

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2020.06.0592

· 专题报道 ·

严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 咽拭子核酸检测法假阴性调查分析

常颜信^{1,2△}, 徐明霖^{1,3△}, 傅晓辉^{1,4}, 尹磊^{1,4}, 万旭英^{1,5}, 张迁^{1,6*}

1. 湖北省妇幼保健院光谷院区感染四科, 武汉 430073
2. 海军军医大学(第二军医大学)东方肝胆外科医院胆道四科, 上海 200438
3. 联勤保障部队桂林康复疗养中心疗养一科, 桂林 541002
4. 海军军医大学(第二军医大学)东方肝胆外科医院胆道二科, 上海 200438
5. 海军军医大学(第二军医大学)东方肝胆外科医院中西医结合科, 上海 200438
6. 海军军医大学(第二军医大学)东方肝胆外科医院生物治疗科, 上海 200438

[摘要] **目的** 探讨严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2) 咽拭子核酸检测法的假阴性率, 并分析其原因, 为稳固我国新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 防控工作提供参考。**方法** 对 2020 年 2 月 19 日至 3 月 20 日湖北省妇幼保健院光谷院区收治的 1 452 例 COVID-19 患者的咽拭子核酸检测结果进行回顾性分析, 将出院前检测结果为阳性之前的阴性结果判定为假阴性, 统计假阴性患者例数。随访出院患者, 筛选出院后再次核酸检测阳性 (复阳) 的患者, 分析出院前病毒核酸检测连续阴性次数和核酸复阳的关系。**结果** 1 452 例 COVID-19 患者中男 592 例 (40.77%)、女 860 例 (59.23%)。212 例 (14.60%) 咽拭子核酸检测结果曾出现假阴性。共随访到 28 例 (1.93%) 出院后复阳患者, 连续 2 次核酸检测阴性 918 例患者中有 24 例 (2.61%) 复阳, 高于连续 3 次及以上核酸检测阴性患者的复阳率 (0.75%, 4/534), 差异有统计学意义 ($\chi^2=6.21$, $P=0.0127$)。**结论** SARS-CoV-2 咽拭子核酸检测法具有一定比例的假阴性, 是患者出院后核酸复阳的原因之一。建议出院前由不同检测者进行多次、连续检测, 满足连续 3 次及以上核酸检测阴性出院标准可以降低复阳率。

[关键词] 新型冠状病毒肺炎; 严重急性呼吸综合征冠状病毒 2; 咽拭子核酸检测法; 假阴性反应; 核酸复阳
[中图分类号] R 511 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2020)06-0592-04

Analysis of false negative results in throat swab nucleic acid test of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

CHANG Yan-xin^{1,2△}, XU Ming-lin^{1,3△}, FU Xiao-hui^{1,4}, YIN Lei^{1,4}, WAN Xu-ying^{1,5}, ZHANG Qian^{1,6*}

1. Department of Infectious Diseases (IV), Guanggu Branch of Maternity and Child Healthcare Hospital of Hubei Province, Wuhan 430073, Hubei, China
2. Department of Hepatobiliary Surgery (IV), Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200438, China
3. Department of Recuperation (I), Guilin Rehabilitation and Recuperation Center, Joint Service Support Force, Guilin 541002, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
4. Department of Hepatobiliary Surgery (II), Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200438, China
5. Department of Integrated Traditional and Western Medicine, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200438, China
6. Department of Biotherapy, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200438, China

[Abstract] **Objective** To investigate the false negative rate of throat swab nucleic acid test of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and to analyze the causes, so as to provide references for the prevention and control of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China. **Methods** A retrospective analysis was conducted on the throat swab

[收稿日期] 2020-04-04 [接受日期] 2020-05-06

[基金项目] 国家自然科学基金 (82402428, 81572869). Supported by National Natural Science Foundation of China (82402428, 81572869).

[作者简介] 常颜信, 博士, 主治医师. E-mail: pycmu402@163.com; 徐明霖, 主治医师. E-mail: xuminglin2008@163.com

△共同第一作者 (Co-first authors).

