

呼吸道传染病标本采集及检测专家共识

呼吸道传染病标本采集及检测专家委员会

【摘要】 呼吸道传染病临床特点多表现为发热和（或）呼吸道症状，病原学组成复杂，标本类型选择多样，如何从发热伴呼吸道症候群患者中早期正确识别出潜在呼吸道传染病患者是防控的关键环节。增强医务人员对呼吸道传染病临床特点的认知，规范临床标本采集，选择病原学检测技术及恰当的解读报告，是十分重要的。因此，组织专家对上述问题进行讨论并撰写专家共识，以期提高各级、各类医疗机构对呼吸道传染病的早期识别和诊断能力。

【关键词】 呼吸道传染病；病原学送检；结果解读；专家共识

Expert consensus on specimen collection and detection of respiratory infectious diseases

Expert Committee on Specimen Collection and Detection of Respiratory Infectious Diseases

Corresponding author: Jiang Rongmeng, Email: 13911900791@163.com; Lu Hongzhou, Email: luhongzhou@fudan.edu.cn

【Abstract】 The common clinical characteristics of respiratory infectious diseases are fever and/or respiratory symptoms with complicated etiological factors, which make the selection of the specimens become multifold. The key point lies in earlier identification of the potential contagious patients from those who have respiratory symptoms in terms of prevention and control of these diseases. It is crucial to improve the knowledge and practice regarding the clinical characteristics of these diseases in medical staffs. Meanwhile, standardization of the collection of clinical specimens, selection of an appropriate examination approach, and establishment of a proper report are also important. In this regard, this expert consensus was written after a deep discussion concerning the above mentioned issues. The consensus can contribute to improving the performance of early diagnosis and identification to fight against these respiratory infectious diseases at all levels of medical institutions.

【Key words】 Respiratory infectious diseases; Etiological testing; Results interpretation; Expert consensus

呼吸道传染病是全球重大公共卫生问题。近些年，新型冠状病毒肺炎（corona virus disease 2019, COVID-19）（简称新冠）和流行性感冒（简称流感）严重影响着人民群众健康和社会经济发展。在我国，发热门诊是呼吸道传染病防控与救治的第一道防线。早期从发热伴呼吸道症候群（定义见附件1）患者中正确识别出潜在呼吸道传染病患者是防控的关键环节。这要求医务人员对呼吸道传染病的临床特点、规范的标本采集和病原学检测技术有深刻的理解和熟练的掌握。鉴于此，组织专

家编写本共识，以期助力提高各级各类医疗机构对呼吸道传染病的早期识别和诊断能力。

一、疾病负担

呼吸道传染病可表现为上呼吸道感染和（或）下呼吸道感染，其中下呼吸道感染危害更为严重，疾病负担更为显著。根据世界卫生组织（World Health Organization, WHO）全球健康估计^[1]，2019年下呼吸道感染在全球总死因、全球伤残调整寿命年（disability adjusted life years, DALYs）的病因中均排名第4。2019年全球疾病负担数据提示^[2]，全球下呼吸道感染发病率为6 295/10万，死亡率为34.3/10万，共造成249万人死亡和9 720万DALYs。我国下呼吸道感染年龄标化发病率为3 925/10万，年龄标化死亡率为13.0/10万，共造成18.5万人死亡和402.1万

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2022.04.001

基金项目：北京市卫健委高层次公共卫生技术人才建设项目（No. 2022-2-002）；深圳市科技创新委员会抗疫专项（No. JSGG20220301090005007）

通信作者：蒋荣猛，Email: 13911900791@163.com；卢洪洲，Email: luhongzhou@fudan.edu.cn

DALYs^[3]。全球范围内各个年龄段的下呼吸道感染死亡率均较高,其中以老年人最为甚。我国70岁以上老年人的下呼吸道感染死亡率高达172.3/10万^[4]。

以流感为例,作为代表性的急性呼吸道感染病,其所致下呼吸道感染的疾病负担巨大,尤其是老年人群。研究显示,2017年全球流感导致的下呼吸道感染发病率、住院率和死亡率分别为713.1/10万、123.8/10万和1.9/10万,我国则分别为151.8/10万、52.4/10万和0.8/10万;其在全球范围内共导致945.9万例下呼吸道感染相关住院、8 153.6 d住院天数和14.5万例死亡^[5]。虽然下呼吸道感染住院患者中流感比例较门诊急诊患者低23%^[5],但流感相关严重疾病和住院往往发生在高龄和有潜在健康问题的人群^[6]。2021年发表的一项流感相关下呼吸道感染系统评价和荟萃分析表明,65岁及以上人群的住院率高于65岁以下人群,分别为437/10万和115/10万^[7];另一项研究提示,全球<65岁、65~74岁、≥75岁年龄组的人群流感相关死亡率分别为(1.0~5.1)/10万、(13.3~27.8)/10万和(51.3~99.4)/10万^[8]。

肺结核作为结核病的最主要类型,也是经典的慢性呼吸道传染病,其疾病负担挑战持续增加,尤其是发展中国家。结核病目前仍是全球第13大死因,在传染病死因中仅次于COVID-19^[9]。据WHO公布的数据,2020年结核病发病率为127/10万,全球估计有1 000万人患上结核病,150万人死于结核病^[10]。人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染、营养不良、酒精使用障碍、吸烟、伴有其他免疫系统受损疾病均为活动性结核病的风险因素,往往造成更加严重的疾病负担,如不进行适当治疗,HIV阴性结核病患者病死率约为45%,HIV阳性结核病患者病死率接近100%^[11]。我国结核病疾病负担呈现男性高于女性,农村高于城市,西部、中部、东部地区疾病负担依次递减,而35岁及以上人群为结核病疾病负担主要人群的趋势^[12],其危害深远。结核病传染性强且传播隐匿,病程和治疗周期长,一直是公共卫生领域的棘手问题。目前,耐药问题已成为结核病防治的重大挑战,而早诊早治极为重要。

此外,COVID-19持续大流行愈发加重了呼吸道传染病相关的疾病负担,据估计,2020年1月1日至2021年12月31日,COVID-19所致的超额死亡达到1 820万例,超额死亡率为120.3/10万,全球有

21个国家超额死亡率超过300/10万^[13],疾病负担极其严重。

二、重要呼吸道传染病临床特点和标本采集及送检

从发热伴呼吸道症候群就诊患者中,早期正确识别呼吸道传染病患者是实现呼吸道传染病防控“早发现、早报告、早隔离、早治疗”的关键。临床医生应掌握呼吸道传染病的临床特点、标本类型选择、送检注意事项和病原学检测技术及结果解读。在首诊发热伴呼吸道症候群患者时,除病情严重程度评估外,医生同时应根据患者流行病学史和临床特点,进行有无传染性评估。然后,采集正确的呼吸道标本,选择适宜的病原学检测技术,进行诊断和鉴别诊断,防止呼吸道传染病在院内和社区进一步扩散(图1)。目前,需要重点评估的是我国存在和可能输入我国的呼吸道传染病,如COVID-19、流感、禽流感、肺结核、肺鼠疫、肺炭疽、不明原因肺炎和输入性呼吸道传染病等。

(一) COVID-19

推荐意见1:核酸检测是确诊COVID-19的金标准。对发热和(或)呼吸道症状及腹泻、嗅(味)觉减退等COVID-19相关症状,在具备核酸检测能力的医疗机构,推荐首选送检鼻咽拭子或口咽拭子,进行新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)核酸检测。

