

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20206836

· 论 著 ·

不同人群新型冠状病毒核酸检测的临床价值

胡亚会, 郑 阳, 李莹莹, 陈 军, 孟婧洁, 闫 琛, 宋银森

(郑州人民医院转化医学研究中心, 河南 郑州 450015)

[摘要] **目的** 探讨新型冠状病毒(SARS-CoV-2)核酸检测在发热门诊、隔离病房、易感人群以及大规模筛查等不同人群中的应用价值,为 SARS-CoV-2 实验室检测提供参考依据。**方法** 采集 2020 年 2 月 1 日—3 月 22 日郑州人民医院不同人群的咽拭子,包括发热门诊、隔离病房患者,一线疫情防控医护人员,以及无新型冠状病毒肺炎(COVID-19)症状的住院患者、陪护家属和复工人员。采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)方法,使用 A、B 两种国产检测试剂盒对发热门诊、隔离病房的患者进行 SARS-CoV-2 核酸检测。**结果** 共检测 15 497 份咽拭子标本,SARS-CoV-2 核酸阳性 24 份,核酸阳性病例均来自发热门诊和隔离病房。24 例咽拭子 SARS-CoV-2 核酸阳性患者同时送检的血标本核酸结果均呈阴性。A、B 两种试剂首次咽拭子核酸检测结果一致,2 例确诊 COVID-19 患者治疗后复查咽拭子标本,A 组试剂检测为阳性,B 组试剂检测为阴性。该院疫情防控一线医护人员、未出现 COVID-19 症状的住院患者、陪护家属和复工体检人员核酸检测均为阴性。**结论** 复工人员、住院患者、陪护家属和一线疫情防控人员 SARS-CoV-2 核酸筛查均未发现阳性,咽拭子标本 SARS-CoV-2 核酸检测阳性率高于血标本,不同核酸检测试剂检测阳性率稍有差异。

[关键词] 新型冠状病毒; 逆转录聚合酶链反应; 核酸检测; 咽拭子

[中图分类号] R440 R511

Clinical value of SARS-CoV-2 nucleic acid test in different populations

HU Ya-hui, ZHENG Yang, LI Ying-ying, CHEN Jun, MENG Jing-jie, YAN Chen, SONG Yin-sen (Translational Medicine Research Center, People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450015, China)

[Abstract] **Objective** To explore the application value of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2(SARS-CoV-2) nucleic acid test in different population, including persons in fever clinic and isolation wards, susceptible persons as well as persons in large-scale screening, provide reference for laboratory nucleic acid test of SARS-CoV-2. **Methods** Laryngeal swabs from different population in People's Hospital of Zhengzhou between February 1, 2020 and March 22, 2020 were collected, including patients in fever clinic and isolation wards, anti-epidemic front-line health care workers(HCWs), hospitalized patients without symptoms of coronavirus disease 2019 (COVID-19), accompanying family members, and persons returning to work. Real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction(RT-PCR) and two domestic detection kits A and B were used to test SARS-CoV-2 nucleic acid in patients in fever clinic and isolation wards. **Results** A total of 15 497 laryngeal swabs were detected, 24 of which were positive for SARS-CoV-2 nucleic acid test, nucleic acid test positive cases were all from fever clinic and isolation wards. 24 cases of SARS-CoV-2 nucleic acid test positive laryngeal swabs were all negative for blood specimens tested at the same time. The first laryngeal swab test results of kits A and B were identical, re-test of 2 confirmed cases after treatment were positive in kit A group and negative in kit B group. Nucleic acid test results were all negative in front-line HCWs, hospitalized patients without COVID-19 symptoms, accompanying family members and physical

[收稿日期] 2020-03-23

[基金项目] 河南省医学科技攻关计划联合共建项目(2018020824)

[作者简介] 胡亚会(1990-),女(汉族),河南省濮阳市人,检验师,主要从事临床检验诊断研究。

[通信作者] 宋银森 E-mail:df13607670608@163.com

examination persons returning to work. **Conclusion** No positive results are found in the screening among the returning workers, hospitalized patients, accompanying family members and front-line epidemic prevention and control professionals, positive rate of SARS-CoV-2 nucleic acid of laryngeal swab specimens is higher than that of blood specimens, positive rates of different nucleic acid test reagents are slightly different.

