

# 传染性非典型肺炎诊断学研究进展

任淑敏<sup>1</sup>

[关键词] 传染性非典型肺炎; 冠状病毒; 诊断学

[中图分类号] R563.1 [文献标识码] A [文章编号] 1006-4028(2003)04-0316-03

传染性非典型肺炎(非典)为一种传染性强的呼吸系统疾病,世界卫生组织(WHO)认为它是由一种冠状病毒亚型变种引起,并将传染性非典型肺炎称为严重急性呼吸道综合征(Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS)。此病最早是2002年11月在我国广东省出现,目前在国内外部分地区及世界多个国家有病例发生及蔓延。据WHO 6月1日在日内瓦公布的全球最新SARS疫情报告,截至5月31日全世界非典型肺炎患者累计为8360人(包括已康复者和部分疑似患者),其中5264名患者已经治愈,764名非典患者死亡。目前有32个国家和地区发现非典和疑似非典患者。就SARS诊断学方面的研究进展作一综述。

## 1 临床诊断

为更好地指导各地非典型肺炎的防治工作,在总结了广东、北京等地诊断治疗传染性非典型肺炎的经验,广泛征求了医学专家意见的基础上,卫生部对4月14日下发的《传染性非典型肺炎临床诊断标准(试行)》进行了修订。增加了重症传染性非典型肺炎诊断标准和出院参考标准,于5月3日公布。考虑到随着对传染性非典型肺炎认识的深入和诊断治疗经验的增加,可能对诊断标准继续修改,因此修订后的标准仍为试行标准。

### 1.1 传染性非典型肺炎临床诊断标准(试行)

#### 流行病学史

a 与发病者有密切接触史,或属受传染的群体发病者之一,或有明确传染他人的证据;

b 发病前2周内曾到过或居住于报告有传染性非典型肺炎患者并出现继发感染疫情的区域。

#### 症状与体征

起病急,以发热为首发症状,体温一般 $>38^{\circ}\text{C}$ ,偶有畏寒;可伴有头痛、关节酸痛、肌肉酸痛、乏力、腹泻;常无上呼吸道卡他症状;可有咳嗽,多为干咳、少痰,偶有血丝痰;可有胸闷,严重者出现呼吸加速,气促,或明显呼吸窘迫。肺部体征不

明显,部分患者可闻少许湿罗音,或有肺实变体征。

注意:有少数患者不以发热为首发症状,尤其是有近期手术史或有基础疾病的患者。

#### 实验室检查

外周血白细胞计数一般不升高,或降低;常有淋巴细胞计数减少。

#### 胸部X线检查

肺部有不同程度的片状、斑片状浸润性阴影或呈网状改变,部分患者进展迅速,呈大片状阴影;常为多叶或双侧改变,阴影吸收消散较慢;肺部阴影与症状体征可不一致。若检查结果阴性,1~2d后应予复查。

抗菌药物治疗无明显效果。

疑似诊断标准:符合上述 + 条或 + 条或 + + 条。

临床诊断标准:符合上述 + 条及以上,或 + + 条,或 + + 条。

医学观察诊断标准:符合上述 + 条。

符合医学观察标准的人员,如条件允许应在指定地点接受隔离观察;也可允许其在家中隔离观察。在家中隔离观察时应注意通风,避免与家人的密切接触,并由疾病控制部门进行医学观察,每天测体温。观察中如其产生符合疑似或临床诊断标准的病情时要立即由专门的交通工具转往集中收治传染性非典型肺炎和疑似患者的医院进行隔离治疗。

鉴别诊断:临床上要注意排除上感、流感、细菌性或真菌性肺炎、艾滋病合并肺部感染、军团病、肺结核、流行性出血热、肺部肿瘤、非感染性间质性疾病、肺水肿、肺不张、肺栓塞、肺嗜酸性粒细胞浸润症、肺血管炎等临床表现类似的呼吸系统疾患。

### 1.2 重症非典型肺炎诊断标准

符合下列标准中的1条即可诊断为重症“非典型肺炎”:

