

新型冠状病毒肺炎患者多类型样本 SARS-CoV-2 核酸检测在临床诊疗中的意义

杜伟平¹, 陈延平¹, 阳 央², 冯 智³, 王 东³, 刘 蓉³, 侯 欢³, 安 旭³, 李芳芹¹

(1. 延安大学附属医院, 陕西延安 716000; 2. 延安大学医学院, 陕西延安 716000; 3. 延安市第二人民医院, 陕西延安 716000)

摘要: **目的** 探讨不同类型样本新冠核酸检测结果在新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 临床诊治和疫情防控中的意义。**方法** 选取 2020 年 1 月 23 日~2 月 22 日延安大学附属医院确诊的 5 例 COVID-19 患者, 采集不同部位标本进行核酸检测, 并进行统计学分析。**结果** 采集的 123 例标本严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2) 核酸检测结果表明, 咽拭子 25 例, 阳性率 44.0% (11/25); 鼻拭子 40 例, 阳性率 25.0% (10/40); 肛拭子 40 例, 阳性率 70.0% (28/40); 18 例血标本核酸检测均阴性, 5 例患者符合出院标准时粪便核酸检测均阳性。截止 3 月 5 日对 5 例患者出院后追踪发现, 出院 2 周或更长时间粪便 SARS-CoV-2 核酸仍阳性。**结论** 多样本新冠核酸检测对于新冠感染患者的确诊有重要价值; 患者治愈出院后应加强随访、教育和复查, 做好排泄物的管理, 有利于巩固疫情防控效果, 减少接触感染的发生。

关键词: 新型冠状病毒肺炎 (COVID-19); 多样本; 严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2); 逆转录酶-聚合酶链锁反应 (RT-PCR)

中图分类号: R373.1; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 03-087-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.03.022

Clinical Significance of Detection of SARS-CoV-2 Nucleic Acid in Patients with COVID-19

DU Wei-ping¹, CHEN Yan-ping¹, YANG Yang², FENG Zhi³, WANG Dong³, LIU Rong³,
HOU Huan³, AN Xu³, LI Fang-qin¹

(1. the Affiliated Hospital of Yan'an University, Shaanxi Yan'an 716000, China; 2. Medical College of Yan'an University, Shaanxi Yan'an 716000, China; 3. the Second People's Hospital of Yan'an City, Shaanxi Yan'an 716000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the significance of the detection results of different types of samples in the clinical diagnosis and treatment of new coronavirus pneumonia (COVID-19) and the prevention and control of epidemic situation. **Methods** From January 23, 2020 to February 22, 2020, 5 patients with COVID-19 were selected from the Affiliated Hospital of Yan'an University to collect samples from different parts for nucleic acid detection and statistical analysis. **Results** The results showed that 25 throat swabs were positive in 44.0% (11 / 25), 40 nose swabs were positive in 25.0% (10 / 40), 40 anal swabs were positive in 70.0% (28 / 40). 18 blood samples were negative in nucleic acid test, and 5 patients were positive in fecal nucleic acid test when they met the discharge standard. As of March 5, 5 patients were found to be positive for COV-2 nucleic acid in stool for 2 weeks or longer after discharge. **Conclusion** The detection of different kinds of new crown nucleic acid has important value for the diagnosis of new crown infection. The patients should strengthen follow-up, education and reexamination after cure and discharge, and manage excreta well, which is helpful to consolidate the effect of epidemic prevention and control and reduce the occurrence of contact infection.