推荐意见2:在不具备核酸检测能力的医疗机构,对出现发热和(或)呼吸道症状及腹泻、嗅(味)觉减退等COVID-19相关症状5 d内的患者可选择抗原检测进行初步筛查。抗原检测阴性人员,应自就诊当日起连续5 d、1次/d抗原检测,如抗原结果一直阴性、直至症状消失的,可不采取其他干预措施。抗原结果一旦阳性,由社区(村镇)联系急救中心按照新冠肺炎疫情相关人员转运工作指南,将其转运至设有发热门诊的医疗机构,进行核酸检测,阳性人员使用后的采样拭子、采样管、检测卡等装入密封袋一并转运至医疗机构作为医疗废物处置。

证据汇总:在目前国家政策指导下,医疗机构应对以下情形筛查COVID-19可能性,具体如下:(1)在发热门诊就诊的有发热和(或)呼吸道症状患者;(2)无发热但有干咳、乏力、咽痛、嗅(味)觉减退、腹泻等COVID-19相关症状

者; (3) 有COVID-19流行病学史, 或从事高风险职业人员(附件2)的可疑患者; (4) 不明原因肺炎和住院患者中严重急性呼吸道感染病例[送检下呼吸道标本, 如深部痰、支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)等]。

送检标本可选鼻咽拭子和口咽拭子, 鼻咽拭子更佳。研究显示, 66.7%鼻咽拭子SARS-CoV-2 CT值较口咽拭子低{N1基因: [24.3 (22.7, 26.5)] vs. [29.9 (22.1, 34.4)], N2基因: [25.0 (23.2, 27.2)] vs. [31.4 (22.2, 35.7)]}, 提示鼻咽拭子SARS-CoV-2载量高于口咽拭子^[14-17]。在可检测到病毒的最大持续时间方面, 鼻咽拭子优于口咽拭子(41 d vs. 39 d)^[17]。此外, 对有咯痰症状的患者, 痰液也可作为检测标本, 但不推荐诱导痰用于检测, 因诱导痰采集过程中可导致气溶胶产生。在特定情形下如有创机械通气时, 也可收集下呼吸道标本送检^[18]。在检测技术方面, 核酸扩增检测(nucleic acid amplification test, NAAT)为诊断金标准^[19]。目前, 普遍采用荧光定量PCR(quantitative PCR, qPCR)检测技术, 也有研究初步探讨数字PCR(digital PCR, dPCR)和环介导等温扩增PCR(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)的检测效能^[20]。在不具备核酸检测条件的情况下, 对于发病5 d内的患者, 可选择抗原检测。在病毒载量高的情况下(即症状出现2~3 d至第1周内), 尤其在CT值 ≤ 30 时, 抗原检测特异性和敏感性可达到WHO推荐水平(敏感性 $\geq 80\%$, 特异性 $\geq 97\%$)。对有症状且抗原检测阴性者, 或者无症状但抗原检测阳性者, 仍需行NAAT进一步确认^[17]。一项纳入29个研究共17 171病例的系统评价和荟萃分析发现, 快速抗原检测(rapid antigen test, RAT)试剂盒的敏感性与病毒核酸检测的CT值呈负相关, 并与症状出现天数有关, 症状出现后5 d内, 敏感性保持在82%以上; 5 d后其敏感性下降^[21]。胶体金标记的抗原检测试剂最低检测限(灵敏度)一般相当于病毒核酸水平 5×10^4 拷贝/ml, 荧光标记的抗原检测试剂灵敏度一般相当于病毒核酸水平 1×10^4 拷贝/ml, 灵敏度明显低于一般核酸检测试剂(最低检测限一般为100~500拷贝/ml)。抗原检测阴性可能提示传染性低。目前, 在我国抗原检测主要用于基层医疗机构和隔离观察人员。抗体水平动态监测对于回顾性诊断有一定价值。

(二) 流感和禽流感

推荐意见3: 在流感流行季, 对重症或有重症流感高危因素的“流感样病例”, 应留取鼻咽拭子或口咽拭子进行病原学检测, 明确诊断。但要注意, 应尽早给予抗流感病毒治疗药物, 不必等病原学结果。

推荐意见4: 在流感流行季, 对非重症且无重症流感高危因素的“流感样病例”, 应当充分评估进一步传播风险和收益, 考虑是否进行病原学送检。其中, 与重症流感高危因素人群共同生活和(或)居住的“流感样病例”, 建议留取鼻咽拭子或口咽拭子进行病原学检测。

推荐意见5: 在具备核酸检测能力的医疗机构, 建议送检鼻咽拭子或口咽拭子进行流感病毒核酸检测。在不具备核酸检测能力的医疗机构, 可选择流感抗原检测。在流感流行季, 抗原检测结果阳性, 支持诊断, 但阴性结果不能排除流感病毒感染。在流感低发时期, 需警惕流感抗原检测结果假阳性的可能。

推荐意见6: 对拟诊禽流感的患者, 应采集呼吸道标本进行核酸检测。对于以上呼吸道症状为主的患者, 可选择鼻咽拭子或口咽拭子; 出现下呼吸道症状时, 应选择深部痰、BALF等标本送检。

推荐意见7: 对拟诊流感的患者, 常见季节性流感病毒和禽流感病毒检测阴性, 需警惕新型流感病毒出现可能, 建议按照所在地区的政策要求上报, 并规范留取标本送检。具备高通量测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)技术且实验室符合生物安全的医疗机构也可同时进行mNGS检测。

证据汇总: 在流感流行季, 出现新的发热和(或)呼吸道症状(咳嗽、呼吸困难)时需高度考虑流感可能性, 特别是符合流感样病例定义时。流感样病例定义: 急性起病(10 d内), 发热(腋下体温 $\geq 38^\circ\text{C}$), 伴咳嗽或咽痛之一, 缺乏实验室确定诊断为某种疾病的依据。

发病前14 d内有禽类(包括禽类的排泄物、分泌物)接触或活禽环境暴露史、出现发热、头痛、肌肉酸痛、咳嗽和呼吸困难等症状的患者需考虑禽流感可能性。

在病原学检测技术上应首选核酸检测, 条件不允许时, 可进行抗原检测。核酸检测敏感

性最高,其次是数字化免疫分析方法(digital immunoassay, DIA),最后是流感快速诊断试验(rapid influenza diagnostic test, RIDT)。2017年,一项系统评价和荟萃分析纳入162项研究,其中130项RIDT、19项DIA和13项快速NAAT分析结果显示,对于甲型流感敏感性:RIDT为54.4%(95%CI: 48.9%~59.8%),DIA为80.0%(95%CI: 73.4%~85.6%),快速NAAT为91.6%(95%CI: 84.9%~95.9%);对于乙型流感敏感性:RIDT为53.2%(95%CI: 41.7%~64.4%),DIA为76.8%(95%CI: 65.4%~85.4%),快速NAAT为95.4%(95%CI: 87.3%~98.7%),特异性均>98%^[22]。需要注意的是,目前的抗原检测技术对禽流感敏感性低,阴性结果不能排除诊断,不建议用于诊断禽流感^[23-24]。

2022年,一项系统评价和荟萃分析纳入118项研究,评价快速抗原检测(antigen-based rapid diagnostics tests, RDT-Ag)在流感诊断中的价值,敏感性为69.0%(95%CI: 64.0%~74.0%),特异性为97.0%(95%CI: 96.0%~98.0%),亚组分析显示,在儿童中的敏感性[74.0%(95%CI: 63.0%~82.0%)]显著高于成年人[65.0%(95%CI: 47.0%~79.0%)],特异性分别为[98.0%(95%CI: 96.0%~99.0%)]和[96.0%(95%CI: 92.0%~98.0%)]^[25]。

