚。SARS 症状期患者的密切接触者是一

SARS的高危险人群之一。医护人员和患者家属与亲友在治疗、护理、陪护、探望患者时,同患者近距离接触次数多,接触时间长,如果防护措施不力,很容易感染 SARS。从事 SARS-CoV 相关实验室操作的工作人员和果子狸等野生动物饲养销售的人员,在一定条件下,也是可能被感染的高危人群。

B.2.4 流行特征

B.2.4.1 地区分布

根据 WHO 2004 年 4 月 21 日公布的疫情,在 2002 年 11 月至 2003 年 7 月全球首次 SARS 流行中,全球共报告 SARS 临床诊断病例 8 096 例,死亡 774 例,发病波及 29 个国家和地区。病例主要分布于亚洲、欧洲、美洲等地区。亚洲发病的国家主要为中国、新加坡等。中国(大陆、香港、澳门、台湾)共发病 7 429 例、死亡 685 例(分别占全球总数的 91.8%和 88.5%),病死率为 9.2%;其余国家发病 667 例,死亡 89 例,病死率为 13.3%。中国大陆总发病数达 5 327 例,死亡 349 例,病死率为 6.6%。病例主要集中在北京、广东、山西、内蒙古、河北、天津等地,其中北京与广东共报告发病 4 033 例,占大陆总病例数的 75.7%。

在此次流行中,经回顾性调查,首例患者发生在中国广东省佛山市,发病日期为 2002 年 11 月 16 日,最后一例患者在中国台湾,发病日期为 2003 年 6 月 15 日。内地疫情首先在广东发生流行,其后远程传播到山西、四川、北京等地,再向全国其他地区扩散。共有 24 个省、自治区、直辖市先后报告发生 SARS 临床诊断病例或确诊病例。根据疫情发生和传播情况,可将中国大陆分为四类地区:①本地流行区(广东、广西);②输入病例,并引起当地传播地区(北京、内蒙、山西、河北、天津等地);③输入病例,未引起当地传播地区(上海、山东、湖南、辽宁、宁夏等地);④无报告病例地区(海南、云南、贵州、青海、西藏、新疆、黑龙江等地)。

B.2.4.2 时间分布

从 2002 年 11 月起到 2003 年 2 月,在中国(包括香港特区)、越南、加拿大和新加坡等多个国家有病例发现,SARS 呈现全球流行的态势。发病主要集中在 2003 年 3 月中旬至 5 月中旬。6 月份疫情得到有效控制。

中国大陆于 2003 年 1 月~2 月,在广东省内发生局部暴发,至 3 月上旬迅速蔓延到其他地区。最后病例发病时间为 6 月 11 日。广东省的 SARS 发病高峰为 2 月份,其他地区主要流行时间在 4 月初到 5 月中旬左右,主要与传染源输入的时间有关。现有资料表明,广东省佛山、河源等市和广西壮族自治区河池市,均在早期出现了原发性病例,在这些城市的首发病例之间未发现有相互传播的证据。

B.2.4.3 人群分布

根据中国大陆 5 327 例 SARS 患者的资料统计,主要发病年龄在 20 岁~60 岁之间,占总发病数的 85%,其中 20 岁~29 岁病例所占比例最高,达 30%;15 岁以下青少年病例所占比例较低,9 岁以下儿童病例所占比例更低。男女性别间发病无显著差异。人群职业分布有医务人员明显高发的特点。医务人员病例占总病例的比例高达 20%左右(个别省份可高达 50%左右)。在流行后期,由于医护人员防护措施得力,医护人员发病数以及所占比例逐渐减少。有 8.6%的病例为学生,均为散发,未发现学校学生集中发病的情况。早期广东省病例调查显示,部分无同类患者接触史的病例为与野生动物接触的人员,如厨师、采购员等。

B.2.4.4 死亡病例分布特点

2002 至 2003 年流行中,WHO 按年龄阶段进行分析,SARS 病死率范围在 0~50%之间。24 岁及以下病例病死率小于 1%;25 岁~44 岁的病死率为 6%;45 岁~64 岁的病死率为 15%;65 岁及以上年龄组的病死率可超过 50%。中国大陆 SARS 的死亡率为 0.024/10 万,病死率为 6.6%。死亡病例中老年人所占比例较大(60 岁以上患者的病死率为 11%~14%,其死亡人数约占全部死亡人数的 44%)。随着年龄增加,病死率也增加。合并其他疾病如脑卒中、糖尿病、心脏病、肺气肿、肿瘤等疾病的患者病死率高。

