

江苏省扬州市新型冠状病毒肺炎患者核酸检测结果分析

董玉颖¹, 范前东², 王月萍³, 李玉来⁴, 夏俊鹏¹,
姚静⁵, 张军¹, 徐勤¹, 王艳¹

(1. 江苏省扬州市疾病预防控制中心, 江苏 扬州, 225000;

2. 江苏省扬州市邗江区疾控中心, 江苏 扬州, 225100; 3. 江苏省扬州市江都区疾控中心, 江苏 扬州, 225200;

4. 江苏省扬州市宝应县疾控中心, 江苏 扬州, 225800; 5. 江苏省扬州市广陵区疾控中心, 江苏 扬州, 225000)

摘要:目的 分析江苏省扬州市报告的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)确诊病例和无症状感染者的核酸检测结果。方法 对 COVID-19 确诊病例和无症状感染者进行随访,连续 6 周采集咽拭子进行病毒核酸检测。结果 暴露后第 2、3、4 周的病毒核酸检测结果显示, COVID-19 确诊病例阳性率为 100.00%、61.54%、8.33%, 平均核酸检测阳性时间为(24.08 ± 1.17) d, 无症状感染者阳性率依次为 100.00%、66.67%、20.00%, 平均核酸检测阳性时间为(25.21 ± 1.28) d, 差异无统计学意义($P=0.42$)。确诊病例暴露后第 2、3 周核酸检测新型冠状病毒 ORF1ab 基因平均循环阈值(Ct 值)为(31.56 ± 4.98)、(34.26 ± 3.16), N 基因平均 Ct 值为(30.88 ± 4.82)、(34.40 ± 2.86), 差异均无统计学意义($P=0.25, 0.15$)。从第 4 周开始,因咽拭子的核酸检测阳性例数较少($n \leq 1$),未参与统计。无症状感染者暴露后第 2、3、4 周核酸检测新型冠状病毒 ORF1ab 基因平均 Ct 值为(31.01 ± 3.68)、(32.64 ± 3.74)、(29.05 ± 2.96), N 基因平均 Ct 值为(31.37 ± 3.62)、(32.9 ± 3.51)、(28.40 ± 4.19), 差异均无统计学意义($P=0.23, 0.12$)。从第 5 周开始,因咽拭子的核酸检测阳性例数较少($n \leq 1$),不参与统计。确诊病例和无症状感染者中均有 1 例病例咽拭子核酸检测复检阳性。结论 确诊病例和无症状感染者暴露后,第 2 周内呼吸道标本阳性检出率高,2 组核酸检测阳性时间无显著差异,确诊病例和无症状感染者咽拭子标本连续 2 次核酸检测阴性存在复检阳性风险。

关键词: 新型冠状病毒肺炎; 核酸检测; 循环阈值; 无症状感染者

中图分类号: R 563.1 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2020)05-006-04 DOI: 10.7619/jcmp.202005002

Analysis in nucleic acid test results of patients with coronavirus disease 2019 in Yangzhou City of Jiangsu Province

DONG Yuying¹, FAN Qiandong², WANG Yueping³, LI Yulai⁴, XIA Junpeng¹,
YAO Jing⁵, ZHANG Jun¹, XU Qin¹, WANG Yan¹

(1. Yangzhou Center for Disease Control and Prevention, Yangzhou, Jiangsu, 225000;