一项系统评价和荟萃分析纳入56项研究,评估快速NAAT诊断流感的敏感性为90.9%(95%CI: 88.7%~93.1%),特异性为96.1%(95%CI: 94.2%~97.9%)^[26]。

(三) 肺结核

推荐意见8:在出现肺结核相关临床表现时,可选择痰液、诱导痰、BALF或肺组织标本送检。痰涂片抗酸杆菌镜检为最简单、快速的方法;结核分枝杆菌培养是诊断的金标准。核酸检测可作为结核病的一线检测手段,并作为利福平耐药的初始检测方法。对于上述病原学检测阴性而临床仍高度怀疑肺结核的患者,建议行 γ -干扰素释放试验(interferon- γ release assay, IGRA)以辅助诊断,其结果不受卡介苗接种的影响。

证据汇总:一项系统评价纳入45项研究,评价痰涂片常规显微镜检和荧光显微镜检对于肺结核的诊断价值。结果显示,常规显微镜检的敏感性为32%~94%,荧光显微镜检的敏感性为

52%~97%;常规显微镜检和荧光显微镜检特异性相似,均为94%~100%^[27]。

一项系统评价和荟萃分析纳入27项研究,评价一种NAAT诊断肺结核和检测利福平耐药的准确性。结果显示,作为替代痰涂片镜检的初始检测方法,其诊断肺结核的敏感性为89%(95%CI: 85%~92%),特异性为99%(95%CI: 98%~99%);作为痰涂片镜检结果阴性后的附加检测方法,其诊断肺结核的敏感性为67%(95%CI: 60%~74%),特异性为99%(95%CI: 98%~99%);作为替代传统药物敏感性试验的初始检测方法,其检测利福平耐药的敏感性为95%(95%CI: 90%~97%),特异性为98%(95%CI: 97%~99%)^[28]。

IGRA阳性结果支持结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)感染,但需排除非结核分枝杆菌感染如堪萨斯分枝杆菌、苏尔加分枝杆菌、转黄分枝杆菌、海分枝杆菌和胃分枝杆菌等。IGRA阴性不支持MTB感染,但需排除导致假阴性结果的原因,如免疫功能低下、接受免疫抑制剂治疗等^[29]。此外,IGRA不能区分结核潜伏感染和活动性结核病。一项共纳入124项研究的荟萃分析,评价了两种IGRA检测方法[基于酶联免疫吸附试验法的全血IGRA和基于酶联免疫斑点法的结核T细胞斑点试验(tuberculosis T cell spot test, T-SPOT.TB)]对于结核病的诊断价值。结果显示,全血IGRA的敏感性为81%(95%CI: 0.78~0.83),T-SPOT.TB为87.5%(95%CI: 0.85~0.90);全血IGRA的特异性为99.2%(95%CI: 0.98~1.00),T-SPOT.TB为86.3%(95%CI: 0.81~0.90)^[30]。两种IGRA检测方法均有较好的诊断价值。另有一项系统评价和荟萃分析纳入60项研究,评价两种IGRA检测结核分枝杆菌潜伏感染的准确性,结果显示全血IGRA的阴性预测值为88%(95%CI: 84.6%~91.5%),T-SPOT.TB为94%(95%CI: 92.1%~95.6%);且IGRA与卡介苗接种无显著相关性^[31]。但在免疫功能受损人群中,IGRA诊断敏感性存在较大异质性。一项针对IGRA在HIV感染者诊断价值的系统评价和荟萃分析纳入了38个研究,结果显示,当CD4⁺T细胞<200个/ μ l时,全血IGRA诊断的不确定结果为11.6%(95%CI: 7.0%~18.6%),T-SPOT.TB为11.4%(95%CI: 5.1%~23.8%);当

CD4⁺ T细胞 ≥ 200 个/ μ l时,全血IGRA的不确定结果为3.1% (95%CI: 1.1%~8.5%), T-SPOT.TB为7.9% (95%CI: 4.6%~13.3%)^[32]。故对于CD4⁺ T细胞 < 200 个/ μ l的IGRA阴性HIV感染者,在接受抗HIV治疗且CD4⁺ T细胞 ≥ 200 个/ μ l后,应再次行IGRA检测^[33]。

(四) 肺鼠疫

推荐意见9: 对于疑似肺鼠疫患者建议送检痰液、胸水和血液等标本(腺鼠疫者还可留取淋巴结穿刺液),进行培养和F1抗原或抗体检测。具备核酸检测能力的医疗机构,可选择行鼠疫耶尔森菌核酸检测。

推荐意见10: 鼠疫耶尔森菌为二类高致病性病原微生物。对鼠疫耶尔森菌进行大量活菌操作(如菌冻干种、离心等)以及对动物的感染实验应当在生物安全三级实验室内进行;对样本的检测,如对病原菌的分离纯化、生化鉴定、核酸提取、涂片等可以在生物安全二级实验室内进行。

证据汇总: 发病10 d内有动物鼠疫流行区旅居史或鼠疫疫区尤其是老鼠或旱獭及其制品接触史者,起病急,突发高热、呼吸困难等,有明显的痰中带血或咳血痰的典型特征,需考虑肺鼠疫可能。根据感染途径不同,肺鼠疫可分为原发性和继发性两种类型。原发性肺鼠疫主要表现为发病急剧,寒战、高热,呼吸困难,患病初期干咳,继之咳嗽频数,咯出稀薄泡沫痰,痰中混血或纯血痰。继发性肺鼠疫在发病之前,往往有腺鼠疫或败血型鼠疫症状,病情突然恶化,临床表现为咳嗽、胸痛、呼吸困难和咯鲜红色泡沫样血痰等。

已有一种快速诊断试验(rapid diagnostic test, RDT),能够在15 min内检测痰液或血清中0.5 ng/ml的鼠疫耶尔森菌F1抗原^[34]。在马达加斯加的现场测试中,该方法对鼠疫耶尔森菌、其他耶尔森菌和其他细菌的敏感性和特异性均为100%;将细菌学方法结合酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)作为参考标准,该RDT阳性预测值为90.6%,阴性预测值为86.7%^[34]。我国检测F1抗原和F1抗体的主要技术为反相间接血凝试验和正相间接血凝试验。目前,胶体金试剂存在敏感性不高,特异性不足的问题,如检测结果阴性不能除外鼠疫诊断,检测阳性的标本要用ELISA、反相间接血凝试验或PCR技术进一步核实。

(五) 肺炭疽

推荐意见11: 对疑似肺炭疽的患者,建议送检皮肤溃疡的渗出物、痰液、胸腔积液、血液、脑脊液、粪便等标本,进行涂片和培养。若发现大量两端平齐呈串联状排列的革兰阳性大杆菌,可做出临床诊断。具备核酸检测能力的医疗机构,建议送检上述标本进行炭疽杆菌核酸检测。

证据汇总: 发病前2周内,接触过疑似炭疽的病、死动物或其残骸,或食用过疑似炭疽的病、死动物或其制品,或吸入可疑被炭疽杆菌污染的粉尘,或从事与皮毛等畜产品密切接触或与炭疽杆菌研究、使用相关的职业,或在可能被炭疽杆菌污染的地区从事养殖、放牧、耕耘或挖掘等活动人员,在出现发热和(或)呼吸道症状时,需警惕肺炭疽可能。病情初起为流感样症状,多表现为低热、疲乏、全身不适、肌痛、咳嗽,通常持续约48 h。此后病情突然急速进展,出现呼吸困难和咯血等。需注意的是,其他类型炭疽如皮肤炭疽和胃肠型炭疽,若未经有效治疗,也可经过血行播散,导致其他部位受损。因此,应根据具体发生的感染类型送检标本。