B.2.4.5 2003 年暴发流行后的几起 SARS 感染发病事件

2003年7月5日WHO宣布全球首次SARS流行结束后,全球又陆续发生几起SARS感染发病事件。

2003年9月8日,新加坡确诊1例SARS病例,认为是SARS-CoV实验室感染。

2003年12月17日,中国台湾省报告1例实验室感染病例。

2003年12月25日至2004年2月2日,广东省广州市报告了4例SARS病例,4例患者的症状轻微,均没有发现明确的传染来源,也没有传染给他人,均经实验室确诊。4例患者均无明确的外出史和野外活动史,其中有1例患者可能有、另2例患者可疑有野生动物(果子狸)接触史。

2004年3月25日至4月17日,中国大陆也发生一起因实验室感染引起的SARS暴发疫情。疫情涉及安徽、北京两地,共发现9例患者,死亡1例。首发病例因实验室感染发病,并造成2例接触者感染发病。这2例二代病例中1例死亡,另1例又造成5例接触者感染发病。在此传播链之外,还有1例实验室感染病例,但未造成继发感染。

B.2.5 自然与社会因素的影响

B.2.5.1 自然因素

从目前的资料看,不利于空气流通以及迫使人们室内集聚的环境条件,有利于病原体传播。SARS作为一种呼吸道传染病,其季节、气候影响因素和季节规律的观察时间尚短,季节、气候因素对SARS在人与人之间传播的影响尚待进一步研究,但中国2003和2004年非实验室感染的首发SARS病例的发病时间提示,冬春季(11月至次年3月)可能有利于动物带毒以及病毒从动物传播到人。至于地理条件、生态环境等与SARS发病的关系,尚需进一步观察。

B.2.5.2 社会因素

人口密度高、流动性大、卫生条件差、不良的卫生习惯,均有利于疾病的传播。人口集中、交通便利的大城市,常因患者就诊相对集中,容易造成SARS的暴发和流行。医院内感染的预防控制措施不力、医护人员的个人卫生习惯和防护措施不当等,有利于发生医院内传播。对野生动物(尤其是食肉目灵猫科动物)经营、贩卖的管理不严格,可能成为动物携带病原体向人类扩散的重要途径。实验室生物安全管理不严格,也是病毒可能再次侵袭人类的渠道之一。患者通过现代化交通工具的流动和迁移,成为SARS远距离传播的原因。

B.3 临床特征

B.3.1 临床表现

B.3.1.1 潜伏期

SARS的潜伏期通常限于2周之内,一般2d~10d。

B.3.1.2 临床症状

急性起病,自发病之日起,2周~3周内病情都可处于进展状态。主要有以下三类症状。

- a) 发热及相关症状:常以发热为首发和主要症状,体温一般高于38℃,常呈持续性高热,可伴有畏寒、肌肉酸痛、关节酸痛、头痛、乏力。在早期,使用退热药可有效;进入进展期,通常难以用退热药控制高热。使用糖皮质激素可对热型造成干扰。
- b) 呼吸系统症状:咳嗽不多见,表现为干咳,少痰,少数患者出现咽痛。可有胸闷,严重者渐出现呼吸加速、气促,甚至呼吸窘迫。常无上呼吸道卡他症状。呼吸困难和低氧血症多见于发病6d~12d以后。
- c) 其他方面症状:部分患者出现腹泻、恶心、呕吐等消化道症状。

B.3.1.3 体征

SARS患者的肺部体征常不明显,部分患者可闻及少许湿啰音,或有肺实变体征。偶有局部叩浊、呼吸音减低等少量胸腔积液的体征。

B.3.2 临床分期

B.3.2.1 早期

一般为病初的 1d~7d。起病急,以发热为首发症状,体温一般高于 38℃,半数以上的患者伴有头痛、关节肌肉酸痛、乏力等症状,部分患者可有干咳、胸痛、腹泻等症状,但少有上呼吸道卡他症状,肺部体征多不明显,部分患者可闻及少许湿啰音。X 线胸片肺部阴影在发病第 2 天即可出现,平均在 4d 时出现,95%以上的患者在病程 7d 内出现肺部影像改变。

B.3.2.2 进展期

多发生在病程的 8d~14d,个别患者可更长。在此期,发热及感染中毒症状持续存在,肺部病变进行性加重,表现为胸闷、气促、呼吸困难,尤其在活动后明显。X 线胸片检查肺部阴影发展迅速,且常为多叶病变。10%~15%的患者出现 ARDS 而危及生命。