[**Key words**] coronavirus disease 2019; real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction; nucleic acid test; laryngeal swab

2019 年 12 月以来,我国湖北省武汉市发现一种以发热、肺部感染为主要症状的传染性疾病,随后在全国各省市地区发现类似疾病。2020 年 1 月 7 日,中国疾病预防控制中心从患者的咽拭子标本中鉴定出一种新型冠状病毒,最初被世界卫生组织(WHO)命名为 2019-nCoV^[1-3]。1 月 30 日,世界卫生组织(WHO)宣布新型冠状病毒肺炎疫情构成国际关注的突发公共卫生事件^[4]。2 月 11 日,WHO 将这种疾病重命名为 2019 冠状病毒病(COVID-19),引起该疾病的病毒为新病原体,重新命名为严重急性呼吸综合征冠状病毒 2(SARS-CoV-2)。目前,COVID-19 呈现出全球范围内流行趋势,截至 4 月 1 日 10 时,我国确诊病例 82 617 例,境外输入病例 771 例;除我国以外,全球已有 200 个国家和地区 774 494 例确诊病例^[5]。

SARS-CoV-2 为 β 属冠状病毒,是单股正链 RNA 病毒,在此之前流行的人冠状病毒主要有 6 种,分别为 α -冠状病毒的 HCoV-229E 和 HCoV-NL63, β -冠状病毒的 HCoVOC43、HCoV-HKU1、严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)和中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)。其中,SARS-CoV、MERS-CoV 和 SARS-CoV-2 均表现为严重的下呼吸道感染^[6]。SARS-CoV-2 可通过飞沫、接触和气溶胶传播,与 2003 年流行的 SARS-CoV 相比,SARS-CoV-2 致死率相对要低(4%),但隐性感染者和轻症病例较多,使得传播更为广泛^[7-8]。实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测呼吸道标本 SARS-CoV-2 核酸检测和高通量测序发现 SARS-CoV-2 基因均为确诊 COVID-19 的金标准。但是,高通量测序耗时长、成本高、对检测人员和仪器要求高,不能满足大规模标本检测的临床需求。RT-PCR 病毒核酸检测具有简便快速、特异性高、成本较低、易于操作等优点,可以广泛应用于临床^[9]。本文采用 RT-PCR 方法对发热门诊、隔离病区患者、本院一线疫情防控医护人员、未出现 COVID-19 症状的住院患者、陪护家属和大范围筛查复工前体检人群进行检测,为临床 SARS-CoV-2 核酸检测提

供实验室参考。

1 对象与方法

1.1 标本来源 收集 2020 年 2 月 1 日—3 月 22 日郑州人民医院(河南省郑州市 COVID-19 定点检测和收治医院)发热门诊、隔离病房疑似和确诊 COVID-19 患者(共 2 685 例)的咽拭子标本,同时采集本院疫情防控一线医护人员、所有未出现 COVID-19 症状的住院患者、陪护家属和复工体检人员的咽拭子标本。

1.2 研究方法

1.2.1 试剂与仪器 采用两种试剂盒对发热门诊和隔离病房检出的所有阳性标本和确诊 COVID-19 患者治疗后复查标本进行检测,分为 A 组和 B 组,其余送检标本只用其中一种检测试剂盒。A 组采用上海之江生物新型冠状病毒核酸快速检测试剂盒(RT-PCR),病毒 RNA 提取采用 EX3600 核酸提取仪(上海之江生物)。B 组采用湖南圣湘生物新型冠状病毒核酸快速检测试剂盒,不需提取病毒 RNA 直接按照说明书配制反应体系并扩增产物。两组均采用美国 Thermo Fisher Scientific ABI7500 型荧光定量 PCR 仪对 PCR 产物进行扩增。