(六) 输入性呼吸道传染病

推荐意见12: 对近期有国外旅行史的患者,出现发热和(或)呼吸道症状(咳嗽、呼吸困难)时,根据旅居地呼吸道传染病流行情况,需考虑输入性呼吸道传染病可能。对医疗机构不具备检测能力的病原体,根据所在地政策,建议必要时同时采集上、下呼吸道及血液标本,送检至符合要求的检测机构进行检测。

证据汇总: 输入性呼吸道传染病定义为本国不存在或未发现或已消灭,由国外传入我国的呼吸道传染病。近期有病例发生国家或地区旅居史,或与疑似/临床诊断/确诊病例有密切接触史,出现发热和(或)呼吸道症状的患者需警惕输入性呼吸道传染病可能。近年来,存在传入我国风险的疾病有中东呼吸综合征(Middle East Respiratory Syndrome, MERS)、肺组织胞浆菌病和汉坦病毒心肺综合征等。

1. MERS: 是由中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)感染引起的急性呼吸道传染病。大部分病例发生在中东地区,如沙特、阿联酋、约旦、卡塔尔、科威特等,美国、英国、法国等也有病例报道。我国曾报道1例韩国输入病例。在发病

前2周内,有中东地区或疫情暴发地区旅居史,或有疑似/临床诊断/确诊病例密切接触史,出现呼吸道症状时应考虑MERS可能。

2. 肺组织胞浆菌病: 该病呈世界范围内分布,以北美洲、中美洲和南美洲,以及东欧和南欧、非洲、东亚和大洋洲的部分地区为主。发病前2~4周内,在上述地区旅居史,出现发烧、寒战、头痛、肌痛、厌食、咳嗽和胸痛等症状,症状初始多较为轻微,逐渐加重,抗菌药物治疗无效,尤其是出现下列征象时,应重点考虑该病可能: ①肺炎伴纵膈或肺门淋巴结肿大; ②纵膈或肺门肿物; ③肺结节; ④肺部空洞; ⑤心包炎伴纵膈淋巴结肿大; ⑥食管狭窄引起的吞咽困难; ⑦肺部表现合并关节炎或关节痛及结节性红斑; ⑧上腔静脉综合征或其他纵膈结构梗阻。

3. 汉坦病毒心肺综合征: 大部分病例发生在美国,在美洲其他地区加拿大、墨西哥、巴西、秘鲁、委内瑞拉、玻利维亚、阿根廷、智利、乌拉圭等也有报道。在发病2~3周内,有上述地区旅居史,可能接触野生啮齿动物的人员,在出现发热、寒颤和肌痛,特别是出现恶心、腹痛和呕吐时,应怀疑存在汉坦病毒心肺综合征可能。对于出现血小板减少、白细胞增多、双侧肺间质浸润或乳酸脱氢酶升高的患者,应重点考虑该病。

(七) 不明原因肺炎

推荐意见13: 对于符合不明原因肺炎病例定义的患者,立即收治入院,按照呼吸道传染病隔离治

疗,及时上报,根据要求和规范采集呼吸道标本。

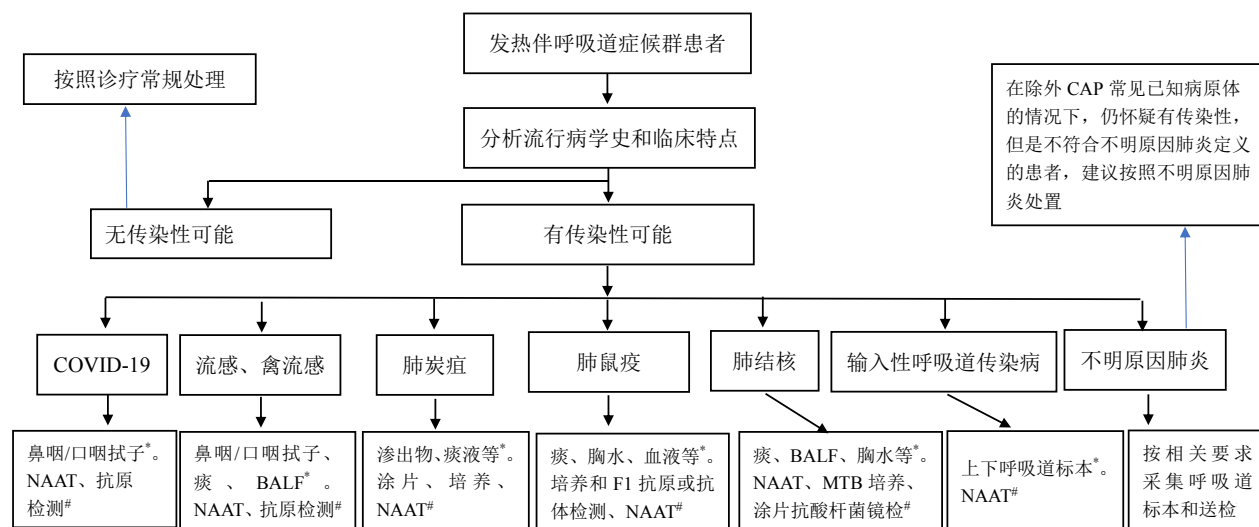
推荐意见14: 对于常见已知疾病病原学检测阴性,怀疑有传染性,但不符合不明原因肺炎定义的患者,建议及时上报医院,可选择送检呼吸道标本进行mNGS,首选下呼吸道标本。

证据汇总: 不明原因肺炎病例定义: 同时具备以下4条,不能明确诊断为其他疾病的肺炎病例: (1) 发热(腋下体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$); (2) 具有肺炎的影像学特征; (3) 发病早期白细胞总数降低或正常,或淋巴细胞分类计数减少; (4) 经规范抗菌药物治疗3~5 d,病情无明显改善或呈进行性加重。

聚集性不明原因肺炎病例定义: 两周内发生的有流行病学相关性的2例或以上不明原因肺炎病例。

有流行病学相关性是指病例发病前曾经共同居住、生活、工作、暴露于同一环境,或有过密切接触,或疾病控制专业人员认为有流行病学相关性的其他情况,具体判断需由临床医务人员在接诊过程中详细询问病例的流行病学史,或由疾病控制专业人员经详细的流行病学调查后予以判断。

为实现对严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndromes, SARS)和其他呼吸道传染病的早期筛查和预警,原卫生部于2004年7月发布《全国不明原因肺炎病例监测实施方案(试行)》,要求县级以上各类医疗机构均要开展不明原因肺炎的监测报告,对象为不明原因肺炎病例。2007年



注: COVID-19: 新型冠状病毒肺炎; NAAT: 核酸扩增检测; MTB: 结核分枝杆菌; BALF: 支气管肺泡灌洗液; CAP: 社区获得性肺炎;

*: 标本类型; #: 检测方法

图1 发热伴呼吸道症状群诊疗流程图

8月为进一步加强不明原因肺炎的监测,原卫生部下发了《全国不明原因肺炎病例监测、排查和管理方案》,对监测病例进行修改和补充,增加了聚集性不明原因肺炎病例定义,突出了聚集性不明原因肺炎的监测。在不明原因肺炎病例监测中,分别于2013年和2020年发现人感染H7N9禽流感 and 新型冠状病毒肺炎病例。但不明原因肺炎定义标准严格,定义条件之一为“规范抗菌药物治疗3~5 d,病情无改善或进行性加重”,导致做出“不明原因肺炎”诊断至少需要3~5 d,不能满足传染病防控的“早发现、早报告、早隔离、早治疗”的工作要求。因此,为进一步提高新发传染病的早诊断目标,医疗机构应根据本地呼吸道传染病的流行情况,对于常见已知疾病病原学检测阴性,如肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、军团菌、肺炎支原体、肺炎衣原体、流

