

hacker[J]. Cancer Cell, 2013, 23(6): 709-711.

[34] SULLIVAN L B, MARTINEZ-GARCIA E, NGUYEN H, et al. The proto-oncometabolite fumarate binds glutathione to amplify ROS-dependent signaling[J]. Mol Cell, 2013, 51(2): 236-248.

[35] RICHTER S, EISENHOFER G. Tumor metabolism and metabolomics of pheochromocytomas and paragangliomas: diagnostic and therapeutic nuclear medicine for neuroendocrine tumors [M]. Contemporary Endocrinology Humana Press, Cham, 2017: 239-250.

[36] DRUCE M R, KALTSAS G A, FRAENKEL M, et al. Novel and evolving therapies in the treatment of malignant phaeochromocytoma: experience with the mTOR inhibitor everolimus (RAD001) [J]. Horm Metab Res, 2009, 41(9): 697-702.

[37] ANGELOUSI A, DIMITRIADIS G K, ZOGRAFOS G, et al. Molecular targeted therapies in adrenal, pituitary and parathyroid malignancies[J]. Endocr Relat Cancer, 2017, 24(6): 239-259.

[38] CHO H, DU X, RIZZI J P, et al. On-target efficacy of a HIF2 $\alpha$  antagonist in preclinical kidney cancer models[J]. Nature, 2016, 539(7627): 107-111.

[39] TOLEDO R A. New HIF2 $\alpha$  inhibitors: potential implications as therapeutics for advanced pheochromocytomas and paragangliomas[J]. Endocr Relat Cancer, 2017, 24(9): 9-19.

[40] YANG C, MATRO J C, HUNTOON K M, et al. Missense mutations in the human SDHB gene increase protein degradation without altering intrinsic enzymatic function[J]. Faseb J, 2012, 26(11): 4506-4516.

(收稿日期: 2019-09-08 修回日期: 2020-01-05)

• 综 述 •

# 新型冠状病毒感染的临床表现及其实验室检测技术进展\*

魏徵霄 综述, 李青峰 审校 $\Delta$

(四川省成都市公共卫生临床医疗中心, 四川成都 610066)

**摘 要:**新型冠状病毒(SARS-CoV-2)属于冠状病毒属, 是一种主要通过呼吸道传播的 RNA 病毒, 具有极高传染性, 被世界卫生组织列为对人类危害最严重的病毒之一。目前尚无批准上市的用于预防 SARS-CoV-2 的疫苗, 该病毒导致的 2019 年新型冠状病毒肺炎(COVID-19)需要通过实验室检测才能明确。为了解 SARS-CoV-2 的研究进展, 该文综述了该病毒的特征、感染的流行病学、实验室检测技术, 以期为诊断和防控新型冠状病毒病提供参考。

**关键词:**新型冠状病毒; 新型冠状病毒肺炎; 感染; 实验室检测技术

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2020.08.023      **中图法分类号:**R563.1

**文章编号:**1673-4130(2020)08-0988-05      **文献标识码:**A

## An overview of the clinical manifestations of novel coronavirus infection and its laboratory detection methods\*

WEI Zhengxiao, LI Qingfeng $\Delta$

(Chengdu Public Health Clinical Medical Center, Chengdu, Sichuan 610066, China)

**Abstract:** The severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) belongs to the genus Coronavirus, which is an RNA virus transmitted through the respiratory tract. It has high infectivity. It is listed by the World Health Organization as one of the most harmful viruses to humans. There is no vaccine approved for marketing SARS-CoV-2 at present. The corona virus diseases 2019 (COVID-19) caused by this virus needs to be confirmed by laboratory tests. In order to understand the research progress of SARS-CoV-2, this article reviews the virus characteristics, epidemiology, and laboratory detection technology, with a view to providing a reference for the diagnosis and prevention of SARS-CoV-2.

