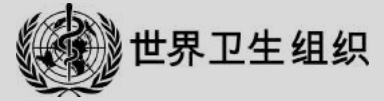


严重急性呼吸综合征 - 冠状病毒-2 (SARS-CoV-2) 的诊断检测

临时指导文件

2020年9月11日



引言

本文件为参与诊断严重急性呼吸综合征-冠状病毒-2 (SARS-CoV-2) 的实验室和其它利益相关方提供临时指导。文件涵盖样本采集、核酸扩增检测 (NAAT)、抗原 (Ag)、抗体 (Ab) 检测和质量保证方面的主要考虑因素。本文件将随着新信息的出现而更新。反馈可以发送到 WHElab@who.int。

对以前版本的更改

本临时指导的标题已从“对疑似人类病例进行 2019 冠状病毒病 (COVID-19) 的实验室检测”改为“严重急性呼吸综合征-冠状病毒-2 (SARS-CoV-2) 的诊断检测”。更多相关背景信息和临床诊断算法已添加到文件中。此外，指导还根据文献和最佳实践中的新发现进行了更新。

世卫组织的相关文件

世卫组织编制了临时指导文件和技术简报，以协助决策者和实验室进行 SARS-CoV-2 检测。这些文件涵盖 [实验室检测策略](#)[1]、[实验室评估工具](#)[2]、[实验室生物安全](#)[3]、[关于进行卫生服务点免疫诊断检测的建议](#)[4]、[使用快速免疫测定法检测抗原以诊断 SARS-CoV-2 感染](#)[5]、[聚集性病例调查指导](#)[6]、[公共卫生监测](#)[7]和[利用全球流感监测和应对系统监测 COVID-19 的操作注意事项](#)[8]。此外，各国可以利用[早期调查方案](#)[9]来开展流行病学研究，并加强对 SARS-CoV-2 感染的传播模式、疾病严重程度和流行率、临床特征和风险因素的认识。

SARS-CoV-2 的背景

2019年12月31日，世卫组织首次收到关于在中华人民共和国武汉发生的不明原因肺炎聚集性病例的警报。该病毒最初被暂时命名为2019新型冠状病毒(2019-nCoV)。

随后，国际病毒分类委员会将该病毒命名为 SARS-CoV-2 [10]。COVID-19 是由 SARS-CoV-2 引起的疾病的名称。

SARS-CoV-2 属于冠状病毒科的 β 冠状病毒属 (Sarbecovirus 亚属) [11]。它是一种有包膜的正意单链核糖核酸 (RNA) 病毒，基因组大小为 30kb[10]。这种病毒有一个 RNA 校对机制，使突变率相对较低。基因组编码非结构蛋白 (其中一些在形成复制酶-转录酶复合物中是必需的)、四种结构蛋白 (刺突蛋白 (S)、小囊膜蛋白 (E)、膜蛋白 (M) 和核衣壳蛋白 (N)) 以及推定辅助蛋白[12-14]。该病毒与血管紧张素转换酶 2 (ACE2) 受体结合以进入细胞 [15-17]。

SARS-CoV-2 是被发现的第七种已知感染人类的冠状病毒 (HCoV)。这些病毒中的四种，HCoV-229E、HCoV-NL63、HCoV-HKU1 和 HCoV-OC43，是地方性的、季节性的，往往会引起轻度呼吸道疾病。另外两种病毒是毒性更强的人畜共患中东呼吸综合征冠状病毒 (MERS-CoV) 和严重急性呼吸综合征冠状病毒 1 (SARS-CoV-1)。SARS-CoV-2 在基因上与 SARS-CoV-1 最为相似，这两种病毒都属于 β 冠状病毒属的 Sarbecovirus 亚属[11]。然而，目前还不知道 SARS-CoV-1 是否在人群中传播。

SARS-CoV-2 感染的临床表现可从无症状感染到严重疾病[18-27]。每个国家的死亡率不同[28]。SARS-CoV-2 感染的早期实验室诊断有助于临床管理和疫情控制。诊断检测可以包括检测病毒本身 (病毒 RNA 或抗原)，或检测人类对感染的免疫反应 (抗体或其它生物标志物)。

虽然我们对 SARS-CoV-2 的了解迅速增多，但仍有许多悬而未决的问题需要解决。世卫组织鼓励开展可能有助于改善 SARS-CoV-2 特征描述的研究并分享成果[29, 30]。

SARS-CoV-2 RNA 检测的背景资料

急性 SARS-CoV-2 感染的标准确认是基于通过核酸扩增检测 (NAAT) 来检测独特的病毒序列, 如实时逆转录聚合酶链反应 (rRT-PCR)。分析的目标包括 E、RdRP、N 和 S 基因上的区域。

一旦一个人被病毒感染, 暴露后出现症状的平均时间 (潜伏期) 为 5-6 天, 范围为 1-14 天[31-35]。在出现症状前 1-3 天可在上呼吸道 (URT) 检测到病毒。SARS-CoV-2 在上呼吸道的浓度在症状出现时最高, 之后逐渐下降[36-42]。一些研究报告称, 与轻症患者相比, 重症患者的病毒载量更高, 而其它一些研究没有报告这种差异[36, 43-49]。病毒 RNA 存在于下呼吸道 (LRT) 和一部分个体的粪便中, 在患病的第二周增加[38]。有些患者的病毒 RNA 可能只能在几天内检测到, 而其他一些患者的病毒 RNA 可在几周甚至几个月的时间里检测到[44, 50-60]。病毒 RNA 的长期存在并不一定意味着长期的传染性。几项研究描述了传染性降低与以下因素之间的相关性: i) 距症状发作和缓解已过去了更多天, ii) 呼吸道分泌物中病毒载量的减少[37, 61-64], 以及 iii) 中和抗体的增加[37, 61]。这方面的更多信息可在 [《COVID-19 患者解除隔离的标准》](#) 中找到[65]。

呼吸道分泌物的成分可能差异很大, 取样工作的适当性也可能不同, 这有时会导致假阴性 PCR 结果[40, 42, 58, 66-74]。在被严重怀疑感染 SARS-CoV-2 且上呼吸道拭子呈阴性的患者中, 有可能在下呼吸道分泌物中检测到病毒 RNA, 如痰或支气管肺泡灌洗[70, 71, 75, 76]。在一部分患者中, 粪便或直肠拭子的 SARS-CoV-2 RNA 检测呈阳性, 一些研究表明, 与呼吸道样本的阳性相比, 该阳性的时间更长[46, 56, 59, 75, 77]。在一些患者中, 已经报道了在血液样本中发现 SARS-CoV-2 RNA 的情况, 一些研究表明血液中的检出与疾病的严重程度相关, 然而, 需要对这种潜在的相关性进行更多研究[75, 78-81]。在口腔液体样本 (如诱发的唾液) [28, 49, 82-88] 中, 与来自同一患者的上呼吸道标本相比, 报告的检出率差异很大, 关于漱口液/漱口水中能否检出 SARS-CoV-2 的可用数据有限[85]。口腔液体灵敏度评估的显著差异可能源于采集、运输和储存技术的巨大差异, 以及对不同受试人群进行评估。偶尔, SARS-CoV-2 可在有结膜炎迹象和无结膜炎迹象的患者的眼液中检测到[89-93]。一些研究没有在尿液中检测到 SARS-CoV-2[58, 75, 94], 而另一些研究能够在有限数量的患者的尿液中检测到病毒 RNA[57, 95]。一项研究报告说有几名患者的精液样本呈阳性[96]。此外, 在病例报告中描述了脑组织[97]和脑脊液[98]的 RNA 检测呈阳性的情况。因此, SARS-CoV-2 可在多种其它体液和腔室中检测到, 但最常见的是在呼吸物质中检测到, 因此, 呼吸道样本仍是诊断的首选样本类型。

实验室检测指导原则

检测的决定应该基于临床和流行病学因素。参见 [《2019 冠状病毒病临床管理: 临时指导文件》](#) [99], [聚集性病例调查](#) [6] 和 [公共卫生监督](#) [7]。

从被严重怀疑感染 SARS-CoV-2 的患者身上快速采集合适的样本并进行准确的实验室诊断是支持患者临床管理和感染控制措施的两项重点工作。考虑到适当取样、实验室分析和结果解读的复杂性, 采集和实验室诊断应由训练有素的合格操作员进行。

感染 SARS-CoV-2 的个体可能永远不会出现症状 (无症状病例), 可能患上非常轻微的疾病 (轻症), 或者可能会发展为中度至重度的 2019 冠状病毒病 [18-26]。病毒感染最有力的证据来自通过病毒学检测检测到病毒片段, 如蛋白质或核酸。受感染个体可能在无症状时 (无症状)、症状出现前 (症状前) 和整个疾病发作期间 (有症状) 病毒核酸或病毒蛋白检测呈阳性。对于那些发展成 COVID-19 病的人来说, 在疾病最初出现时, 症状可能是广泛的。个体可能出现非常轻微的症状, 表现为明显的肺炎、发热性疾病/败血症, 较少出现胃肠炎或神经症状 [99]。如果病例管理需要, 还应按照当地临床管理指南的建议, 对患者进行其它病原体检测, 但绝不应因此延误 SARS-CoV-2 检测 [99, 100]。有报告称患者同时感染了 SARS-CoV-2 和其它病原体, 因此另一种病原体的检测结果呈阳性不排除 COVID-19 病毒, 反之亦然 [27, 101-109]。报告了在 COVID-19 患者中进行登革热快速诊断检测 (RDT) 时登革热抗体检测结果为假阳性的情况 [110, 111]。如果没有进行适当的化验或没有在适当的条件下进行检测, 也存在 SARS-CoV-2 检测结果为假阳性或假阴性的风险。

样本的采集、运输和储存

样本采集期间的安全程序

确保从疑似病例身上采集临床样本的卫生工作者严格遵守感染预防和控制指南，并穿戴适当的个人防护装备，另见世卫组织关于 COVID-19 疫情背景下[卫生保健期间感染预防和控制](#)的临时指导 [7]。

确保适当的标准操作程序 (SOP) 到位，并且工作人员在样本采集、包装、运输和储存方面接受过适当的培训。应假设为调查采集的所有样本都可能感染了 SARS-CoV-2 和其它病原体。另见世卫组织关于针对 SARS-CoV-2 的[实验室生物安全](#)的临时指导[3]。样本采集、检测、储存和研究应遵循当地指南，包括关于知情同意的指南。