感病毒、副流感病毒、呼吸道合胞病毒、腺病毒、冠状病毒、鼻病毒和人偏肺病毒等常见病原体等,如果有相关流行病学依据、怀疑有传染性时,也应及时报告,可选择送检呼吸道标本进行高通量测序,首选下呼吸道标本,如深部痰和BALF等。

三、常见呼吸道病原体检测技术和质量控制

(一) 涂片染色

对拟进行病原学检测的标本,应尽可能在使用抗菌药物前采集、送检。有研究表明^[36],分别在使用抗菌药物前、使用抗菌药物后6 h内、6~24 h和>24 h采集标本,其革兰染色涂片阳性率分别为80%、61%、50%和14%。同时,此类标本宜在2 h内送到实验室,如果转运时间超过2 h,宜使用转运培养基或在冷藏条件下转运。临床标本常用染色方法、检测意义及注意事项见表1。

表1 临床标本常用染色方法、检测意义及注意事项

染色类型	标本类型	检测时间	检测要点	检测意义	备注
革兰染色	根据感染部位,所有标本均可送检,应拒收唾液和鼻冲洗液	初染(结晶紫) 1 min,媒染(碘液) 1 min,脱色(95%乙醇) 10~30 s,复染(沙黄) 30 s	①涂片应薄均匀,以透过涂片能看清文字为宜;②避免过度脱色;③标本可用生理盐水冲洗(在一次性痰杯中加入15~20 ml灭菌生理盐水,剧烈震荡5~10 s,重复2~3次);④对于BALF等液体标本,建议进行离心富集(3 000 r/min, 5 min)	①为临床快速提供初步感染诊断方向,指导抗菌药物合理应用,减少不良反应,降低治疗成本;②评估标本质量;③可判断细菌和白细胞的相关性,如吞噬;④能够检出难以培养的苛养菌和死菌;⑤提高培养的灵敏度和特异度	①白细胞和优势菌有助于预测肺部致病菌,应报告;②质量合格的标本中,涂片有正常菌群及多种细菌(通常白细胞内有空泡或液泡),提示有吸入性肺炎,应该报告;③革兰染色可查念珠菌,但不适用于丝状真菌
抗酸染色	痰液、BALF、保护毛刷标本等	初染(石碳酸复红) 5 min,脱色(盐酸酒精) 1 min,复染(亚甲蓝) 1 min	①标本应进行前处理,建议使用溶痰剂(次氯酸钠)消化后离心(3 500 r/min, 15 min);②建议使用热染法,降低假阴性;③判断为“阴性”时,检测视野应>300个,镜检时间>5 min/张;④若临床高度怀疑,可多次送检	快速提供病原学直接依据	①不可根据鳞状上皮细胞拒收痰标本,检出即有意义;②每张玻片只能制作一份涂片,染色时涂片间距应>1 cm
弱抗酸染色	痰液、BALF	初染(石碳酸复红) 5 min,脱色(0.5%~1%稀硫酸脱色液) 1 min,复染(亚甲蓝) 1 min	选取较弱的脱色剂	可以区分抗酸和弱抗酸菌,特别是诺卡菌属、红球菌属等	
墨汁染色	BALF、痰液	将墨汁染液滴入制备的涂片中,加盖盖玻片	①应制备薄涂片,便于观察;②使用低倍镜寻找,高倍镜确认	对怀疑肺隐球菌病患者,可以通过呼吸道标本进行墨汁染色	检出率低,建议进行隐球菌荚膜抗原检测
六胺银染色	BALF、诱导痰、痰液(应拒收上呼吸道标本)	工作液配制10 min,高碘酸氧化15 min,工作液浸泡30~60 min,硫代硫酸钠固定3 min,复染1 min。	菌体常聚集,可低倍镜寻找视野,再转油镜观察	①可区分包囊和滋养体;②肺孢子菌体外难以培养,涂片为诊断提供直接证据	①免疫障碍人群,如AIDS、移植术后患者,不明原因肺炎可选择此染色;②阳性率: BALF>诱导痰>痰液
真菌荧光染色	痰液、BALF等怀疑真菌感染标本	将荧光染液滴入制备的涂片中,加盖盖玻片	①推荐汞灯光源显微镜;②试剂避免真菌污染,不能冻结	对真菌检测具有较高的敏感性(97%)和特异性(87%) ^[35]	
异染颗粒染色法	假膜、咽喉拭子	甲苯胺蓝染色液3~5 min, Albert碘液1 min	避免过度脱色	结合革兰染色,若异染颗粒阳性,可做出初步报告	建议报告格式为“发现阳性棒杆菌,文字型排列,有明显异染颗粒”

(二) 培养鉴定

首先,根据疾病流行病学史和临床特点,评估病原体传染性和致病性强弱。其次,要对患者进行评估,根据评估结果选择合适的标本采集装置、部位和方法。不同等级目标病原体的标本操作要求及注意事项见表2。

(三) 质量控制

1. 微生物标本运送的基本原则: (1) 所有标本采集后都应尽快送往实验室,多数标本应在2 h内送达。有些样本量小的标本应在采样后15~30 min内送达。实验室应与临床共同设计标本采样和送检流程,在人力、物力上保证标本可按要求送达实验室。(2) 保证必要的运送条件。不同种类标本因检测的目标致病微生物不同,对标本保存和运送的环境条件有不同要求。对温度敏感的细菌如肺炎链球菌等应保温(室温)并立即送检。(3) 血标本采集时机见WS/T 503-2017《临床微生物实验室血培养操作规范》^[38],痰标本采集时机见WS/T 499-2017《下呼吸道感染细菌培养操作指南》^[39-40]。(4) 应在抗微生物药物治疗之前或者在起始治疗后立即采集标本,治疗中为评估治疗效果或治疗后评估结局可以进行采样。(5) 检测呼吸道病毒宜采用植绒拭子采集鼻咽拭子或口咽拭子标本。(6) 特殊情况下(如怀疑厌氧菌感染时)可考虑床旁采样。

2. 实验室标本质量管理基本原则: (1) 实验室应拒收质量不合格的标本。要建立标本质量管理

要求,制定拒收标准,建立退检机制,拥有实施标本拒收标准过程中与临床沟通的方法。(2) 为临床提供随时可查阅的标本采集规范手册,参考行业标准WS/T 640-2018《临床微生物学检验标本的采集和转运》^[37]。

3. 染色质量控制: (1) 革兰染色: 应对新购置或新批号的商品化革兰染色试剂做室内质控,常规质控频率为每周1次。革兰染色阳性质控菌株: 金黄色葡萄球菌ATCC25923,深紫色球菌为合格;革兰染色阴性质控菌株: 大肠埃希菌ATCC25922,红色杆菌为合格。(2) 抗酸染色: 应对新购置或新批号商品化抗酸染色试剂做室内质控,常规质控频率为每周1次。抗酸染色阳性质控菌株: 结核分枝杆菌ATCC25177(弱毒株),或用快生长分枝杆菌作为阳性质控菌株,红色分枝状杆菌为合格;抗酸染色阴性质控菌株: 大肠埃希菌ATCC25922,蓝色杆菌为合格。痰涂片应保存近期3个月,年涂片量不足500张的实验室痰涂片应保存1年,3个月痰涂片量超过1 000张则保存近期1 000张痰涂片,供上级结核病实验室(或质量控制机构)进行质量控制复验。