*通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-81887483, E-mail: zhqiank@yeah.net

nucleic acid test results of 1 452 COVID-19 patients admitted to Guanggu Branch of Maternity and Child Healthcare Hospital of Hubei Province from Feb. 19 to Mar. 20, 2020. The negative results before positive results at discharge were judged as false negative results, and the false negative rate was calculated. The discharged patients were followed up to screen for the patients who were positive for nucleic acid test again, and the relationship between the times of consecutive negative nucleic acid tests before discharge and the positive again results was analyzed. **Results** Among the 1 452 COVID-19 patients, 592 (40.77%) were males and 860 (59.23%) were females. A total of 212 cases (14.60%) had false negative results. Twenty-eight cases (1.93%) were discovered nucleic acid positive again after discharge. Among the 918 patients whose nucleic acid tests were negative for two consecutive times, 24 (2.61%) were positive again, which was significantly higher than that of the patients whose nucleic acid tests were negative for three consecutive times (0.75%, 4/534; $\chi^2=6.21$, $P=0.0127$). **Conclusion** The throat swab nucleic acid test of SARS-CoV-2 has a certain proportion of false negative results, which is one of the reasons for COVID-19 patients are found nucleic acid positive again after discharge. Multiple and continuous tests by different testers are recommended before discharge, and negative nucleic acid test for three or more consecutive times can reduce the incidence of nucleic acid positive results again after discharge.

[Key words] coronavirus disease 2019; severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; throat swab nucleic acid test; false negative reactions; nucleic acid re-positive

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2020, 41(6): 592-595]

2019年12月底暴发的新型冠状病毒肺炎（coronavirus disease 2019, COVID-19）疫情严重威胁全球人类健康^[1-2]。COVID-19具有极强的传染性，主要通过呼吸道飞沫和接触传播，人群普遍易感^[3]。COVID-19患者可出现发热、干咳、乏力、胸闷等症状^[4-5]，多数患者预后较好，部分症状轻微，严重者可出现呼吸窘迫综合征、脓毒血症等，甚至因多器官功能衰竭而死亡^[6]。随着我国COVID-19疫情得到有效防控，治愈病例数量不断增加，对于患者预后的进一步监测及有效控制疫情再度复燃成为下一步防控工作的重点。

咽拭子核酸检测法是目前最常用的病毒检测手段，由于其存在一定比例的假阴性，对COVID-19的确诊和患者出院审核造成了不利影响。严重急性呼吸综合征冠状病毒2（severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2）特异性IgM和IgG联合检测是COVID-19确诊较好的补充方法，避免了因漏诊造成的隐性传播^[7-8]。根据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案（试行第七版）》^[9]，COVID-19患者出院前须连续2次SARS-CoV-2核酸检测阴性，且2次检测间隔时间>24 h。出院前SARS-CoV-2核酸检测假阴性患者在出院后有较高的SARS-CoV-2复阳风险，甚至可能导致二次传播。本研究通过对湖北省妇幼保健院光谷院区收治的COVID-19患者进行SARS-CoV-2咽拭子核酸检测调查分析，探讨咽拭子核酸检测法假阴性的概率及潜在原因，并提出相关建议，为COVID-19患者

的出院审核及减少隐性传播提供参考。

1 对象和方法

1.1 研究对象 选择2020年2月19日至3月20日湖北省妇幼保健院光谷院区收治的COVID-19患者1 452例，所有患者SARS-CoV-2咽拭子核酸检测阳性和（或）SARS-CoV-2特异性IgM或IgG阳性，符合《新型冠状病毒肺炎诊疗方案（试行第七版）》^[9] COVID-19确诊标准。

1.2 研究方法 患者前期均已确诊COVID-19，出院前SARS-CoV-2咽拭子核酸检测结果若出现“阴性-阳性-阴性-阴性”或“阳性-阴性-阴性-阴性”，将这种情形中阳性之前出现的阴性结果判定为假阴性，统计假阴性患者的例数。然后对出院患者进行随访，筛查SARS-CoV-2复阳患者，探讨患者出院前咽拭子核酸阴性检测次数对SARS-CoV-2复阳的影响。随访截止日期为2020年4月3日。

1.3 统计学处理 应用Excel 2016软件进行统计学分析。计数资料以例数和百分数表示，采用 χ^2 检验进行比较；计量资料采用描述性分析。检验水准（ α ）为0.05。

2 结果

2.1 患者基本临床特征 1 452例COVID-19患者中男592例（40.77%）、女860例（59.23%）。11~20岁患者7例（0.48%）、21~30岁40例

