

新型冠状病毒感染患者恢复期肛拭子中SARS-CoV-2核酸检测结果评价

汪小五, 朱义朗, 李团团, 高勇[△]

摘要:目的 分析新型冠状病毒感染的肺炎(COVID-19)患者在恢复期肛拭子标本中新型冠状病毒(SARS-CoV-2)核酸的检出率及其临床价值。**方法** 对我院确诊的COVID-19患者痰液、咽拭子和肛拭子3种来源的标本同期检测SARS-CoV-2核酸。分析3种标本类型的病毒核酸阳性率及肛拭子病毒核酸阳性时痰液标本和咽拭子标本中病毒核酸检出情况。**结果** 共收集50例COVID-19患者的156份样本,其中痰液标本41份,检出SARS-CoV-2阳性8份(19.5%);咽拭子标本55份,检出SARS-CoV-2阳性5份(9.1%);肛拭子标本60份,检出SARS-CoV-2阳性11份(18.3%)。50例COVID-19患者在恢复期出现病毒核酸阳性者痰液、咽拭子和肛拭子样本核酸检测阳性分别有8例(19.5%)、6例(12.0%)和10例(20.0%)。10例肛拭子核酸检测阳性患者的呼吸道标本核酸检测显示9例为阴性。**结论** COVID-19患者恢复期肛拭子SARS-CoV-2核酸阳性检出率较咽拭子和痰液标本检出率稍高。患者恢复期的呼吸道标本SARS-CoV-2核酸连续检测阴性时,应考虑添加肛拭子检测作为出院或者隔离标准。

关键词:肺炎,病毒性;冠状病毒属;恢复期;新型冠状病毒肺炎;新型冠状病毒;肛拭子;核酸检测
中图分类号:R563.1,R446.52 **文献标志码:**A **DOI:**10.11958/20200471

Evaluation of SARS-CoV-2 nucleic acid in convalescent anal swabs of patients with novel coronavirus infection

WANG Xiao-wu, ZHU Yi-lang, LI Tuan-tuan, GAO Yong[△]

Department of Clinical Laboratory, Fuyang Second People's Hospital, Anhui 236000, China

[△]Corresponding Author E-mail:fyeryuangy8@126.com

Abstract: Objective To analyze the detection rate and clinical value of SARS-CoV-2 nucleic acid in anal swab specimen from the convalescent patients with novel coronavirus infection (COVID-19). **Methods** SARS-CoV-2 nucleic acid were detected in convalescent patients with COVID-19 including sputum, pharyngeal swabs and anal swabs specimens. The nucleic acid positive rates of three types of specimens were analyzed. Meanwhile, the nucleic acid detection rates of sputum and pharyngeal swab specimens were analyzed in patients with the positive nucleic acid of anal swab virus. **Results** A total of 156 samples were collected from 50 patients with COVID-19. The positive for SARS-CoV-2 nucleic acid was 8 (19.5%) in 41 sputum samples. The positive for SARS-CoV-2 nucleic acid was 5 (9.1%) in 55 throat swab samples. The positive for SARS-CoV-2 nucleic acid was 11 (18.3%) in 60 anal swab specimen. Among the 50 convalescent patients with COVID-19, sputum, pharyngeal swabs and anal swab samples were 8 cases (19.5%), 6 cases (12.0%) and 10 cases (20.0%), respectively. In 10 patients with positive anal swab detection, 9 cases were found negative in the respiratory tract specimens. **Conclusion** The positive detection rate of SARS-CoV-2 nucleic acid is higher in anal swab specimen than that of laryngeal swabs and sputum specimens of the convalescent patients with COVID-19. When SARS-CoV-2 nucleic acid is negative in respiratory tract specimens, the anal swab specimen should be detected in the recovery period, which can be used as leaving hospital standard or isolation standard.

Key words: pneumonia, viral; coronavirus; convalescence; COVID-19; SARS-CoV-2; anal swab; nucleic acid detection

基金项目:阜阳市首批新型冠状病毒感染的肺炎疫情防控应急科技攻关项目(FK20201001)

作者单位:安徽省阜阳市第二人民医院检验科(邮编236000)

作者简介:汪小五(1988),女,硕士,主管技师,主要从事临床微生物检验研究

[△]通信作者 E-mail:fyeryuangy8@126.com

2019年12月,我国湖北省武汉市出现了41例不明原因肺炎患者,中国工程院院士徐建国博士领导的科研团队宣布引起此次肺炎爆发的为一种新型冠状病毒,世界卫生组织(WHO)暂定其为2019年新型冠状病毒[2019-nCoV,后更新为严重急性呼吸综合征冠状病毒2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)]^[1]。2020年1月3日,在1例患者的支气管肺灌洗液样本中发现了SARS-CoV-2,其被认为是导致COVID-19的原因^[2]。SARS-CoV-2主要通过呼吸道传播,实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(RT-qPCR)技术是目前COVID-19患者呼吸道标本核酸检测的主要方法^[3]。有研究报道,COVID-19患者粪便标本SARS-CoV-2核酸检测显阴性的时间比呼吸道标本晚^[4]。因此,粪便标本用于SARS-CoV-2的核酸检测不应被忽略。本研究收集了本院住院治疗恢复期COVID-19患者痰液、咽拭子和肛拭子3种标本,同期进行SARS-CoV-2核酸检测,并分析其临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2020年1月24日—2月17日于本院确诊的COVID-19患者50例,其中男24例,女26例,年龄1~82岁,平均(42.56±17.46)岁。诊断标准参照《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[5]。35例(70.0%)有发热症状,体温36.3~38.9℃,33例(66.0%)有咳嗽症状,19例(38.0%)有咳痰症状,6例(12.0%)有腹泻。23例(46.0%)有武汉接触史。患者住院天数11~36d,平均(22.5±8.0)d。

