

核酸和血清学指标结合,多类型标本联检,提高新型冠状病毒检出率

鲁彦¹,居军²,李德红²

1. 中国人民解放军 96604 部队医院检验科,甘肃兰州 730030;2. 甘肃省人民医院检验中心,甘肃兰州 730099

摘要:新型冠状病毒肺炎(COVID-19)是由新型冠状病毒(SARS-CoV-2)引起的传染性极强,主要经飞沫和接触传播,不排除通过气溶胶和消化道传播的急性传染病。COVID-19 有发热、咳嗽、呼吸急促等症状。反转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测 SARS-CoV-2 核酸是目前确诊 COVID-19 的重要方法,对判断病情严重程度、是否能出院和解除隔离有重要意义。不同类型标本和不同品牌试剂的核酸检测结果不完全一致。血清学检测 SARS-CoV-2 阳性率比较高,将核酸检测和血清学检测结合,可提高检出率。

关键词:新型冠状病毒肺炎; 核酸; 血清学; 检出率

中图法分类号:R511

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)09-1161-04



鲁彦

新型冠状病毒肺炎(COVID-19)是由新型冠状病毒(SARS-CoV-2)引起的传染性极强、主要经飞沫和接触传播、不排除气溶胶和消化道传播可能的急性传染病^[1-3]。COVID-19 临床特征表现有发热、干咳、乏力,少数患者伴有鼻塞、流涕、咽痛、肌痛和腹泻等症状。重症患者多在发病 1 周后出现呼吸困难和(或)低氧血症,严重者可快速发展为急性呼吸窘迫综合征、脓毒症休克、难以纠正的代谢性酸中毒和出凝血功能障碍及多器官功能衰竭^[1,3-6]。SARS-CoV-2 属于 β 属的新型冠状病毒,有包膜,颗粒呈圆形或椭圆形,常为多形性,直径 60~140 nm。SARS-CoV-2 基因组的长度为 29 881 nt(GenBank MN988668 和 MN988669,序列读取存档数据库 Bioproject 登录号 PRJNA601736)。系统发育分析表明,SARS-CoV-2 与蝙蝠冠状病毒 BtCoV/4991(GenBank KP876546)的部分 RdRp 基因的核苷酸同源性达 98.7%^[1,7-8]。SARS-CoV-2 基因特征与 2003 年严重急性呼吸综合征病毒(SARSr-CoV)和 2012 年的中东呼吸综合征冠状病毒(MERSr-CoV)有明显区别^[1]。确诊的患者和无症状隐性感染者是 SARS-CoV-2 的传染源^[3-4,9]。通过流行病学特征、临床特征、影像学特点,以及反转录聚合酶链反应(RT-PCR)或基因测序检测呼吸道分泌物、支气管灌洗液、血液或者粪便标本中 SARS-CoV-2 核酸是确诊 SARS-CoV-2 的主要依据^[4]。测定 SARS-CoV-2 核酸常用的方法有 RT-PCR、基因测序、恒温扩增等,最常用的仍然是 RT-PCR。不同品牌 RT-PCR 试剂检测 SARS-CoV-2 的灵敏度有区别,

不同类型标本检出率不一致,对临床症状明显、影像学特点符合 COVID-19,但核酸检测阴性患者,应增加标本种类、更换试剂品牌验证 SARS-CoV-2 是否为阳性。鉴于目前核酸检测有一定的漏诊率,建议将核酸检测和血清学检测结合起来、增加检测标本类型,采用不同品牌试剂盒检测,可提高检测的灵敏度,减少漏检率,达到控制传染源的目的。

