

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2020.09.0966

• 专题报道 •

## 重型新型冠状病毒肺炎患者病毒核酸阳性持续时间的影响因素分析

刘晶晶<sup>1,2</sup>, 刘 兮<sup>1,2</sup>, 杨明施<sup>1</sup>, 肖雪飞<sup>1,2\*</sup>, 岑超群<sup>3\*</sup>

1. 中南大学湘雅三医院 ICU, 长沙 410013
2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院中法新城院区, 武汉 430199
3. 中南大学湘雅三医院急诊科, 长沙 410013

**[摘要]** **目的** 分析重型新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 患者病毒核酸阳性持续时间及其影响因素, 为了解重型 COVID-19 患者的病毒清除状态及临床治疗和管理提供依据。**方法** 回顾性收集 2020 年 2 月 10 日至 3 月 28 日在湖北武汉同济医院中法院区住院治疗的 41 例重型 COVID-19 患者的临床资料, 采集患者口咽部分泌物的病毒核酸检测结果及其临床信息和实验室检查结果。患者从发病到病毒核酸转阴时间定义为病毒核酸阳性持续时间。使用多因素 Cox 回归分析探讨影响重型 COVID-19 患者病毒核酸阳性持续时间的因素。**结果** 41 例重型 COVID-19 患者中男 20 例 (48.8%)、女 21 例 (51.2%), 中位年龄为 68.0 (58.5, 74.0) 岁, 平均病毒核酸阳性持续时间为 (28.98 ± 11.71) d。多因素 Cox 回归分析提示糖尿病、淋巴细胞绝对值及较大剂量糖皮质激素 (激素总量 ≥ 300 mg) 的使用与病毒核酸阳性持续时间有关 ( $P < 0.05$ ), 而较小剂量糖皮质激素 (激素总量 < 300 mg) 的使用与病毒核酸阳性持续时间无关 ( $P > 0.05$ )。**结论** 重型 COVID-19 患者病毒核酸持续时间较长; 糖尿病、淋巴细胞绝对值降低及较大剂量糖皮质激素 (激素总量 ≥ 300 mg) 的使用是病毒核酸阳性持续时间的独立危险因素。

**[关键词]** 新型冠状病毒肺炎; 重型; 严重急性呼吸综合征冠状病毒 2; 核酸阳性

**[中图分类号]** R 511 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2020)09-0966-04

### Influencing factors for positive duration of viral nucleic acid in patients with severe coronavirus disease 2019

LIU Jing-jing<sup>1,2</sup>, LIU Xi<sup>1,2</sup>, YANG Ming-shi<sup>1</sup>, XIAO Xue-fei<sup>1,2\*</sup>, CEN Chao-qun<sup>3\*</sup>

1. ICU, The Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, Hunan, China
2. Sino-French New City Branch of Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430199, Hubei, China
3. Department of Emergency, The Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, Hunan, China

**[Abstract]** **Objective** To analyze the positive duration of viral nucleic acid in severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients and to explore its influencing factors, so as to understand the virus clearance state and provide evidence for treatment and management. **Methods** The clinical data of 41 patients with severe COVID-19 were retrospectively collected; the patients were hospitalized in Sino-French New City Branch of Tongji Hospital in Wuhan, Hubei Province from Feb. 10 to Mar. 28, 2020. The detection results of viral nucleic acid, clinical information and laboratory findings in oropharyngeal secretion were collected. The time from onset to negative of viral nucleic acid was defined as the positive duration of viral nucleic acid. Multivariate Cox regression analysis was used to explore the influencing factors affecting the positive duration of viral nucleic acid in severe COVID-19 patients. **Results** Among 41 patients with severe COVID-19, 20 (48.8%) were males and 21 (51.2%) were females, with a median age of 68.0 (58.5, 74.0) years. The average positive duration of viral nucleic acid was (28.98 ± 11.71) d in the patients. Multivariate Cox regression analysis indicated that diabetes mellitus, lymphocyte count and use of high dose of glucocorticoid (total hormone ≥ 300 mg) were associated with the positive duration of viral nucleic acid (all  $P < 0.05$ ), while use of low dose of glucocorticoid (total hormone < 300 mg) was not related to the positive duration of viral nucleic acid ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Positive duration of viral nucleic acid is longer in severe COVID-19 patients. Comorbidity of diabetes mellitus, decreased lymphocyte count and use of high dose of glucocorticoid (total hormone ≥ 300 mg) are independent risk factors for positive duration of viral nucleic acid.