2. The Hanjiang District Center for Disease Control and Prevention in Yangzhou City, Yangzhou, Jiangsu, 225100;

3. The Jiangdu District Center for Disease Control and Prevention in Yangzhou City, Yangzhou, Jiangsu, 225200;

4. Baoying County Center for Disease Control and Prevention in Yangzhou City, Yangzhou, Jiangsu, 225800;

5. The Guangling District Center for Disease Control and Prevention in Yangzhou City, Yangzhou, Jiangsu, 225000)

ABSTRACT: Objective To analyze the nucleic acid test results of confirmed cases with coronavirus disease 2019 (COVID-19) and asymptomatic infection cases reported by Yangzhou government. **Methods** The confirmed COVID-19 cases and asymptomatic infection cases were followed up continuously, and their pharyngeal swab specimens were collected during 6 weeks for virus nucleic acid detection. **Results** The results of virus nucleic acid test in the second, third and fourth weeks after exposure showed that the positive rates of confirmed COVID-19 cases were 100.00%, 61.54% and 8.33% respectively, and the average positive time of nucleic acid test was (24.08 ± 1.17) d, while the positive rates of asymptomatic infection cases at the same time points were 100.00%, 66.67% and 20.00% respectively, and the average positive time of nucleic acid test was (25.21 ± 1.28) d. There were no significant differences between two groups ($P=0.42$). At second and third weeks after exposure, the average values of circulation threshold (Ct) of novel coronavirus ORF1ab gene in confirmed

COVID-19 cases were (31.56 ± 4.98) and (34.26 ± 3.16), the average Ct values of the N gene were (30.88 ± 4.82) and (34.40 ± 2.86) respectively, and there were no significant differences ($P = 0.25, 0.15$). Since the 4th week, the number of positive cases for collection of pharyngeal swab specimen was less ($n \leq 1$), so they did not participate in the statistics. At second, third and fourth weeks after exposure, the average values of Ct of novel coronavirus ORF1ab gene in asymptomatic infection cases were (31.01 ± 3.68), (32.64 ± 3.74) and (29.05 ± 2.96), the average Ct values of the N gene were (31.37 ± 3.62), (32.90 ± 3.51) and (28.40 ± 4.19) respectively, and there were no significant differences ($P = 0.23, 0.12$). Since the 4th week, the number of positive cases for collection of pharyngeal swab specimen was less ($n \leq 1$), so they did not participate in the statistics. Since the 5th week, the number of positive cases for collection of pharyngeal swab specimen was less ($n \leq 1$), so they did not participate in the statistics. There was one case with negative to positive result of pharyngeal nucleic acid in both confirmed COVID-19 cases and asymptomatic infection cases. **Conclusion** The positive rate of respiratory tract samples is high in the second week after the exposure in both confirmed COVID-19 cases and asymptomatic infection cases. There is no significant difference in the positive time of nucleic acid test between the two groups. There is a risk of reoccurrence of positive result of pharyngeal swab specimen in confirmed COVID-19 cases and asymptomatic infection cases after two negative results.

KEY WORDS: coronavirus disease 2019; nucleic acid test; circulation threshold; asymptomatic infection cases

2019年12月以来,湖北省发现不明原因的肺炎病例^[1],对从患者体内分离出的病毒经基因组测序后,确定该病原体为一种新型冠状病毒^[2],中华人民共和国国家卫生健康委员会将该病毒感染引起的肺炎命名为新型冠状病毒肺炎(COVID-19)。COVID-19可通过呼吸道飞沫、接触和长时间暴露于高浓度气溶胶情况下,在人与人之间造成大量传播^[3],疫情迅速扩散,已经出现全球蔓延的趋势。呼吸道传播是COVID-19最主要的传播途径。本研究对江苏省扬州市2020年1—2月报告的COVID-19确诊病例和无症状感染者进行连续采样,分析病例呼吸道标本新型冠状病毒核酸检测结果,以期为本地区COVID-19的防控提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1—2月扬州市报告的COVID-19确诊病例和无症状感染者,其中有流行病学史、出现相关临床表现且实时荧光RT-PCR检测新型冠状病毒核酸阳性定义为确诊病例;无临床症状、呼吸道等标本新型冠状病毒核酸阳性定义为无症状感染者。诊断标准依据国家卫生健康委员会发布的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》^[4]。

1.2 方法

对2020年1—2月扬州市报告的COVID-19确诊病例和无症状感染者进行随访,通过连续6周对新型冠状病毒核酸检测阳性的病例进行采样,收集研究对象的基本资料、临床表现及诊疗和用药情况。采集病例的上呼吸道标本,主要为咽拭子,采集咽拭子具有快捷、方便、无创、阳性率高、依从性好等特点。所有样本采集后,于8h内送至实验室,在24h内完成核酸检测。