要采集的样本

最佳样本取决于临床表现和症状出现的时间。至少应该采集呼吸道样本。

呼吸道样本

- **上呼吸道样本**足以检测早期感染，尤其是在无症状或轻症病例中。对一个人的鼻咽和口咽拭子进行联合检测可以提高检测呼吸道病毒的灵敏度，并提高结果的可靠性[60, 86, 112-114]。两个单独的拭子可以合并在一个采集管中，或者可以同时采集鼻咽和口咽拭子[115]。一些研究发现，单个鼻咽拭子产生的结果比口咽拭子更可靠[40, 75, 76, 114]。
- 如果在 COVID-19 病程的后期或对于上呼吸道取样检测为阴性但临床上被强烈怀疑患有 COVID-19 的患者，则建议采集**下呼吸道样本**[70, 71, 75, 76, 86]。下呼吸道样本可以是自发产生的痰（不建议使用诱导痰，因为这会增加气溶胶传播的风险[99]）和/或患有更严重呼吸系统疾病的患者的气管内抽吸物或支气管肺泡灌洗液。由于气溶胶化的风险高，应小心行事；因此，在样本采集过程中，需要严格遵守感染和预防控制的程序。侵入性手术的适应症应由医生评估。

在采用其它呼吸道或口腔液体取样方法之前，取样方法应首先通过实验室针对预期患者群体的验证。

简化和优化的样本采集

对针对 SARS-CoV-2 检测的简化和优化的样本采集有很高的需求。已经进行了关于口咽和鼻孔/鼻拭子组合的研究 [116, 117]，以及关于通过训练有素的采样人员或通过自取样采集的中鼻甲[118-120]或下鼻或鼻孔拭子[120, 121]或舌拭子[120]的研究。虽然其中一些研究表明这些方法很奏效，但这些研究主要侧重于特定的患者群体，其样本量有限。在建议广泛采用这些替代方法之前，需要进行进一步的评估和验证，以确定这些采集方法作为适当替代方法的适应症。

在一些特殊情况下，采集鼻咽和口咽拭子可能会成问题，例如在学校或养老院进行大规模筛查，特别是当涉及老年痴呆症患者或幼儿时。在这种情况下，口腔液体可能是一种合适的样本，因为与采集上呼吸道样本相比，该采集方法不太具有侵入性，并且在采集时与其他人接触的风险较小。

口腔液体的采集方法差异很大：通过吐痰或流口水收集口咽后段液体/唾液，或用吸管或特殊海绵采集口腔液体。用生理盐水漱口是另一种已被研究过的替代方法。与鼻和/或口咽取样相比，这些样本的灵敏度表现差异很大[28, 49, 82, 83, 85-88, 122-125]。由于采集方法和处理步骤多种多样，实验室必须收集自己的与当地采集方法相关的性能数据，并在相关人群中进行测试。目前，世卫组织不建议将唾液作为用于常规临床诊断的唯一样本类型。如果打算使用非标准采集方法来诊断其它呼吸道病原体，则需要对发现的这些病原体进行验证。

粪便样本

从症状出现后的第二周起，如果上呼吸道和下呼吸道样本检测呈阴性，但临床上依然怀疑存在 COVID-19 感染，则可考虑对粪便样本进行 NAAT 检测[126]。检测粪便时，应确保已经对这类样本验证过预定的提取方法和 NAAT。

死后样本

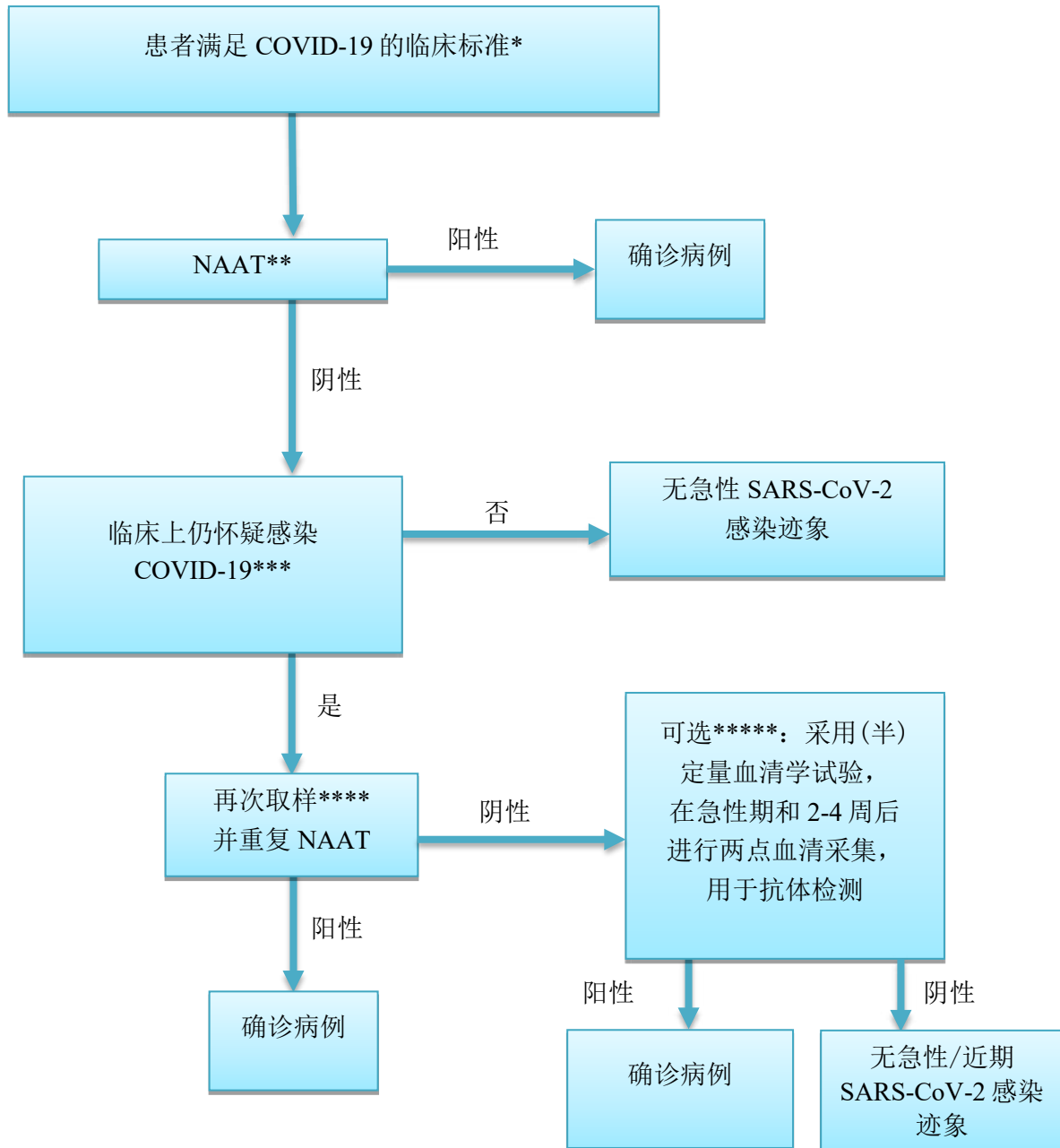
如果人已经死亡，考虑从尸检中提取尸检拭子、针吸活组织检查或组织样本，包括肺组织，以便进行进一步的病理和微生物检测[127-133]。

血清样本

如果从被严重怀疑感染 SARS-CoV-2 的患者身上获得 NAAT 阴性结果，则可以采集成对的血清样本。可在急性期和 2-4 周后的恢复期各取一份样本，用于检测血清转化或抗体滴度的升高。这两个样本可以追溯性地用于确定该个体是否患有 COVID-19，特别是当使用 NAAT 不能检测到感染时。

需要临床护理并疑似感染 COVID-19 的病例的诊断算法见图 1。

图 1: 对临床上疑似感染 COVID-19 的个体检测急性 SARS-CoV-2 感染的诊断流程图



* 《COVID-19 临床管理》（临时指导），世界卫生组织 [99]。

** 如果将抗原检测纳入检测算法，需要如何进行取决于抗原检测的灵敏度和特异性以及预期受试人群中 SARS-CoV-2 感染的流行率。有关更多信息，请参见下面关于“基于抗原检测的快速诊断检测”的章节，以及具体指导“关于使用快速免疫测定法检测抗原以诊断 SARS-CoV-2 感染的临时指导”[5]。

*** 例如，临床上仍然怀疑感染 COVID-19 可能是因为缺乏另一种明显的病因，存在流行病学联系，或有启发性的临床发现（例如典型的影像学特征）。

**** 样本类型的选择取决于临床表现，参见“要采集的样本”部分。增加要检测的样本数量也将提高 COVID-19 检测的灵敏度。在某些情况下，检测 SARS-CoV-2 可能需要两份以上的样本[73]。

***** 关于血清学解释，请参见“临床实验室中抗体检测的实施和解释”一节。不能只依靠血清学来诊断急性 SARS-CoV-2 感染并进行临床管理。

临床样本的包装和运输

用于病毒检测的样本应在采集后尽快送往实验室。在运输期间和实验室中正确处理样本是至关重要的。关于这方面的指导，见附件 1。

在国内运输样本应遵守适用的国家法规。可能含有 SARS-CoV-2 的样本的国际运输应遵循联合国《B 类生物物质示范条例》(UN 3373)，以及任何其它适用条例（根据运输方式）。

更多信息可参见[世卫组织《2019-2020 年传染性物质运输条例指南》](#)[134]和具体的 SARS-CoV-2 背景下[实验室生物安全指导](#)[3]和[装运说明](#) [135]。

应与实验室保持开放有效的沟通渠道，并提供所有所需信息。样本应贴上正确的标签，并附上诊断申请表（申请表模板见附件 2，包括最基本的所需临床信息）。在发送样本前应提醒实验室，并提供必要的背景信息和诊断请求，以便及时地妥善处理样本并报告结果。