1.2.1 呼吸困难,呼吸频率 $>30$ 次/min。

1.2.2 低氧血症,在吸氧3~5L/min条件下,动脉血氧分压( $\text{PaO}_2$ ) $<70$ mmHg,或脉搏容积血氧饱和度( $\text{SpO}_2$ ) $<93\%$ ;或已可诊为急性肺损伤(ALI)或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。

1 济宁医学院医学信息部 (济宁 272013)

1.2.3 多叶病变且病变范围超过 1/3 或 X 线胸片显示 48 h 内病灶进展 > 50%。

1.2.4 休克或多器官功能障碍综合征 (MODS)。

1.2.5 具有严重基础性疾病或合并其他感染或年龄 > 50 岁。

## 2 实验室诊断

WHO 5 月 5 日更新了非典病例的定义, 规定疑似病例的抗体、病毒核酸检测或病毒培养结果, 只要任何 1 项是阳性, 就认定是非典。这个消息意味着 WHO 在鼓励病原学检测方法尽快投入临床一线使用。目前, 在加拿大、中国、中国香港特别行政区、法国、德国、意大利、日本、荷兰、新加坡、英国以及美国, 已经对来自于 SARS 的疑似病例或者可能病例的样品进行 SARS 冠状病毒的检测, 用于确诊或排除 SARS 病例。常用的 SARS 病毒的实验室诊断性检测方法与技术。

2.1 抗体检测 抗体检测用于因 SARS 冠状病毒感染所引起的抗体应答的测试。不同类型的抗体 (IgM、IgG) 是在不同的感染过程中出现的并且抗体水平会发生改变。在感染的早期这些抗体有可能是测不到的。IgG 通常在病例恢复后仍然可以测到。

2.1.1 免疫荧光检验法 (IFA) 该方法用于 SARS 病例的血清中的 IgM 抗体的测定, 大约在疾病开始后的 10 d 出现阳性结果。这种检测方法也可用于 IgG 抗体的测定, 但滴度较低。3 月 22 日, 香港大学医学院研制出免疫荧光法 (IFA) 技术的诊断方法, 用于检测感染后 3 周的血清<sup>[1]</sup>。1 h 内可即诊断是否感染, 检测准确率在 60% 到 70% 左右。快速检测法立即开始在玛嘉烈医院等几家医院使用。4 月 16 号, 军事医学科学院的科研人员在国内首先研制出免疫荧光法快速诊断技术 (IFA)。

2.1.2 酶联免疫吸附反应 (ELISA) 该方法用于 SARS 病例血清中的 IgM 和 IgG 抗体的混合物的测定, 大约在疾病开始后的 21 d 出现可靠的阳性结果。ELISA 虽然也是利用抗原抗体反应的原理, 但它与 FAT 相比, 自动化程度更高, 检测结果在 1.5 h 就能出来。并且通过肉眼观察, 就可以对检测结果做出初步判断<sup>[2-3]</sup>。这种检测方法不仅快速而且准确, 对医院送来的样本进行检测, 结果准确率都在 95% 以上。4 月 19 日, 军事医学科学院微生物流行病学研究所和中国科学院北京基因组研究所共同协作成功研制了酶联免疫吸附检测 (EIA) 试剂盒。这种检测方法不仅快速而且准确, 对医院送来的样本进行检测, 结果准确率都在 95% 以上。目前已经在北京等地的一些医院里开始使用。