1.2.2 检测方法 所有标本先 56℃ 灭活 30 min 预处理后再进行 RT-PCR 检测。A 组需提取病毒 RNA,严格按照之江试剂说明书进行提取,标本混匀后,吸取 300 μ L 标本(咽拭子病毒保存液或血清标本)采用磁珠法获得 50 μ L 的病毒总 RNA 溶液。按照两种厂家试剂说明书设置反应程序,A 组检测 SARS-CoV-2 开放读码框 1ab(open reading frame, ORF1ab)、核壳蛋白(nucleoprotein, N)基因和包膜蛋白(envelope protein, E)基因三个位点,B 组检测 SARS-CoV-2 ORF1ab 基因、N 基因两个位点。

1.2.3 结果判读 两组检测试剂均含内源性监测系统(内标,IC),用于监控核酸提取及扩增过程,每次试验均设置阴性和阳性对照。结果分析时首先查看内标通道是否有扩增曲线,扩增产物的荧光信号

是否达到设定的荧光阈值时所对应的扩增循环数 (cycle threshold, Ct), 同时检查质控品结果是否合格。以上要求均满足说明试验有效, 如果有一条不满足则为无效需重新检测。A 试剂 PCR 产物扩增结果判定为阳性 (Ct 值 ≤ 43, 典型 S 扩增曲线), 阴性 (Ct 值 > 43 或无扩增曲线); B 试剂 PCR 产物扩增结果判定为阳性 (Ct 值 ≤ 40, 典型 S 扩增曲线), 阴性 (Ct 值 > 40 或无扩增曲线)。

1.3 统计学分析 应用 SPSS 20.0 统计软件对所有数据进行分析, 计数资料采用例数或百分比表示, P ≤ 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 易感人群及大范围筛查结果 共检测本院一线疫情防控医护人员、所有未出现 COVID-19 症状的住院患者、陪护家属和复工体检人员咽拭子标本 12 812 份, 所有标本 SARS-CoV-2 核酸检测均为阴性。见表 1。

表 1 易感人群及大范围筛查人员咽拭子 SARS-CoV-2 核酸检测结果 (份)

Table 1 SARS-CoV-2 nucleic acid test results of laryngeal swabs of susceptible population and large-scale screened persons (No. of specimens)

核酸结果	一线 医护人员	无 COVID-19 症状的住院患者	陪护 家属	复工 体检人员
阴性	163	2 324	1 013	9 312
阳性	0	0	0	0

2.2 发热门诊患者和隔离病房患者核酸检测结果 共检测发热门诊、隔离病房患者 2 685 份咽拭子标本, 其中核酸阳性 24 份 (0.89%), 阴性 2 661 份 (99.11%); 24 例咽拭子 SARS-CoV-2 核酸阳性患者同时送检的血标本, SARS-CoV-2 核酸检测结果

呈阴性。咽拭子 SARS-CoV-2 核酸阳性患者中年龄 12 ~ 86 岁, 中位数为 47 岁; 男性患者 13 例 (54.17%), 女性患者 11 例 (45.83%)。见表 2。

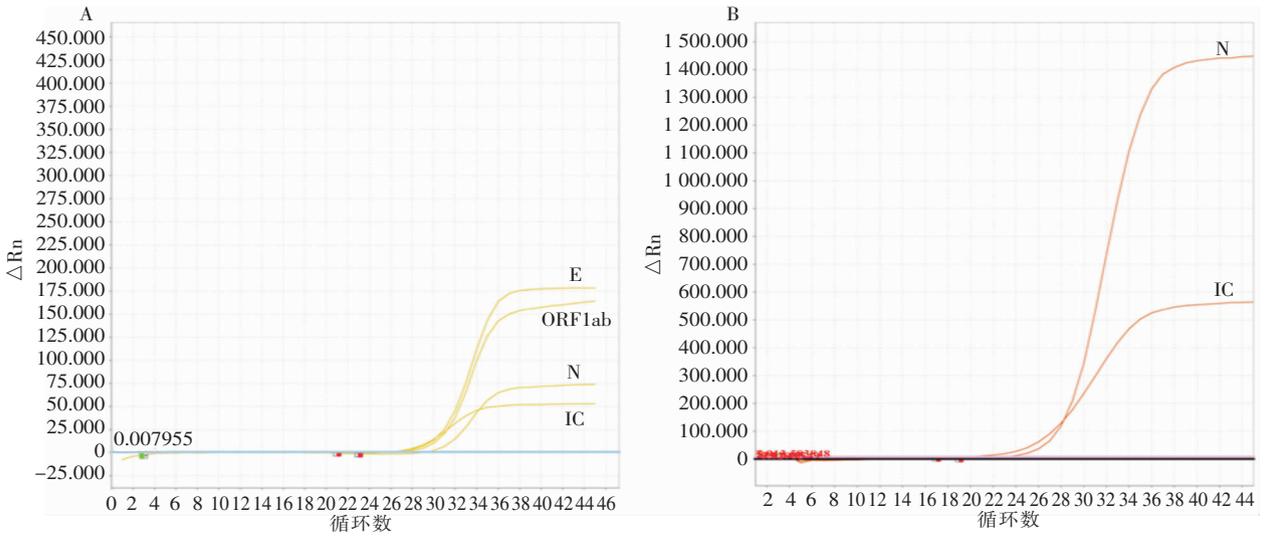
表 2 发热门诊、隔离病房患者咽拭子 SARS-CoV-2 核酸检测结果 [例 (%)]