实验室的生物安全做法

进行 SARS-CoV-2 检测的实验室应严格遵守适当的生物安全做法。对可能含有 SARS-CoV-2 的临床样本的检测应由受过相关技术和安全程序培训的工作人员在有适当装备的实验室进行。在任何情况下都应遵守国家实验室生物安全准则。使用标准 rRT-PCR 进行分子检测时，样本处理需要生物安全等级 (BSL) 2 或同等设施，并使用生物安全柜 (BSC) 或推荐用于灭活前样本操作的主要密封装置。

在细胞培养中分离病毒的尝试至少需要 BSL-3 设施。当出于其它目的对潜在的 SARS-CoV-2 阳性临床样本进行病毒培养时，需要进行风险评估，并遵循必要的安全措施和程序[136]。

生物安全要求方面的具体考虑因素可能允许在进行风险评估并采取适当的风险缓解措施后，一旦审查了当地法规，就可以在生物安全柜外进行特定的卫生服务点或患者近旁检测。有关实验室生物安全的更多详情，请参见[具体的实验室生物安全临时指导](#)[3]。关于一般实验室生物安全指南，请参阅[世卫组织实验室生物安全手册，第 3 版](#)[136]。

检测 SARS-CoV-2

核酸扩增检测 (NAAT)

在可能的情况下，应对疑似活动性 SARS-CoV-2 感染进行 NAAT 检测，如 rRT-PCR 检测。NAAT 检测应该以 SARS-CoV-2 基因组为目标。由于目前尚不存在已知 SARS-CoV-1 在全球传播的情况，sarbecovirus 特异性序列也是一个合理的目标。就商业检测而言，应根据使用说明对结果进行解释。最佳诊断方法包括对 SARS-CoV-2 基因组上的至少两个独立靶标进行 NAAT 分析，但是，在 SARS-CoV-2 广泛传播的地区，可以采用一种具有单个可鉴别性靶标的简单算法。当使用单靶标分析时，建议采取适当的策略来监测可能影响性能的突变。更多详细信息，请参见下文关于“监测引物和探针区域突变的背景信息”的一节。

监测引物和探针区域突变的背景信息

由于 SARS-CoV-2 随着时间的推移不断发生遗传变化，引物和/或探针之间的错配以及 SARS-CoV-2 基因组中相应的结合位点可能会降低 NAAT 的灵敏度。在可行的情况下，应监测由 SARS-CoV-2 突变引起的引物和探针的错配，并评估其影响。通过使用针对不同基因组区域的两套不同的引物/探针对所有样本进行常规检测，有可能降低假阴性结果的风险。现有几个监测相关突变的工具，包括通过 [GISAID](#)（全球共享所有流感数据行动）和其它工具进行的搜索，如 [PrimerCheck](#)（伊拉斯谟医学中心）、[PrimerScan](#)（欧洲疾病预防控制中心）和 [CoV-GLUE](#)（COVID-19 英国基因组联盟和 MRC-格拉斯哥大学病毒研究中心）。Primercheck 和 COV-GLUE 允许研究人员秘密地使用他们自己的序列数据作为输入数据。并非引物/探针区域的所有突变都会导致性能的显著变化。对结合效率的电子预测不足以量化错配对 NAAT 灵敏度的影响，因此有必要对变体和参考病毒分离物的检测敏感性进行实验比较。就商业检测而言，跟踪可能的次优性能事件至关重要。建议告知检测工具制造商和世卫组织您可能遇到的任何有关特定检测的问题。

许多内部和商业的 rRT-PCR 检测工具已经可用，并且有几个已经过独立验证[137-143]。附件 3 列出了为实验室选择合适的 NAAT 的一些考虑因素。一些 NAAT 系统具有全自动检测能力，集成了样本处理以及提取、扩增和报告核糖核酸的能力。这种系统提供了在实验室能力有限的地方进行检测的机会，并且当用于患者近旁检测时，周转时间短。其中一些检测的验证数据现已可用[144]。当在特定环境中实施这些检测时，应适当培训执行检测的工作人员，评估这些特定环境中的检测性能，并建立质量监控系统。其它可能有价值的扩增/检测方法，如 CRISPR（针对规律成簇间隔短回文重复）、等温核酸扩增技术（如逆转录环介导等温扩增（RT-LAMP）和分子微阵列分析）正在开发或商业化过程中[145-147]。鼓励对这些检测的分析和临床性能进行验证，展示其潜在的操作实用性，快速共享数据，以及对可制造的、性能良好的检测工具进行紧急监管审查，以增加获得 SARS-CoV-2 检测的机会。

需要谨慎解读 NAAT 的弱阳性结果，因为一些检测显示在高 Ct 值时会产生假信号。当检测结果无效或有问题时，应对患者重新取样并进行检测。如果无法从患者身上获得额外的样本，应该从原始样本中重新提取 RNA，并由经验丰富的工作人员进行重新检测。如果病毒载量足够高，结果可以通过另一种 NAAT 检测或通过病毒测序来证实。强烈建议实验室寻求参考实验室对任何意外结果的确认。

一个或多个阴性结果不一定可以排除 SARS-CoV-2 感染[40, 42, 58, 66-74]。许多因素可能导致受感染个体出现阴性结果，包括：

- 样本质量差，因为包含的患者材料太少；
- 样本是在疾病晚期采集的，或样本取自当时不含病毒的身体部位；
- 样本未得到适当处理和/或运输；
- 检测中固有的技术原因，例如 PCR 抑制或病毒突变。

对于临床病例管理，提议的检测算法如图 1 所示。

RNA 提取的替代方法

大多数传统的分子诊断工作流程需要在进行 rRT-PCR 检测之前提取 RNA。然而，由于 COVID-19 大流行，全球缺乏商业提取工具包。直接对鼻咽拭子进行 rRT-PCR 检测可能为 RNA 提取提供了一种紧急或临时的替代方法，但对输入量的限制以及 RNA 降解和 PCR 抑制风险的增加会导致检测灵敏度的下降[148, 149]。样本处理前的热处理会影响 RNA 的质量[149, 150]。在实施前应评估其它可能影响 RNA 质量的因素，包括洗涤剂的添加、运输介质、所用样本的体积和所用的聚合酶[148, 151-154]。还应考虑替代提取工作流程在生物安全方面的影响。考虑绕过 RNA 提取需求的替代方法的实验室应充分验证其方案，并在将此类方案整合进诊断工作流程之前，进行权衡利弊的风险评估。

为 NAAT 汇集样本

当检测率不符合某些环境的要求时，汇集来自多个个体的样本可以提高检测 SARS-CoV-2 的诊断能力[155-159]。有几种汇集样本的策略。如果汇集的结果为阴性，则样本池中的所有单个样本均被视为阴性。如果样本池的检测结果呈阳性，后续步骤取决于策略，但通常每个样本需要进行单独检测（池反卷积）以确定阳性样本。另一种方法是矩阵池。这意味着池按行和按列组成，并通过 PCR 进行检测，如果患病率足够低，在矩阵中的位置可以识别阳性样本，而无需额外的检测。根据矩阵检测方法在特定环境中的可靠程度，重新检测已识别的阳性样本以确认结果可能仍然是可取的。可考虑在预计 SARS-CoV-2 感染流行率低/非常低的人群中汇集样本，但不考虑更有可能感染 SARS-CoV-2 的病例或队列。不建议在临床护理和接触者追踪中常规使用来自多个个体的样本池。已经进行了研究，以确定在不同的疫情背景下最佳样本池的数量和样本池的设计策略 [156, 160-162]。

在实施任何样本池化方案之前，必须在适当的人群和环境验证这些方案。不适当的检测策略可能导致遗漏病例或其它实验室错误，进而对患者管理和公共卫生控制措施产生负面影响。此外，必须考虑交叉污染的风险以及工作量、复杂性和数量有可能增加。要进行可靠的样本池化，充分的自动化是关键（例如，机器人系统、支持算法以识别阳性样本的软件、实验室信息系统和可用于样本池化的中间件）。

基于目前可用的数据，可以采用上呼吸道样本的个体内汇集（来自一个个体的多个样本汇集为一个单一样本并接受检测）。不建议将痰和粪便与上呼吸道样本进行个体内汇集，因为前者可能含有抑制 rRT-PCR 的化合物。

基于抗原检测的快速诊断检测

检测呼吸道样本中 SARS-CoV-2 病毒蛋白 (抗原) 的存在的快速诊断检测正在开发和商业化中。其中大多数是横向流动免疫测定 (LFI), 通常在 30 分钟内完成。与 NAAT 相比, 检测的目标没有扩增, 使得抗原检测不太敏感。此外, 如果试纸条上的抗体也识别 SARS-CoV-2 之外的病毒抗原, 如其它人类冠状病毒, 则可能会出现假阳性 (表示一个人没有感染的人感染了)。

就上呼吸道样本 (鼻咽拭子) 而言, 与 rRT-PCR 相比, 不同快速诊断检测的灵敏度似乎差异很大[144, 163-165], 但报告的特异性一直为高。目前, 关于临床环境中抗原性能的数据仍然有限: 鼓励将 NAAT 和抗原验证配对的临床研究, 以确定哪些正在开发或已经商业化的抗原检测试验在具有代表性的实地研究中表现出可接受的性能。当性能可接受时, 可以在诊断算法中实施抗原快速诊断检测, 以减少需要进行的分子检测的数量, 并支持 COVID-19 病例的快速识别和管理。如何将抗原检测纳入检测算法取决于抗原检测的灵敏度和特异性, 以及预期受试人群中 SARS-CoV-2 感染的流行程度。较高的病毒载量与抗原检测性能的提高有关; 因此, 预计在症状出现前后和 SARS-CoV-2 感染的初始阶段检测性能最高。关于抗原检测试验的具体指南, 请参见世界卫生组织[关于使用快速免疫测定法检测抗原以诊断 SARS-CoV-2 感染的临时指导](#)[5]。

抗体检测

检测人体因感染 SARS-CoV-2 而产生的抗体的血清学检测在各种情况下都有用。

例如, 血清监测研究可用于支持对当前疫情的调查, 并支持对发病率或疫情规模的回顾性评估[9]。由于 SARS-CoV-2 是一种新型病原体, 我们对其引起的抗体反应的认识仍在不断发展, 因此抗体检测试验应谨慎使用, 不用于确定急性感染。