1 核酸检测在 COVID-19 诊断和治疗中的意义重大

病毒的分离和培养是 SARS-CoV-2 检测的金标准。人体感染后 96 h 左右呼吸道上皮细胞内即可出现 SARS-CoV-2,但体外分离培养需要 6 d,且病毒的分离和培养对实验室要求较高,需要在 P4 实验室进行,绝大多数临床实验室达不到要求^[10]。因此,病毒培养虽然特异度高,但对于疾病的早发现、早报告、早隔离、早治疗意义不大。RT-PCR 是检测 SARS-CoV-2 核酸最重要的方法。目前,国内批准的 PCR 试剂盒扩增的靶区分别为 SARS-CoV-2 基因组中开放读码框 1a/b(ORF1ab)、包膜蛋白(E)和核衣壳蛋白(N),见图 1^[11]。有的试剂盒仅针对 ORF1ab 靶区(华大生物),有的试剂盒针对 ORF1ab、N 基因两个靶区(圣湘、达安基因),有的试剂盒针对 3 个靶区(ORF1ab、N 和 E 3 个区段,伯杰、捷诺、上海之江)。不同试剂盒的检测灵敏度有区别($10^2 \sim 10^3$ copy/mL),判读应严格按照试剂盒说明进行^[12]。CORMAN 等^[13]建议在常规工作流程中可将 E 基因检测作为一线筛选工具,RdRp 基因(位于 ORF1ab 靶区内)作为确诊工具,也可直接单独检测 RdRp 基因。E 基因检测灵敏度高达 3.2 RNA copy/反应(95%可信区间为 2.2~6.8 RNA copy/反应),RdRp 基因高达 3.7 RNA copy/反应(95%可信区间为 2.8~8.0 RNA

专家简介:鲁彦,男,博士,中国人民解放军第一医院检验科主任。主持完成国家自然科学基金项目 1 项,在研军队医学科技计划资助课题 1 项,主要参与省部级科研项目 6 项,获得甘肃省厅级科技进步奖 2 项。在 SCI 期刊发表论文 16 篇,在核心期刊发表论文 66 篇,其中第一作者和通信作者 71 篇,参编教材 2 部。《中华高血压杂志》《国际检验医学杂志》《检验医学与临床》《现代医药卫生杂志》编委,《兰州大学学报医学版》《医学研究杂志》评审专家。

copy/反应)。N 基因灵敏度稍弱^[13]。通过特异性的 RdRP-SARSr-P2 探针可以有效区分 SASrCoV, 有较高的特异度。通过确诊的 198 份标本验证, 未出现假阳性^[13]。CHU 等^[14]研究则表明检测临床标本 N 基因的灵敏度比 ORF1ab 基因高 10 倍, 可能的原因是临床标本中的细胞被病毒感染后的亚基因组 mRNA 表达, 导致样品中有更多的 N 基因拷贝。根据检测性能, 建议将 N 基因检测作为筛选试验, ORF1ab 基因检测作为确诊试验。N 基因阳性/ORF1ab 阴性结果应视为不确定, 建议将该标本转至 WHO 参考实验室进行进一步检测^[14]。总之, 对患者标本进行核酸检测的意义重大。

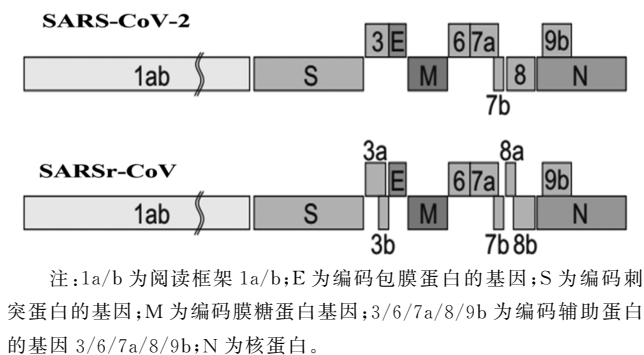


图 1 人类 SARS-CoV-2 和 SARSr-CoV 基因组示意图^[11]

1.1 核酸检测是确诊和鉴别诊断 SARS-CoV-2 的重要依据, 也是判断疗效的依据 核酸检测技术具有可早期诊断且灵敏度和特异度高等特点^[15]。从《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第一版)》到《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》, 均将呼吸道标本或血液标本中 RT-PCR 检测 SARS-CoV-2 核酸阳性作为重要的依据^[3]。测定 SARS-CoV-2 核酸是与流感病毒、腺病毒、呼吸道合胞病毒感染等其他病毒感染进行鉴别诊断的重要依据。经治疗后, 连续 2 次呼吸道病原体核酸检测阴性(间隔 ≥ 24 h)是解除隔离出院的重要依据^[4]。