**Key words:** severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; corona virus disease 2019; infection; laboratory detection technology

\* 基金项目: 四川省科技厅新冠专项(2020YFS0004)。

$\Delta$  通信作者, E-mail: 1308575984@qq.com。

本文引用格式: 魏徵霄, 李青峰. 新型冠状病毒感染的临床表现及其实验室检测技术进展[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(8): 988-992.

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)属于冠状病毒属,是一种阳性单链 RNA 病毒,主要通过呼吸道传播的 RNA 病毒,具有极高传染性,被世界卫生组织(WHO)列为对人类危害最严重的病毒之一。但鉴于目前尚无特异性的靶向杀灭 SARS-CoV-2 的药物,而认识 SARS-CoV-2 结构、感染机制和实验室检查可能有助于开发有效的治疗方法,故本文就 SARS-CoV-2 特征、感染的临床表现及其实验室检测技术研究进展予以综述,以期为更好地防控、诊断和治疗 COVID-19 提供参考。

## 1 病毒学特征与流行病学特点

冠状病毒是球形或椭圆形的,有包膜,基因组为线性单股正链的 RNA,在自然界中广泛存在的一类病毒。它们的宿主范围很广,包括鸟类、农场动物、宠物、骆驼和蝙蝠,主要引起呼吸道和胃肠道疾病。直到 1975 年,世界病毒命名委员会对其进行正式命名,其目、科属的关系才真正弄清楚:它们属于巢病毒目(Nidovirales)、冠状病毒科(Coronaviridae)和正冠状病毒亚科(Orthocoronaviridae)。冠状病毒有四个属,分别是 Alphacoronavirus、Betacoronavirus、Deltacoronavirus 和 Gammacoronavirus<sup>[1-3]</sup>。SARS-CoV-2 属于 Betacoronavirus。

在 2019 年 12 月之前,科学界共发现有 6 种致病性的冠状病毒,它们是属于 Alphacoronavirus 属的 HCoV-229E 和 HCoV-NL63,以及属于 Beta 冠状病毒属的 HCoV-OC43、HCoV-HKU1、MERS-CoV 和 SARS-CoV<sup>[1-2]</sup>。其中有 4 种冠状病毒(HCoV-229E、HCoV-NL63、HCoV-OC43 和 HCoV-HKU1)较常见,容易引起儿童和成人发生类似普通感冒的轻微呼吸道症状,致病性较低,医学重视性不高。另外急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)和中东呼吸综合征的冠状病毒(MERS-CoV)可以产生严重的下呼吸道感染,这两种冠状病毒都能导致人畜共患病,SARS 和 MERS 的冠状病毒曾大规模暴发,在感染者中造成极高病死率(分别为 10%、37%),构成了重大的公共卫生威胁和重大生命财产损失<sup>[1,4]</sup>。

ZHU 等<sup>[5]</sup>研究报道通过对肺炎患者样本进行测序,发现了一种新的  $\beta$  冠状病毒属( $\beta$ -coronavirus)病毒,命名为 2019 年新型冠状病毒肺炎(COVID-19),该病毒与中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)和严重急性呼吸综合征病毒(SARS-CoV)不同,成为可以感染人类的冠状病毒科的第 7 个成员。

中国疾控中心(CDC)团队在患者下呼吸道取得样本,通过测序获得病毒的完整基因序列。将基因组序列、引物、标准操作程序与 WHO 共享,有助于开发灵敏的 RT-PCR 检测技术,实现快速检测。病毒株的获取也有利于推动血清学检测技术,以期开发更灵敏

的检测标志物。

## 2 SARS-CoV-2 感染:COVID-19 及其临床表现

**2.1 传播方式** 研究者通过测序发现 SARS-CoV-2 与蝙蝠冠状病毒最密切相关,甚至在 nsp7 和 E 蛋白中与 Bat-SL-CoVZC45 表现出 100% 的氨基酸相似性,整体基因组序列一致性为 96.2%,通过对蝙蝠中多种 SARS 样冠状病毒的鉴定,推断蝙蝠可能是这些病毒的天然宿主<sup>[6-7]</sup>。但是,由于首次报告该病时市场上有多种其他动物在售,因此需要更多的调查来确定 SARS-CoV-2 的天然宿主和中间宿主。