1.3 主要试剂和仪器

采用上海伯杰医疗科技有限公司生产的2019新型冠状病毒(ORF1ab/N基因)核酸检测试剂盒(双重荧光PCR法),使用上海伯杰医疗科技有限公司提供的全自动核酸提取仪,美国ABI公司提供的Q7型实时荧光定量PCR仪进行检测。

1.4 统计学分析

应用WPS 2010整理数据,利用R3.3.1进行统计分析。率的比较采用卡方检验,2组间定量资料的比较采用 t 检验或秩和检验,3组间定量资料的比较采用方差分析。利用Kaplan-Meier法估算病例的阳性率^[5-7],利用Log-rank检验比较组间病毒阳性率的差异。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。结局定义为随访期内研究对象咽拭子的核酸检测至少连续2次均为阴性,截尾定义为随访期内研究

对象咽拭子的核酸检测一直为阳性。

2 结果

2.1 COVID-19 患者一般情况

2020 年 1—2 月,扬州市分别报告 COVID-19 确诊病例、无症状感染者为 23 例、14 例。23 例确诊病例中,男 10 例,女 13 例,男、女性别比为 0.77:1;年龄 22~71 岁,平均(49.65±13.08)岁;14 例有糖尿病、高血压、心脑血管疾病、甲状腺功能减退症等既往病史。14 例无症状感染者中,男 7 例,女 7 例,男、女性别比为 1:1;年龄 1~74 岁,平均(38.64±20.83)岁;6 例有糖尿病、高血压、慢性消化系统疾病、肿瘤等既往病史。确诊病例和无症状感染者一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 COVID-19 病例暴露后核酸检测阳性率

因确诊病例中有 11 例无法明确暴露时间,故共有 12 例 COVID-19 确诊病例和 14 例无症状感染者纳入本次分析。确诊病例和无症状感染者暴露后第 1 周内均未采集标本,确诊病例和无症状感染者第一次咽拭子标本采集时间分别为暴露后第 8 天和第 9 天。

确诊病例暴露后第 2、3、4 周咽拭子的核酸检测阳性率依次为 100.00%、61.54%、8.33%,第 5、6、7 周阳性率降为 0;无症状感染者暴露后第 2、3、4、5、6 周咽拭子的核酸检测阳性率依次为 100.00%、66.67%、20.00%、5.88%、10.00%,第

7 周降为 0。应用趋势性卡方分析发现,随着时间的增加,确诊病例和无症状感染者的咽拭子病毒阳性率呈显著下降趋势($\chi^2 = 27.44、26.11$, $P<0.01$)。对确诊病例和无症状感染者暴露后的病毒阳性率分布进行秩和检验,差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.3 COVID-19 病例暴露后核酸检测循环阈值(Ct 值)

确诊病例暴露后第 2、3 周核酸检测新型冠状病毒 ORF1ab 基因平均 Ct 值为(31.56±4.98)、(34.26±3.16),N 基因平均 Ct 值为(30.88±4.82)、(34.40±2.86),使用 t 检验对第 2、3 周 2 个基因平均 Ct 值进行分析,差异均无统计学意义($t = -1.24、-1.69$, $P = 0.25、0.15$)。从第 4 周开始,因咽拭子的核酸检测阳性例数较少($n \leq 1$),未参与统计。

无症状感染者暴露后第 2、3、4 周核酸检测新型冠状病毒 ORF1ab 基因平均 Ct 值为(31.01±3.68)、(32.64±3.74)、(29.05±2.96),N 基因平均 Ct 值为(31.37±3.62)、(32.90±3.51)、(28.40±4.19),使用方差分析对第 2、3、4 周 2 个基因平均 Ct 值进行分析,差异均无统计学意义($F = 1.58、2.31$, $P = 0.23、0.12$)。从第 5 周开始,因咽拭子的核酸检测阳性例数较少($n \leq 1$),不参与统计。确诊病例和无症状感染者暴露后核酸检测 Ct 值见表 1。

表 1 确诊病例组与无症状感染者组暴露后核酸检测 Ct 值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	ORF1ab 基因			N 基因		
	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
确诊病例组	31.56±4.98	34.26±3.16	-	30.88±4.82	34.40±2.86	-
无症状感染者组	31.01±3.68	32.64±3.74	29.05±2.96	31.37±3.62	32.90±3.51	28.40±4.19