与 (半) 定量或定量分析相比, 非定量分析 (如横向流动分析) 不能检测抗体滴度的增加。目前不建议将横向流动抗体检测分析 (或其它非定量分析) 用于急性诊断和临床管理, 目前正在研究其在流行病学调查中的作用。关于快速免疫诊断检测的效用的更多信息, 请参考世界卫生组织的科学简报, 其中包含关于针对 SARS-CoV-2 的[卫生服务点免疫诊断检测](#)的建议[4]。

血清学不应作为一种独立的诊断方法用于在临床护理中识别急性病例或用于追踪接触者。解释应由专家做出, 并取决于几个因素, 包括疾病的时间、临床发病率、环境中的流行病学情况和患病率、使用的检测类型、验证方法和结果的可靠性。

据观察, 与轻症或无症状感染者相比, 重症患者的血清转化 (感染后可测量的抗体反应的发展) 更强、更快。在一小部分患者中, 早在患病第一周结束时就检测到了抗体, 但在亚临床/轻度感染患者中, 也可能需要数周时间才能出现抗体[37, 166-173]。基于患者抗体反应的 COVID-19 感染的可靠诊断通常只有在恢复阶段才有可能, 此时已经失去了临床干预或阻断疾病传播的机会。因此, 血清学不适合替代病毒学检测来为接触者追踪或临床管理提供信息。目前仍在研究因 SARS-CoV-2 而产生的抗体的持续时间[49, 174]。此外, 与 SARS-CoV-2 结合的抗体的存在并不能保证它们是中和抗体, 或者它们提供保护性免疫。

可用于检测抗体的血清学检测

利用包括 LFI、酶联免疫吸附测定 (ELISA) 和化学发光免疫测定 (CLIA) 在内的各种技术测量结合抗体 (总免疫球蛋白 (Ig)、IgG、IgM 和/或不同组合的 IgA) 的商业和非商业检测已经可用。已经发表了许多关于这些测定的验证和系统综述[170, 171, 173, 175-177]。在不同的受试群体中 (如在患有轻度或中重度疾病的患者中, 以及年轻或年老患者中) 以及在检测时间和目标病毒蛋白方面, 血清学检测的性能差异很大。需要进一步的研究来了解这些性能变化。冠状病毒抗体检测试验也可能与其它病原体发生交叉反应, 包括其它人类冠状病毒, [167, 178-180]或与已有疾病 (如妊娠、自身免疫性疾病) 发生交叉反应, 从而产生假阳性结果。

病毒中和试验被认为是检测功能性抗体存在的金标准试验。这些试验需要高度熟练的工作人员和 BSL-3 培养设施, 因此, 不适用于常规诊断检测。

抗体检测在临床实验室的实施与解读

在临床实验室实施血清学检测时，建议对特定检测进行内部验证或确认。即使商业检测已被授权在紧急情况下使用，仍然需要内部验证（或如果地方主管部门要求，则需要验证）。现在可以获得关于如何做到这一点的方案和示例以及建议[170, 171, 181]。

血清学检测各不相同。关于商业检测，请遵循制造商的使用说明。研究表明，几种测量总 Ig 或 IgG 的商业测定方法表现良好。这些研究中的大多数都没有显示出 IgM 相较于 IgG 的优势，因为 IgM 并不比 IgG 出现得早很多[173]。IgA 检测在常规诊断中的额外作用尚未确定。为了确认近期感染，必须使用有效的（半）定量或定量分析对急性期和恢复期血清进行检测。第一份样本应在疾病的急性期采集，第二份样本的采集应与采集初始血清至少相隔 14 天。预计最大抗体水平出现在症状出现后的第三/第四周。配对血清中的血清转化或抗体滴度升高将有助于确认感染是近期的还是急性的。如果初始样本的检测结果显示阳性，此结果可能是由于与当前疾病无关的既往感染所致。

第一个已知的 SARS-CoV-2 再感染病例已被记录在案[182]。只有有限的信息可用于解释以前感染 SARS-CoV-2 后的 SARS-CoV-2 抗体检测，以及如果随后感染另一种冠状病毒，SARS-CoV-2 血清学的动态。在这两种情况下，血清学解释可能极具挑战性。

病毒分离

不建议将病毒分离作为常规诊断程序。所有涉及细胞培养中病毒分离的程序都需要训练有素的工作人员和 BSL-3 设施。在从潜在的 SARS-CoV-2 患者的样本中培养其它呼吸道病毒时，应进行充分的风险评估，因为 SARS-CoV-2 已被证明可在多种细胞系上生长 [183]。

SARS-CoV-2的基因组测序

SARS-CoV-2 的基因组测序可用于调查疫情动态，包括疫情规模随时间的变化、时空传播，以及检验关于传播途径的假设。此外，基因组序列可用于确定哪些诊断测定、药物和疫苗可能适合进一步探索。因此，对 SARS-CoV-2 病毒基因组的分析可以补充、增强和支持减轻 COVID-19 疾病负担的战略。然而，基因组测序可能需要的高成本和工作量意味着实验室应该清楚这种投资的预期回报以及最大限度地利用这种基因组序列数据所需的条件。世卫组织关于 SARS-CoV-2 基因组测序的指导目前正在制定中。

质量保证

在将新的检测方法、新的化验、新的材料批次或新的 PCR 技术人员引入实验室之前，应进行验证或确认，以确保实验室检测系统运行良好。

就手动 PCR 系统而言，每个 NAAT 样本都应包括内部质控品以及理想情况下样本采集质控品（人类基因靶标）。此外，每次检测运行都建议使用外部质控品。订购自己的引物和探针的实验室应进行入门检测或验证，检查功能和潜在的污染物[184]。

鼓励实验室确定其化验方法的检测限度，高级工作人员应认识到疾病流行情况如何改变其检测结果的预测值。一旦病例数下降，阳性预测值将会降低，因此对检测的解释应继续成为严格质量保证计划的一部分，解释应基于：取样时间、样本类型、检测细节、临床数据和流行病学数据。

实验室应采取措施降低 rRT-PCR 结果呈假阳性的可能性，并制定处理模棱两可结果的策略。清单见附件 4。

一般而言，实验室应建立质量保证体系，鼓励实验室参与外部质量评估计划或在实验室之间对样本子集进行结果比较。

世卫组织以前曾建议国家实验室将前 5 份阳性样本和前 10 份阴性样本（从符合病例定义的患者身上采集）提交给世卫组织提供 SARS-CoV-2 确认性检测的参考实验室来确认检测结果，以确保质量表现。世卫组织向国家实验室提供支持，以便利将样本运送到一个专门的参考实验室。欲了解更多信息，请查阅世卫组织网站上的[参考实验室列表](#)[185]和[装运说明](#)[135]。国家参考实验室的加强和 SARS-CoV-2 EQA 外部质量评估计划的参与增多减少了使用这一机制的必要性。如果一个国家还无法进行 SARS-CoV-2 检测，则应努力建立国家能力。

报告病例和检测结果

快速沟通检测结果对于公共卫生和疫情控制干预措施的规划和设计非常重要。实验室应遵循国家报告要求。一般而言,所有检测结果,无论是阳性还是阴性,都应立即向国家主管部门报告。提醒《国际卫生条例》缔约国有义务利用《国际卫生条例(2005)》附件2中的决策文件,与世卫组织分享它们必须通知世卫组织的事件的相关公共卫生信息[186]。

公共卫生专家、临床医生和当地实验室专家之间定期互动,讨论策略、潜在问题和解决方案,应被视为适当的COVID-19应对措施的重要组成部分。应对措施包括制定指导和(临床、流行病学和试验)研究方案。

检测结果周转时间短反过来会对疫情产生积极影响[187, 188]。需要进行更多的研究,以微调从症状出现到样本结果的最长可接受时间,以便对临床管理和疫情控制产生影响;目前,在大多数环境下,最多24小时被认为是合理的。由于实验室通常只能控制从样本到达到出检测结果的时间,确保样本及时到达实验室至关重要。

方法

本文件是与SARS-CoV-2实验室专家网络的专家协商制定的。该网络的专家完成了保密协议和利益声明。审查了利益声明表,未发现与支持本指导文件相关的冲突。本文件采用了世卫组织的相关指导[136, 185, 189-194]。这是第六版(2020.6版),最初改编自“中东呼吸综合征冠状病毒的实验室检测”[189]。

来自不同地区的众多临床实验室专家参与了本文件的编写。参与文件编写的内部专家包括世卫组织区域实验室协调人、流行病学家和临床专家。这一版指导纳入了该病毒的新知识和特征,并论及从世卫组织国家和区域办事处及其它渠道收到的问题。

参与者

世卫组织指导小组: Amal Barakat、Céline Barnadas、Silvia Bertagnolio、Caroline Brown、Lisa Carter、Sebastian Cognat、Jane Cunningham、Varja Grabovac、Francis Inbanathan、Kazunobu Kojima、Juliana Leite、Marco Marklewitz、Jairo Mendez-Rico、Karen Nahapetyan、Chris Oxenford、Boris Pavlin、Mark Perkins、Anne Perrocheau、Jose Rovira、Maria Van Kerkhove、Karin von Eije、Joanna Zwetyenga。

外部参与者:

Sarah Hill, 牛津大学和皇家兽医学院, 英国; Maria Zambon, 英国公共卫生部; Corine Geurts van Kessel、Richard Molenkamp 和 Marion Koopmans、Erasmus MC 和 Adam Meijer 以及 Chantal Reusken, 荷兰国家公共卫生及环境研究院; Antonino Di Caro, 意大利 Lazzaro Spallanzani 国家传染病研究所; Anne von Gottberg, 南非国家传染病研究所; Janejai Noppavan, 泰国国家卫生研究所; Raymond Lin, 新加坡国家公共卫生实验室; Leo Poon and Malik Peiris, 香港大学, 中国香港特别行政区; George Gao, 中国疾控中心。

参考文献

1. *Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19*. World Health Organization 2020; Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331509>.
2. *Laboratory assessment tool for laboratories implementing COVID-19 virus testing*. World Health Organization 2020 8 April 2020 7 July 2020]; Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331715>.
3. *Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19)*. World Health Organization 2020; Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332076>
4. *Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19*. World Health Organization 8 April 2020; Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331713>.
5. 《使用快速免疫测定法检测抗原以诊断 SARS-CoV-2 感染——临时指导文件》。世界卫生组织, 2020 年。可访问: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/334253/WHO-2019-nCoV-Antigen_Detection-2020.1-chi.pdf
6. *Considerations in the investigation of cases and clusters of COVID-19*. World Health Organization 2020; Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331668>.

