# 埃博拉出血热实验室检测方案（第三版）

作者：[刘富强](http://www.hncdc.com/ShowAuthor.asp?ChannelID=1&AuthorName=%C1%F5%B8%BB%C7%BF" \o "刘富强)    文章来源：[中心应急办](http://www.hncdc.com/ShowCopyFrom.asp?ChannelID=1&SourceName=%D6%D0%D0%C4%D3%A6%BC%B1%B0%EC)    点击数：2550    更新时间：2014-09-05

        埃博拉出血热是一种严重的急性传染病，可发生人-人传播和院内感染,病死率高。直接接触传播是本病最主要的传播途径。可以通过接触病人或被感染动物的体液、分泌物、排泄物及其污染物等而感染。埃博拉出血热的早期临床表现和其他一些病毒性出血热相似，需要通过实验室进行确诊。在目前阶段，以对病人血液标本检测为主。为及时检测和确认埃博拉出血热病例，规范实验室检测程序，提高检测质量，为指导病例的管理和出院提供依据，特制定本方案。
        一、检测对象
       包括留观病例、疑似病例和确诊病例，病例定义参见国家卫生计生委制定的《埃博拉出血热相关病例诊断和处置路径》。
       二、标本采集、保存和运输
      （一）标本采集
       用分离胶无菌真空促凝管采集静脉血，每管3mL，标记后4℃保存，填写标本采集登记表（附表1）。留观病例、疑似病例采集发病3日后静脉血2管，送具有埃博拉出血热检测资质的实验室进行埃博拉病毒检测；确诊病例采集恢复期血标本，送国家疾控中心病毒病所进行检测。
       （二）标本保存、运送
        未分离血清的全血标本应4℃保存，并尽快送具有埃博拉出血热检测资质的实验室分离血清、检测；血清标本长期保存应置于-70℃或以下冰箱， 1周内保存可置-20℃冰箱。
标本运输应按照相关生物安全规定，采取A类包装，低温冷藏运输，避免反复冻融（附件1）。
         三、检测内容
        埃博拉病毒核酸检测、埃博拉病毒抗原检测和IgM、IgG抗体检测。
        四、实验室检测方法
     （一）病原学检测
        1．核酸检测：是目前早期诊断、早期发现埃博拉出血热病例的主要检测方法。为提高检测的敏感性和特异性，用实时荧光PCR 方法针对埃博拉病毒2个不同的基因进行检测，在病例筛查时，任一基因检测阳性均可判为埃博拉病毒阳性；在确诊病例出院时，需针对2个基因的检测同时阴性，方可判定为阴性（附件2）。传统RT-PCR因易出现污染，较少使用，但可以获得病毒基因序列。发病后3天内，患者血标本中埃博拉病毒核酸检出率低，检测阴性不能排除埃博拉病毒感染，应结合病例的流行病学史和临床表现进行综合判断。发病后3～10天血标本病毒核酸检出率高。
         2. 病毒抗原检测：用酶联免疫法检测埃博拉病毒抗原。病毒抗原检测阳性可确诊（附件3）。发病后3天内，血标本中埃博拉病毒抗原检出率低，检测阴性不能排除埃博拉病毒感染，发病后3～10天血标本病毒抗原检出率高。
       （二）血清学检测
         1. 血清特异性IgM抗体：采用捕获法ELISA方法检测。IgM抗体阳性可确诊（附件4）。
         2.血清特异性IgG抗体：目前采用间接法ELISA检测IgG抗体。单份血清埃博拉病毒IgG抗体阳性提示曾感染埃博拉病毒，双份血清埃博拉病毒IgG抗体阳转或恢复期滴度较急性期4倍或者以上增高者可确诊（附件5）。
       （三）结果的报告、复核和反馈
        埃博拉病毒检测机构应将所有阳性和部分阴性血清标本送中国疾病预防控制中心病毒病所进行复核检测。实验室检测结果应及时反馈标本送检单位，并尽快上报上级主管部门（附表2）。
        五、生物安全
        按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》等相关规定要求，做好生物安全工作。
      （一）实验室检测
        1．凡涉及埃博拉病毒的分离、培养和动物实验，需在生物安全4级（BSL-4/ABSL-4）实验室内进行。涉及未经培养有感染性材料的实验活动，需在BSL-3实验室内进行。血清学检测应在BSL-3实验室内进行，且标本应首先60℃ 1小时灭活，再进行后续实验操作。核酸检测时,需在BSL-3实验室生物安全柜内将核酸提取裂解液加入标本中,充分裂解后，完成病毒RNA提取。对装有病毒RNA的样品管外表面进行彻底消毒后，可在BSL-3实验室以外进行扩增检测。
        2．在进行感染性材料操作时，每次标本份数不宜过多，每份标本量不宜过大。
      （二）生物安全防护
        在实验室处理感染性标本时，应严格按照操作规范在BSL-3实验室内进行。实验室工作人员应穿着遮盖全身的个人防护装备，包括防渗漏防护服、N95或以上口罩、护目镜、防护面具、防护手套等，当需进行感染性标本离心、较大量标本（≥10 mL）分装处理等操作时应使用正压头盔。
        实验人员有体表开放式伤口时不宜参加实验活动。
         涉及感染性材料的离心应使用有密封盖的离心桶或转头进行标本离心，应在 生物安全柜内打开离心转头放入或取出装有标本的离心管。
        在标本的采集、包装和实验室检测等过程中所产生的医疗废物，可能具有生物危险性，应当按照《医疗废物管理条例》和《医疗卫生机构医疗废物管理办法》等相关规定及时处理。
        实验室检测埃博拉病毒相关感染性标本的实验活动发生意外时，应及时启动相关应急预案（附件6）。