B.3.2.3 恢复期

进展期过后,体温逐渐下降,临床症状缓解,肺部病变开始吸收,多数患者经 2 周左右的恢复,可达到出院标准,肺部阴影的吸收则需要较长的时间。少数重症患者可能在相当长的时间内遗留限制性通气功能障碍和肺弥散功能下降,但大多可在出院后 2 个月~3 个月内逐渐恢复。

B.3.3 影像学检查

影像检查是 SARS 临床综合诊断的主要组成部分,也是指导治疗的重要依据。影像检查的目的在于疾病的早期发现、鉴别诊断,监视动态变化和检出并发症。放射科医师要在各级诊疗机构中充分发挥影像诊断的作用。

B.3.3.1 影像检查方法

影像检查技术:X 线平片和 CT 是 SARS 的主要检查方法。普通 X 线检查一般采用立位后前位胸片。病情严重的患者往往需要拍摄床旁卧位前后位胸片,若患者病情允许,采用坐位拍摄。数字化影像技术如计算机 X 线摄影术(computed radiography,CR)和数字 X 线摄影术(digital radiography,DR)有助于提高胸部 X 线检查的诊断质量。CT 可检出 X 线胸片难以发现的病变,一般应采用高分辨 CT (high resolution CT,HRCT)检查。在图像的存储与传输系统(picture archiving and communication system,PACS)基础上建立的影像工作流程可提高工作效率,减少交叉感染。

放射科医务人员要严格遵守 SARS 的消毒防护规定,同时要严格执行 X 线的防护措施。

影像检查程序:

- 初次检查:对于临床怀疑为 SARS 的患者应当首先选用 X 线平片检查。若 X 线平片未见异常,则应及时复查。如有条件可采用 CT 检查。
- 治疗复查:在 SARS 治疗过程中,需要复查 X 线胸片了解疾病的病情变化和治疗效果。一般 1d~3d 复查 X 线胸片 1 次,根据患者的病情发展及治疗情况缩短或延长复查时间。如果 X 线胸片怀疑出现合并症,例如空洞或肺纤维化等,有条件者可进行 CT 检查。
- 出院检查:出院时需要拍摄 X 线胸片。出院后应定期复查,直至肺部阴影完全消失。CT 可以显示 X 线胸片不能发现的病变。根据患者的具体情况选择 CT 复查。

B.3.3.2 基本影像表现

SARS 的 X 线和 CT 基本影像表现为磨玻璃密度影和肺实变影。

- 磨玻璃密度影:磨玻璃密度影在 X 线和 CT 上的判定标准为病变的密度比血管密度低,其内可见血管影像(图 B.6、图 B.7)。在 X 线胸片上磨玻璃密度影也可采用低于肺门的密度作为识别标准。磨玻璃密度影的形态可为单发或多发的小片状、大片状,或在肺内弥漫分布。在 CT 上有的磨玻璃影内可见细线和网状影,为肺血管分支、增厚的小叶间隔及小叶内间质的影像。磨玻璃密度影内若合并较为广泛、密集的网状影,称为“碎石路”(crazy paving)征。有的磨玻璃影内可见含有气体密度的支气管分支影像,称为“空气支气管”(air bronchogram)征。
- 肺实变影:在 X 线和 CT 上肺实变影的判定标准为病变的密度接近或高于血管密度,其内不能见到血管影像,但有时可见空气支气管征(图 B.8、图 B.9)。在 X 线胸片上肺实变影又可以以等于或高于肺门阴影的密度作为识别的依据。病变可为小片状或大片状,单发或多发。