7. *Public health surveillance for COVID-19: interim guidance*,. 7 August 2020; Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/333752>.
8. 《利用全球流感监测和应对系统监测 COVID-19 的操作注意事项》。世界卫生组织 2020; 可访问: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331589/WHO-2019-nCoV-Leveraging_GISRS-2020.1-chi.pdf。
9. *The Unity Studies: Early Investigations Protocols*. 2020 27 July 2020]; Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/early-investigations>.
10. Gorbalenya A, B.S., Baric R, de Groot R, Drosten C, Gulyaeva A, Haagmans B, Lauber C, Leontovich A, Neuman B, Penzar D, Perlman S, Poon L, Samborskiy D, Sidorov I, Sola I, Ziebuhr J, *The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2*. *Nat Microbiol*, 2020. **5**(4): p. 536-544.
11. *International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)*. 2020 27 July 2020]; Available from: <https://talk.ictvonline.org/>.
12. Naqvi, A.A.T., et al., *Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach*. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020. **1866**(10): p. 165878.
13. Yoshimoto, F.K., *The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19*. *Protein J*, 2020. **39**(3): p. 198-216.
14. Kim, D., et al., *The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome*. *Cell*, 2020. **181**(4): p. 914-921 e10.
15. Lu, R., et al., *Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding*. *Lancet*, 2020. **395**(10224): p. 565-574.
16. Yan, R., et al., *Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2*. *Science*, 2020. **367**(6485): p. 1444-1448.
17. Ni, W., et al., *Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19*. *Crit Care*, 2020. **24**(1): p. 422.
18. Wu, Z. and J.M. McGoogan, *Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention*. *JAMA*, 2020.
19. Mizumoto, K., et al., *Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020*. *Euro Surveill*, 2020. **25**(10).
20. He, J., et al., *Proportion of asymptomatic coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review and meta-analysis*. *J Med Virol*, 2020.
21. Kronbichler, A., et al., *Asymptomatic patients as a source of COVID-19 infections: A systematic review and meta-analysis*. *Int J Infect Dis*, 2020.
22. Al-Sadeq, D.W. and G.K. Nasrallah, *The incidence of the novel coronavirus SARS-CoV-2 among asymptomatic patients: a systematic review*. *Int J Infect Dis*, 2020.
23. Kluytmans-van den Bergh, M.F.Q., et al., *Prevalence and Clinical Presentation of Health Care Workers With Symptoms of Coronavirus Disease 2019 in 2 Dutch Hospitals During an Early Phase of the Pandemic*. *JAMA Netw Open*, 2020. **3**(5): p. e209673.
24. Gudbjartsson, D.F., et al., *Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic Population*. *N Engl J Med*, 2020. **382**(24): p. 2302-2315.
25. Arons, M.M., et al., *Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility*. *N Engl J Med*, 2020.
26. Bitnun, A., et al., *Severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection in Toronto children: a second look*. *Pediatrics*, 2009. **123**(1): p. 97-101.
27. Richardson, S., et al., *Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area*. *JAMA*, 2020.
28. Wyllie, A.L., et al., *Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2*. *N Engl J Med*, 2020.
29. WHO. *R&D blueprint and COVID-19*. 2020 [cited 2020 16 July 2020]; Available from: <https://www.who.int/teams/blueprint/covid-19>.
30. CLOPID-R. *Global research collaboration for infectious disease preparedness, preparedness, data sharing*. 2020 16 July 2020]; Available from: <https://www.glopid-r.org/our-work/data-sharing/>.
31. Li, Q., et al., *Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia*. *N Engl J Med*, 2020. **382**(13): p. 1199-1207.
32. Guan, W.J., et al., *Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China*. *N Engl J Med*, 2020. **382**(18): p. 1708-1720.
33. Linton, N.M., et al., *Incubation Period and Other Epidemiological Characteristics of 2019 Novel Coronavirus Infections with Right Truncation: A Statistical Analysis of Publicly Available Case Data*. *J Clin Med*, 2020. **9**(2).
34. Lauer, S.A., et al., *The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application*. *Ann Intern Med*, 2020. **172**(9): p. 577-582.

35. Backer, J.A., D. Klinkenberg, and J. Wallinga, *Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20-28 January 2020*. Euro Surveill, 2020. **25**(5).
36. He, X., et al., *Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19*. Nat Med, 2020. **26**(5): p. 672-675.
37. Wolfel, R., et al., *Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019*. Nature, 2020.
38. Weiss, A., M. Jellingso, and M.O.A. Sommer, *Spatial and temporal dynamics of SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis*. EBioMedicine, 2020. **58**: p. 102916.
39. Sethuraman, N., S.S. Jeremiah, and A. Ryo, *Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2*. JAMA, 2020.
40. Zou, L., et al., *SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients*. N Engl J Med, 2020. **382**(12): p. 1177-1179.
41. Wang, Y., et al., *Kinetics of viral load and antibody response in relation to COVID-19 severity*. J Clin Invest, 2020.
42. Young, B.E., et al., *Epidemiologic Features and Clinical Course of Patients Infected With SARS-CoV-2 in Singapore*. JAMA, 2020.
43. Kam, K.Q., et al., *A Well Infant with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) with High Viral Load*. Clin Infect Dis, 2020.
44. Hu, Z., et al., *Clinical characteristics of 24 asymptomatic infections with COVID-19 screened among close contacts in Nanjing, China*. Sci China Life Sci, 2020. **63**(5): p. 706-711.
45. Liu, Y., et al., *Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19*. Lancet Infect Dis, 2020.
46. Zheng, S., et al., *Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study*. BMJ, 2020. **369**: p. m1443.
47. Lavezzo, E., et al., *Suppression of a SARS-CoV-2 outbreak in the Italian municipality of Vo'*. Nature, 2020. **Nature**.
48. Agnihothram, S., et al., *Evaluation of serologic and antigenic relationships between middle eastern respiratory syndrome coronavirus and other coronaviruses to develop vaccine platforms for the rapid response to emerging coronaviruses*. J Infect Dis, 2014. **209**(7): p. 995-1006.
49. To, K.K., et al., *Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study*. Lancet Infect Dis, 2020. **20**(5): p. 565-574.
50. Li, N., X. Wang, and T. Lv, *Prolonged SARS-CoV-2 RNA shedding: Not a rare phenomenon*. J Med Virol, 2020.
51. Zhou, B., et al., *The duration of viral shedding of discharged patients with severe COVID-19*. Clin Infect Dis, 2020.
52. Chen, Y., et al., *The presence of SARS-CoV-2 RNA in the feces of COVID-19 patients*. J Med Virol, 2020.
53. Gupta, S., et al., *Persistent viral shedding of SARS-CoV-2 in faeces - a rapid review*. Colorectal Dis, 2020.
54. Xu, K., et al., *Factors associated with prolonged viral RNA shedding in patients with COVID-19*. Clin Infect Dis, 2020.
55. Qi, L., et al., *Factors associated with duration of viral shedding in adults with COVID-19 outside of Wuhan, China: A retrospective cohort study*. Int J Infect Dis, 2020.
56. Lescure, F.X., et al., *Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series*. Lancet Infect Dis, 2020.
57. Ling, Y., et al., *Persistence and clearance of viral RNA in 2019 novel coronavirus disease rehabilitation patients*. Chin Med J (Engl), 2020. **133**(9): p. 1039-1043.
58. Pan, Y., et al., *Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples*. Lancet Infect Dis, 2020. **20**(4): p. 411-412.
59. Xing, Y.H., et al., *Prolonged viral shedding in feces of pediatric patients with coronavirus disease 2019*. J Microbiol Immunol Infect, 2020.
60. Oliver S, O.S.J., Patel M, Patel S, Queen I, Quick N et al, *Clinical and virologic characteristics of the first 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States*. Nat Med, 2020.
61. Jeroen J.A. van Kampen, D.A.M.C.v.d.V., Pieter L.A. Fraaij, Bart L. Haagmans, Mart M. Lamers, Nisreen Okba, Johannes P.C. van den Akker, Henrik Endeman, Diederik A.M.P.J. Gommers, Jan J. Cornelissen, Rogier A.S. Hoek, Menno M. van der Eerden, Dennis A. Hesselink, Herold J. Metselaar, Annelies Verbon, Jurriaan E.M. de Steenwinkel, Georgina I. Aron, Eric C.M. van Gorp, Sander van Boheemen, Jolanda C. Voermans, Charles A.B. Boucher, Richard Molenkamp, Marion P.G. Koopmans, Corine Geurtsvankessel, Annemiek A. van der Eijk, *Shedding of infectious virus in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19): duration and key determinants*. medRxiv preprint, 2020.
62. La Scola, B., et al., *Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2020. **39**(6): p. 1059-1061.
63. Perera, R., et al., *SARS-CoV-2 Virus Culture and Subgenomic RNA for Respiratory Specimens from Patients with Mild Coronavirus Disease*. Emerg Infect Dis, 2020. **26**(11).

