

# 猴痘病毒的实验室检测

临时指导文件

2022年5月23日



世界卫生组织

## 要点

- 全球应对多国猴痘疫情的目标是阻止该疫情。
- 任何符合猴痘疑似病例定义的个人都应进行检测。
- 在疑似病例中，用于确诊猴痘的建议标本类型是皮肤病变材料，包括病变渗出物拭子、多处病变表层或病变结痂。
- 对疑似病例标本进行实验室确认采用核酸扩增检测(NAAT)，如实时或常规聚合酶链反应(PCR)。NAAT 可以是针对正痘病毒(OPXV)大类的，也可以是专门针对猴痘病毒(MPXV，首选)。
- 在实验室环境中对来自疑似、可能或确诊的猴痘病例的标本进行的所有操作都应按照基于风险的方法进行。
- 除NAAT外，测序还有助于确定病毒分支并理解流行病学。强烈鼓励会员国在现有和可公开访问的数据库中共享MPXV基因序列数据。
- 根据《国际卫生条例(2005)》(IHR)，请会员国立即将阳性实验室结果通知世卫组织，包括等待确认的大类OPXV实验室检测。
- 世卫组织可以通过转介方式协助会员国获得检测。如有需要，各会员国可联系世卫组织相关区域办事处。

## 引言

猴痘病毒(MPXV)是一种双链DNA病毒，是痘病毒科正痘病毒属的一员。痘病毒在人类和许多其他动物中引起疾病；感染通常会导致形成病变、皮肤结节或播散性皮炎。其他对人类致病的正痘病毒(OPXV)包括牛痘病毒和天花病毒(引起天花，已被消灭)。牛痘病毒也是一种用于接种疫苗的正痘病毒，是1980年实现消灭天花的重要工具。MPXV的命名是由于它最初在猴子身上发现。MPXV主要在啮齿动物中发现，但其储存寄主尚未确定。已知的MPXV分支有两个，一个在西非流行，另一个在刚果盆地地区流行。

猴痘的典型表现已经得到很好地描述，包括短暂的发热前驱期，随后是渐进发展的典型皮疹，伴有硬化和脐状(中央凹陷)病变，从头部或面部开始，进而发展到四肢和躯干。病变都在同一阶段从斑点发展到丘疹、再到水泡、脓疱，最后结痂干燥，在两到四周后脱落。口腔内经常有黏膜疹(疮或溃疡)，且病变可能影响眼睛和/或生殖器区域。淋巴结肿大在猴痘中常见。但是病变可能呈出血性或合并成大的大疱。在本次多国疫情中，有建议表明，病变进展可能呈不典型性，而开始于生殖器区域。许多患有此病的人在发现时可能已经接受了其他传染病的检测。

本指导文件旨在为参与猴痘诊断的实验室和利益攸关方提供临时建议。这些建议由世卫组织制定，并经过与该主题的实验室专家协商和审查，这些专家具备处理和发现MPXV和OPXV的经验，并拥有开发OPXV诊断检测的专业知识。那些有适用于人体标本临床实验室检测监管标准的国家，应适当地遵循这些监管标准。世卫组织正在密切监测与这次疫情有关的事态发展，并将在必要时修订和发布最新的建议。除非进行修订，否则本文件将在一年后(2023年5月)到期。

## 检测指征

任何符合疑似病例定义的个人都应进行检测(1)。进行检测的决定应基于与感染可能性评估相关的临床和流行病学因素。鉴于多种疾病均可引起皮疹，而且在本次疫情中更多时候临床表现并不典型，很难仅根据临床表现来区分猴痘，特别是对于非典型表现的病例。因此，有必要考虑散发性皮肤病变或播散性皮炎的其他潜在原因；在不同发展阶段出现类似表征皮肤病变的其他病因包括：单纯疱疹病毒、水痘带状疱疹病毒、传染性软疣病毒、肠道病毒、麻疹、疥疮、梅毒螺旋体(梅毒)、细菌性皮肤感染、药物过敏、副痘病毒(引起羊痘疮和相关疾病)和软下疳(2)。

## 标本的收集、装运和储存

**安全程序。**必须确保使用适当的标准操作程序（SOPs），且必须培训实验室人员学会适当穿脱个人防护装备(PPE)以及标本收集、储存、包装和运输。所有为实验室调查所收集的标本都应被视为潜在传染性的，并给予谨慎处理。在检测来自确诊或疑似猴痘患者的常规临床标本时，应根据风险评估采取措施，以尽量降低实验室传播的风险。这些可能包括限制检测标本的工作人员数量，仅由已证明能力的工作人员进行检测，穿戴适当的个人防护装备、严格应用标准预防措施，以及避免任何可能产生传染性气溶胶的程序。在适当和可行的情况下，鼓励考虑为工作人员接种疫苗。有效的消毒剂包括季铵化合物和 0.5%（或 200ppm）漂白剂（新鲜制作）。