2.1.3 抗体检测结果判定

阳性: 抗体检测结果阳性显示以前曾有过 SARS 冠状病毒的感染。急性期到恢复期发生从阴性到阳性的血清转化, 或者是抗体滴定增长了 4 倍, 显示近期有感染。

阴性: 如果在疾病发生的 21 d 后抗体检测结果仍是阴性, 表明没有受到 SARS 冠状病毒的感染。

2.2 分子检测 (PCR 方法) WHO 于 2003 年 4 月 29 日在 WHO 网站上提出了采用聚合酶链反应 (PCR) 检测 SARS 冠状病毒 RNA 的建议<sup>[4]</sup>。PCR 方法可以检测出各种样本 (血液、粪便、呼吸道分泌物、组织切片等) 中的 SARS 病毒的遗传基因物质。PCR 实验的关键部分—引物的合成方法已经在 WHO 的官方网站的网络实验室上公布。引物已经被世界上许多国家所使用。目前已经研制出了包括引物、阳性和阴性控制器的 PCR 检测工具。3 月 27 日, 香港大学医学院成功研究出基因快速测试, 这种测试是在 PCR 技术基础上的分子检测, 命名为“RT-PCR”测试。可于数小时内知道是否感染上 SARS 病毒, 并且可以将冠状病毒肺炎与其他类型的肺炎区分开来。微生物学系袁国勇教授和裴伟上教授率领的研究小组, 利用他们开发的这种方法, 为 50 位 SARS 患者进行测试, 发现其中有 45 位受冠状病毒感染。他们由此认为, 香港暴发的疫情是一种“新的冠状病毒”所致, 论文在 4 月出版的医疗杂志《Lancet》上发表<sup>[1]</sup>。这项成果得到 WHO 的确认, 很快在多个国家和地区使用。美国纽约州罗切斯特大学医学院罗切斯特总医院 (Rochester General Hospital, University of Rochester School of Medicine and Dentistry) 的 Faisey 在 4 月 19 日的《Lancet》上<sup>[5]</sup>, 高度肯定了香港大学医学院的这项研究成果。认为, 港大医学院微生物学系的研究小组确认了冠状病毒是引致非典型肺炎的元凶, 同时又开发了“RT-PCR”测试, 无疑是 SARS 暴发后的两项重要突破。亚洲最新的《政经风险评估报告》指出: “香港的微生物学家竭力追查病原和进行快速测试, 并成功找出医治 SARS 的方法, 为香港赢得了国际声誉。”

### PCR 检测结果判定

阳性: 对于能够保证质量控制程序的阳性结果, 除了显示在样品中有 SARS 冠状病毒的基因物质 (即 RNA) 的存在, 并且还意味着有活病毒的存在或者是存在着大量的病毒足够感染其他人。

阴性: PCR 检测的阴性结果并不能够排除 SARS 病毒的存在。用 PCR 方法对 SARS 冠状病毒进行检测, 由于以下几方面的原因结果可能出现阴性: 患者没有被 SARS 冠状病毒所感染; 病例是由其它的病原体 (病毒、细菌和真菌) 感染引起的, 或者是由于非感染性的原因引起的。 检测结果是不正确

的(假阴性)。目前的检测方法需要进一步改进以提高其灵敏度。样品并不是在有病毒或基因物质存在的时候采集到的。病毒和基因物质有可能仅仅存在于一个较短的时期内,这取决于用于检测样品的种类<sup>[6]</sup>。

**2.3 细胞培养** 从 SARS 患者所采集的样本(如呼吸道分泌物,血液或者粪便)中的病毒,可以通过感染性细胞培养并产生出病毒而检测出来。一旦病毒被分离,它会被进一步的检测实验来确定是否为 SARS 病毒。

细胞培养结果判定:

阳性:表明在所测试的样品中有活的 SARS 冠状病毒的存在。

阴性:并不能排除 SARS 冠状病毒的存在。以下几方面的原因可能出现阴性结果:患者没有被 SARS 冠状病毒所感染。检测结果是错误的(假阴性)。目前的检测方法需要进一步的改进以提高其灵敏度。样品并不是在有病毒或基因物质存在的时候采集到的<sup>[6]</sup>。