64. Singanayagam A, P.M., Charlett A, Lopez Bernal J, Saliba V, Ellis J, Ladhani S, Zambon M, Gopal R, *Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020*. Eurosurveillance, 2020. **25**(32).
65. 《科学简报: COVID-19 患者解除隔离的标准》。世界卫生组织 2020; 可访问: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332451/WHO-2019-nCoV-Sci_Brief-Discharge_From_Isolation-2020.1-chi.pdf。
66. Yuan, J., et al., *PCR Assays Turned Positive in 25 Discharged COVID-19 Patients*. Clin Infect Dis, 2020.
67. Tang, X., et al., *Positive RT-PCR tests among discharged COVID-19 patients in Shenzhen, China*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2020: p. 1-2.
68. Ma, H., et al., *A single-center, retrospective study of COVID-19 features in children: a descriptive investigation*. BMC Med, 2020. **18**(1): p. 123.
69. Xiao, A.T., Y.X. Tong, and S. Zhang, *False-negative of RT-PCR and prolonged nucleic acid conversion in COVID-19: Rather than recurrence*. J Med Virol, 2020.
70. Liu, R., et al., *Positive rate of RT-PCR detection of SARS-CoV-2 infection in 4880 cases from one hospital in Wuhan, China, from Jan to Feb 2020*. Clin Chim Acta, 2020. **505**: p. 172-175.
71. Winichakoon, P., et al., *Negative Nasopharyngeal and Oropharyngeal Swabs Do Not Rule Out COVID-19*. J Clin Microbiol, 2020. **58**(5).
72. Li, Y., et al., *Stability issues of RT-PCR testing of SARS-CoV-2 for hospitalized patients clinically diagnosed with COVID-19*. J Med Virol, 2020.
73. Lee, T.H., et al., *Testing for SARS-CoV-2: Can We Stop at Two?* Clin Infect Dis, 2020.
74. Kucirka, L.M., et al., *Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction-Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure*. Ann Intern Med, 2020.
75. Wang, W., et al., *Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens*. JAMA, 2020.
76. Huang, Y., et al., *SARS-CoV-2 Viral Load in Clinical Samples from Critically Ill Patients*. Am J Respir Crit Care Med, 2020. **201**(11): p. 1435-1438.
77. Wong, M.C., et al., *Detection of SARS-CoV-2 RNA in fecal specimens of patients with confirmed COVID-19: A meta-analysis*. J Infect, 2020. **81**(2): p. e31-e38.
78. Chen, W., et al., *Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity*. Emerg Microbes Infect, 2020. **9**(1): p. 469-473.
79. Chen, X., et al., *Detectable serum SARS-CoV-2 viral load (RNAemia) is closely correlated with drastically elevated interleukin 6 (IL-6) level in critically ill COVID-19 patients*. Clin Infect Dis, 2020.
80. Corman, V.M., et al., *SARS-CoV-2 asymptomatic and symptomatic patients and risk for transfusion transmission*. Transfusion, 2020.
81. Zhang, W., et al., *Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes*. Emerg Microbes Infect, 2020. **9**(1): p. 386-389.
82. Williams, E., et al., *Saliva as a non-invasive specimen for detection of SARS-CoV-2*. J Clin Microbiol, 2020.
83. Pasomsub, E., et al., *Saliva sample as a non-invasive specimen for the diagnosis of coronavirus disease-2019 (COVID-19): a cross-sectional study*. Clin Microbiol Infect, 2020.
84. Yang, J.R., et al., *Persistent viral RNA positivity during the recovery period of a patient with SARS-CoV-2 infection*. J Med Virol, 2020.
85. Guo, W.L., et al., *Effect of throat washings on detection of 2019 novel coronavirus*. Clin Infect Dis, 2020.
86. Lai, C.K.C., et al., *Prospective study comparing deep-throat saliva with other respiratory tract specimens in the diagnosis of novel coronavirus disease (COVID-19)*. J Infect Dis, 2020.
87. Azzi, L., et al., *Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2*. Journal of Infection, 2020. **81**.
88. McCormick-Baw, C., et al., *Saliva as an Alternate Specimen Source for Detection of SARS-CoV-2 in Symptomatic Patients Using Cepheid Xpert Xpress SARS-CoV-2*. J Clin Microbiol, 2020.
89. Colavita, F., et al., *SARS-CoV-2 Isolation From Ocular Secretions of a Patient With COVID-19 in Italy With Prolonged Viral RNA Detection*. Ann Intern Med, 2020.
90. Xia, J., et al., *Evaluation of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection*. J Med Virol, 2020.
91. Wu, P., et al., *Characteristics of Ocular Findings of Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Hubei Province, China*. JAMA Ophthalmol, 2020.
92. Zhou, Y., et al., *Ocular Findings and Proportion with Conjunctival SARS-COV-2 in COVID-19 Patients*. Ophthalmology, 2020.
93. Zhang, X., et al., *The evidence of SARS-CoV-2 infection on ocular surface*. Ocul Surf, 2020.
94. Cai, J., et al., *A Case Series of children with 2019 novel coronavirus infection: clinical and epidemiological features*. Clin Infect Dis, 2020.
95. Nomoto, H., et al., *Cautious handling of urine from moderate to severe COVID-19 patients*. Am J Infect Control, 2020. **48**(8): p. 969-971.

96. Li, D., et al., *Clinical Characteristics and Results of Semen Tests Among Men With Coronavirus Disease 2019*. JAMA Netw Open, 2020. **3**(5): p. e208292.
97. Paniz-Mondolfi, A., et al., *Central nervous system involvement by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2)*. J Med Virol, 2020. **92**(7): p. 699-702.
98. Moriguchi, T., et al., *A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2*. Int J Infect Dis, 2020. **94**: p. 55-58.
99. 世界卫生组织。《2019 冠状病毒病临床管理》(临时指导文件)。世界卫生组织 2020。2020 年 5 月 27 日; 可访问: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332196>。
100. Bordi, L., et al., *Differential diagnosis of illness in patients under investigation for the novel coronavirus (SARS-CoV-2), Italy, February 2020*. Euro Surveill, 2020. **25**(8).
101. Wu, D., et al., *To alert coinfection of COVID-19 and dengue virus in developing countries in the dengue-endemic area*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2020: p. 1.
102. Rodriguez, J.A., et al., *Co-Infection with SARS-COV-2 and Parainfluenza in a young adult patient with pneumonia: Case Report*. IDCases, 2020. **20**: p. e00762.
103. Rawson, T.M., et al., *Bacterial and fungal co-infection in individuals with coronavirus: A rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing*. Clin Infect Dis, 2020.
104. Nowak, M.D., et al., *Co-infection in SARS-CoV-2 infected Patients: Where Are Influenza Virus and Rhinovirus/Enterovirus?* J Med Virol, 2020.
105. Wu, D., et al., *Coinfection of Influenza Virus and Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-COV-2)*. Pediatr Infect Dis J, 2020. **39**(6): p. e79.
106. Wu, X., et al., *Co-infection with SARS-CoV-2 and Influenza A Virus in Patient with Pneumonia, China*. Emerg Infect Dis, 2020. **26**(6): p. 1324-1326.
107. Khodamoradi, Z., M. Moghadami, and M. Lotfi, *Co-infection of Coronavirus Disease 2019 and Influenza A: A Report from Iran*. Arch Iran Med, 2020. **23**(4): p. 239-243.
108. Azekawa, S., et al., *Co-infection with SARS-CoV-2 and influenza A virus*. IDCases, 2020. **20**: p. e00775.
109. Koehler, P., et al., *COVID-19 associated pulmonary aspergillosis*. Mycoses, 2020.
110. Yan, G., et al., *Covert COVID-19 and false-positive dengue serology in Singapore*. Lancet Infect Dis, 2020. **20**(5): p. 536.
111. Lustig, Y., et al., *Potential antigenic cross-reactivity between SARS-CoV-2 and Dengue viruses*. Clin Infect Dis, 2020.
112. Hammitt, L.L., et al., *Added value of an oropharyngeal swab in detection of viruses in children hospitalized with lower respiratory tract infection*. J Clin Microbiol, 2011. **49**(6): p. 2318-20.
113. Ek, P., et al., *A combination of naso- and oropharyngeal swabs improves the diagnostic yield of respiratory viruses in adult emergency department patients*. Infect Dis (Lond), 2019. **51**(4): p. 241-248.
114. Sutjipto s, H.L., Yant TJ, Mendis SM, Abdad MY, Marimuthu K, Ng OT, Lin C, Chan M et al., *The effect of sample site, illness duration and the presence of pneumonia on the detection of SARS-CoV-2 by real-time reverse-transcription PCR*. Open Forum Infectious Diseases, 2020.
115. Lieberman, D., et al., *Pooled nasopharyngeal and oropharyngeal samples for the identification of respiratory viruses in adults*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2010. **29**(6): p. 733-5.
116. Vlek, A.L.M., et al., *Combined throat/nasal swab sampling for SARS-CoV-2 is equivalent to nasopharyngeal sampling*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2020.
117. LeBlanc, J.J., et al., *A combined oropharyngeal/nares swab is a suitable alternative to nasopharyngeal swabs for the detection of SARS-CoV-2*. J Clin Virol, 2020. **128**: p. 104442.
118. Pinninti, S., et al., *Comparing Nasopharyngeal and Mid-Turbinate Nasal Swab Testing for the Identification of SARS-CoV-2*. Clin Infect Dis, 2020.
119. Palmas, G., et al., *Nasal Swab as Preferred Clinical Specimen for COVID-19 Testing in Children*. Pediatr Infect Dis J, 2020. **39**(9): p. e267-e270.
120. Tu, Y.P., et al., *Swabs Collected by Patients or Health Care Workers for SARS-CoV-2 Testing*. N Engl J Med, 2020. **383**(5): p. 494-496.
121. Altamirano, J., et al., *Assessment of Sensitivity and Specificity of Patient-Collected Lower Nasal Specimens for Sudden Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Testing*. JAMA Netw Open, 2020. **3**(6): p. e2012005.
122. Hamid, H., et al., *COVID-19 Pandemic and Role of Human Saliva as a Testing Biofluid in Point-of-Care Technology*. Eur J Dent, 2020.
123. Alizargar, J., et al., *Saliva samples as an alternative for novel coronavirus (COVID-19) diagnosis*. J Formos Med Assoc, 2020.
124. Ceron, J.J., et al., *Use of Saliva for Diagnosis and Monitoring the SARS-CoV-2: A General Perspective*. J Clin Med, 2020. **9**(5).
125. Chen L, Z.J., Peng J, Li X, Deng X, Shen Z, Guo F, Zhang Q, Zhang Q, Jin Y, Wang L, Wang S *Detection of 2019-nCoV in Saliva and Characterization of Oral Symptoms in COVID-19 Patients*. SSRN, 2020.