在标本收集和处过程中，必须确保严格遵守感染预防和控制指南（临床管理和感染防控指南正在制定中）。

**采集标本。**实验室确认猴痘的建议标本类型是皮肤病变材料，包括病变表面和/或渗出物拭子、多个以上病变的表层或病变结痂。采集拭子需大力擦拭病变，以确保收集足够的病毒 DNA。干拭子和保存于病毒传输介质(VTM)中的拭子均可使用。同一类型的两处病变应收集在同一支试管中，最好来自身体的不同位置，并且外观不同。病变、结痂和囊泡性液体不应混合在同一管中。如果资源允许，可以使用两支试管收集，以减少取样不良或抑制剂的风险，但只应该对一支试管进行检测，仅在第一支试管的检测结果不确定的情况下，才对第二支试管进行检测。除病变标本外，还鼓励收集口咽拭子。但是关于此种标本类型对猴痘的诊断准确性的数据有限，因此应谨慎解释阴性咽拭子标本。

因当前疫情仍在调查中，如果研究道德审查委员会允许，并有足够的实验室和医学专业知识以进行安全收集、处理和存储，可以考虑出于研究目的收集额外的标本类型。这些可能包括尿液、精液、直肠和/或生殖器拭子。含有 EDTA 的血液可能支持检测 MPXV，但可能不含有病变样本中那么高含量的病毒，因为病毒血症都发生在感染过程的早期，通常在前驱期，在出现明显的皮肤病变之前。仅在临床指征时，才考虑在斑疹阶段收集病变活检切片，并且只能由经过适当培训的人员进行。这些额外的标本类型不用于常规诊断目的，也不需要研究环境之外收集。关于标本收集和储存的更多详情载于附件。

从血浆或血清中提取的抗体检测不应单独用于猴痘的诊断。但是如果检测样本结果不确定，则对最近的急性患者检测 IgM 或对配对血清样本检测 IgG（第一次在疾病的第一周收集）有助于诊断。近期的疫苗接种可能会干扰血清学检测。

临床标本的包装和装运。标本应在收集后一小时内冷藏或冷冻，并在收集后尽快运至实验室。在运输过程中正确处理和储存标本对于准确的诊断检测至关重要（见附件）。标本的运输应符合任何适用的国家和/或国际法规，包括《联合国示范条例》以及视乎所用运输方式的任何其他适用法规。对于国际运输而言，疑似可能或确诊的 MPXV 病例的标本（包括临床样本、病毒分离物和培养物）应作为 A 类“可感染人类的感染性物质”（UN2814）运输。“所有运输的标本都应有适当的三重包装、标签和文件。运输要求托运人经过危险货物认证。有关传染性物质运输要求的信息，请参阅《世卫组织关于传染性物质运输的法规指南 2021-2022》(3)。

**标本存储。**用于 MPXV 调查的标本应在收集后 1 小时内冷藏（2 至 8°C）或冷冻（-20°C 或以下）。如果运输时间超过 7 天，样品应保存在 -20°C 或以下。长期保存标本（采集后超过 60 天）建议在 -70°C。在避光、凉爽的环境中保存的皮肤病变材料中的病毒 DNA 中相对稳定，在不易取得冷链运输(4)时可以考虑；但在进一步研究提供证据表明样品质量不受影响之前，不建议室温运输。应避免反复的冻融循环，因为这可能会降低样品的质量。除附件中指定的特定收集材料外，其他必要的材料和设备可包括：运输容器和标本收集袋以及三重包装、冷却器和冰袋或干冰、无菌抽血设备（如针头、注射器和试管）、标签和永久性马克笔、个人防护装备和用于表面去污的材料。

## 实验室检测方法和算法

MPXV 检测应在设备适当的实验室里由受过相关技术和安全程序培训的人员进行。MPXV 感染的确认基于核酸扩增检测（NAAT），使用实时或常规聚合酶链反应（PCR），以检测病毒 DNA 的独特序列。PCR 法可单独使用，也可与测序联合使用。几个小组已经开发了经过验证的 PCR 方案，用于检测 OPXV 和更具体的 MPXV，其中一些方案包括对刚果盆地和西非分支的区分(5-9)。一些方案包括两个步骤，第一步以 PCR 反应检测 OPXV，但不确定具体种类。然后可以进行第二步，可基于 PCR 或利用测序以专门检测 MPXV。在将一种检测用于实验室检测人体临床标本之前，应由受过适当培训的工作人员在实验室内进行确认和/或验证。