(2.75%)、31~40岁 126例(8.68%)、41~50岁 221例(15.22%)、51~60岁 367例(25.28%)、61~70岁 421例(28.99%)、71~80岁 180例(12.40%)、81~90岁 83例(5.72%)、91~100岁 7例(0.48%),其中1 058例(72.87%)为51岁及以上患者,51~70岁年龄段患者占比最高(788例,54.27%)。大部分患者为普通型(1 184例,81.54%),轻型(25例,1.72%)、重型(194例,13.36%)、危重型(49例,3.37%)患者较少。

2.2 SARS-CoV-2咽拭子核酸检测假阴性结果分析 1 452例COVID-19患者中,212例(14.60%)咽拭子核酸检测结果曾出现假阴性,表明若出院前患者单次检测结果为阴性,该结果为假阴性的可能性是14.60%。根据连续2次SARS-CoV-2核酸检测阴性方可出院的原则,2次阴性均为假阴性的概率大大降低,为2.13%(14.60%×14.60%)。

2.3 出院前核酸检测连续阴性次数与SARS-CoV-2复阳的关系 截至2020年4月3日,共28例(1.93%)患者出院后出现SARS-CoV-2复阳,基本符合2.13%这一假阴性导致的复阳理论值。28例复阳患者中男11例、女17例,53.57%(15例)分布于61~70岁年龄段,大部分患者为普通型(27例,96.43%)。追溯患者病史资料,该28例患者中24例出院前连续2次检测核酸检测阴性,4例出院前连续3次及以上核酸检测阴性,每2次检测间隔时间均>24h。连续2次核酸检测阴性的918例患者中24例(2.61%)复阳,连续3次及以上核酸检测阴性的534例患者中4例(0.75%)复阳,两组复阳患者比例差异有统计学意义($\chi^2=6.21$, $P=0.0127$)。提示若仅考虑假阴性造成的复阳,连续3次及以上核酸检测阴性的标准可明显降低出院后复阳比例。

3 讨论

目前SARS-CoV-2核酸检测连续2次阴性仍是COVID-19患者出院的必须条件^[9]。用于SARS-CoV-2检测的方法主要有核酸检测法和免疫学检测法,核酸检测法是对病毒RNA进行检测,包括基因测序、荧光定量PCR、芯片检测等,其中荧光定量PCR最常用^[10]。核酸检测的标本包括痰液、咽拭子、肺泡灌洗液、血液等,综合患者耐受程度和阳性率,咽拭子核酸检测法应用最广泛^[11]。取样不规范、试剂盒不符合标准、病毒核酸载量过低等

都可能导致咽拭子核酸检测法结果出现假阴性。

自2020年2月25日开始,陆续有报道称COVID-19患者出院后出现SARS-CoV-2复阳,广东省疾病预防控制中心报告了13例复阳^[12-13]。核酸检测假阴性和复阳比例在不同地区、不同医院之间存在一定差异。本研究中28例患者出院后SARS-CoV-2复阳,复阳率为1.93%,可见随着疫情的防控湖北省妇幼保健院光谷院区COVID-19患者出院后复阳比例已达到较低水平,但武汉市出院COVID-19患者人数的基数大,整体1.92%的复阳比例仍相当惊人,对疫情复燃的威胁极大,应尽量减少或避免复阳。

COVID-19患者出院后出现核酸复阳可能存在以下3种情况^[14]:(1)样本采集不当,根据临床经验,取样不规范是导致假阴性最常见的原因。本研究中,核酸检测假阴性比例高达14.60%,所以应尽可能保证采样规范,减少假阴性。(2)患者病毒载量接近痕量时,PCR等常规检测方法无法检出,当患者免疫力低下时病毒再次扩增可再次发病。本研究中随访患者出院后精神、饮食均较前好转,此种情况可能性较低。(3)患者治愈后再次感染。研究表明患者治愈后特异性IgG可长期存在于体内^[15],本研究中患者出院前均已出现特异性IgG,故患者治愈后再次感染的可能性较低。因此,标本采集不当造成的人为误差可能是COVID-19患者核酸复阳的主要原因,实际上这种复阳大多考虑是“假性复阳”。

本研究分析了COVID-19患者出院前连续核酸检测阴性次数对出院后复阳的影响,结果显示连续3次及以上核酸检测阴性可大大降低复阳比例,这对今后的疫情防控有很好的提示作用。为了降低患者出院后复阳带来的疫情复燃风险,有必要评估现行出院标准并加强对COVID-19患者的隔离。根据本研究结果可做出以下建议:(1)修改“连续2次核酸检测阴性”为“连续3次及以上核酸检测阴性”,可大大降低患者出院后复阳风险;(2)规范医务人员取样操作,多点取样、规范流程;(3)出院前多次核酸取样建议由不同的医务人员完成,降低因个人取样不当造成假阴性的可能性;(4)对出院后隔离点积极实行核酸复查,做好复阳的筛查工作;(5)严格执行出院后隔离14d的措施,做好最后一道防线。