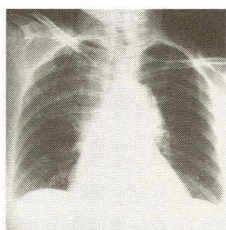


图 B.6 SARS 患者发病后 10d X 线胸片 右肺上叶有大片磨玻璃密度影,阴影内可见血管影像,左肺上叶内带有小片状磨玻璃密度影

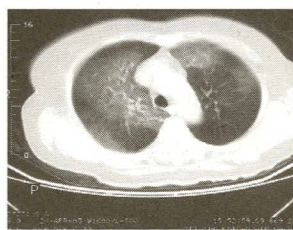


图 B.7 图 6 病例发病后 2 周胸部 CT 片 两肺上叶多发磨玻璃密度影,病变内可见血管影像

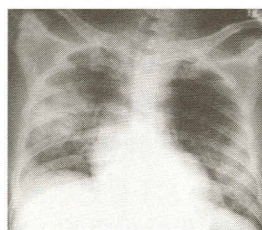


图 B.8 SARS 患者发病后 10d X 线胸片 两肺多发大片状肺实变阴影,病变密度比血管密度高

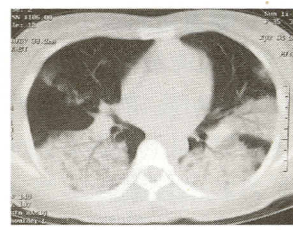


图 B.9 SARS 患者发病后 2 周胸部 CT 片 两肺多发肺实变影,病变密度比血管密度高,可见空气支气管征

B.3.3.3 不同发病时期的影像表现

在影像表现上,SARS 的病程分为早期、进展期和恢复期。

- 早期:从临床症状出现到肺部出现异常影像时间一般为 2d~3d。X 线及 CT 表现为肺内小片状影,一般为磨玻璃密度影,少数为肺实变影(图 B.10,图 B.11)。病变以单发多见,少数为多发。较大的病灶可达肺段范围,但较少见。有的病例病变处肺血管影增多。X 线对于较小的、密度较低的病灶显示率较低,与心影或横膈重叠的病变在后前位 X 线胸片上有时难以显示。病变以两肺下野及肺周围部位较多见。
- 进展期:肺部影像改变多在发病 3d~7d 后进行性加重,多数患者在 2 周~3 周进入最为严重的阶段。X 线和 CT 显示发病初期的小片状影发展为大片状影,单发病变进展为多发或弥漫性病变(图 B.12~图 B.16)。病变可由一个肺野扩散到多个肺野,由一侧肺发展到双侧肺。病变以磨玻璃密度影多见,或可合并实变影。病变部位以两肺下叶明显多见。大部分患者病变在肺野的内、中、外带混合分布。有的重症患者 X 线胸片显示两侧肺野密度普遍增高,心影轮廓消失,仅在肺尖及肋膈角处有少量透光阴影(图 B.17),此为严重的 ARDS 表现。

动态观察表明,影像改变的形态和范围变化较快。有的患者在 1d~2d 内病变大小即可有改变;有的病例当某一部位病灶吸收后,又在其他部位出现新的病灶;有的病例病变影像明显吸收后,短期内再次出现或加重;也有的患者病变影像延续时间较长,可比一般患者增加 1 倍,甚至持续更长的时间。

- 恢复期:病变吸收一般出现在发病 2 周~3 周后,影像表现为病变范围逐渐减小,密度减低,以至消失。肺部病变影像的吸收过程约 2 周。在炎症吸收过程中,随着片状影像的减少,X 线胸片上可能出现肺纹理增重和条状阴影,在 HRCT 上可出现支气管血管束增粗、小叶间隔和小叶

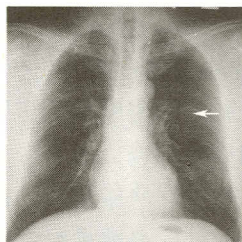


图 B.10 SARS 患者发病后 3d X 线胸片 肺内有小片状磨玻璃密度影(箭头)