**试剂。**试剂应根据制造商的建议进行储存。许多用于 OPXV 和 MPXV 的引物和探针序列集已经在文献中发表，具有适当能力的实验室可用于其进行内部检测开发(5-7)。检测 OPXV 或专门检测 MPXV 的 PCR 试剂盒正在开发中(10,11)，但目前没有广泛可用的商业 PCR 或血清学试剂盒。PCR 检测的阳性对照材料可以从专业项目订购(12)。最佳实践是阳性对照材料应包括低（超过检测限）但容易测出的浓度；在可能的情况下纳入质量控制材料可以帮助控制任何检测问题。

对照组应提供(1)样品质量、(2)核酸质量和(3)流程质量等信息。PCR 可能是极为敏感的，因此应该努力限制污染，并且在每一批都应使用阴性对照以确保未发生污染。样本完整性控制（例如核糖核酸酶 P）、提取、阳性和抑制控制可以帮助区分假阴性和真阴性。应按照实验室标准操作程序进行控制。如果任何检测控制失败，应重复检测。

**废物处置。**所有可能含有 MPXV 的废物在处置前应使用经批准的方法进行消毒，例如经特定实验室程序批准的高压灭菌或化学消毒。

**电子显微镜。**电子显微镜可用于评估样本中潜在的痘病毒，但由于分子检测的可用性问题以及所需的高技术技能和设施，这种方法并不常规用于痘病毒的诊断。

**病毒培养。**不建议将病毒分离作为常规诊断程序，而只能在具有适当经验和防护设施的实验室中进行。由于这些方法不作为常规诊断的一部分推荐，因此本文件不包括这些方法的具体细节。

## 实验室结果的解释

MPXV 感染的确认应考虑临床和流行病学信息：使用 OPXV PCR 检测呈阳性，然后通过 PCR 和/或测序确认 MPXV，或疑似病例的 MPXV PCR 检测呈阳性说明确认 MPXV 感染。虽然最好进行 MPXV 特异性确认检测，但 OPXV PCR 阳性检测被认为足以进行疑似病例的实验室确认。各会员国被要求立即向世卫组织通知实验室确诊病例。

当尽管 PCR 结果阴性，但临床表现和流行病学提示 MPXV 感染，血清学检测可能有助于为流行病学目的进一步调查之前感染。许多因素可能导致假阴性结果，如标本质量差、错误的处理或运输方式，或检测固有的技术原因，例如 DNA 提取失败。

除了将测序用于诊断以外，基因序列数据(GSD)还可能提供有价值的信息，以帮助了解病毒的起源、流行病学和特征，例如：病例是来自单一输入还是来自其他地点的多重输入。建议在此阶段对来自不同患者的尽可能多的阳性标本进行 MPXV 测序。世卫组织强烈鼓励各国和实验室共享基因序列数据，包括通过现有的公共访问数据库尽可能地及时分享原始数据。基因序列数据可以使用 Sanger 或下一代测序(NGS)方法生成。

## 生物风险管理

建议在实验室中对来自疑似、可能或确诊猴痘病例的标本进行的所有操作都应按照基于风险的方法进行。每个实验室应进行本地（即机构）风险评估。在操作生物标本时，必须满足类似于以前称为生物安全 2 级的核心生物安全要求，并基于本地风险评估采取加强的控制措施。

MPXV 可能在标本处理阶段因材料受到污染或流程有缺陷而引发感染。因此，除核心要求外，还建议加强生物安全措施，包括为实现无病毒传播的临床试验采取以下措施：

- 在标本灭活之前，疑似 MPXV 感染患者的标本必须在功能良好的 I 级或 II 级生物安全柜中处理。适当灭活的标本不需要生物安全柜。
- 实验室人员应穿戴适当的个人防护装备，特别是在处理未灭活标本时。
- 如果一个程序需要使用离心机，则应使用安全杯或密封转子。

根据当地风险评估，应为具体程序（包括气溶胶形成程序）考虑额外控制措施。有关核心生物安全要求和加强控制措施的更多信息，请参阅世界卫生组织生物安全手册第四版(13)。