Keywords: COVID-19; diversity; SARS-CoV-2; RT-PCR

新型冠状病毒肺炎 (corona virus disease 2019, COVID-19) 简称新冠肺炎, 研究证实该病是由严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 引起的一种急性传染病^[1]。自 2019 年 12 月湖北省

武汉市报道首例感染 SARS-CoV-2 以来, 截止 2020 年 4 月 15 日, 在我国境内已累计确诊 83 797 例, 死亡 3 352 例。在中国以外国家已累计确诊 1 831 171 例, 死亡 119 658 例, 出现了全球性暴发。新冠肺炎主要经呼吸道传播, 表现出极强的传染力。试行

基金项目: 延安市重点科研计划 (SL2020ZCSY-002); 延安大学科研计划 (YDKYYJ04)。

作者简介: 杜伟平 (1985-), 男, 硕士, 主管检验师, 研究方向: 基因多态性与疾病, E-mail: 724411083@qq.com。

通讯作者: 李芳芹 (1963-), 女, 本科, 主任检验师, 研究方向: 病原微生物快速诊断, E-mail: 1694092353@qq.com。

第七版诊疗方案指出^[6], 目前所见传染源主要是新型冠状病毒感染的患者, 无症状感染者也可能成为传染源。此外, 经呼吸道飞沫和密切接触传播是主要的传播途径, 在相对封闭的环境中长时间暴露于高浓度气溶胶情况下存在经气溶胶传播的可能。由于在粪便及尿中可分离到新型冠状病毒, 应该注意粪便及尿液对环境污染造成气溶胶或接触传播。本文探讨各种类型临床标本核酸检测结果, 为临床 SARS-CoV-2 核酸检测标本选择及疫情防控提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2020 年 1 月 23 日~2 月 22 日在延安大学附属医院确诊, 在延安市第二人民医院住院治疗的 5 例确诊患者为研究对象。5 例新冠肺炎患者男女比例为 4:1, 年龄范围在 18~60 岁。患者中 4 例有武汉旅居史, 1 例有密切接触史。从初次发热门诊就诊到确诊病程为 1~10 天, 4 例患者有发热、乏力表现。

1.2 仪器与试剂 SARS-CoV-2 核酸检测采取 RT-PCR 法, 试剂及阴阳性对照均由广州中山大学达安基因有限责任公司提供。全自动核酸提取仪来自西安天隆, SLAN-96S 荧光 PCR 仪来自上海宏石。

1.3 方法 采用回顾性研究方法, 对延安市第二人民医院收治的 5 例新冠肺炎患者的基本资料、流行病学史、临床表现、实验室常规检验结果和多样本 SARS-CoV-2 核酸检测结果进行分析。

1.4 统计学分析 采用 SPSS20.0 统计软件进行处理, 阳性率统计学分析采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者基本情况比较 患者临床表现发热和乏力明显, 患者均有疫区逗留史或密切接触史。通过检测患者血细胞检测、C-反应蛋白 (CRP)、红细胞沉降率 (ESR) 和肝酶发现: 中老年患者血细胞检测淋巴细胞计数下降更明显, ESR 均异常, 肝酶水平增高。通过对患者病程分析发现: 中老年患者病程长于青年。

2.2 新冠肺炎患者各类临床标本 SARS-CoV-2 核酸检测结果 共采集各类型样本 123 例, 其中咽拭子 25 例, 阳性 11 例, 阳性率 44.0%; 鼻拭子 40 例, 阳性 10 例, 阳性率 25.0%; 肛拭子 40 例, 阳性 28 例, 阳性率 70.0%, 血清标本 18 例均阴性, 阳性率 0.0%。与肛拭子相比, 其它样本类型的阳性率差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.3 新冠肺炎患者入院一周内及出院一周内各类型标本 SARS-CoV-2 核酸检测结果 入院一周内共采集各类型样本 29 例, 其中肛拭子 6 例, 阳性 5 例,

阳性率 83.3%; 其它样本 23 例, 阳性 14 例, 阳性率 60.9%; 出院一周共采集各类型样本 15 例, 其中肛拭子 5 例, 阳性 4 例, 阳性率 80.0%; 其它样本 10 例, 阳性 0 例, 阳性率 0.0%。出院一周与入院一周各类型样本阳性率比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