Table 2 SARS-CoV-2 nucleic acid test results of laryngeal swabs of patients in fever clinic and isolation wards (No. of cases [%])

项目	SARS-CoV-2 阴性 (n = 2 661)	咽拭子核酸结果 阳性 (n = 24)
性别		
男	1 419 (53.33)	13 (54.17)
女	1 242 (46.67)	11 (45.83)
年龄 (岁)		
0 ~	236 (8.87)	2 (8.33)
20 ~	1 081 (40.62)	7 (29.17)
40 ~	654 (24.58)	8 (33.34)
60 ~	489 (18.38)	5 (20.83)
80 ~	201 (7.55)	2 (8.33)

2.3 两组试剂盒首次核酸检测阳性结果 24 例 SARS-CoV-2 核酸阳性咽拭子标本, 两组试剂首次核酸检测均为阳性。A 组试剂病毒 ORF1ab 基因、N 基因和 E 基因三个位点均呈典型 S 扩增曲线, B 组试剂病毒 ORF1ab 基因无扩增曲线、N 基因呈典型 S 扩增曲线。见图 1。

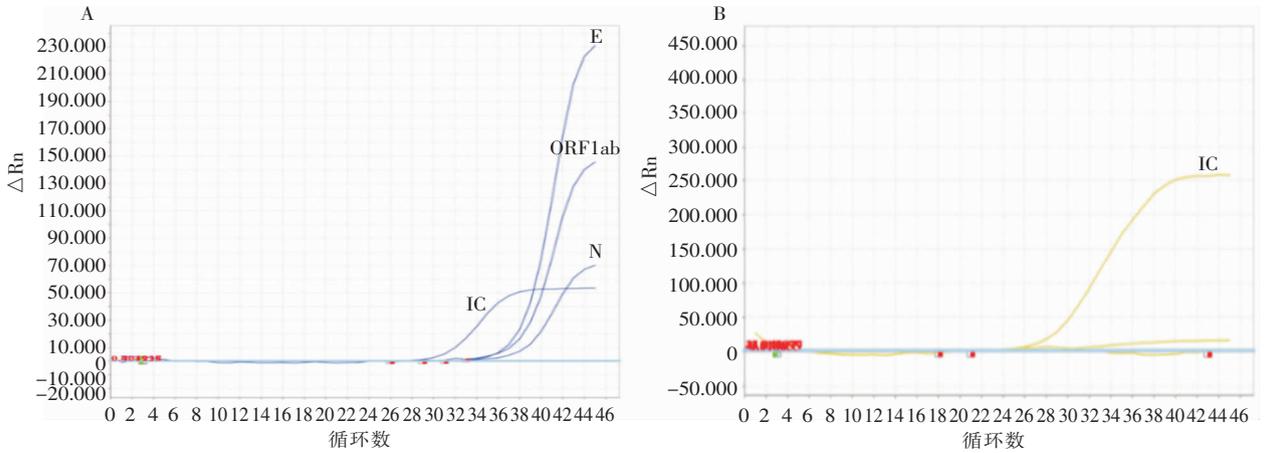
2.4 两组试剂复查核酸检测结果 24 例确诊 COVID-19 患者治疗后复查 SARS-CoV-2 核酸时, 2 例患者咽拭子标本 A 组试剂检测结果均为阳性, 且 SARS-CoV-2 ORF1ab 基因、N 基因和 E 基因三个位点均呈 S 扩增曲线, B 组试剂检测结果均为阴性 (见图 2, 3); 其余 22 例患者咽拭子标本两组试剂检测结果一致。