126. Ng, S.C., F.K.L. Chan, and P.K.S. Chan, *Screening FMT donors during the COVID-19 pandemic: a protocol for stool SARS-CoV-2 viral quantification*. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2020. **5**(7): p. 642-643.
127. Tang, J.W., et al., *Quantitative temporal-spatial distribution of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV) in post-mortem tissues*. *J Med Virol*, 2007. **79**(9): p. 1245-53.
128. Nicholls, J.M., et al., *Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome*. *Lancet*, 2003. **361**(9371): p. 1773-8.
129. Pomara, C., G. Li Volti, and F. Cappello, *COVID-19 Deaths: Are We Sure It Is Pneumonia? Please, Autopsy, Autopsy, Autopsy!* *J Clin Med*, 2020. **9**(5).
130. Salerno, M., et al., *No Autopsies on COVID-19 Deaths: A Missed Opportunity and the Lockdown of Science*. *J Clin Med*, 2020. **9**(5).
131. Hanley, B., et al., *Autopsy in suspected COVID-19 cases*. *J Clin Pathol*, 2020. **73**(5): p. 239-242.
132. Basso, C., et al., *Feasibility of postmortem examination in the era of COVID-19 pandemic: the experience of a Northeast Italy University Hospital*. *Virchows Arch*, 2020.
133. Tian, S., et al., *Pathological study of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) through postmortem core biopsies*. *Mod Pathol*, 2020. **33**(6): p. 1007-1014.
134. *WHO Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2019-2020*. World Health Organization 2019; Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/325884>.
135. *Guidance for laboratories shipping specimens to WHO reference laboratories that provide confirmatory testing for COVID-19 virus*. World Health Organization 2020; Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331639>.
136. *WHO laboratory biosafety manual, third edition* World Health Organization 2004; Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42981>.
137. Corman, V.M., et al., *Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR*. *Euro Surveill*, 2020. **25**(3).
138. LeBlanc, J.J., et al., *Real-time PCR-based SARS-CoV-2 detection in Canadian Laboratories*. *J Clin Virol*, 2020: p. 104433.
139. FIND. *SARS-COV-2 molecular assay evaluation results 2020*; Available from: <https://www.finddx.org/covid-19/sarscov2-eval-molecular/molecular-eval-results/>.
140. Uhteg, K., et al., *Comparing the analytical performance of three SARS-CoV-2 molecular diagnostic assays*. *J Clin Virol*, 2020. **127**: p. 104384.
141. van Kasteren, P.B., et al., *Comparison of seven commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19*. *J Clin Virol*, 2020. **128**: p. 104412.
142. Lowe, C.F., et al., *Detection of low levels of SARS-CoV-2 RNA from nasopharyngeal swabs using three commercial molecular assays*. *J Clin Virol*, 2020. **128**: p. 104387.
143. Igloi, Z., et al., *Comparison of commercial realtime reverse transcription PCR assays for the detection of SARS-CoV-2*. *J Clin Virol*, 2020. **129**: p. 104510.
144. Dinnes J, D.J., Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, Emperador D, Takwoingi Y, Cunningham J, Beese S, Dretzke J, Ferrante di Ruffano L, Harris IM, Price MJ, Taylor-Phillips S, Hooft L, Leeftang MMG, Spijker R, Van den Bruel A. , *Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection*. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2020(8).
145. Carter, L.J., et al., *Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis*. *ACS Cent Sci*, 2020. **6**(5): p. 591-605.
146. *Rapid HTA of Alternative Diagnostic Technologies for the Detection of SARS-CoV-2*. 2020; Available from: https://www.hiqa.ie/sites/default/files/2020-05/Rapid_HTA_COVID-19_tests.pdf.
147. Esbin, M.N., et al., *Overcoming the bottleneck to widespread testing: a rapid review of nucleic acid testing approaches for COVID-19 detection*. *RNA*, 2020. **26**(7): p. 771-783.
148. Fomsgaard, A.S. and M.W. Rosenstjerne, *An alternative workflow for molecular detection of SARS-CoV-2 - escape from the NA extraction kit-shortage, Copenhagen, Denmark, March 2020*. *Euro Surveill*, 2020. **25**(14).
149. Alcoba-Florez, J., et al., *Fast SARS-CoV-2 detection by RT-qPCR in preheated nasopharyngeal swab samples*. *Int J Infect Dis*, 2020. **97**: p. 66-68.
150. Chen, H., et al., *Influence of Different Inactivation Methods on Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 RNA Copy Number*. *J Clin Microbiol*, 2020. **58**(8).
151. Bentley, D.R., et al., *Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry*. *Nature*, 2008. **456**(7218): p. 53-59.
152. Chu, A.W., et al., *Evaluation of simple nucleic acid extraction methods for the detection of SARS-CoV-2 in nasopharyngeal and saliva specimens during global shortage of extraction kits*. *J Clin Virol*, 2020. **129**: p. 104519.
153. Hasan, M.R., et al., *Detection of SARS-CoV-2 RNA by direct RT-qPCR on nasopharyngeal specimens without extraction of viral RNA*. *PLoS One*, 2020. **15**(7): p. e0236564.

154. Mancini, F., et al., *Laboratory management for SARS-CoV-2 detection: a user-friendly combination of the heat treatment approach and rt-Real-time PCR testing*. Emerg Microbes Infect, 2020. **9**(1): p. 1393-1396.
155. Yelin, I., et al., *Evaluation of COVID-19 RT-qPCR test in multi-sample pools*. Clin Infect Dis, 2020.
156. Mallapaty, S., *The mathematical strategy that could transform coronavirus testing*. Nature, 2020.
157. Williams, B.G., *Optimal pooling strategies for laboratory testing*. arXiv, 2010. **1007.4903**: p. 1-3.
158. Khodare, A., et al., *Optimal size of sample pooling for RNA pool testing: An avant-garde for scaling up severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 testing*. Indian J Med Microbiol, 2020. **38**(1): p. 18-23.
159. Abdalhamid, B., et al., *Assessment of Specimen Pooling to Conserve SARS CoV-2 Testing Resources*. Am J Clin Pathol, 2020. **153**(6): p. 715-718.
160. Aragon-Caqueo, D., J. Fernandez-Salinas, and D. Laroze, *Optimization of group size in pool testing strategy for SARS-CoV-2: A simple mathematical model*. J Med Virol, 2020.
161. Pilcher, C.D., D. Westreich, and M.G. Hudgens, *Group Testing for Sars-Cov-2 to Enable Rapid Scale-Up of Testing and Real-Time Surveillance of Incidence*. J Infect Dis, 2020.
162. Ben-Ami, R., et al., *Large-scale implementation of pooled RNA extraction and RT-PCR for SARS-CoV-2 detection*. Clin Microbiol Infect, 2020.
163. Lambert-Niclot, S., et al., *Evaluation of a rapid diagnostic assay for detection of SARS CoV-2 antigen in nasopharyngeal swab*. J Clin Microbiol, 2020.
164. Mertens, P., et al., *Development and Potential Usefulness of the COVID-19 Ag Respi-Strip Diagnostic Assay in a Pandemic Context*. Front Med (Lausanne), 2020. **7**: p. 225.
165. Porte, L., et al., *Evaluation of novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples*. Int J Infect Dis, 2020.
166. Zhao, J., et al., *Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019*. Clin Infect Dis, 2020.
167. Okba, N.M.A., et al., *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease 2019 Patients*. Emerg Infect Dis, 2020. **26**(7).
168. Lou, B., et al., *Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection since exposure and post symptom onset*. Eur Respir J, 2020.
169. Zhou, P., et al., *A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin*. Nature, 2020. **579**(7798): p. 270-273.
170. Dutch National Taksforce serology, R.C., Murk J, van den Beld M, Reimerink J, Kluytmans J, Wegdam M, Zaaijer H, van Loo I, Geurts van Kessel C, Koopmans M. . *Report Status of the validation of point-of-care serology tests for SARS-CoV-2 diagnostics: considerations for use*. 15 July 2020; Available from: https://www.nvmm.nl/media/3666/status-validation-poc-ab-tests_20200715_final.pdf.
171. Dutch National Taksforce serology, R.C., Murk J, van den Beld M, Reimerink J, Kluytmans J, Wegdam M, Zaaijer H, van Loo I, Geurts van Kessel C, Koopmans M. *Report Status of the validation of ELISA and auto-analyser antibody tests for SARS-CoV-2 diagnostics: consideratoins for use*. 15 July 2020; Available from: https://www.nvmm.nl/media/3667/status-validation-elisa-and-auto-analysers_20200715_final.pdf.
172. Fafi-Kremer, S., et al., *Serologic responses to SARS-CoV-2 infection among hospital staff with mild disease in eastern France*. EBioMedicine, 2020: p. 102915.
173. Deeks J, D.J., Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Philips et al. , *Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2*. Cochrane Library, 2020.
174. Jeffrey Seow, C.G., Blair Merrick, Sam Acors, Kathryn J.A. Steel and K.J.D. 10 Malim1, *Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection*. medrxiv 2020.
175. Caini, S., et al., *Meta-analysis of diagnostic performance of serological tests for SARS-CoV-2 antibodies up to 25 April 2020 and public health implications*. Euro Surveill, 2020. **25**(23).
176. Lisboa Bastos, M., et al., *Diagnostic accuracy of serological tests for covid-19: systematic review and meta-analysis*. BMJ, 2020. **370**: p. m2516.
177. GeurtsvanKessel, C.H., et al., *An evaluation of COVID-19 serological assays informs future diagnostics and exposure assessment*. Nat Commun, 2020. **11**(1): p. 3436.
178. Che, X.Y., et al., *Antigenic cross-reactivity between severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus and human coronaviruses 229E and OC43*. J Infect Dis, 2005. **191**(12): p. 2033-7.
179. Meyer, B., C. Drosten, and M.A. Muller, *Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls*. Virus Res, 2014. **194**: p. 175-83.
180. Gorse, G.J., M.M. Donovan, and G.B. Patel, *Antibodies to coronaviruses are higher in older compared with younger adults and binding antibodies are more sensitive than neutralizing antibodies in identifying coronavirus-associated illnesses*. J Med Virol, 2020. **92**(5): p. 512-517.
181. Theel E, F.L., Palavecino, E et al. , *Verification procedure for commercial serologic tests with Emergency Use Authorization for detection of antibodies to SARS-CoV-2*. American society for microbiology, 2020.