新型冠状病毒肺炎由于主要通过呼吸道传播, 全球范围内的确诊患者不断增多, 根据对本地患者基本情况和治疗过程的监测发现, 本地区确诊患者流行病学显示均有明确的疫区居住、逗留或密切接触史, 所以对疫区来的人员和密切接触者要进行规范隔离和排查以发现潜在的传染源, 切断传播途径, 减少感染者。感染性疾病实验室基本检测项目血细胞检测发现多数患者入院时淋巴细胞计数出现明显减少或接近于参考范围下限, 中老年患者血细胞检测淋巴细胞计数下降更明显, ESR 均异常, 肝酶水平增高。通过对患者病程分析发现, 中老年患者病程长于青年, 这与患者的免疫状态密切相关, 随着年龄的增长, 免疫力出现下降是中老年患者病情多变、表现明显的主要原因。

根据疫情以来发布的历次诊疗方案中均强调核酸检测是新冠感染的重要依据, RT-PCR 检测技术是目前用于新冠核酸检测的主要方法, 根据检测结果也发现 SARS-CoV-2 核酸检测确诊 COVID-19 存在阳性率偏低的现象。有超过半数以上的患者要通过多次检测才能确证。影响阳性率的因素是多方面的, 从标本的采集和运输、患者状况、核酸检测试剂、实验操作等^[2-5,7]。因此要保证结果的准确度一定需要做到规范采样, 严格控制运输条件, 合理选择采样时间, 采购质量过关的试剂, 并严格按照检测规范进行操作检测, 严格室内质量控制, 入院后患者多类型样本核酸检测发现在整个病程过程中, 患者血液中核酸检测结果均为阴性, 因此对于疑似新冠患者诊治时不能单独仅进行血液核酸检测。部分患者初期咽拭子阳性率高于鼻拭子, 而也有患者鼻拭子阳性高于咽拭子, 因此对于患者早期采样应鼻咽拭子同时采集。在病程全过程, 包括出院后一直存在肛拭子阳性的情况存在。因此在病程初期建议同时采集鼻拭子和咽拭子进行检测, 而对于高度怀疑的人群在鼻咽拭子核酸检测阴性情况下建议采集肛拭子进行检测。肛拭子标本的阳性检出率明显高于鼻、咽拭子, 研究证实血管紧张素转换酶 II (ACE2) 是 SARS-CoV-2 的功能性受体, 有研究发现 ACE2 在回肠和结肠的表达高于在肺, 这表明消化系统存在高载量的病毒, 这也可能正是肛拭子核酸检测阳性率高于其它样本的原因。另外, 阳性

转阴的过程当中,从双标阳性转为单标阳性,再到阴性。本研究还检测了患者的18例血标本核酸检测均阴性,但关于SARS-CoV-2是否能通过血液传播没有明确的证据,国家最新发布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[6]强调在相对封闭的环境中长时间暴露于高浓度气溶胶情况下,存在经气溶胶传播的可能,因此对于实验室工作人员需要高度重视气溶胶传播的风险。目前的研究表明呼吸道和密切接触传播是主要的传播途径,而在粪便和尿液中分离出了新冠病毒,也应对患者的粪便和尿液进行严格管控,防止出现接触感染和由此导致的环境污染。本研究发现符合国家诊疗指南出院要求的患者还存在出院后较长时间肛拭子检测阳性的情况存在。这也表明病毒可能存在更长时间经消化系统排泄的可能,国内近期已有多个报道从新冠肺炎患者粪便中检测到SARS-CoV-2核酸^[8-9],钟南山院士团队和李兰娟院士团队均从新冠肺炎患者的粪便拭子中分离到活的新型冠状病毒,因此对于患者、接触者,甚至普通民众都应做好手卫生,保持下水道的通畅,避免有可能出现的粪-口传播和接触传播。