**[收稿日期]** 2020-06-02 **[接受日期]** 2020-07-05

**[作者简介]** 刘晶晶, 博士, 主治医师. E-mail: ivljingjing@126.com

\*通信作者 (Corresponding authors). Tel: 0731-88618170, E-mail: xiaoxuefei@csu.edu.cn; Tel: 0731-88618515, E-mail: xiangyadoctorcen@163.com

[Key words] coronavirus disease 2019; severe; severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; positive nucleic acid  
[Acad J Sec Mil Med Univ, 2020, 41(9): 966-969]

从2019年底开始,一种由严重急性呼吸综合征冠状病毒2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)感染引起的新型冠状病毒肺炎(coronavirus disease 2019, COVID-19)席卷全球,其以强传染性、暴发流行及可能导致患者呼吸衰竭而死亡等特点成为举世瞩目的公共卫生事件<sup>[1]</sup>。截至2020年4月上旬,全球COVID-19确诊患者累计超过200万人,死亡人数超过10万人<sup>[2]</sup>。目前COVID-19传播的具体机制尚不明确,现有的相关知识主要来自对既往类似冠状病毒的相关研究,如严重急性呼吸综合征冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV)和中东呼吸综合征冠状病毒(Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV)。SARS-CoV-2主要通过呼吸道分泌物在人群中传播<sup>[3-4]</sup>,因此有咳嗽、咳痰等呼吸道症状的COVID-19患者是主要的传染源。尽管有研究证实SARS-CoV-2可能分布于消化道、泌尿道等多个器官<sup>[5-6]</sup>,但咽部分泌物病毒核酸检测仍是目前最重要、使用最广泛的决策依据。《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》从控制传染源的角度,在COVID-19患者的确诊标准和解除隔离出院标准中均强调了呼吸道病原体核酸PCR检测的重要地位<sup>[7]</sup>。然而,SARS-CoV-2在人体的存活与清除机制及持续阳性时间仍在研究中,有报道称COVID-19确诊的轻型患者从出现症状到口咽部病毒核酸转阴时间平均约为9.5 d,糖皮质激素有可能影响COVID-19患者的病毒清除能力<sup>[8]</sup>,但在重型甚至危重型患者中,糖皮质激素是需要被指南推荐使用的重要治疗手段。因此,本研究以重型COVID-19患者为研究对象,观察了患者口咽部病毒核酸持续阳性时间及其影响因素,为明确重型COVID-19患者的病毒清除状态及制定临床治疗策略提供依据。

## 1 资料和方法

1.1 资料来源 回顾性收集2020年2月10日至3月28日在华中科技大学同济医学院附属同济医院中法新城院区住院治疗的41例重型COVID-19患者的临床资料。根据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试

行第七版)》<sup>[7]</sup>,所有患者均符合重型COVID-19的诊断标准,即符合以下3条中任意1条:

(1)呼吸窘迫,呼吸频率 $\geq 30 \text{ min}^{-1}$ ; (2)静息状态下指氧饱和度 $\leq 93\%$ ; (3)动脉血氧分压/吸氧浓度 $\leq 300 \text{ mmHg}$  ( $1 \text{ mmHg} = 0.133 \text{ kPa}$ )。所有患者在住院期间病毒核酸均转阴,记录每例患者从发病到核酸转阴时间(病毒核酸阳性持续时间)及患者就诊时的相关信息、生物化学指标和治疗情况。

1.2 相关治疗 所有重型COVID-19患者均采用《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》推荐的治疗方案,其中抗病毒方案均为洛匹那韦利托那韦片(每片含洛匹那韦200 mg、利托那韦50 mg)2片、每天2次;糖皮质激素的使用根据患者症状选择剂量和疗程。

1.3 标本处理 所有重型COVID-19患者的病毒核酸检测标本均为口咽部咽拭子。标本采集后,用磁性病毒RNA/DNA提取试剂和PAN9600自动核酸抽提系统进行提取操作,然后用西安天隆科技有限公司生产的PCR试剂盒进行病毒扩增和鉴定。病毒核酸转阴时间定义为隔日2次及以上连续检测阴性的第1次取材时间。