A 为之江试剂, B 为圣湘试剂。

图 1 两组试剂首次 SARS-CoV-2 核酸检测阳性结果比较

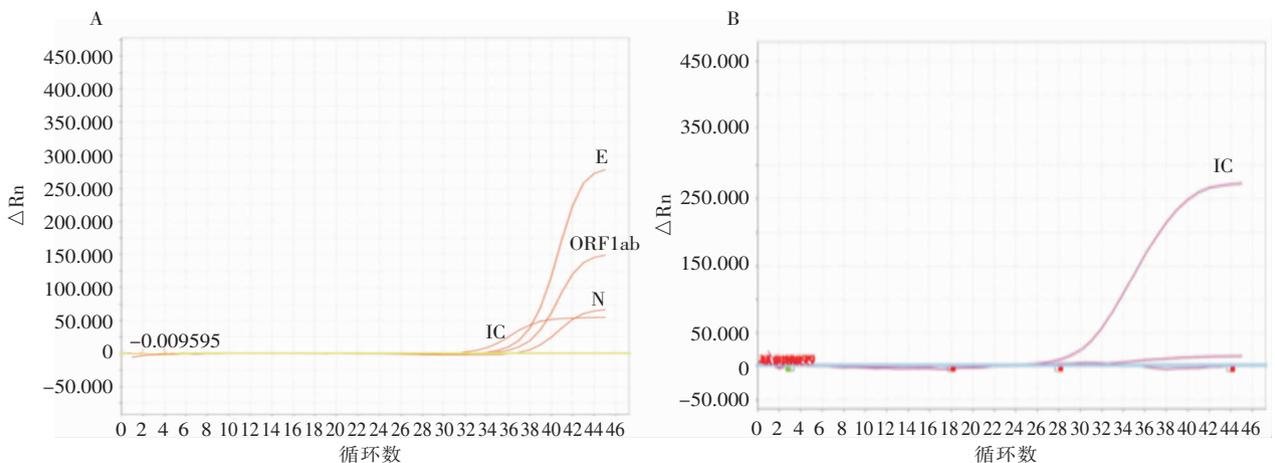
Figure 1 Comparison of positive result of first SARS-CoV-2 nucleic acid test between two groups of reagents



A 为之江试剂, B 为圣湘试剂。

图 2 两组试剂复查 SARS-CoV-2 核酸时检测结果比较(例 1)

Figure 2 Comparison of SARS-CoV-2 nucleic acid re-test result between two groups of reagents(Case 1)



A 为之江试剂, B 为圣湘试剂。

图 3 两组试剂复查 SARS-CoV-2 核酸时检测结果比较(例 2)

Figure 3 Comparison of SARS-CoV-2 nucleic acid re-test result between two groups of reagents(Case 2)

3 讨论

根据 SARS-CoV-2 核酸检测专家共识要求, SARS-CoV-2 核酸检测应在经过严格生物安全评估的二级生物安全实验室进行,检测人员均执行三级生物安全防护^[10]。采集咽拭子方法为在咽峡深部(悬雍垂及扁桃体两侧)利用植绒拭子反复刮取,采集后立即将拭子头浸入含 3 mL 的病毒保存液管^[11]。实时荧光定量 RT-PCR 检测 SARS-CoV-2 核酸很少出现假阳性,但是阳性患者的阳性率相对较低(30%~50%),所以疑似病例需经过多次核酸检测提高阳性率。本研究结果显示,发热门诊、隔离病房患者 SARS-CoV-2 核酸阳性率为 0.89%,与海南三亚某医院的阳性率相当^[12]。核酸检测结果容易出现假阴性,除了试剂影响因素外,可能还与病毒本身的变异、采集样本时间、标本质量、检测人员操作水平、仪器设备等因素有关^[13]。