2.4 COVID-19 病例核酸检测阳性时间的分析

确诊病例的核酸检测阳性时间为(24.08±1.17) d,95% CI 为 21.79~26.38;无症状感染者为(25.21±1.28) d,95% CI 为 22.71~27.72。所有病例的核酸检测阳性时间为(24.69±0.86) d,95% CI 为 23.00~26.39。对确诊病例和无症状感染者的阳性时间进行 Log-rank 检验,结果显示 2 组差异无统计学意义($\chi^2 = 0.64$, $P = 0.42$)。

2.5 COVID-19 病例呼吸道标本核酸检测

复检阳性情况

23 例确诊病例中,1 例 41 岁男性患者连续

2 次咽拭子新型冠状病毒核酸检测阴性后,在初次检测阴性后的第 14 天复检阳性,复检阳性咽拭子核酸检测 ORF1ab 基因和 N 基因的 Ct 值分别为 38.20 和 38.00,该例患者有确诊病例接触史。

14 例无症状感染者中,1 例 73 岁男性患者连续 2 次咽拭子新型冠状病毒核酸检测阴性后,在初次检测阴性后的第 13 天复检阳性,咽拭子核酸检测 ORF1ab 基因和 N 基因的 Ct 值分别为 31.40 和 31.90,该例患者是确诊病例中复检阳性病例的密切接触者。2 例患者复检阳性时均无临床表现。

3 讨论

本研究对扬州市2020年1—2月报告的23例COVID-19确诊病例和14例无症状感染者进行连续6周随访,无症状感染者均为传染源追踪调查发现的确诊病例的密切接触者。确诊病例和无症状感染者在性别、年龄、既往史方面比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

因确诊病例中有11例无法明确暴露时间,故共计12例COVID-19确诊病例和14例无症状感染者纳入到暴露后核酸检测阳性率的分析中,二者首次咽拭子标本采集时间分别为暴露后第8、9天。确诊病例和无症状感染者暴露后第2周咽拭子核酸检测阳性率为100.00%,第2、3、4周阳性率逐渐下降,确诊病例第5周为0%;无症状感染者直至第7周降为0%,阳性率持续时间较确诊病例长,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

确诊病例暴露后第2、3周核酸检测新型冠状病毒ORF1ab基因平均Ct值为(31.56 ± 4.98)、(34.26 ± 3.16),N基因平均Ct值为(30.88 ± 4.82)、(34.40 ± 2.86);无症状感染者暴露后第2、3周的ORF1ab基因平均Ct值为(31.01 ± 3.68)、(32.64 ± 3.74),N基因平均Ct值为(31.37 ± 3.62)、(32.9 ± 3.51)。确诊病例和无症状感染者第3周2个基因的平均Ct值高于第2周,提示随着病程的进展、相关诊疗手段的实施,病毒载量随着时间的延长而下降,但可能由于样本量较小的原因,差异无统计学意义($P > 0.05$)。确诊病例的核酸检测阳性时间为(24.08 ± 1.17) d,95% CI为21.79 ~ 26.38;无症状感染者为(25.21 ± 1.28) d,95% CI为22.71 ~ 27.72。采用Log-rank检验进行分析,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.64$, $P = 0.42$),提示隐性感染者的防控既是重点,也是工作难点。

本研究发现1例41岁的男性确诊病例连续2次咽拭子新型冠状病毒核酸检测阴性后,在初次检测阴性后的第14天复检阳性,与其出现同样情况的还有该病例的密切接触者,是1例73岁男性无症状感染者。复检阳性现象仅发现于部分病例中,可能是患者出院后停止抗病毒治疗,病毒再次复活,或者是采样环节、核酸试剂过于敏感等造成,也有可能是年纪较大的患者体内病毒清除延迟造成,具体原因有待于进一步随访研究。江苏省徐州市也有类似情况报告,2月28日徐州市卫