1.2 判断病情严重程度 通过判断不同标本病毒检测结果可以判断感染范围。如咽拭子检测病毒核酸为阳性而支气管肺泡灌洗液检测病毒阴性, 提示病毒感染灶可能主要限于上呼吸道, 患者病情比较轻, 易康复^[16]。患者肺泡灌洗液中 SARS-CoV-2 核酸滴度高、持续高病毒载量时间长(1 周以上), 继发暴发性心肌炎、左室射血分数下降、心室扩大的可能性大。对下呼吸道持续高滴度病毒患者要警惕重症化, 特别应警惕病程早期病毒所致的暴发性心肌炎风险^[16]。血液中(血清或全血)检测 SARS-CoV-2 阳性提示患者病情较重, 应该引起足够重视^[17]。

2 不同种类标本和不同厂家 RT-PCR 试剂对 SARS-CoV-2 核酸检测结果不一致

2.1 不同类型标本 PCR 检测 SARS-CoV-2 核酸的结果不一致 PCR 方法灵敏度和特异度都比较高。

根据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[4], 呼吸道标本或血液标本均可用于检测 SARS-CoV-2, 但咽拭子、痰液、纤维支气管镜灌洗液、血液、肛门拭子、粪便标本 PCR 核酸检出率不一致^[17-19], 痰液标本、支气管镜灌洗液中病毒基因扩增曲线信号均比咽拭子强^[19-20]。上述研究提示, 在排除 COVID-19 病例或解除隔离时, 单独以咽拭子 SARS-CoV-2 核酸检测阴性为依据需谨慎, 必要时应当采集痰液等下呼吸道标本进行检测。上呼吸道标本存在漏诊的原因可能是 SARS-CoV-2 作用的靶点 ACE2 受体主要分布在肺泡 II 型上皮细胞^[21]。因此, 下呼吸道标本阳性率高于上呼吸道; 在留取上呼吸道的标本之前患者准备工作不到位(清理鼻腔、饮水等)也容易造成漏检^[21]。另一项研究表明, 荧光 PCR 检测 15 例确诊的 COVID-19 患者不同标本中的病毒核酸, 其中咽拭子阳性率为 53.3%, 肛拭子标本阳性率为 26.7%, 全血标本阳性率为 40.0%, 血清标本阳性率为 20.0%, 只有 2 例患者咽拭子和肛拭子标本均为阳性^[17], 进一步提示单独检测某一种类标本中的核酸将造成一定的漏检率。

2.2 不同品牌 PCR 试剂盒检出率有差异 有研究表明, 同一患者咽拭子标本采用 6 种不同品牌国产 PCR 试剂盒检测 SARS-CoV-2 结果有差异, 6 个品牌的试剂最低检测限为 500 copy/mL, 检测的基因均为 ORF1ab 和 N 基因, 其中 3 个品牌试剂检测不出 ORF1ab, 1 个品牌试剂检测不出 N 基因^[22]。同时, 不同品牌试剂批内变异系数有差异, 可能与不同品牌试剂盒引物设计不同、各位点检测灵敏度不同有关^[8]。因此, 对于有明显的临床症状和(或)符合 COVID-19 影像学表现, 但核酸检测阴性性的患者, 可以考虑更换不同品牌的试剂盒进行检测, 以增加检测的准确性, 减少漏诊。

3 血清学检测 SARS-CoV-2 感染阳性率比较高, 但需要进一步研究

有研究表明, 在感染 SARS-CoV-2 后第 5 天, IgM 和 IgG 阳性率分别为 81%、100%。抗体检测阳性率比核酸检测阳性率(咽拭子: 25.0%, 肛拭子: 37.5%)高^[17]。因此, 可以考虑动态监测病毒 IgM 或 IgG(4 倍增长), 作为核酸检测的补充手段。国家感染性疾病临床研究中心、深圳市第三人民医院(南方科技大学第二附属医院)、重庆医科大学联合博奥赛斯生物科技有限公司已研发出 SARS-CoV-2 血清学检测试剂盒, 通过验证发热 7~14 d 的 COVID-19 患者有较高的临床符合率(IgM 和 IgG 均为 96.6%)。达安基因、珠海银科等公司已研制出检测 SARS-CoV-2 的化学发光免疫检测试剂盒。甘肃省医学科学院李克生教授团队成功研发出 SARS-CoV-2 抗原金标检测试剂盒, 为 SARS-CoV-2 血清学检测奠定了技术基础。