实时荧光定量 RT-PCR 技术的特异性和敏感性均较高,可用于各种类型生物标本的检测,如痰、呼吸道分泌物、血、尿和粪便等,对疾病早期诊断和治疗效果监测具有重要的临床指导价值,尤其对于无症状感染者的早期发现更为重要^[14]。对所有本院一线疫情防控医护人员、未出现 COVID-19 症状的住院患者、陪护家属等易感人群进行筛查,可以防范医患、陪护和探视人员之间的交叉感染,有利于全院疫情防控工作的顺利进行^[15]。目前,全国范围工业企业平均复工率约为 98.6%,复工人员进行 SARS-CoV-2 核酸筛查,可大幅度缩短医学观察时间,保障复工复产过程中的疫情防控需要。

本研究 SARS-CoV-2 核酸阳性标本均来自于咽拭子,24 例咽拭子检测核酸阳性患者,其同时送检的血标本 SARS-CoV-2 核酸检测均为阴性,与施绍瑞等^[16]研究结果一致。可能原因为:(1)所有确诊病例均为轻型和普通型,未发现重型/危重型病例,不能代表所有类型确诊患者的检测结果;(2)纳入的确诊患者病例数相对较少,样本量有限。本研究 24 例确诊 COVID-19 患者男女性别比为 1.18:1,对全国 72 314 例确诊 COVID-19 病例研究发现男女比例为 1.06:1^[17],上海市某三甲医院 14 例 COVID-19 确诊患者的男女比例为 1.33:1^[18],基于以上数据推测可能样本量越大男女比例越接近 1:1。本研究发现,确诊 COVID-19 患者年龄中位数为

47 岁,62.50% 的患者年龄集中在 20~60 岁,与相关文献^[12,17-18]研究结果虽有所差异,但均提示年龄与 COVID-19 的感染相关,中老年人群更易感染。

目前,国家药品监督管理局(NMPA)批准的 SARS-CoV-2 核酸检测试剂盒中大多数采用实时荧光定量 RT-PCR,且均采用 Taqman 探针^[19]。本研究比较了两种国产试剂盒核酸检测结果,发现两种试剂对阳性咽拭子标本核酸检测能力差别不大,但 A 试剂检测病毒 ORF1ab、N 和 E 三个基因位点,B 试剂只能检出病毒 N 基因位点。对 COVID-19 患者治疗后复查 SARS-CoV-2 核酸结果 Ct 值接近阳性临界值的咽拭子标本,A 试剂的检测能力要优于 B 试剂。分析原因可能是:(1)由于此次疫情属于突发公共卫生事件,试剂盒在研发过程中尚无足够的临床标本和时间进行完整的性能验证,尤其是对于检出限和灰区的临床验证,各厂家核酸检测试剂盒质量的稳定性和可靠性需要不断优化;(2)由于本研究纳入的确诊患者病例数较少,样本量有限,并不能代表 2 种试剂的整体检测性能^[20]。

此外,本研究发现与首检咽拭子标本的 Ct 值相比,24 例确诊 COVID-19 患者经治疗后复检咽拭子样本的 Ct 值,大多数有所下降,表明随着临床症状的缓解,病毒载量在患者体内亦有所下降。当临床症状完全消失,连续两次复检咽拭子 SARS-CoV-2 核酸阴性,可作为临床治愈出院标准。目前,在本院治疗的 24 例确诊 COVID-19 患者中,初诊均为轻型和普通型;其中 23 例从入院开始病情逐渐好转直至治愈出院,1 例初诊轻型患者治疗 1 周后病情加重转为重型,改变方案继续进一步治疗后治愈出院。后续将持续进行出院患者的追踪随访,健康指标监测,以便进一步认识 COVID-19。