SARS-CoV-2 经呼吸道进入人体<sup>[8]</sup>,感染导致 COVID-19,其主要传播方式以呼吸道飞沫为主,普通人群易感,平均潜伏期为 5.2 d,基本繁殖数( $R_0$ )为 2.2。大多数 COVID-19 患者为临床轻度病例。也有研究者指出患有基础疾病(包括高血压、糖尿病、心脏病和/或肾病等)的老年男性死亡风险更高<sup>[7]</sup>。

有研究者从 COVID-19 感染者的粪便样本中分离出 SARS-CoV-2,证实了粪便中的确存在活病毒<sup>[9]</sup>,但是,SARS-CoV-2 的感染是否存在粪口传播途径还有待于科学界进一步证实。

目前也有新生儿出生 30 h 后发生 COVID-19 的病例,母婴传播是否真实存在,尚待进一步明确。而且有研究指出,减少人群聚集,并对潜在感染人群采取隔离等措施能有效预防或减少传播的可能<sup>[10-11]</sup>。

**2.2 感染机制** 有研究表明 SARS-CoV-2 主要通过 Spike 蛋白(S 蛋白)与宿主细胞血管紧张素转化酶 2 (ACE2)受体结合来介导病毒的入侵,冠状病毒 S 蛋白 S1 亚单位的 N 端结构域(S1-NTD)和 C 端结构域(S1-CTD)都能作为受体结合域(RBD)<sup>[12-13]</sup>。一般认为 S1-NTD 结合糖类受体,S1-CTD 结合蛋白类受体。

病毒通过 S 蛋白中的 Arg426 与 ACE2 中的 Gln325/Glu329 之间的氢键相互作用,来感染人的呼吸道上皮细胞,进入细胞后,病毒 RNA 释放出来,并整合到宿主的遗传物质中,不断地繁衍复制,并通过胞吐作用将病毒颗粒从被感染的细胞中释放出来;同时 SARS-CoV-2 和细胞表面的 ACE2 一同过入胞内,导致细胞表面 ACE2 蛋白减少,ACE2 蛋白的主要生理功能是扩展血管,调节血压,与高血压、糖尿病、冠心病等代谢病密切相关,这也从侧面解释了具有基础疾病的人群 COVID-19 的易感性。COVID-19 的感染机制还有很多未知,某些假设或推断亟待科学界继续深入研究以获取更多更可靠的证据。

**2.3 临床表现** COVID-19 以发热、干咳、乏力为主要特征,伴或不伴有发热,部分伴有鼻塞、流涕、咽痛等类似感冒症状。根据国家卫生健康委员会办公厅、国家中医药管理局办公室印发的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第 6 版)》,重症患者可发展为急性呼

吸窘迫综合征、脓毒血症休克、代谢性酸中毒、凝血功能障碍及多器官衰竭等,并出现明显的肺部影像学变化。

在一项针对 41 名住院患者的研究中,大多数患者均报告有发烧、干咳、肌肉酸痛和疲劳症状,很少出现咳嗽、头痛、咯血和腹泻的症状<sup>[14]</sup>。根据该研究,这些患者中约有一半患有合并症,例如潜在的糖尿病、高血压和心血管疾病。此外,患者入院后平均约 8 d 出现呼吸困难并伴有异常胸廓 CT 和肺炎,与病毒性肺炎相似,患者的 X 射线或胸部 CT 图像显示单侧或双侧肺部受累。临床并发症包括急性呼吸窘迫综合征、急性心脏损伤、继发感染和气胸等,这也与 CHEN 等<sup>[15]</sup>关于 99 例病例的回顾性分析的临床表现大致相同。