血清学试剂盒最大的优势在于标本采集容易、标本处理和实验操作简单、测试时间短、速度快,适合于大样本量筛查。基于金标法、ELISA 法、化学发光法的血清学试剂盒各有优点。如金标法不需要特殊设备(甚至不需要离心机,将标本静置待血细胞自然沉降,血清析出就可以检测),单个标本即可检测,随时采血随时可以检测,检测的时间很短,20 min 内完成检测,成本比较低,对于基层实验室初步判断是否为 SARS-CoV-2 感染有一定的意义;缺点是灵敏度和特异度没有 ELISA 法和化学发光法高。ELISA 法灵敏度超过金标法,操作时间为 1~2 h,能够批量测试,成本低,检测速度快,适合在基层或大中型医院使用。

4 将核酸检测和血清学检测结合,提高检出率

鉴于目前 SARS-CoV-2 传染性比较强,早发现、早报告、早隔离、早治疗对于疾病的防控意义重大。核酸检测由于有一定的漏诊率,对 SARS-CoV-2 早发现、早隔离有一定的影响,因此,建议将血液标本抗体(抗原)检测加入相关的诊疗指南,以弥补 RT-PCR 核酸检测检出率比较低,容易造成漏诊的缺点。对于咽拭子 RT-PCR 核酸检测阴性拟作解除隔离出院的患者,可以考虑同时再采集痰液标本、肛拭子标本通过 RT-PCR 检测核酸,如均为阴性,再检测血清 IgM 抗体是否转阴,或者 IgG 抗体滴度是否不再增加,以作为核酸检测补充手段。

由于目前血清学检测 SARS-CoV-2 的研究报道非常少,因此,本文观点具有一定的局限性,有待后续全国血清学检测报道进行修订。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第五版)[EB/OL]. (2020-02-21)[2020-03-06]. <http://www.nhc.gov.cn/jkj/s3577/202002/a5d6f7b8c48c451c87dba14889b30147.shtml>.
- [2] KOCK R A, KARESH W B, VEAS F, et al. 2019-nCoV in context: lessons learned? [J/OL]. Lancet Planet Health, 2020(2020-02-06)[2020-03-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>.
- [3] 靳英辉, 蔡林, 程真顺, 等. 新型冠状病毒(2019-nCoV)感染的肺炎诊疗快速建议指南(标准版)[J/OL]. 解放军医学杂志, 2020(2020-02-02)[2020-03-03]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/11.1056.r.20200201.1338.003.html>.
- [4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)[EB/OL]. (2020-03-04)[2020-03-06]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [5] CHEN N, ZHOU M, DONG X, et al. Epidemiological and Clinical Characteristics of 99 Cases of 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Pneumonia in Wuhan, China[J]. Lancet, 2020, 395(10223):507-513.