本研究对发热门诊和隔离病房患者、易感人群以及大规模筛查人群进行 SARS-CoV-2 核酸检测,发现 SARS-CoV-2 核酸检测对于 COVID-19 患者的临床诊疗和控制疫情进展有非常重要的价值。分析两个部位生物标本的核酸检出阳性率和两种不同厂家试剂的检测能力,为 SARS-CoV-2 实验室核酸检测提供参考依据。本研究的局限性在于未对 24 例确诊 COVID-19 病例做临床和流行病学特征分析,不能为制定疫情防控策略和措施提供科学依据,下一步将重点分析确诊 COVID-19 病例的临床和流行病学特征。

[参 考 文 献]

- [1] Wang C, Horby PW, Hayden FG, et al. A novel coronavirus outbreak of global health concern [J]. Lancet, 2020, 395 (10223): 470 - 473.
- [2] Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. Lancet, 2020, 395(10223): 497 - 506.
- [3] Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019 [J]. N Engl J Med, 2020, 382(8): 727 - 733.
- [4] Li Q, Guan XH, Wu P, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia [J]. N Engl J Med, 2020, 382(13): 1199 - 1207.
- [5] Khot WY, Nadkar MY. The 2019 novel coronavirus outbreak - a global threat [J]. J Assoc Physicians India, 2020, 68(3): 67 - 71.
- [6] 刘敏,冯瑞娥,李倩述,等. 流感病毒 H1N1、高致病性禽流感病毒 H5N1 和 SARS-CoV、MERS-CoV 及 2019-nCoV 所致病理改变及其致病机制的比较 [J]. 中华病理学杂志, 2020, 49 (5): 511 - 516.
- [7] Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study [J]. Lancet, 2020, 395 (10223): 507 - 513.
- [8] Guo YR, Cao QD, Hong ZS, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status [J]. Mil Med Res, 2020, 7 (1): 11.
- [9] 王旭东,施健,丁伟峰,等. 2019 新型冠状病毒核酸检测的研究状况与应用探讨 [J]. 临床检验杂志, 2020, 38(2): 81 - 84.
- [10] 中华医学会检验医学分会. 2019 新型冠状病毒核酸检测专家共识 [J]. 中华医学杂志, 2020, 100(13): 968 - 973.
- [11] 何超,江虹,谢轶,等. 新型冠状病毒肺炎诊治的实验室检验路径探讨 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2020, 19(2): 125 - 127.
- [12] 匡慧慧,于梅,于帅,等. 新型冠状病毒实验室核酸检测方法及实践 [J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(6): 830 - 833.
- [13] 李振昊,高小玲,杨小娟,等. 新型冠状病毒核酸检测分析 [J]. 检验医学与临床, 2020, 17(10): 1313 - 1315.
- [14] Corman VM, 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.
- [15] 庄英杰,陈竹,李进,等. 26 例新型冠状病毒肺炎确诊病例临床和流行病学特征 [J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(6): 826 - 829.
- [16] 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]. 华西医学, 2020, 35(2): 132 - 136.
- [17] 中国疾病预防控制中心新型冠状病毒肺炎应急响应机制流行病学组,中国疾病预防控制中心. 新型冠状病毒流行病学特征分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41(2): 145 - 151.
- [18] 梁继仁,韦松华,钱秀芳,等. 14 例新型冠状病毒肺炎病例流行病学和临床特征 [J]. 中国感染控制杂志, 2020, 19(3): 245 - 249.
- [19] 许金和,王水良,张胜行,等. 新型冠状病毒核酸检测方法 [J/OL]. 国际检验医学杂志. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20200303.1428.002.html>.
- [20] 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. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20200212.0900.006.html>.

(本文编辑:孟秀娟、左双燕)

本文引用格式:胡亚会,郑阳,李莹莹,等. 不同人群新型冠状病毒核酸检测的临床价值 [J]. 中国感染控制杂志, 2020, 19(9): 806 - 811. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 - 9638. 20206836.

Cite this article as: HU Ya-hui, ZHENG Yang, LI Ying-ying, et al. Clinical value of SARS-CoV-2 nucleic acid test in different populations [J]. Chin J Infect Control, 2020, 19(9): 806 - 811. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 - 9638. 20206836.