COVID-19 感染者血细胞计数显示白细胞减少和淋巴细胞减少,部分患者出现部分生化指标的异常,ICU 患者的凝血酶原、D-二聚体和细胞因子处于较高水平<sup>[14]</sup>。因为 COVID-19 轻症的临床表现与流行性感冒相似缺乏特异性,所以无法仅从患者的临床表现诊断 SARS-CoV-2 感染,在《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第 6 版)》将实时荧光 RT-PCR 核酸检测阳性或病毒基因测序作为金标准。

### 3 SARS-CoV-2 感染的实验室检测

COVID-19 的临床诊断必须依据患者相关的流行病学史(两周内的活动或旅行地区为武汉或 14 d 内有 SARS-CoV-2 感染者的接触史)、临床症状、实验室检测结果等予以综合性判断,目前确诊以实验室检查为准,改变的是判读的方式。对 SARS-CoV-2 感染的实验室诊断主要有病原学和血清学等检测技术。检测的样本可以是疑似患者的鼻咽拭子、痰和其他下呼吸道分泌物、血液、粪便等。

#### 3.1 病原学诊断

**3.1.1 基因测序** 病毒的全基因组测序是研究病毒进化、毒力因子变异的基础。在 COVID-19 暴发的初期,有研究通过二代测序获得了该病毒的整个基因组序列,并对 7 个保守的非结构蛋白序列比对分析,发现 SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 同源性(79.5%)<sup>[16]</sup>。同样的有研究者也发现了 SARS-CoV-2 与 NC\_004718、bat-SL-CoVZC45 和蝙蝠中检测到的冠状病毒(bat/Yunnan/RaTG13/2013)具有极高的基因组序列相似度(80%、88%、96%)<sup>[17]</sup>。基于数据共享理念,国家生物信息中心(CNCB)/国家基因组科学数据中心(NGDC)建立了 2019 新型冠状病毒信息库(2019nCoV <https://bigd.big.ac.cn/ncov>),为检测试剂盒研发、抗病毒药物靶点设计等相关研究提供了支持。

**3.1.2 核酸检测** 病毒核酸可用于早期检测。根据

《新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南(第 2 版)》,现已建立的 SARS-CoV-2 特异性核酸检测技术其病毒目标片段是病毒 ORF1ab 和 N 基因,采用一步法、磁珠法或柱提法反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)或实时荧光 RT-PCR 技术<sup>[13]</sup>。

与普通 PCR 相比,实时荧光 RT-PCR 利用信号实时监测 PCR 反应过程中每一个循环扩增产物量的变化,可以对初始模板量进行定量检测分析。具有灵敏、特异、准确、快捷且重复性好等诸多优势,深受临床检验工作者青睐。CORMAN 等<sup>[18]</sup>在没有病毒基因组核酸物理来源的情况下,建立了一种基于实时荧光 RT-PCR 技术,基于网络公布的 2019 新型冠状病毒数据库,设计的特异性引物检测 RdRP 基因、E、N 基因,以此检测 SARS-CoV-2,并进一步将 SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 区别开来。ZHOU 等<sup>[13]</sup>开发了一种基于刺突基因受体结合域的实时荧光定量 PCR 检测方法,应用于当时 7 例病毒感染者血液、咽拭子及肛拭子样本的检测,能够将 SARS-CoV-2 与包括人类在内的所有其他冠状病毒分开。CHU 等<sup>[19]</sup>报道了两种用于检测 SARS-CoV-2 的单步实时反转录聚合酶链反应检测方法的开发。两种测定法靶向病毒基因组的 Orf1b 和 N 区,发现 N 检测比靶向 Orf1b 的检测更为灵敏。笔者建议将前者用作筛选测定,而将后者用作诊断测定。

**3.1.3 病毒的分离与培养** 病毒的分离与培养是病毒感染实验诊断的经典技术,也是病原学鉴定的“金标准”。对于 SARS-CoV-2,病毒研究机构可以通过经典的科赫氏法则对该病毒进行初步鉴定,并通过电子显微镜观察其形态<sup>[20]</sup>。