- [6] DEY S K, RAHMAN M M, SIDDIQI U R, et al. Analyzing the epidemiological outbreak of COVID-19: a visual exploratory data analysis (EDA) approach[J/OL]. J Med Virol, 2020(2020-03-03)[2020-03-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>.
- [7] GORBALENYA A E, BAKER S C, BARIC R S, et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: the species and its viruses-a statement of the Coronavirus Study Group [J/OL]. BioRxiv, 2020(2020-02-11)[2020-03-04]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.07.937862v1>.
- [8] BENVENUTO D, GIOVANETTI M, SALEMI M, et al. The global spread of 2019-nCoV: a molecular evolutionary analysis[J]. Pathog Glob Health, 2020, 12:1-4.
- [9] CABRINI L, LANDONI G, ZANGRILLO A. Minimise nosocomial spread of 2019-nCoV when treating acute respiratory failure[J]. Lancet, 2020, 395(10225):685-692.
- [10] GRAHAM C W, DELA CRUZ C S, CAO B, et al. Novel Wuhan (2019-nCoV) Coronavirus[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2020, 201(4):7-8.
- [11] CERAULO C, GIORGI F M. Genomic variance of the 2019-nCoV coronavirus[J/OL]. J Med Virol, 2020(2020-02-06)[2020-03-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Genomic+variance+of+the+2019-nCoV+coronavirus>.
- [12] 国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心. 一文读懂新型冠状病毒的核酸检测[N/OL]. 中国医药报, 2020(2020-02-08)[2020-03-04]. <https://new.qq.com/omn/20200208/20200208A0529P00.html>.
- [13] 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.
- [14] 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(2020-01-31)[2020-03-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.
- [15] 郭晓波, 蒲京, 来春艳, 等. 新型冠状病毒与实时荧光 RT-PCR 核酸检测[J/OL]. 陕西医学杂志, 2020(2020-02-26)[2020-03-04]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/61.1104.R.20200225.1848.004.html>.
- [16] 刘映霞, 杨扬, 张聪, 等. 新型冠状病毒(2019-nCoV)感染患者肺损伤相关的临床及生化指标研究[J/OL]. 中国科学(生命科学), 2020(2020-02-12)[2020-03-04]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/11.5840.Q.20200212.0801.006.html>.
- [17] 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.
- [18] 李萍, 赵四林, 陈煜枫, 等. 2 例新型冠状病毒肺炎粪便 SARS-CoV-2 核酸阳性临床启示[J/OL]. 国际检验医学杂志, 2020(2020-02-13)[2020-03-04]. https://kns.cnki.net/kns/brief/default_result.aspx. (下转第 1165 页)

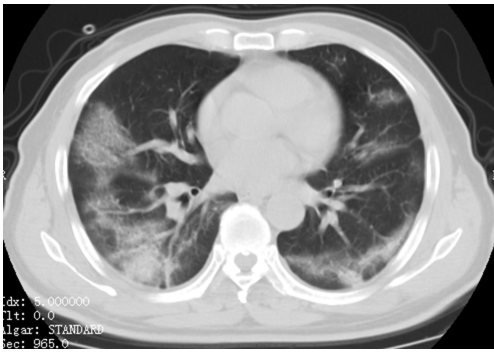


图 4 2020 年 2 月 5 日胸部 CT

2 讨论

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)以呼吸道飞沫和密切接触为主要传播途径^[1]。目前研究表明,可能还存在粪口途径传播^[2],本研究患者第 2 次粪便拭子核酸检测阳性提示该传播途径存在的可能。

COVID-19 胸部 CT 表现以磨玻璃密度影为基本征象,可分为早期、进展期、重症期及消散期。早期呈现多发小斑片影及间质改变,以肺外带明显,进而发展为双肺多发磨玻璃影,浸润严重者可出现肺实变,胸腔积液少见^[3-4]。本研究中患者首次胸部 CT 示右肺下叶磨玻璃密度影;3 d 后胸部 CT 示右肺下叶病变较前 1 次范围变大,右肺中叶外侧段出现新的磨玻璃密度影,符合进展期 COVID-19 改变;第 3 次胸部 CT 示右肺下叶病灶少部分吸收,其余肺病灶继续增多、增大,再结合病灶实变形成“空气支气管征”^[5-7]与小叶间隔增厚致“铺路石征”^[8-9]等典型表现,影像学考虑重症 COVID-19 可能性大。患者 5 次鼻咽拭子及第 1 次肛拭子和粪便拭子核酸检测均为阴性,考虑可能与标本采集方法不当、部位不准确、患者当时上呼吸道无病毒排出等情况有关。