目前我国的疫情防控成果卓著,对患者预后的后续监测及有效控制疫情复燃是当下防控工作的新重点。本研究属于观察性研究,存在一定的局限性,研究结论尚需进一步验证,如“阴性-阳性-阴性-阴性”这种现象中的“阳性”存在假阳性可能,并且这种假阳性不能根据患者症状排除,可通过完善检测试剂盒的特异度避免,但是鉴于假阴性造成的危害远大于假阳性造成的危害,因此降低患者出院后的复阳率是当下稳固我国 COVID-19 防控工作的重点。

[参考文献]

- [1] WANG C, HORBY P W, HAYDEN F G, GAO G F. A novel coronavirus outbreak of global health concern[J]. *Lancet*, 2020, 395: 470-473.
- [2] 陈大明,赵晓勤,缪有刚,毛开云,熊燕.全球冠状病毒研究态势分析及其启示[J]. *中国临床医学*, 2020, 27: 1-12.
- [3] RIOU J, ALTHAUS C L. Pattern of early human-to-human transmission of Wuhan 2019 novel coronavirus (2019-nCoV), December 2019 to January 2020[J/OL]. *Euro Surveill*, 2020, 25: 2000058. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.4.2000058.
- [4] 戈霞晖,许靖,哈明昊,张丽葳,宋黎涛,王杰宁,等.新型冠状病毒肺炎患者6例临床特征和影像学表现[J]. *第二军医大学学报*, 2020, 41: 616-620.
- [5] HUANG C, WANG Y, LI X, REN L, ZHAO J, HU Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. *Lancet*, 2020, 395: 497-506.
- [6] CHEN N, ZHOU M, DONG X, QU J, GONG F, HAN Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study[J]. *Lancet*, 2020, 395: 507-513.
- [7] 李泉,刘钉宾,乔正荣,朱小岚,彭孝斌,吴小兰,等. SARS-CoV-2 IgM/IgG 抗体检测在新型冠状病毒肺炎诊断中的价值[J/OL]. *国际检验医学杂志*, 2020 (2020-03-04) [2020-04-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.r.20200304.1041.006.html>.
- [8] 徐万洲,李娟,何晓云,张才庆,梅四青,李从荣,等.血清 2019 新型冠状病毒 IgM 和 IgG 抗体联合检测在新型冠状病毒感染中的诊断价值[J]. *中华检验医学杂志*, 2020, 43: 230-233.
- [9] 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]. (2020-03-03) [2020-04-03]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989/files/ce3e6945832a438eaae415350a8ce964.pdf>.
- [10] 中华人民共和国国家卫生健康委员会.新型冠状病毒肺炎实验室检测技术指南(第四版)[EB/OL]. (2020-02-06) [2020-04-03]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202002/573340613ab243b3a7f61df260551dd4.shtml>.
- [11] 宁允叶,黄海东,白冲.支气管镜技术在新型冠状病毒肺炎诊断中的应用及相关职业防护[J]. *第二军医大学学报*, 2020, 41: 498-501.
- [12] 广东省政府新闻办疫情防控第三十一场新闻发布会[EB/OL]. (2020-02-25) [2020-04-03]. http://cdcp.gd.gov.cn/newsdt_list/qwfb/content/post_2909893.html.
- [13] LAN L, XU D, YE G, XIA C, WANG S, LI Y, et al. Positive RT-PCR test results in patients recovered from COVID-19[J]. *JAMA*, 2020, 323: 1502-1503.
- [14] 李游江,胡瑛瑛,张晓东,喻员员,李斌,吴建国,等.七例 2019 冠状病毒病(COVID-19)普通型患者出院后病毒核酸随访结果[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2020, 49: 270-274.
- [15] YANG Y, YANG M, SHEN C, WANG F, YUAN J, LI J, et al. Evaluating the accuracy of different respiratory specimens in the laboratory diagnosis and monitoring the viral shedding of 2019-nCoV infections[J/OL]. *medRxiv*, 2020. doi: 10.1101/2020.02.11.20021493.

[本文编辑] 杨亚红