## 职业健康

各种含有牛痘病毒的天花疫苗对包括猴痘在内的其他 OPXV 提供交叉保护，因此国家卫生主管部门应进行风险评估，并考虑是否应要求卫生保健工作者（包括实验室人员以及其他有接触 MPXV 感染者或标本风险的工作人员）进行免疫接种(14)。在 2013 年，一种由改良牛痘安卡拉疫苗株（称为 MVA-BN）组成的非复制型疫苗被批准用于预防天花（于 1980 年宣布消灭）。2019 年，该疫苗还被两个严格的监管机构批准用于预防猴痘。也可考虑用这种疫苗在工作环境中预防猴痘。一种抗病毒疗法已被批准用于治疗天花和猴痘。将单独提供关于免疫接种和治疗的指导文件。

## 病例报告和检测结果

实验室应遵循国家的报告要求。所有检测结果，无论阳性或阴性，应立即报告给国家主管部门。提醒《国际卫生条例》（IHR）的缔约国，他们有义务使用 IHR（2005）(15)附件 1 的决策工具，向世卫组织分享相关于其通知世卫组织的事件的公共卫生信息。

## 全球实验室网络联系

对来自调查中病例的样本进行及时和准确的实验室检测是诊断和监测这种新发感染的基本组成部分。所有国家都应（在本国或通过转介到有意愿和能力进行 OPXV 或 MPXV 诊断的其他国家实验室）获得可靠的检测。世卫组织可以通过其区域办事处协助会员国经由转介获得检测。在适当和安全执行的情况下，在当地实验室进行样本灭活可能有助于转介并减轻物流方面的挑战。我们鼓励各国分享其序列数据，以便更好地了解当前疫情。美国疾病控制和预防中心是世卫组织天花和其他痘病毒感染合作中心（美利坚合众国），而俄罗斯联邦预算研究机构——国家病毒学和生物技术研究中心（VECTOR，俄罗斯联邦）是世卫组织正痘病毒诊断合作中心以及天花病毒毒株和 DNA 存储库。

## 过程和方法

本文件经与 OPXV 和其他实验室专门知识领域的全球外部专家协商后编写，并且咨询了整个世卫组织中具有实验室诊断、流行病学和临床管理专门知识的工作人员。本版本的指导意见包含了对该病毒的最新理解及其特征，并回答了来自世卫组织的国家和区域办事处以及其他渠道的问题。

## 局限性

鉴于目前世界多个地区的多国疫情（2022 年 5 月），本指导文件旨在为 MPXV 感染诊断提供临时建议。世卫组织将在必要时发布本临时指导文件的进一步更新。随着获得关于此次疫情流行病学的更具体信息，本指导文件将会进行更新。

## 更新计划

世卫组织与世界各地的专家合作，继续密切监测局势以发现可能影响这一临时指导文件的任何变化。世卫组织将发布进一步的更新。否则，本临时指导文件将在发布之日起一年后到期。

## 合作者

具有主题专门知识的外部贡献者：Lateefat Amao 尼日利亚疾病控制中心；Daniel Bailey 大不列颠及北爱尔兰联合王国英国卫生安全局；Meera Chand 英国卫生安全局；Francesca Colavita 意大利斯帕兰扎尼研究所；Anna Rosa Garbuglia 意大利斯帕兰扎尼研究所；Claire Gordon 英国卫生安全局；Susan Hopkins 英国卫生安全局；Marion Koopmans 荷兰伊拉斯谟医学中心；Rinat Maksyutov 俄罗斯联邦国家病毒学和生物技术研究中心（VECTOR）；Emmanuel Nakouné 中非共和国 Institut Pasteur Bangui；Andreas Nitsche 德国罗伯特·科赫研究所；Richard Njouom 喀麦隆巴斯德中心；Tommy Rampling 英国卫生安全局；Chantal Reusken 荷兰国立公共卫生和环境研究院（RIVM）；Jacqueline Weyer 南非国家传染病研究所。

外部协作者：Christina Hutson，美国疾控中心。

世卫组织总部和区域办事处贡献者：Yahaya Ali Ahmed、Amal Barakat、Lisa Carter、Sébastien Cognat、Belinda L Herring、Manish Kakkar、Kazunobu Kojima、Rosamund Lewis、Jairo Mendez-Rico、Karen Nahapetyan、Dhamari Naidoo、Bernard Onoja、Mark D Perkins、Jilian Sacks、Satoshi Shimada、Lorenzo Subissi、Maria Van Kerkhove、Karin Von Eije 和 Pushpa Wijesinghe。