4. 培养质量控制: (1) 参考GB/T 22576.6-2021《医学实验室质量和能力要求》^[41]中第6部分: 临床微生物学检验领域的要求,做好实验室内部质量控制,制定微生物检验标准化操作程序。(2) 参加室间质评计划,保证实验室诊断效能。

表2 不同等级目标病原体的标本操作要求及注意事项

目标病原体等级	操作环境	操作人员	注意事项
有一定传染性和(或)致病性的病原体	在符合要求的生物安全实验室内进行检测	具备相应专业资质,通过考核并获得授权	①对可疑烈性呼吸道传染病(SARS、肺炭疽、肺鼠疫等)的患者标本,在采集、运送或保存过程中必须注意生物安全防护。(参考WS/T 640-2018《临床微生物学检验标本的采集和转运》) ^[37] ; ②对分枝杆菌而言,液体培养法阳性率与传统的改良罗氏(L-J)培养法基本一致,报告时长明显缩短,为临床早诊断、早治疗提供了可靠依据,而且为后续的药敏试验提供了菌株; ③在使用血培养瓶检测分枝杆菌时,由于分枝杆菌生长缓慢,所有培养瓶应至少孵育6周
其他传染性 & 致病性较弱病原体	在生物安全二级实验室内进行,尤其是接种过程及易产生气溶胶的试验	具备相应专业资质,通过考核并获得授权	①标本采集后应在2 h内尽快送到实验室,不及时运送可导致肺炎链球菌、流感嗜血杆菌等苛养菌由于不适应外界环境和自溶现象而死亡; ②不能及时送达或待处理标本应置于4℃冰箱保存(疑为肺炎链球菌和流感嗜血杆菌等苛养菌不在此列),以免杂菌生长,但不能超过24 h; ③有研究表明,检测肺炎链球菌尿抗原有助于提高肺炎链球菌的检出率; ④对于可疑诺卡菌感染的样本,可告知实验室留意涂片结果或行弱抗酸染色并延长培养时间,提高检出率; ⑤有条件的实验室可对ICU患者、透析患者、老年患者及接触耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> , MRSA)定植或感染者的医护人员等,在患者入院前进行鼻拭子筛查MRSA。不建议口服万古霉素用于预防MRSA感染或清除局部定植; ⑥行军团菌尿抗原检测能对军团菌感染做出早期、快速诊断,且不受治疗影响,提高检出率,但不足之处在于仅对血清型1型军团菌敏感

(3) 加强人员素质培养, 定期校准和保养微生物检验仪器等。(4) 培养基质量控制参考CLSI M22-A3 (R2018) 《商业微生物培养基质量控制》^[42]。

四、高通量测序

高通量测序 (metagenomic next-generation sequencing, mNGS) 在呼吸道传染病诊断中, 尤其是新发传染病的诊断, mNGS发挥至关重要的作用, 如人感染H7N9禽流感病毒、SARS-CoV-2的发现等。但在实际临床工作中, mNGS也存在过度应用的情况, 造成医疗资源浪费。因此, 临床医生应掌握mNGS的送检时机、结果解读和质量控制等内容。

(一) mNGS送检时机

mNGS的适应证: 病情危重需要尽快明确感染病原体; 特殊患者如免疫功能抑制宿主、合并基础疾病、反复住院的重症感染者需要尽快明确病原体; 传统微生物检测技术反复阴性且治疗效果不佳; 疑似新发病原体、临床提示可能有一定传染性; 疑似特殊病原体感染; 长期发热和(或)伴有其他临床症状、病因不明的感染。符合以上适应证的患者, 应尽快送标本进行检测。对于不明原因肺炎病例, 必要时可采集BALF样本进行mNGS检测^[43-44]。

(二) mNGS结果解读

1. 标本类型: 包括BALF及痰液样本、鼻咽或口咽拭子。采样时尽量以感染病灶相关样本为准; 样本采集尽可能避免污染, 采样专用器材取样, 采样后应及时送检。

2. 测序策略的选择: 临床上的呼吸道感染如怀疑是病毒感染则建议同时进行DNA和RNA测序, 以覆盖包括RNA病毒在内的全部微生物谱; 考虑如结核分枝杆菌、布鲁氏菌等胞内菌, 需针对性加强DNA类型宏基因组策略; 已经接受广谱抗菌药物治疗的, 应考虑数据量加强版的宏基因组策略, 降低假阴性^[45]。

3. 结果解读^[46-47]: 正式报告应包括所检测病原体微生物列表、检出病原特异序列数量、检测病原范围、检测方法及检测技术说明。同时对相关专业术语进行解释说明, 并注明检测方法的局限性、检测灵敏度和特异性等以及疑似背景微生物。解读报告明确感染病原需要考虑以下原则: ①病原体序列的检出在相同或类似症状患者中, 应考虑患者免疫特征。②病原体核酸在患病样本中应该占据比较高的

丰度或足够的特异。③对呼吸道样本的宏基因组测序, 测序数据量要大于40 M reads/样本, 使用足够的参考数据库, 以防止假阴性。④检出的病原体序列有其它方法可以进一步验证。⑤应该考虑较高丰度的群体物种关联存在对疾病的影响。⑥多次样本检测分析结果应当一致。

(1) 阳性结果的解读: 因不同部位临床样本的背景微生物存在差异, 故阳性的判读需要建立阈值才能界定出真正的病原体。这些阈值包括: 检出特定微生物序列的数量、归一化为每百万序列的相对值、检出微生物的基因组覆盖度及内参对照的检出是否符合质控标准等。

针对不同病原体应设置对应的阈值: ①病毒: 一些显著区别于人基因组序列的病毒, 如腺病毒和流感病毒等, 有少量的特异序列检出即可信, 其阈值通常在3/100万及以上即为可信; 而一些与人源序列相似度高的病毒, 如反转录病毒类, 其阈值通常需要超过1 000/100万, 如果检出相对较少序列的某类反转录病毒, 不排除可能是人基因组中的一些转录元件, 可能表明某种反转录病毒在人体内是潜伏状态, 而不是感染状态。②真菌: 由于真菌存在较厚的细胞壁, 即使进行了一些破壁处理, 也可能因为破壁不充分而导致核酸提取效率降低, 从而导致其检出的特异序列数可能不会很多, 因此对于真菌的鉴定, 其阈值考虑在5/100万以上, 在达到100/100万以前, 其可信度随序列数增加而增加。③细菌: 对于一些细菌来说, 要着重区分是定植菌、污染还是真正的病原菌。对于非胞内感染菌, 因不同细菌间存在同源相似性, 菌种间可信阈值差异较大, 并且不同实验室内存在差异, 因此鉴定报告应给出具体菌种的阳性参考阈值, 并列出背景菌作为参考; 而对于胞内感染菌, 如结核分枝杆菌和军团菌的阈值相对较低, 通常有1/100万即可考虑可信, 随着序列数增加, 其可信度逐渐增加, 但达到30/100万时, 其增量不再有增加可信度的意义。④寄生虫: 因为目前寄生虫基因组参考数据库种类不多, 且因寄生虫的生物多样性, 其作为真核生物有很多与人基因组相似的元件, 因此在判断阳性时要特别要求序列的特异性。寄生虫作为阳性判断的阈值需在10/100万以上, 并且需要严格确认序列的特异性。