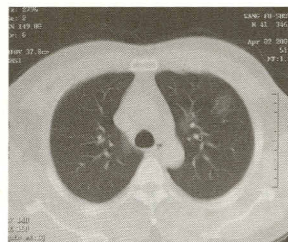


图 B.11 图 10 病例发病后 3d 胸部 CT 片 肺内有小片状磨玻璃密度影

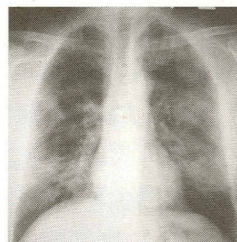


图 B.12 图 10 病例发病后 9d X 线胸片 两肺有多发片状磨玻璃密度影

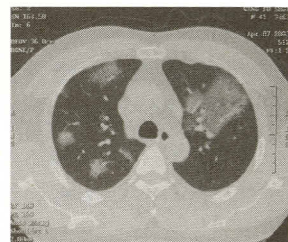


图 B.13 图 10 病例发病后 9d 胸部 CT 片 两肺有多发片状磨玻璃密度影,有“碎石路”征

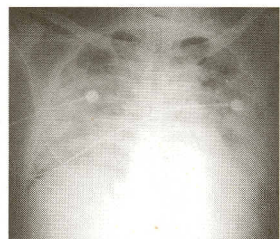
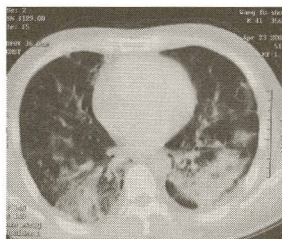
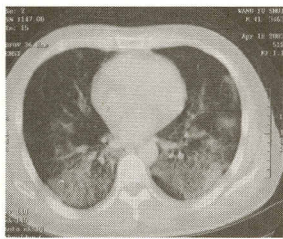
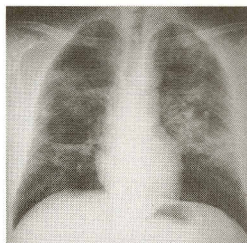


图 B. 14 图 10 病例
发病后 20d X 线胸
片 两肺弥漫磨玻璃
密度影

图 B. 15 图 10 病例发病
后 20d 胸部 CT 片 两肺
有多发大片状磨玻璃密
度影

图 B. 16 图 10 病例
发病后 25d 胸部 CT
片 两肺病变密度增
高, 左肺为肺实变
影像

图 B. 17 SARS 患者发
病后 14d X 线胸片 两
肺病变密度明显增高, 仅
在肺尖和肋膈角处有少
许透光阴影

内间质增厚、胸膜下弧线影等。在疾病的康复过程中这些改变多数可以逐渐吸收。有的患者虽然临床症状明显减轻或消失, X 线胸片已恢复正常, 但 CT 检查仍可见肺内有斑片或索条状病灶影像。肺内病变影像的完全消失需要较长的时间。

B. 3. 3. 4 并发症

SARS 的并发症一般发生在疾病高峰期之后。

- a) 继发感染: 肺部继发细菌感染是严重的并发症, 可使病变影像的范围增大及病程延长, 加重病程, 导致病情恶化。在疾病恢复过程中, 继发感染可使肺内片状影像再次增多。少数患者的肺部继发感染也可引起空洞及胸腔积液, 这种情况一般发生在病变后期。空洞可为单发及多发, 病原诊断需要经相应的病原学检查。据报道也有并发脑内感染的病例。当患者出现中枢神经系统的症状和体征时, 建议作颅脑 CT 或磁共振成像(MRI)检查。
- b) 肺间质改变: 少数患者在肺内炎症吸收后较长时间内残存肺间质增生, 表现为不规则的斑片和索条状影。肺间质纤维化表现为密度高的条索和蜂窝状影像, 可引起牵拉性支气管扩张。肺间质和肺实质纤维化的影像有些是不可逆的。
- c) 纵隔气肿、皮下气肿和气胸: 纵隔气肿表现为纵隔间隙内有气体影, 呈条状或片状, 气体量较多时可位于食管、气管、大血管等结构周围。皮下气肿较为明显。气胸的量一般较少。相当一部分病例的纵隔气肿、皮下气肿和气胸发生在使用呼吸机之后。
- d) 胸膜病变: 肺内病变可引起邻近胸膜的局限性增厚, 或轻度幕状粘连。胸膜改变可随肺内病变的吸收而消退。明显的胸腔积液较少见。
- e) 心影增大: 可能为心肌病变所致。判断心影大小要根据标准的立位后前位 X 线胸片。在床旁 X 线胸片上判断心影大小要注意心脏横位及心影放大的影响。
- f) 骨缺血性坏死: 患者在使用糖皮质激素治疗后若出现关节疼痛和活动受限等症状, 需要作影像检查。MRI 诊断骨质缺血性坏死的敏感性和特异性明显优于 CT 和 X 线平片检查。骨缺血性坏死多发生在髋关节, 也可发生在膝、肩、踝、腕等关节。长骨干骺端和骨干缺血则发生骨坏死。

中 华 人 民 共 和 国
卫 生 行 业 标 准
传 染 性 非 典 型 肺 炎 诊 断 标 准
WS 286—2008

*

出版发行：人民卫生出版社（中继线 010-67616688）

地 址：北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编：100078

网 址：<http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线：010-67605754 010-65264830

印 刷：北京新丰印刷厂

经 销：新华书店

开 本：880×1230 1/16 印张：1.75

字 数：51 千字

版 次：2008 年 9 月第 1 版 2008 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

书 号：14117·215

定 价：16.00 元

版权所有，侵权必究，打击盗版举报电话：010-87613394

（凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换）



WS 286—2008