综上所述,新冠肺炎患者由于自身个体差异在感染初期处在不同的临床表现,但是早期的鉴别诊断及核酸检测意义重大,对于高度疑似患者应进行多样本新冠核酸检测,尤其是对于临床症状明显感染时,应进行多次鼻咽拭子核酸检测,以免漏诊而造成较大范围的带毒传播。研究发现肛拭子核酸检出较上呼吸道有滞后现象,且经粪便持续排泄时间长,应适当延长住院时间,同时强化出院后患者密切追踪随访,多次进行复检,可能更有利于巩固疫情防控成果,避免复发或接触传播,将有助于更有效疫情控制。

参考文献:

- [1] WHO Director-General's remarks at the media briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020[C].2020-02-11. http://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-remarks-at-the-media-briefing-on-2019-ncov-on-11-february-2020?fbclid=IwAR3ZwwW_arNeH2eifar_ZKvOIxw2LH9Dc7KXdwFI_Fx4qpDKKE_u9qXpSHo.
- [2] 王成彬. 核酸检测用于确诊新型冠状病毒肺炎阳性率低的原因分析[J/OL]. 中华医学杂志,2020,100(13):961-964.
WANG Chengbin. Analysis of low positive rate of nucleic acid detection method used for diagnosis for novel coronavirus pneumonia [J]. National Medical Journal of China, 2020,100(13):961-964.
- [3] 莫茜,秦炜,傅启华,等. 正确认识新型冠状病毒核酸检测的影响因素[J]. 中华检验医学杂志,2020,43(3):213-216.
- [4] 童永清,汪明,徐万洲,等. 新型冠状病毒核酸检测临床实验室操作规范的建议[J/OL]. 中华检验医学杂志,2020,43(3):209-212.
TONG Yongqing, WANG Ming, XU Wanzhou, et al. Proposal for detection of 2019-nCoV nucleic acid in clinical Laboratories [J/OL]. Chin J Lab Med, 2020,43(3):209-212.
- [5] 中华医学会检验医学分会. 2019新型冠状病毒病毒核酸检测专家共识[J/OL]. 中华医学杂志,2020,100(13):968-973.
Chinese Medical Association Laboratory Medicine Branch. Expert consensus on nucleic acid detection of new coronavirus pneumonia virus [J/OL]. National Medical Journal of China, 2020,100(13):968-973.
- [6] 国家卫生健康委员会办公厅. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)[EB/OL].(2020-03-03)<http://www.nhc.gov.cn/yzygi/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
Office of the National Health Council. Diagnosis and Treatment of Pneumonia with New Coronavirus Infection (Trial Version 7) [EB/OL].(2020-03-03) <http://www.nhc.gov.cn/yzygi/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [7] 张瑞,李金明. 如何减少新型冠状病毒核酸检测的看看“假阴性”[J]. 中华医学杂志,2020,100(11):801-804.
ZHANG Rui, LI Jinming. The way to reduce the “false negative results” of 2019 novel coronavirus nucleic acid detection [J/OL]. Natl Med J China, 2020,100(11):801-804.
- [8] 任彬彬,陈海君,张德和,等. 新型冠状病毒肺炎恢复期咽拭子核酸检测阴性但粪便检测阳性三例分析[J]. 中华临床感染病杂志,2020,13(1):33-35,38.
REN Binbin, CHEN Haijun, ZHANG Dehe, et al. Three cases of COVID-19 with viral nucleic acid negative in pharynx swab and positive in stool specimens during recovery period [J]. Chinese Journal of Clinical Infectious Diseases, 2020,13(1):33-35,38.
- [9] 杨智炜,李干文,戴小灵,等. 新型冠状病毒肺炎咽拭子核酸检测转阴但粪便核酸检测仍阳性三例[J]. 中华消化杂志,2020,40(2):77-79.
YANG Zhiwei, LI Ganwen, DAI Xiaoling, et al. Three cases of novel coronavirus pneumonia with viral nucleic acids still positive in stool after throat swab detection turned negative[J]. Chinese Journal of Digestion, 2020,40(2):77-79.

收稿日期: 2020-04-21

修回日期: 2020-05-11