(2) 阴性结果的解读: 如为阴性报告, 则需综合考虑患者的具体情况, 是阈值判断错误还是无

病原体感染现象,尤其在多次检测均为阴性报告的情况下,其可以考虑为真正的阴性,即患者可能并非感染性疾病,可能是免疫性疾病或肿瘤等。在宏基因组检测报告中,如存在非常多的背景菌或杂菌,但没有1种或者几种占主导优势,可间接考虑患者免疫状态被严重破坏。

(三) mNGS流程质控

在临床实验室中实施mNGS是一项复杂的系统工作,包含样本处理、文库构建、上机测序以及生物信息学分析。因此,流程质控尤为重要,要将mNGS试剂、操作规程纳入标准化才能保证检测质量。可从以下几个方面保证临床实验室准确实施mNGS与临床检测^[45, 48]。

1. 独立的实验室以及获得医疗器械注册许可的高通量测序平台: 由于样品通常是分批处理的,每个批次都需要监控物种检出的频率,建立正常物种的频率基线,用于判断和排除可能的污染,因此,实验室空气洁净度、仪器、试剂批次等需要建立标准对照和监测系统,实验室存在的背景微生物需定期汇总更新,操作人员需明确记录和严格遵守实验室守则,建立自动化检测平台,将分析工作流程分为多个离散步骤以通过轮换执行,这有助于减少或避免实验误差和错误的出现。

2. 样本和内参质控: 感染性临床样本种类繁多,不同样本需进行不同的处理方式,每种方式需建立标准的处理流程。每次检测都要设内参,内参检出是检测合格的标准之一。在同一批次的不同样本同时检测时,样本间的短序列交叉污染应该控制在万分之一以下。

3. 数据量保证: 建立不同标本基本的序列数据量,由于临床样本中微生物的核酸含量远低于宿主核酸含量,为避免大量宿主细胞的核酸本身带来的测序数据干扰,每次检测均需足够的测序数据量。因不同类型样本中人体本身细胞含量不同,对最低测序数据量要求也应不同。在临床样本中人体细胞占比从少到多的主要代表是: 脑脊液 < BALF < 血液 < 痰液 < 胸腹水,推荐的高通量测序序列条数越多越好,对于呼吸道传染病,测序数据量要大于40 M reads。

4. 生物信息分析: mNGS同样存在测序错误的情况,因此在最原始的下机数据中需进行低质量序列的去除,包括测序接头污染的序列、质量值低的序列和短重复序列。人源数据库收集需尽可能完

整,不仅包含染色体基因组,还要包括线粒体等基因组、转录组以及非编码序列信息。病原数据库收录的信息不是越多越好,要确保每条收录的序列数据准确、完整。过滤后的序列进行微生物鉴定应有严格的质控标准,用于鉴定种或者属的短序列应为特异序列,特异序列作为最后报告的参数阈值。同时应保留所有检出病原的参数、包括比对序列数、相对丰度、基因组覆盖度和深度等。

5. 数据库的完整和准确: 目前不同检测机构都提供了其自身的病原数据库,其完整性和准确性也缺乏统一的标准,因此,相关部门应联合主流检测机构,进一步确定对于数据库质量的标准,用于规范和提升该技术的应用。

mNGS在临床的应用,已经初步显示出了其光谱快速鉴定病原的优势,但目前多集中在第三方实验室进行检测,存在标本外送时间长、检验和临床脱节,沟通不及时、标本外送过程导致样本质量不合格、存在患者信息安全和生物安全等诸多问题。因此,建议有条件的医疗机构在本单位实验室建立宏基因组检测平台,精准快速地为急危重症感染者提供诊断依据。

附件1: 发热伴呼吸道症候群定义: 具备急性感染表现(以下所列4项中的1项): ①发热,②白细胞升高或降低,或白细胞分布异常,③寒颤,④体温降低;和呼吸道疾病临床表现(以下所列8项中的1项): ①咽部不适、咽干或咽痛,②鼻塞、流涕,③鼻咽/喉明显充血、水肿,④咳嗽(新发或咳嗽加重),⑤咯痰,⑥气短,⑦听诊呼吸音异常,⑧胸痛。

附件2: 从事高风险职业人员定义: 收治新冠病例定点医院、接诊发热或感染性疾病的医务人员,口岸检疫和边防检查人员,口岸进口货物直接接触人员,从事冷链食品监管和从业人员,隔离场所管理和服务人员,农贸(集贸)市场从业人员等。

执笔: 韩冰[首都医科大学附属北京地坛医院,北京市感染(传染)性疾病治疗质量控制和改进中心]、陈培芬(国家感染性疾病临床医学研究中心,南方科技大学第二附属医院,深圳市第三人民医院)、马礼兵(桂林医学院附属医院、中国医学科学院北京协和医学院群医学及公共卫生学院)、曲久鑫(国家感染性疾病临床医学研究中心,南方科技大学第二附属医院,深圳市第三人民医院)

专家委员会名单（按姓氏拼音首字母排序）：

陈唯军（中国科学院大学生命科学学院）、冯录召（中国医学科学院北京协和医学院医学及公共卫生学院）、高燕（北京大学人民医院）、谷丽（首都医科大学附属北京朝阳医院）、胡必杰（复旦大学附属中山医院）、蒋荣猛（首都医科大学附属北京地坛医院，北京市感染（传染）性疾病治疗质量控制和改进中心）、李薇（昆明医科大学第一附属医院）、李兴旺（首都医科大学附属北京地坛医院）、连建奇（空军军医大学唐都医院）、凌云（复旦大学附属公共卫生临床中心）、卢洪洲（国家感染性疾病临床医学研究中心，南方科技大学第二附属医院，深圳市第三人民医院）、卢水华（国家感染性疾病临床医学研究中心，南方科技大学第二附属医院，深圳市第三人民医院）、沈银忠（复旦大学附属公共卫生临床中心）、宋元林（复旦大学附属中山医院）、王明贵（复旦大学附属华山医院）、张明霞（国家感染性疾病临床医学研究中心，南方科技大学第二附属医院，深圳市第三人民医院）、张欣欣（上海交通大学医学院附属瑞金医院）、赵清霞（郑州市第六人民医院）、朱彪（浙江大学医学院附属第一医院）

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Global Health Estimates: Life expectancy and leading causes of death and disability[EB/OL]. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>.
- [2] Institute for Health Metrics and Evaluation. Global burden of disease 2019: Lower respiratory infections--Level 3 cause[EB/OL]. https://www.healthdata.org/results/gbd_summaries/2019/lower-respiratory-infections-level-3-cause.
- [3] Ruan Z, Qi J, Qian ZM, et al. Disease burden and attributable risk factors of respiratory infections in China from 1990 to 2019[J]. *Lancet Reg Health-West Pac*, 2021, 11: 100153.
- [4] GBD 2015 LRI Collaborators. Estimates of the global, regional and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory tract infections in 195 countries: a systematic analysis for the global burden of disease study 2015[J]. *Lancet Infect Dis*, 2017, 17: 1133-1161.
- [5] GBD 2017 Influenza Collaborators. Mortality, morbidity, and hospitalisations due to influenza lower respiratory tract infections, 2017: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. *Lancet Respir Med*, 2019, 7(1): 69-89.
- [6] Chaves SS, Aragon D, Bennett N, et al. Patients hospitalized with laboratory-confirmed influenza during the 2010-2011 influenza season: exploring disease severity by virus type and subtype[J]. *J Infect Dis*, 2013, 208(8): 1305-1314.
- [7] Lafond KE, Porter RM, Whaley MJ, et al. Global burden of influenza-associated lower respiratory tract infections and hospitalizations among adults: a systematic review and meta-analysis[J]. *PLoS Med*, 2021, 18(3): e1003550.
- [8] Iuliano AD, Roguski KM, Chang HH, et al. Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling

study[J]. *Lancet*, 2018, 391(10127): 1285-1300.