1.4 统计学处理 应用SPSS 21.0软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不符合正态分布的计量资料以中位数(下四分位数,上四分位数)表示;采用Cox回归分析探讨影响因子与病毒核酸阳性持续时间的关系。检验水准( $\alpha$ )为0.05。

## 2 结果

2.1 患者一般资料及实验室指标 共收集41例重型COVID-19患者的临床资料,其中男20例(48.8%)、女21例(51.2%),中位年龄为68.0(58.5, 74.0)岁。所有患者均康复出院。出院后随访2个月,无一例复阳。41例重型COVID-19患者平均病毒核酸阳性持续时间为8~59( $28.98 \pm 11.71$ ) d。所有患者的一般资料及实验室指标如表1所示,超过半数(56.1%, 23例)的患者合并高血压,合并糖尿病者有15例(36.6%)。从症状上看,41例患者基本都存在不同程度的呼

吸困难,其他症状包括发热、咳嗽及消化道症状(如恶心、呕吐、纳差、腹胀、腹泻等)。

表 1 重型 COVID-19 患者的一般资料及实验室指标

Tab 1 General data and laboratory findings of severe COVID-19 patients

N=41	
Characteristic	Data
Age (year), $M(Q_L, Q_U)$	68.0 (58.5, 74.0)
Male $n$ (%)	20 (48.8)
Comorbidity $n$ (%)	
Diabetes	15 (36.6)
Hypertension	23 (56.1)
Symptom $n$ (%)	
Cough	26 (63.4)
Fever	35 (85.4)
Digestive symptoms	15 (36.6)
Treatment $n$ (%)	
Antivirus	41 (100.0)
Glucocorticoid	30 (73.2)
Laboratory finding	
Lymphocyte count ( $L^{-1}, \times 10^9$ ), $M(Q_L, Q_U)$	0.68 (0.51, 1.06)
Hemoglobin ( $g \cdot L^{-1}$ ), $\bar{x} \pm s$	125.34 $\pm$ 15.21
Platelet count ( $L^{-1}, \times 10^9$ ), $M(Q_L, Q_U)$	210.0 (165.5, 291.0)
ALT ( $U \cdot L^{-1}$ ), $M(Q_L, Q_U)$	28 (21, 60)
Creatinine ( $\mu mol \cdot L^{-1}$ ), $M(Q_L, Q_U)$	70.0 (57.5, 86.5)
LDH ( $mmol \cdot L^{-1}$ ), $\bar{x} \pm s$	337.10 $\pm$ 95.58
hsCRP ( $mg \cdot L^{-1}$ ), $M(Q_L, Q_U)$	40.2 (10.2, 70.4)
D-dimer ( $mg \cdot L^{-1}$ ), $M(Q_L, Q_U)$	1.85 (0.69, 2.76)

COVID-19: Coronavirus disease 2019; ALT: Alanine transaminase; LDH: Lactic dehydrogenase; hsCRP: High sensitivity C-reactive protein;  $M(Q_L, Q_U)$ : Median (lower quartile, upper quartile)

2.2 影响 COVID-19 患者病毒核酸阳性持续时间的因素分析 以病毒核酸阳性持续时间为因变量,一般资料和实验室指标为自变量,使用 Cox 回归进行单因素分析。结果如表 2 所示,糖尿病、糖皮质激素的使用(较高剂量和较低剂量相对于未使

用糖皮质激素者)、淋巴细胞绝对值、血肌酐水平及高敏 CRP 水平与病毒核酸阳性持续时间有关( $P$ 均 $<0.05$ )。对上述危险因素中有临床意义及差异有统计学意义的变量进行多因素 Cox 回归分析,结果提示糖尿病、淋巴细胞绝对值降低及较大剂量糖皮质激素(激素总量 $\geq 300$  mg)的使用是病毒核酸阳性持续时间延长的独立危险因素( $P$ 均 $<0.05$ )。见表 3。

表 2 重型 COVID-19 患者病毒核酸阳性持续时间的影响因素单因素 Cox 回归分析

Tab 2 Univariate Cox regression analysis of influencing factors associated with positive duration of viral nucleic acid in severe COVID-19 patients