182. To, K.K., et al., *COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing*. Clin Infect Dis, 2020.
183. Hin Chu, J.F.-W.C., Terrence Tsz-Tai Yuen, Huiping Shuai, Shuofeng Yuan, Yixin Wang, et al, *Comparative tropism, replication kinetics, and cell damage profiling of SARS-CoV-2 and SARS-CoV with implications for clinical manifestations, transmissibility, and laboratory studies of COVID-19: an observational study*. The Lancet Microbe, 2020. **Volume 1**(ISSUE 1): p. e14-e23.
184. Mogling, R., et al., *Delayed Laboratory Response to COVID-19 Caused by Molecular Diagnostic Contamination*. Emerg Infect Dis, 2020. **26**(8).
185. *WHO reference laboratories providing confirmatory testing for COVID-19*. World Health Organization 2020 Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/who-reference-laboratories-providing-confirmatory-testing-for-covid-19>.
186. *World Health Organization. International Health Regulations (2005), third edition*. . World Health Organization 2016; Available from: <http://www.who.int/ihr/publications/9789241580496/en/>.
187. Daniel B Larremore, B.W., Evan Lester, Soraya Shehata, James M Burke, James A Hay, Milind Tambe, Michael J Mina, Roy Parker, *Test sensitivity is secondary to frequency and turnaround time for COVID-19 surveillance*. Medrxiv preprint, 2020.
188. Kretzschmar, M.E., et al., *Impact of delays on effectiveness of contact tracing strategies for COVID-19: a modelling study*. Lancet Public Health, 2020. **5**(8): p. e452-e459.
189. *Laboratory testing for Middle East Respiratory Syndrome coronavirus, interim guidance (revised)*. World Health Organization, 2019.
190. *WHO Global Influenza Surveillance Network Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza*. World Health Organization, 2011.
191. *WHO Recommended Surveillance Standards WHO/CDS/CSR/ISR/99.2*. World Health Organization, 1999.
192. *Guideline for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks WHO/CDS/CSR/EDC/200.4* World Health Organization, 2000.
193. *Managing epidemics, key facts about major deadly diseases*. . World Health Organization, 2018.
194. *Protocol to investigate non-seasonal influenza and other emerging acute respiratory diseases*. World Health Organization, 2018.
195. Rodino, K.G., et al., *Evaluation of Saline, Phosphate-Buffered Saline, and Minimum Essential Medium as Potential Alternatives to Viral Transport Media for SARS-CoV-2 Testing*. J Clin Microbiol, 2020. **58**(6).
196. Poon, P.c.L., *Evaluation of swabs, transport media and specimen transport conditions for the detection of COVID-19 virus by RT-PCR*. University of Hong Kong, 2020.
197. Rogers, A.A., et al., *Evaluation of Transport Media and Specimen Transport Conditions for the Detection of SARS-CoV-2 Using Real Time Reverse Transcription PCR*. J Clin Microbiol, 2020.
198. Radbel, J., et al., *Detection of SARS-CoV-2 is comparable in clinical samples preserved in saline or viral transport media*. J Mol Diagn, 2020.

世卫组织继续密切监测情况，以了解可能影响本临时指导文件的任何变化。如有要素发生变化，世卫组织将再发布一份更新版。否则，本临时指导文件将在自发布之日起 1 年后失效。

© 世界卫生组织 2020 年。保留部分版权。本作品可在知识共享署名——非商业性使用——相同方式共享 3.0 政府间组织 ([CC-BY-NC-SA 3.0 IGO](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/)) 许可协议下使用。

WHO reference number: [WHO/2019-nCoV/laboratory/2020.6](https://www.who.int/publications/m/item/who-reference-laboratories-providing-confirmatory-testing-for-covid-19)

附件 1：样本的采集和储存

样本类型	采集材料	储存和/或运输至实验室以及一直到测试前的建议温度（从样本采集之日起）#
鼻咽和口咽拭子	涤纶或涤纶植绒棉签，带 VTM *	如果 ≤ 12 天，2-8 °C * 如果 > 12 天，-70 °C（干冰）
支气管肺泡灌洗	带有病毒运输介质的无菌容器**	如果 ≤ 2 天，2-8 °C 如果 > 2 天，-70 °C（干冰）
（腔内）气管抽吸、鼻咽或鼻腔冲洗/抽吸	带有病毒运输介质的无菌容器**	如果 ≤ 2 天，2-8 °C 如果 > 2 天，-70 °C（干冰）
痰	无菌容器	如果 ≤ 2 天，2-8 °C 如果 > 2 天，-70 °C（干冰）
活检或尸检组织，包括肺组织	装有生理盐水或 VTM 的无菌容器	如果 ≤ 24 小时，2-8 °C 如果 > 24 小时，-70 °C（干冰）
血清	血清分离管（成人：采集 3-5 ml 全血）	如果 ≤ 5 天，2-8 °C 如果 > 5 天，-70 °C（干冰）
全血	采血管	如果 ≤ 5 天，2-8 °C 如果 > 5 天，-70 °C（干冰）
粪便	装粪便的容器	如果 ≤ 5 天，2-8 °C 如果 > 5 天，-70 °C（干冰）

避免样本反复冷冻和解冻。如果无法达到-70°C，考虑储存在-20°C的条件下。

* 就用于病毒检测的样本运输而言，优先使用含有抗真菌和抗生素补充剂的病毒运输介质（VTM）。如果 VTM 不可用，在验证后可使用其它解决方案。此类溶液可包括磷酸盐缓冲盐水（PBS）、0.9%无菌盐水、基本培养基（储存在+4°C的条件下可达 7-14 天）[195-197]。如果还需要检测其它病毒，如流感病毒，不要在 4-8 度（而是在-70°C或干冰条件下）保存样本超过 5 天[194]。

** 如果 VTM 不可用，可使用无菌生理盐水[198]。在 2-8°C的条件下，样本的保存时间可能与上文所述不同。

除了表中所示的特定采集材料外，确保其它材料和设备可用：如运输容器和样本采集袋和包装、冷却器、冷包或干冰、无菌抽血设备（如针头、注射器和试管）、标签和记号笔、个人防护装备、用于表面去污的材料等。

附件 2：实验室申请表

SARS-CoV-2 实验室检测申请表¹

提交者信息			
提交医院、实验室或其它设施的名称*			
医师			
地址			
电话号码			
病例定义 ² :		<input type="checkbox"/> 疑似病例 <input type="checkbox"/> 可能病例 <input type="checkbox"/> 其它:	
患者信息			
名		姓	
患者的身份证号码		出生日期	年龄:
地址		性别	<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女 <input type="checkbox"/> 未知
电话号码			
样本信息			
类型	<input type="checkbox"/> 鼻咽和口咽拭子 <input type="checkbox"/> 支气管肺泡灌洗 <input type="checkbox"/> 气管内抽吸物 <input type="checkbox"/> 鼻咽抽吸物 <input type="checkbox"/> 鼻腔冲洗 <input type="checkbox"/> 痰 <input type="checkbox"/> 肺组织 <input type="checkbox"/> 血清 <input type="checkbox"/> 全血 <input type="checkbox"/> 粪便 <input type="checkbox"/> 其它:		
采集的所有样本都应被视为具有潜在传染性，在向参考实验室发送样本之前必须与其联系。 所有样本都必须按照乙类运输要求发送。			
如果临床样本是死后样本，请在方框中打勾 <input type="checkbox"/>			
采集日期		采集时间	
优先级状态			
临床细节			
症状出现的日期:			
患者近期是否有前往受影响地区的旅行史?		<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否	国家
			返回日期
患者是否与确诊病例有过接触?		<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/> 未知 <input type="checkbox"/> 其它暴露:	
补充信息 (如抗菌治疗、免疫抑制剂)			

¹表格符合 ISO 15189:2012 的要求

²针对 COVID-19 的公共卫生监测：临时指导文件

附件 3：针对使用环境选择最佳 NAAT 时的考虑因素

方面	考虑因素
制造质量	CE-IVD, WHO EUL, PQ, EU-FDA 或其它批准。独立验证数据。根据 ISO 制造。
目标	目标数量，对 SARS-CoV-2 或其它 sarbecoviruse 的特异性。
质控品	就手动 NAAT 检测而言，应包括一个阳性模板质控品 (PTC) 和至少一个阴性模板质控品 (NTC)。还建议使用提取质控品和内部的人类看家基因样本充分性质控品。
仪器	检测是否与实验室或国家的可用系统兼容？ 易用性和操作实用性。 与其它呼吸道病原体复合的机会。 平台和维护成本。 方便联系维护提供商/解决问题。
工作流程	试剂盒能否在实验室的现有工作流程中使用，同时确保尽量不干扰其它诊断？
易用性	分析的复杂性。 步骤数量。 所需培训和人员。
储存和装运要求	许多试剂盒在运输和储存期间需要冷链条件，在某些情况下这可能会带来挑战。有些试剂盒含有冻干酶，不需要在冷藏条件下运输，有时也不需要冷藏条件下储存。 保质期：为了准备进行可能需要的密集测试，需要更长的保质期，以确保资源的充分利用。
培训需求和机会	提供使用说明 (IFU)，公司或其它机构提供培训，提供解决问题选项，开通使用当地语言的帮助热线。
需要辅助试剂	完整的取样/提取/扩增试剂盒或 PCR 试剂盒需要额外的试剂或工具。 与实验室提取方法的兼容性。 与可得到的聚合酶的兼容性（如果需要）。 所需的特殊设备（例如，运行检测前的校准面板、提取平台、加热块、涡流、磁性支架或离心机）。
供应的持续性	长期供应协议。 如果发生封锁，安全的运送路线。 化验和辅助试剂的成本。

附件 4：建议的清单以减少可能的 rRT-PCR 假阳性结果和处理模棱两可的结果

实验室应制定标准操作程序，以减少可能的 rRT-PCR 假阳性结果以及处理模棱两可的结果。这份清单为实验室提供了建议和注意事项。该清单适用于手动 rRT-PCR，但许多方面也可用于其它 NAAT。

文书工作

- 杜绝或减少转录
- 如果转录，检查的方法
- 整理、分类和标记
- 双标识符
- 输入结果

交叉污染

- 准备区
- 操作试管
- 气溶胶的产生
- 核酸浓缩和提取设置
- PCR 的格式和步骤
- 检查同次运行中的其它阳性结果
- 环境
- 被污染的试剂
- 处置

设备和检测套件

- 校准方法
- 为检测套件验证的设备
- 评估新设备的污染风险

实践

- 对于大规模筛查，将高患病率人群与低患病率人群分开。
- 对运行情况进行目视检查
- 分析 - 检查原始数据
- 必要时对晚期 Ct 延长运行时间

模棱两可的结果

- 遵照制造商的指示
- 实验室关于模棱两可结果的政策
- 针对含糊类别的任何其它实验室标准
- 跟用户沟通解释
- 重复检测的标准，如有
- 使用替代检测或 PCR 目标
- 与临床和公共卫生工作人员沟通