生健康委员会发布的疫情公告^[8]中显示,在出院病例中,有1例经过出院后14 d集中医学观察后,核酸复检阳性(无症状),与其出现同样情况的还有该病例的密切接触者。虽然病例的核酸检测是阳性,但目前从技术上很难区分是活病毒还是失活病毒,复检阳性病例是否具有传染性仍需进一步的观察。

经呼吸道飞沫传播和密切接触传播是新型冠状病毒的主要传播途径,在相对密闭的环境中,长时间暴露于高浓度气溶胶情况下,存在气溶胶传播的可能,但其他途径如粪-口传播、母婴传播等仍有待研究证实。COVID-19感染至发病的平均潜伏期为5.2 d(95% CI为4.1 ~ 7.0),临床表现主要以发热、干咳为主;半数以上患者存在肺部CT异常,主要为双侧毛玻璃样病变;主要合并症包括急性呼吸窘迫综合征、急性心脏损伤和继发感染;粗病死率为2.3%,多数死亡患者年龄在60岁以上且合并基础性疾病^[9]。目前,扬州市对出院患者的管理要求进行14 d的集中观察和14 d的居家观察,在实施28 d的医学观察过程中,持续加强跟踪随访、健康监测和健康指导,以便对疾病的发生、发展、转归有更深刻的认识。

参考文献

- [1] Lu H Z, Stratton C W, Tang Y W. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle[J]. J Med Virol, 2020, 92(4): 401-402.
- [2] Zhu N, Zhang D Y, Wang W L, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019[J]. N Engl J Med, 2020, 382(8): 727-733.
- [3] The Lancet. Emerging understandings of 2019-nCoV[J]. Lancet, 2020, 395(10221): 311-323.
- [4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)的通知[EB/OL]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [5] 贾宁,陈歆,索继江,等. 年轻人甲型H1N1病毒感染排毒规律研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(1): 34-37.
- [6] 钱程,陈聪,顾敏华,等. 诺如病毒Ⅱ型感染儿童的肠道排毒时间及其相关因素的研究[J]. 现代预防医学, 2017, 44(20): 3801-3804, 3827.
- [7] 黎梅花,黄延风,朱朝敏,等. 感染肠道病毒71型手足口病患儿童粪便排毒时间及病毒载量的相关因素研究[J]. 重庆医科大学学报, 2015, 40(12): 1582-1586.
- [8] 徐州市卫生健康委员会. 疫情通报(38号)[EB/OL]. http://ws.xz.gov.cn/wsj/xzswshjshywyh/20200228/028004_7c3e61eafc59-4a7f-8867-0d695965a939.htm.
- [9] 施斌斌,傅剑雄,孙骏. 等. 扬州地区23例新型冠状病毒肺炎患者的CT影像分析[J]. 实用临床医药杂志, 2020, 24(4): 10-12.

集咽拭子标本,新型冠状病毒核酸检测为阳性。截至 2020 年 2 月 29 日,14 例 COVID-19 无症状感染者中,13 例咽拭子标本新型冠状病毒核酸检测为阴性,1 例初次咽拭子标本新型冠状病毒核酸检测阳性后,第 9、15、17 天连续 3 次咽拭子标本新型冠状病毒核酸检测为阴性,第 28 天咽拭

子标本新型冠状病毒核酸检测为阳性。本组 COVID-19 无症状感染者咽拭子新型冠状病毒核酸检测阳性转为阴性的时间为 8 ~ 21 d,平均为 10.9 d,新型冠状病毒核酸检测阳性持续 21 d 者为 8 月龄的婴儿,见图 1。