Variable	HR (95% CI)	P value
Age	0.982 (0.957, 1.007)	0.168
Male	0.637 (0.338, 1.201)	0.163
Diabetes	3.772 (1.602, 8.883)	0.002
Hypertension	1.330 (0.708, 2.499)	0.375
Cough	1.176 (0.609, 2.270)	0.630
Fever	1.448 (0.603, 3.476)	0.408
Digestive symptoms	0.542 (0.276, 1.064)	0.075
Glucocorticoid		
High dose <sup>a</sup>	3.988 (1.577, 10.088)	0.003
Low dose <sup>b</sup>	2.316 (1.079, 4.969)	0.031
Lymphocyte count	0.207 (0.087, 0.492)	$<0.001$
Hemoglobin	1.018 (0.998, 1.239)	0.081
Platelet count	1.002 (0.998, 1.006)	0.295
ALT	1.005 (0.999, 1.010)	0.083
Creatinine	1.017 (1.005, 1.028)	0.014
LDH	1.000 (0.997, 1.003)	0.965
hsCRP	1.009 (1.001, 1.018)	0.037
D-dimer	0.941 (0.858, 1.032)	0.197

<sup>a</sup>: Total dose of glucocorticoid $\geq 300$  mg; <sup>b</sup>: Total dose of glucocorticoid $<300$  mg. COVID-19: Coronavirus disease 2019; ALT: Alanine transaminase; LDH: Lactic dehydrogenase; hsCRP: High sensitivity C-reactive protein; HR: Hazard ratio; CI: Confidence interval

表 3 重型 COVID-19 患者病毒核酸阳性持续时间的影响因素多因素 Cox 回归分析

Tab 3 Multivariate Cox regression analysis of influencing factors associated with positive duration of viral nucleic acid in severe COVID-19 patients

Variable	B	SE	HR (95% CI)	P value
Diabetes	1.582	0.482	4.867 (1.890, 12.530)	0.001
Lymphocyte count	-1.081	0.488	0.339 (0.130, 0.882)	0.001
hsCRP	0.013	0.005	1.013 (1.000, 1.023)	0.058
Digestive symptoms	-0.014	0.419	0.986 (0.434, 2.244)	0.974
Creatinine	0.010	0.007	1.010 (0.996, 1.024)	0.161
High dose of glucocorticoid <sup>a</sup>	1.041	0.485	2.832 (1.095, 7.321)	0.032
Low dose of glucocorticoid <sup>b</sup>	1.062	0.572	2.892 (0.942, 8.880)	0.064

<sup>a</sup>: Total dose of glucocorticoid $\geq 300$  mg; <sup>b</sup>: Total dose of glucocorticoid $<300$  mg. COVID-19: Coronavirus disease 2019; hsCRP: High sensitivity C-reactive protein; B: Regression coefficient; SE: Standard error; HR: Hazard ratio; CI: Confidence interval

### 3 讨论

COVID-19 的病原学确诊主要依赖于病毒核酸检测, 尤其是口鼻咽部分泌物的病毒核酸检测, 作为控制呼吸道传染源的重要方面, 这种非侵入性检查也成为我国制定 COVID-19 出院和解除隔离的标准。目前, SARS-CoV-2 能在人体存活多久仍在探索中, 有报道提示危重型 COVID-19 患者病毒清除时间可能更久<sup>[9]</sup>, 了解口咽部分泌物的病毒核酸阳性持续时间及其影响因素, 有助于优化 COVID-19 患者的隔离管理及治疗策略。在本研究中, 我们发现重型 COVID-19 患者的平均病毒核酸阳性持续时间为 (28.98±11.71) d, 其中最长持续时间为 59 d, 最短持续时间为 8 d。与既往报道中的轻型 COVID-19 患者 [平均病毒核酸阳性持续时间为 9.5 (6.0, 11.0) d]<sup>[8]</sup> 相比, 重型 COVID-19 患者的病毒核酸阳性持续时间更长。

既往有报道提示糖皮质激素的使用可能延长病毒核酸阳性持续时间<sup>[10]</sup>。本研究单因素分析发现糖皮质激素的使用与病毒核酸阳性持续时间有关, 但在多因素分析中仅较高剂量糖皮质激素 (激素总量≥300 mg) 与持续时间有关, 但较低剂量与之无关。提示在 COVID-19 治疗过程中, 较低剂量的糖皮质激素可能不会促进病毒清除。