本研究中该例 COVID-19 患者共住院治疗 10 d,5 次鼻咽拭子核酸检测阴性,肛门及粪便拭子核酸检测阴性各 1 次,给临床诊断和治疗带来较大的困难。因胸部 CT 影像学表现典型,有明确流行病学史,故临床通过反复取鼻咽拭子、肛门及粪便拭子进行核酸检测,最终确诊。提示如果将 1 次病毒核酸检测作为诊断的金标准,将会出现假阴性结果,导致漏诊,而影像学检查在核酸检测不能有效提供确诊信息的病例诊治中有着重要的指导意义,同时也强调了多种方法联

合诊断的重要性。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)[EB/OL]. (2020-02-18)[2020-03-05]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [2] 吴冰珊,俞婷婷,黄枝妙,等. 新型冠状病毒肺炎确诊病例粪便标本的病毒核酸检测[J/OL]. 中国人兽共患病学报, 2020(2020-02-27)[2020-03-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/35.1284.r.20200226.2213.003.html>.
- [3] 龚晓明,李航,宋璐,等. 新型冠状病毒肺炎(COVID-19) CT 表现初步探讨[J/OL]. 放射学实践, 2020(2020-02-18)[2020-02-20]. <https://doi.org/10.13609/j.cnki.1000-0313.2020.03.002>.
- [4] 梁琪. 新型冠状病毒肺炎影像学检查、诊断及医院内感染预防与控制:湖南省放射学专家共识[J/OL]. 中南大学学报(医学版), 2020(2020-02-19)[2020-03-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/43.1427.r.20200218.0950.002.html>.
- [5] HUANG P, LIU T, HUANG L, et al. Use of chest CT in combination with negative RT-PCR assay for the 2019 novel coronavirus but high clinical suspicion[J]. Radiology, 2012;2000330.
- [6] 刘发明,丁惠玲,龚晓明,等. 新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的胸部 CT 表现与临床特点[J/OL]. 放射学实践, 2020(2020-02-18)[2020-03-05]. <https://doi.org/10.13609/j.cnki.1000-0313.2020.03.001>.
- [7] 史河水,韩小雨,樊艳青,等. 新型冠状病毒(2019-nCoV)感染的肺炎临床特征及影像学表现[J/OL]. 临床放射学杂志, 2020(2020-02-06)[2020-03-05]. <https://doi.org/10.13437/j.cnki.jcr.20200206.002>.
- [8] 靳英辉,蔡林,程真顺,等. 新型冠状病毒(2019-nCoV)感染的肺炎诊疗快速建议指南(标准版)[J/OL]. 解放军医学杂志, 2020(2020-02-02)[2020-03-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1056.r.20200201.1338.003.html>.
- [9] 郑颖彦,马昕,王慧英,等. 新型冠状病毒肺炎的 CT 征象[J/OL]. 上海医学, 2020(2020-02-10)[2020-03-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1366.r.20200209.1042.002.html>.

(收稿日期:2020-03-07 修回日期:2020-03-22)

(上接第 1163 页)

- [19] 陈炜,张春阳,朱颖,等. 4 例新型冠状病毒感染病例咽拭子与痰液标本病毒核酸检测的比较[J/OL]. 中国人兽共患病学报, 2020(2020-02-12)[2020-03-04]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/35.1284.R.20200211.2118.002.html>.
- [20] 施绍瑞,聂滨,郭渝,等. 新型冠状病毒肺炎病例多种生物样本的病毒核酸检测结果[J/OL]. 华西医学, 2020(2020-02-18)[2020-03-04]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?dbcode=CJFQ & dbname=CJFDAUTO & filename=HXYY20200202 & v=MTk3MzR6aFdyckJM-VFhTZHJHNEhOSE1yWTIGWm9SOGVYMUxleFITN>

0RoMVQzcVRyV00xRnJDVVI3cWZaT1pxRnk=.

- [21] 王凌航. 新型冠状病毒感染的特征及应对[J/OL]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2020(2020-02-13)[2020-03-01]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/11.9284.r.20200212.1113.002.html>.
- [22] 郭元元,王昆,张宇,等. 6 种国产新型冠状病毒核酸检测试剂检测性能比较与分析[J/OL]. 重庆医学, 2020(2020-02-12)[2020-03-04]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.r.20200212.0900.006.html>.

(收稿日期:2020-03-10 修回日期:2020-03-22)