- [9] World Health Organization. Fact sheets about tuberculosis[EB/OL]. (2021-10-14). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>.
- [10] World Health Organization. Tuberculosis[EB/OL]. (2021-10-14) [2022-05-04]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>.
- [11] World Health Organization. Global tuberculosis report 2021[R]. Geneva: World Health Organization, 2021.
- [12] 曾瑜, 杨晓妍, 周海龙, 等. 中国人群结核病疾病负担的系统评价[J]. *中国循证医学杂志*, 2018, 18(6): 570-579.
- [13] Wang H, Paulson KR, Pease SA, et al. Estimating excess mortality due to the COVID-19 pandemic: a systematic analysis of COVID-19-related mortality, 2020-21[J]. *Lancet*, 2022, 399(10334): 1513-1536.
- [14] Mawaddah A, Gendeh HS, Lum SG, et al. Upper respiratory tract sampling in COVID-19[J]. *Malays J Pathol*, 2020, 42(1): 23-35.
- [15] Wang X, Tan L, Wang X, et al. Comparison of nasopharyngeal and oropharyngeal swabs for SARS-CoV-2 detection in 353 patients received tests with both specimens simultaneously[J]. *Int J Infect Dis*, 2020, 94: 107-109.
- [16] Patel MR, Carroll D, Ussery E, et al. Performance of oropharyngeal swab testing compared with nasopharyngeal swab testing for diagnosis of coronavirus disease 2019--United States, January 2020-February 2020[J]. *Clin Infect Dis*, 2021, 72(3): 403-410.
- [17] Wang H, Liu Q, Hu J, et al. Nasopharyngeal swabs are more sensitive than oropharyngeal swabs for COVID-19 diagnosis and monitoring the SARS-CoV-2 load[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2020, 7: 334.
- [18] Colagrossi L, Mattana G, Piccioni L, et al. Viral respiratory infections: New tools for a rapid diagnosis[J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2021, 42(6): 747-758.
- [19] World Health Organization. Recommendations for national SARS-CoV-2 testing strategies and diagnostic capacities[EB/OL]. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-lab-testing-2021.1-eng>.
- [20] Au WY, Cheung PPH. Diagnostic performances of common nucleic acid tests for SARS-CoV-2 in hospitals and clinics: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet Microbe*, 2021, 2(12): e704-e714.
- [21] Khandker SS, Hashim NHHN, Deris ZZ, et al. Diagnostic accuracy of rapid antigen test kits for detecting SARS-CoV-2: A systematic review and Meta-analysis of 17 171 suspected COVID-19 patients[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(16): 3493.
- [22] Merckx J, Wali R, Schiller I, et al. Diagnostic accuracy of novel and traditional rapid tests for influenza infection compared with reverse transcriptase polymerase chain reaction: a systematic review and meta-analysis[J]. *Ann Intern Med*, 2017, 167: 394-409.
- [23] Uyeki TM. Human infection with highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus: review of clinical issues[J]. *Clin Infect Dis*, 2009, 49(2): 279-290.
- [24] World Health Organization. WHO recommendations on the use of rapid testing for influenza diagnosis[EB/OL]. 2012. http://www.who.int/influenza/resources/documents/rapid_testing/en/index.html.
- [25] Gentilotti E, De Nardo P, Cremonini E, et al. Diagnostic accuracy of point-of-care tests in acute community-acquired lower respiratory tract infections. A systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2022, 28(1): 13-22.
- [26] Vos LM, Bruning AHL, Reitsma JB, et al. Rapid molecular tests for

- influenza, respiratory syncytial virus, and other respiratory viruses: A systematic review of diagnostic accuracy and clinical impact studies[J]. Clin Infect Dis, 2019, 69: 1243.
- [27] Steingart KR, Henry M, Ng V, et al. Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review[J]. Lancet Infect Dis, 2006, 6(9): 570-581.
- [28] Steingart KR, Schiller L, Horne DJ, et al. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2014, 2014(1): CD00959.
- [29] 中华医学会结核病学分会. 结核分枝杆菌 γ -干扰素释放试验及临床应用专家意见(2021年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2022, 45(2): 143-150.
- [30] Diel R, Loddenkemper R, Nienhaus A. Evidence-based comparison of commercial interferon-gamma release assays for detecting active TB: a metaanalysis[J]. Chest, 2010, 137(4): 952-968.
- [31] Diel R, Goletti D, Ferrara G, et al. Interferon- γ release assays for the diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur Respir J, 2011, 37(1): 88-99.
- [32] Santin M, Muñoz L, Rigau D. Interferon- γ release assays for the diagnosis of tuberculosis and tuberculosis infection in HIV-infected adults: a systematic review and meta-analysis[J]. PLoS One, 2012, 7(3): e32482.
- [33] Kaplan JE, Benson C, Holmes KK, et al. Guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America[J]. MMWR Recomm Rep, 2009, 58(RR-4): 1-207; quiz CE1-4.
- [34] Chanteau S, Rahalison L, Ralafiarisoa L, et al. Development and testing of a rapid diagnostic test for bubonic and pneumonic plague[J]. Lancet, 2003, 361: 211-216.
- [35] 张阳, 王智群, 邓世靖, 等. 涂片真菌荧光染色法对真菌性角膜炎诊断价值的研究[J]. 中华眼科杂志, 2019, 55(8): 601-608.
- [36] Musher DM, Montoya R, Wanahita A. Diagnostic value of microscopic examination of Gram-stained sputum and sputum cultures in patients with bacteremic pneumococcal pneumonia[J]. Clin Infect Dis, 2004, 39(2): 165-169.
- [37] 中华预防医学会医院感染控制分会. 临床微生物标本采集和送检指南[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(20): 3194-3195.
- [38] 徐英春, 倪语星, 王金良. 血培养操作规范[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002: 1-31.
- [39] 叶应妩主编. 全国临床检验操作规程[M]. 3版. 南京: 东南大学出版社, 2006.
- [40] 王辉, 任健康, 王明贵. 临床微生物学检验[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [41] GB/T 22576.6-2021.《医学实验室质量和能力要求》[S]. 2021.
- [42] Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality control for commercially prepared microbiological culture media, 3rd Edition: CLSI M22 A3[S]. 2004.
- [43] 《中华传染病杂志》编辑委员会. 中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2020, 38(11): 681-689.
- [44] 中华医学会检验医学分会临床微生物学组, 中华医学会微生物学与免疫学分会临床微生物学组, 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会. 宏基因组高通量测序技术应用于感染性疾病病原检测中国专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(2): 107-120.
- [45] Schlager R, Chiu CY, Miller S, et al. Validation of metagenomic next-generation sequencing tests for universal pathogen detection[J]. Arch Pathol Lab Med, 2017, 141(6): 776-786.
- [46] 宏基因组测序技术在中重症感染中的临床应用专家共识. 宏基因组测序技术在中重症感染中的临床应用专家共识(第一版)[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32(5): 531-536.
- [47] 中华医学会细菌感染与耐药防治分会. 呼吸系统感染中宏基因组测序技术临床应用与结果解读专家共识[J]. 中华临床感染病杂志, 2022, 15(2): 90-102.
- [48] Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics[J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(6): 341-355.

(收稿日期: 2022-08-10)
(本文编辑: 孙荣华)

呼吸道传染病标本采集及检测专家委员会. 呼吸道传染病标本采集及检测专家共识[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2022, 16(4): 217-228.