本研究多因素分析发现, 糖尿病、淋巴细胞绝对值与病毒持续时间有关。糖尿病的患者免疫功能相对下降<sup>[11]</sup>, 而淋巴细胞绝对值是细胞免疫功能的评价指标<sup>[12]</sup>, 提示病毒清除确实与患者的免疫功能相关。因此我们下一步的前瞻性研究中将增加对患者免疫功能的评估。重型、危重型患者的免疫功能常常受到抑制, 这可能是重型、危重型 COVID-19 患者的病毒清除要久于轻型患者的原因。同时也提示, 在 COVID-19 患者的治疗中, 免疫治疗是非常重要的部分, 值得进一步研究验证。

由于 COVID-19 核酸检测的取材部位、检测方法等均会引起假阴性<sup>[13]</sup>, 使得目前的诊断标准仍然存在争议。但就目前情况来说, 在没有更进一步的大规模研究结果的前提下, 口咽部分泌物的病毒核酸检测仍然是广泛适用的主流评判方法, 并且依据此诊断方法, 我国有效地控制住了病毒的传播。如果有广泛应用的精确性更高的诊断方法, 可以进一步探讨病毒合并不同危险因素患者体内的病毒清除时间, 从而为了解 SARS-CoV-2 感染人体的病理生理过程提供依据。

### [参考文献]

- [1] HUI D S, AZHAR E I, MADANI T A, NTOUMI F, KOCK R, DAR O, et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health—the latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China[J]. *Int J Infect Dis*, 2020, 91: 264-266.
- [2] World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) situation report—77[R/OL]. (2020-04-06) [2020-04-06]. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-corona-virus-2019/situation-reports>.
- [3] PROMPETCHARA E, KETLOY C, PALAGA T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: lessons learned from SARS and MERS epidemic[J/OL]. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2020. doi: 10.12932/AP-200220-0772.
- [4] LIU Y, GAYLE A A, WILDER-SMITH A, ROCKLÖV J. The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus[J/OL]. *J Travel Med*, 2020, 27: taaa021. doi: 10.1093/jtm/taaa021.
- [5] HAN C, DUAN C, ZHANG S, SPIEGEL B, SHI H, WANG W, et al. Digestive symptoms in COVID-19 patients with mild disease severity: clinical presentation, stool viral RNA testing, and outcomes[J]. *Am J Gastroenterol*, 2020, 115: 916-923.
- [6] SUN J, ZHU A, LI H, ZHENG K, ZHUANG Z, CHEN Z, et al. Isolation of infectious SARS-CoV-2 from urine of a COVID-19 patient[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9: 991-993.
- [7] 中华人民共和国国家卫生健康委员会办公厅. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)[EB/OL]. (2020-03-03) [2020-05-18]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989/files/ce3e6945832a438eaae415350a8ce964.pdf>.
- [8] LING Y, XU S B, LIN Y X, TIAN D, ZHU Z Q, DAI F H, et al. Persistence and clearance of viral RNA in 2019 novel coronavirus disease rehabilitation patients[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133: 1039-1043.
- [9] ZHOU F, YU T, DU R, FAN G, LIU Y, LIU Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study[J]. *Lancet*, 2020, 395: 1054-1062.
- [10] HAN Y, JIANG M, XIA D, HE L, LV X, LIAO X, et al. COVID-19 in a patient with long-term use of glucocorticoids: a study of a familial cluster[J/OL]. *Clin Immunol*, 2020, 214: 108413. doi: 10.1016/j.clim.2020.108413.
- [11] BLOOMGARDEN Z T. Diabetes and COVID-19[J]. *J Diabetes*, 2020, 12: 347-348.
- [12] CHENG Y, ZHAO H, SONG P, ZHANG Z, CHEN J, ZHOU Y H. Dynamic changes of lymphocyte counts in adult patients with severe pandemic H1N1 influenza A[J]. *J Infect Public Health*, 2019, 12: 878-883.
- [13] WAN D Y, LUO X Y, DONG W, ZHANG Z W. Current practice and potential strategy in diagnosing COVID-19[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24: 4548-4553.

[本文编辑] 商素芳