ZHOU 等<sup>[13]</sup>以哺乳动物细胞系 Vero、Vero E6 和 Huh7 为感染材料进行了 SARS-CoV-2 的分离与培养,并通过 RT-PCR 证实了病毒的存在。但是病原体的分离与培养需要时间长、实验室技术条件要求高,不宜于快速诊断,但分离的纯培养毒株对于病原体的生物学特征、感染机制、治疗药物及疫苗的研究等都是不可或缺的。

**3.2 免疫血清学检测** 由于分子诊断和病毒培养受限制条件较多,开发血清学检测试剂引起了科学界极大的兴趣。已报道对 MERS-CoV 检测的血清学方法包括中和试验(NT)、酶联免疫吸附测定试验(ELISA)、间接免疫荧光(IFA)、蛋白质微阵列(PM)、免疫印迹(Western-blot)等<sup>[21]</sup>。整体来说,血清学检测相比核酸检测,易于快速操作,但灵敏度和特异度较低<sup>[22-23]</sup>。

ELISA 基于抗原与抗体特异结合特点,利用酶的催化与信号放大作用,来判断样本的阴阳性,是目前血清学检测通用的方法之一<sup>[24]</sup>。在 ELISA 早期方法

建立中,主要以灭活病毒株为抗原制备单克隆抗体<sup>[25]</sup>。大多数冠状病毒具有相似的病毒结构,相似的感染途径和相似的 S 蛋白结构<sup>[26]</sup>,这表明相似的研究也可能适用于 SARS-CoV-2。QIU 等<sup>[27]</sup>用含有 S 蛋白的可溶性重组 RBD 免疫野生型小鼠,然后将小鼠进行人源化分离,或直接免疫转基因小鼠以获得人源化的抗体,用于治疗 MERS-CoV 感染。

有研究使用编码冠状病毒刺突蛋白的基因,证实了假病毒中和抗体测试(ppNT),具有很高的灵敏度和特异度<sup>[28-29]</sup>。这也为将来开发鉴定 SARS-CoV-2 的相关抗原和单克隆抗体提供了借鉴。JIANG 等<sup>[30]</sup>证明了 SARS-CoV S 蛋白中的 RBD 是 SARS 患者中和抗体的主要靶标,并且能够在动物模型中诱导高效的中和抗体应答和长期保护性免疫,它包含 6 个不同的构象的中和表位,能产生了一系列具有不同中和活性的小鼠单克隆抗体(mAb),该小组还表明,这些 SARS-CoV-RBD 特异性中和单克隆抗体可以交叉中和蝙蝠 SL-CoV,例如蝙蝠 SL-CoV-W1V1<sup>[31]</sup>,从一定程度上表明这些抗体也可以交叉中和 SARS-CoV-2。

有研究者针对 98 例 SARS 患者的研究发现一般在感染 7 d 后可以发现 IgM 阳性,并在发病 3 周后阳性最高,15 d 左右出现 IgG 阳性,60 d 左右阳性最高,且持续时间较长<sup>[32]</sup>。ZHANG 等<sup>[33]</sup>使用 SARSr-CoV Rp3 NP 作为抗原开发的用于检测 SARS-CoV-2 的 IgG 和 IgM ELISA 试剂盒,连续监测 15 例 COVID-19 患者 IgG 和 IgM 的滴度变化,发现采样第 5 天 IgG 的阳性率(81%~100%)和 IgM 的阳性率(50%~81%)都大幅增加,这与核酸相对较低的阳性检出率(50%)相反。蛋白印迹比 ELISA 更加特异,但由于过程繁琐,更适用于验证抗体的存在,不适用于大批量样本筛查<sup>[21]</sup>。