**2.4 实验室诊断性检测中的注意事项** 荧光免疫检验法可以准确的检测出在患者血清中的病毒抗体,但必须注意是在 SARS 患者的症状和体征出现大约 10 d 后才能检测到。另外还要注意荧光免疫检验法的可靠性需要较固定的病毒、荧光免疫检验显微镜和有经验的检验技术人员。免疫酶联实验能可靠的检测出在患者血清中的病毒抗体,但必须是在 SARS 患者的症状和体征出现 21 d 后才能检测到。PCR 检验方法虽然有较高的特异度但灵敏度却较差,下列问题直接影响到 PCR 检测 SARS 病毒的结果<sup>[6]</sup>,在 SARS 潜伏期和发病期中的患者体内病毒血症维持几天?患者通过呼吸道、粪便和身体分泌物排出等途径向外释放的病毒能保持多长时间?在体液、分泌物、粪便中,哪种成分中病毒含量最高?因此,在检测时必须注意:阴性的实验结果并不能排除患者没出现 SARS 病毒表达,也就不能排除患者体中有 SARS 病毒的存在。而且,由于缺乏实验室质量控制而导致的实验室样品的污染,能够导致假阳性结果的出现。细胞培养是一项对应用条件要求很高的实验,目前,除了动物检测外,它也仅仅可以证明某种活的病毒的存在。

**2.5 实验室诊断性检测亟待完善** 综上所述,虽然很多实验室在探测 SARS 病毒和病毒抗体的过程中建立了一系列的实验诊断性检测,但上述所列的各种检测方法都存在着一定的问题,当使用这些实验检测作为诊断依据而出现阴性结果时,可能会造成事关安全的错觉,这可能会促使医生允许 1 个病毒携带者逃脱进一步检查,而有可能再将病毒传染给他

人。WHO 很担心实验室结果不正确的使用对患者管理和感染控制措施带来负面影响。

因此,在缺乏可靠实验诊断的情况下,各国卫生当局都强烈要求继续使用现有的临床和流行病学诊断标准来判断 SARS 疑似病例,而不能仅仅依靠现有的实验室检测结果。所以,SARS 病毒实验室检测结果阴性不能作为排除 SARS 可能病例或疑似病例的依据。WHO 仍然建议临床医师不要由于等待实验室结果或者考虑到所得的是阴性结果而漏掉了病例,WHO 还建议所有的 SARS 疑似病例都应被隔离,并应该接受严格的传染病控制的管理。相反,如果所采取的实验室检查质量有保证且操作适当、结果说明清晰,那么实验室结果阳性将有助于对 SARS 病例的管理。WHO 根据目前 SARS 病毒实验室检测的结果,于 2003 年 5 月 1 日对 SARS 的定义进行了修正<sup>[7]</sup>,如果实验室检测结果阳性表明患者正在排出病毒、或者病毒的基因物质,因此该患者,具有将疾病传染给他人的危险。因此,SARS 疑似病例如果伴有病毒分离培养结果或 PCR 实验室结果阳性,就应被归类为可能病例并及时报告。

目前,国内外有许多实验室正在建立和完善 PCR 分子检测和血清抗体诊断方法。WHO 在 SARS 诊断网络实验室以及德国 Robert-Koch 研究院的支持下,正在研制用于提高 SARS 诊断实验可信度及质量的标准实验试剂,SARS 暴发国家的卫生部门将很快获得病毒学标准试剂,各国国家将获得 3 个标准实验室诊断。中国每个省的主要实验室都将获得标准实验室诊断。一旦这种实验被完善并在临床实践中被证实有效,就会成为确诊 SARS 的可靠依据。

### 3 参考文献

- [1] Peiris JS, Lai ST, Poon LL, et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome [J]. *Lancet*, 2003 Apr 19, 361 (9366): 1319-1325.
- [2] Elia G, Fiermonte G, Pratelli A, et al. Recombinant M protein-based ELISA test for detection of antibodies to canine coronavirus [J]. *J Virol Methods*, 2003 May, 109 (2): 139-142.
- [3] Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2003 May 15, 348 (20): 1953-1966.
- [4] WHO 网页. Recommendations for laboratories testing by PCR for presence of SARS coronavirus RNA.
- [5] Falsey AR, Walsh EE. Novel coronavirus and severe acute respiratory syndrome [J]. *Lancet*, 2003, 361 (9366): 1312.
- [6] www.who.int SARS updated 39.
- [7] www.who.int SARS updated 44.

(收稿日期:2003-06-05)