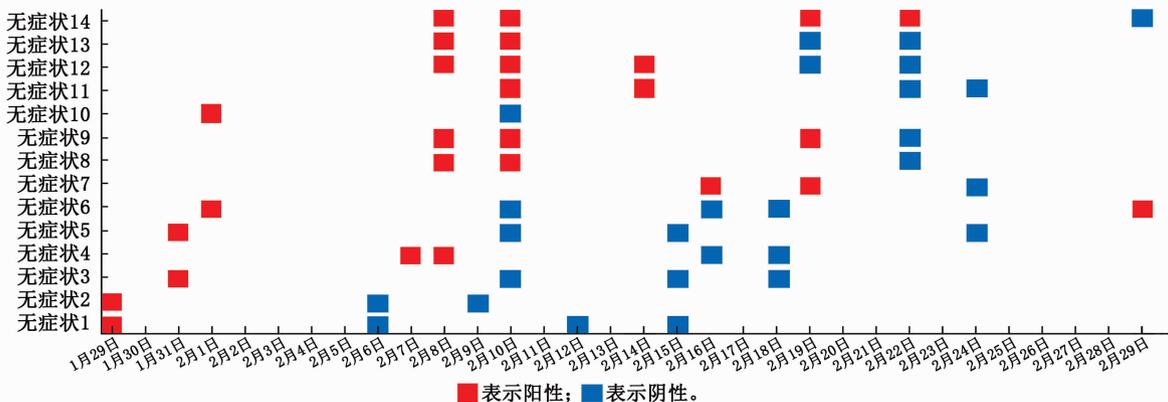


图 1 扬州市 COVID-19 无症状感染者咽拭子检测结果

3 讨论

2020 年 1 月 21 日—2 月 29 日扬州市共发现 COVID-19 无症状感染者 14 例,男、女各 7 例,平均年龄 38.7 岁,主要为青壮年,50 岁以下人数占 85.7%。2 月 4 日国家卫健委召开新闻发布会表示,从全国患者的年龄分布来看,各年龄段人群均对新型冠状病毒没有抵抗力,只要满足传播条件均可被感染,但感染后可以表现为 COVID-19 确诊病例或无症状感染者,COVID-19 无症状感染者的发生可能与暴露时间、个人免疫状况、基础疾病等有关,自身对病毒的抵抗能力较强时,可能表现为无症状感染者,对于 COVID-19 无症状感染者的发生原因还应进一步研究确认。

扬州市 13 例 COVID-19 无症状感染者来源于 COVID-19 确诊病例的密切接触者,1 例可能来源于 COVID-19 疑似无症状感染者的密切接触者,COVID-19 确诊病例、无症状感染者的密切接触者是新型冠状病毒感染的高风险人群^[7]。从扬州无症状感染者感染情况分析来看,虽有 92.9% 的 COVID-19 无症状感染者是接触 COVID-19 确诊病例引起的感染,但有 1 例可能为接触了 COVID-19 无症状感染者引起的感染,并且 COVID-19 无症状感染者的发现主要依靠密切接触者的排查,发现的难度较确诊病例大,因此在 COVID-19 疫情防控中需特别重视 COVID-19 无症状感染者引起的感染。COVID-19 无症状感染

者末次暴露到新型冠状病毒核酸检测阳性的时间最长 19 d,平均达 13.8 d,及时发现 COVID-19 确诊病例及无症状感染者,追踪、排查密切接触者,才能在最短时间内发现 COVID-19 无症状感染者。由于 COVID-19 无症状感染者存在一定比例,且该部分人群也可成为传染源,所以仅根据有无临床症状来筛查和管理 COVID-19 确诊病例及无症状感染者密切接触者,无法满足隔离传染源的目的,对 COVID-19 确诊病例及无症状感染者的密切接触者,应做到边排查、边采样,尽早检测,及时发现和控制传染源,以防范 COVID-19 无症状感染者处于排毒期^[8]。

扬州市 COVID-19 无症状感染者医学观察开始至新型冠状病毒核酸检测阳性的时间为 1 ~ 18 d,平均为 6.0 d,扬州 1 月份仅对 COVID-19 确诊病例和无症状感染者的密切接触者开展医学观察,未开展采样检测,1 月 30 日扬州开始对 COVID-19 确诊病例和无症状感染者的密切接触者开展采样检测,缩短了 COVID-19 确诊病例和无症状感染者的密切接触者医学观察至新型冠状病毒核酸检出阳性的时间,使 COVID-19 确诊病例和无症状感染者的密切接触者中的确诊病例能够“早发现、早诊断、早治疗”,无症状感染者能早发现,及时送至定点医疗机构进行专业的医学观察,一旦无症状感染者出现相关临床症状,能做到早治疗,从而防止重症、危重症的发生。13 例 COVID-19 无症状感染者咽拭子新型冠状病毒核