#### 4 总结及展望

SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 和 MERS-CoV 同源,它们都属于 Beta 冠状病毒。由于 SARS-CoV-2 在全球范围内传播,这对临床管理构成重大挑战,对公共健康构成了巨大威胁。目前尚没有疫苗或针对性药物治疗 SARS-CoV-2 感染,所以实验室检测手段的加强能够缩短检出时间,在一定程度上减少甚至遏制病毒的传播。

目前虽然已经有许多实验室检测方法可以用于 SARS-CoV-2 的检测。病毒分离培养耗时长,对样本保存要求较高,限制了在实际工作中的应用。核酸检测可以在 P2 级实验室中将病毒灭活后进行检测,在目前的实验室检测技术中应用较为广泛,抗原抗体检测方法由于操作简便易行,在时间工作中更易于推广。

在疫情暴发的当下,鉴于实验室检测结果在疾病

诊断中的重要作用,呼吁多种检测方法联合使用,更快更准确地对疾病进行诊断。由于 SARS-CoV-2 的高度传染性,操作简单、设备简单、样本用量少、能快速现场进行检测的试剂开发是今后 SARS-CoV-2 检测的发展方向。

#### 参考文献

- [1] HUI D S. Epidemic and emerging coronaviruses(severe acute respiratory syndrome and middle east respiratory syndrome)[J]. Clin Chest Med,2017,38(1):71-86.
- [2] SONG Z, XU Y, BAO L, et al. From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight[J]. Viruses, 2019,11(1):59.
- [3] CUI J, LI F, SHI Z L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses[J]. Nature Reviews Microbiol, 2019, 17 (3):181-192.
- [4] HUI D S, ZUMLA A. Severe acute respiratory syndrome: historical, epidemiologic, and clinical features[J]. Infect Dis Clin,2019,33(4):869-889.
- [5] ZHU N, ZHANG D, WANG W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019[J]. N Engl J Med,2020,382(8):727-733.
- [6] WU F, ZHAO S, YU B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China[J/OL]. Nature,2020[2020-02-24]. [https://www.nature.com/articles/s41586-020-2008-3?fbclid=IwAR10YjXQeW795Vke\\_56S0Qz-eZzCXSoSAAAYpF6vuWjWH8vnGIUKWJr1BkoL](https://www.nature.com/articles/s41586-020-2008-3?fbclid=IwAR10YjXQeW795Vke_56S0Qz-eZzCXSoSAAAYpF6vuWjWH8vnGIUKWJr1BkoL).
- [7] GRALINSKI L E, MENACHERY V D. Return of the Coronavirus:2019-nCoV[J]. Viruses,2020,12(2):135.
- [8] 中华预防医学会新型冠状病毒肺炎防控专家组. 新型冠状病毒肺炎流行病学特征的最新认识[J]. 中华流行病学杂志,2020,41(2):139-144.
- [9] HOLSHUE M L, DEBOLT C, LINDQUIST S, et al. First case of 2019 novel coronavirus in the United States[J/OL]. N Engl J Med, 2020[2020-02-24]. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2001191>.
- [10] WU P, HAO X, LAU E H Y, et al. Real-time tentative assessment of the epidemiological characteristics of novel coronavirus infections in Wuhan, China, as at 22 January 2020[J]. Euro Surveill,2020,25(3):2000044.
- [11] LI Q, GUAN X, WU P, et al. Early transmission dynamics in wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia[J]. N Engl J Med,2020,382(13):1199-1207.
- [12] XU X, CHEN P, WANG J, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission[J]. Sci China Life Sci,2020,63(3):457-460.
- [13] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. Discovery of a novel coronavirus associated with the recent pneumonia outbreak in 2 humans and its potential bat origin[J/OL].