## 利益申报

该网络中的专家填写了保密协议和利益申报。利益申报表经审查，未发现与为本指导文件提供支持相关的冲突。

## 参考文献

1. 世界卫生组织。猴痘的监测、病例调查和接触者追踪。可在此处访问：  
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/354486/WHO-MPX-Surveillance-2022.1-eng.pdf>
2. 世界卫生组织。管理流行病：有关重大致命疾病的关键事实。可在此处访问：  
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/272442>
3. 世界卫生组织。世卫组织关于传染性物质运输条例的指导文件 2021-2022 年[互联网]。可在此处访问：  
<https://www.who.int/publications/i/item/9789240019720>
4. McCollum AM, Damon IK. Human Monkeypox. *Clinical Infectious Diseases*. 2014 Jan 15;58(2):260–7.
5. Li Y, Zhao H, Wilkins K, Hughes C, Damon IK. Real-time PCR assays for the specific detection of monkeypox virus West African and Congo Basin strain DNA. *Journal of Virological Methods*. 2010 Oct;169(1):223–7.
6. Schroeder K, Nitsche A. Multicolour, multiplex real-time PCR assay for the detection of human-pathogenic poxviruses. *Molecular and Cellular Probes*. 2010 Apr;24(2):110–3.
7. Maksyutov RA, Gavrilova EV, Shchelkunov SN. Species-specific differentiation of variola, monkeypox, and varicella-zoster viruses by multiplex real-time PCR assay. *Journal of Virological Methods*. 2016 Oct;236:215–20.
8. Ropp SL, Jin Q, Knight JC, Massung RF, Esposito JJ. PCR strategy for identification and differentiation of small pox and other orthopoxviruses. *J Clin Microbiol*. 1995 Aug;33(8):2069–76.
9. Espy MJ, Cockerill III FR, Meyer RF, Bowen MD, Poland GA, Hadfield TL, et al. Detection of smallpox virus DNA by LightCycler PCR. *J Clin Microbiol*. 2002 Jun;40(6):1985–8.
10. Li D, Wilkins K, McCollum AM, Osadebe L, Kabamba J, Nguete B, et al. Evaluation of the GeneXpert for Human Monkeypox Diagnosis. *Am J Trop Med Hyg*. 2017 Feb 8;96(2):405–10.
11. Townsend MB, MacNeil A, Reynolds MG, Hughes CM, Olson VA, Damon IK, et al. Evaluation of the Tetracore Orthopox BioThreat® antigen detection assay using laboratory grown orthopoxviruses and rash illness clinical specimens. *Journal of Virological Methods*. 2013 Jan;187(1):37–42.
12. European Virus Archive. Monkeypox virus [Internet]. Available from: <https://www.european-virus-archive.com/search/node/monkeypox>
13. 世界卫生组织。《实验室生物安全手册》第 4 版[互联网]。2020 年。可在此处访问：  
<https://www.who.int/publications/i/item/9789240011311>
14. 世界卫生组织。免疫战略咨询专家组会议，2013 年 11 月——结论和建议[互联网]。可在此处访问：  
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/242164>
15. 世界卫生组织。《国际卫生条例（2005）》第三版。可在此处访问：  
<https://www.who.int/zh/publications/i/item/9789241580496>

## 附件 标本采集与储存

标本类型	采集材料	储存温度	采集目的
皮肤病变材料，包括： - 病变渗出物拭子 - 病变表层 - 病变结痂	含有病毒运输介质（VTM）的涤纶棉签或聚酯植绒棉签，或干棉签	在收集后 1 小时内冷藏（2-8°C）或冷冻（-20°C 或以下）；7 天后冷冻（-20°C 或以下）	建议用于诊断
口咽拭子	含有病毒运输介质（VTM）的涤纶棉签或聚酯植绒棉签，或干棉签	同上	如果可行，建议作为皮肤病变材料的补充用于诊断
直肠和/或生殖器拭子	含有病毒运输介质（VTM）的涤纶棉签或聚酯植绒棉签，或干棉签	同上	考虑用于研究（遵循道德指南）
尿液	无菌收集管	同上	考虑用于研究（遵循道德指南）
精液	无菌收集管	1 小时内室温储存  (之后-20°C 或以下)	考虑用于研究（遵循道德指南）
全血	含有 EDTA 的无菌收集管	同上	考虑用于研究（遵循道德指南）
血清	血清分离管	在收集后 1 小时内冷藏（2-8°C）或冷冻（-20°C 或以下）；7 天后冷冻（-20°C 或以下）	考虑用于血清学检测，以协助诊断或研究（遵循道德指南）
血浆	含有 EDTA 的无菌收集管	同上	考虑用于血清学检测，以协助诊断或研究（遵循道德指南）

© 世界卫生组织 2022 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/MPX/Laboratory/2022.1