- BioRxiv, 2020 [2020-02-24]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.22.914952v2.abstract>.
- [14] HUANG C, WANG Y, LI X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 497-506.
  - [15] CHEN N, ZHOU M, DONG X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 507-513.
  - [16] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J/OL]. *Nature*, 2020 [2020-02-24]. [https://www.nature.com/articles/s41586-020-2012-7?TB\\_iframe=true&width=370.8&height=658.8](https://www.nature.com/articles/s41586-020-2012-7?TB_iframe=true&width=370.8&height=658.8).
  - [17] 赵文明, 宋述慧, 陈梅丽, 等. 2019 新型冠状病毒毒信息库 [J/OL]. *遗传*, 2020 [2020-02-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20200212.1424.001.html>.
  - [18] CORMAN V M, LANDT O, KAISER M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR[J]. *Euro Surveill*, 2020, 25(3): 2000045.
  - [19] CHU D K W, PAN Y, CHENG S M S, et al. Molecular diagnosis of a novel coronavirus (2019-ncov) causing an outbreak of pneumonia [J/OL]. *Clin Chem*, 2020 [2020-02-24]. <https://academic.oup.com/clinchem/advance-article/doi/10.1093/clinchem/hvaa029/5719336>.
  - [20] H L, CW S, YW T. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: the mystery and the miracle [J]. *J Med Virol*, 2020, 92(4): 401-402.
  - [21] ZUMLA A, AL-TAWFIQ J A, ENNE V I, et al. Rapid point of care diagnostic tests for viral and bacterial respiratory tract infections-needs, advances, and future prospects[J]. *Lancet Infect Dis*, 2014, 14(11): 1123-1135.
  - [22] KH C, JF C, H T, et al. Cross-reactive antibodies in convalescent SARS patients' sera against the emerging novel human coronavirus EMC(2012) by both immunofluorescent and neutralizing antibody tests[J]. *J Infect*, 2013, 67(2): 130-140.
  - [23] AS A, FM M, EI A, et al. Investigation of anti-middle East respiratory syndrome antibodies in blood donors and slaughterhouse workers in Jeddah and Makkah, Saudi Arabia, fall 2012[J]. *J Infect Dis*, 2014, 209(2): 243-246.
  - [24] CHAN J F, SRIDHAR S, YIP C C, et al. The role of laboratory diagnostics in emerging viral infections: the example of the middle east respiratory syndrome epidemic [J]. *J Microbiol*, 2017, 55(3): 172-182.
  - [25] LUCHT A, GRUNOW R, MÖLLER P, et al. Development, characterization and use of monoclonal VP40-antibodies for the detection of Ebola virus[J]. *J Virol Methods*, 2003, 111(1): 21-28.
  - [26] YUAN Y, CAO D, ZHANG Y, et al. Cryo-EM structures of MERS-CoV and SARS-CoV spike glycoproteins reveal the dynamic receptor binding domains[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 15092.
  - [27] QIU H, SUN S, XIAO H, et al. Single-dose treatment with a humanized neutralizing antibody affords full protection of a human transgenic mouse model from lethal Middle East respiratory syndrome (MERS)-coronavirus infection[J]. *Antiviral Res*, 2016, 132(1): 141-148.
  - [28] REUSKEN C, MOU H, GODEKE G J, et al. Specific serology for emerging human coronaviruses by protein microarray[J]. *Euro Surveill*, 2013, 18(14): 20441.
  - [29] ZHAO G, DU L, MA C, et al. A safe and convenient pseudovirus-based inhibition assay to detect neutralizing antibodies and screen for viral entry inhibitors against the novel human coronavirus MERS-CoV[J]. *Virol J*, 2013, 10(1): 266.
  - [30] JIANG S, DU L, SHI Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 275-277.
  - [31] ZENG L P, GE X Y, PENG C, et al. Cross-neutralization of SARS coronavirus-specific antibodies against bat SARS-like coronaviruses[J]. *Sci China Life Sci*, 2017, 60(12): 1399-1402.
  - [32] MO H, ZENG G, REN X, et al. Longitudinal profile of antibodies against SARS-coronavirus in SARS patients and their clinical significance[J]. *Respirol*, 2006, 11(1): 49-53.
  - [33] ZHANG W, DU R H, LI B, et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 386-389.

(收稿日期: 2020-02-24 修回日期: 2020-03-16)