1.2 试剂与仪器 SARS-CoV-2 ORF1ab/N基因双重核酸检测试剂盒(RT-qPCR法)购自上海伯杰医疗科技有限公司;SLAN96P荧光定量PCR仪购自上海宏石医疗科技有限公司;核酸提取试剂盒及自动核酸提取仪均购自江苏硕世生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 采集50例患者住院恢复期的呼吸道标本(下呼吸道深咳痰和口咽拭子标本)和肛拭子标本,3种标本同期进行SARS-CoV-2核酸检测。住院恢复期指患者经过治疗后一般情况稳定,隔日复查呼吸道标本2次显示SARS-CoV-2核酸检测阴性,肺部CT明显病灶吸收良好,症状好转。痰液标本采集:由护士于床旁,患者先漱口后深吸气并用力咳嗽,得到的痰液(下呼吸道深咳痰)吐进已做好标识的标本盒内,盖上盖子拧紧密封(痰标本应避免混入唾液、漱口水或鼻涕等)。口咽拭子标本的采集:患者先用清水漱口,再张口发出“啊”音,必要时可以使用压舌板。护士使用灭菌棉签在患者的咽侧壁及咽后壁擦拭数次,再将棉签放入采样管中密封。肛拭子标本的采集:使用灭菌棉签,蘸取少量无菌生理盐水后,插入患者的肛门2~3cm处,再旋转2~3圈,迅速将棉签放入采样管中密封。所有标本采集完毕后,电话联系专门运送疑似SARS-CoV-2感染患者标本的人员及时运送至检验科。

1.3.2 SARS-CoV-2 核酸检测 采用RT-qPCR技术,针对SARS-CoV-2基因组中开放读码框1ab(open reading frame 1ab, ORF1ab)和核壳蛋白(nucleocapsid protein, N)进行检测。SARS-CoV-2核酸检测结果判读:(1)靶基因检测判读。① FAM通道检测ORF1ab基因, HEX/C通道检测N基因;②阴性为Ct值>37或未检出;③阳性为扩增曲线呈S型,且Ct值≤37;④可疑为扩增曲线呈S型,且37<Ct值<40。(2)SARS-CoV-2检测阳性判读标准。①同一份标本中SARS-CoV-2中2个靶标(ORF1ab, N)均为阳性;②单靶标阳性患者重新采样,重新检测,如果仍然为单靶标阳性,判定为阳性^[5]。

1.4 统计学方法 本文主要采用描述性统计,对正态分布的计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)形式;分类变量采用例(%)形式进行描述。

2 结果

2.1 恢复期患者3种标本中SARS-CoV-2核酸结果分析 本次50例COVID-19患者的156份标本包括痰液标本41份、咽拭子标本55份及肛拭子60份,痰液、咽拭子和肛拭子标本病毒核酸阳性率分别为19.5%、9.1%和18.3%。50例COVID-19患者中有痰液标本检测病毒核酸阳性8例,咽拭子有6例,肛拭子有10例,阳性率分别为19.5%、12.0%和20.0%,见表1。

Tab. 1 Test results of SARS-CoV-2 nucleic acid in 156 samples from 19 COVID patients

表1 COVID-19患者156份样本SARS-CoV-2核酸检测结果

| 样本类型 | 样本份数 | 患者数 | 阳性样本 | 阳性患者 |
|------|------|-----|-----------|-----------|
| 痰液 | 41 | 41 | 8(19.5%) | 8(19.5%) |
| 咽拭子 | 55 | 50 | 5(9.1%) | 6(12.0%) |
| 肛拭子 | 60 | 50 | 11(18.3%) | 10(20.0%) |

2.2 肛拭子病毒核酸阳性患者痰液和咽拭子标本病毒核酸检测分析 10例肛拭子病毒核酸检测阳性患者同期呼吸道病毒核酸检测分析结果见表2。在治疗恢复期,10例患者中有9例在肛拭子病毒核酸检测阳性时痰液或咽拭子标本检测已是阴性。患者7在入院12d时肺部CT病灶有所吸收,症状好转,痰液标本未检测核酸,咽拭子检测呈阴性,肛拭子检测呈阳性;入院14d时咽拭子检测呈阳性,肛拭子检测呈可疑;入院16d和19d结果与入院14d一致,肛拭子连续2次SARS-CoV-2 N基因检测阳性,即肛拭子核酸检测判断为阳性。患者10在入院15d时,肺部CT明显病灶吸收良好,症状好转,痰液标本核酸检测呈阳性,咽拭子、肛拭子均呈阴性;入院17d时,痰液和咽拭子标本核酸检测呈阴性,肛拭子未检测;入院19d时痰液和咽拭子标本核酸检测均呈阴性,肛拭子核酸检测呈阳性。其余8例患者同

Tab. 2 Analysis of respiratory tract specimens of 10 cases with positive SARS-CoV-2 nucleic acid test in anal swabs
表 2 10例肛拭子SARS-CoV-2核酸检测阳性患者呼吸道标本检测情况分析

| 患者编号 | 标本来源 | 第1次(n) | 第2次(n) | 第3次(n) | 第4次(n) |
|------|------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1 | 痰液 | 24.8/23.6(6) | N/N(10) | N/N(15) | N/N(17) |
| | 咽拭子 | N/33.2(6) | N/N(10) | N/N(15) | N/N(17) |
| | 肛拭子 | - | - | 36.1/N(15) | 36.8/37.0(17) |
| 2 | 痰液 | 33.2/29.9(10) | N/N(14) | - | N/N(17) |
| | 咽拭子 | N/N(10) | N/N(14) | - | N/N(17) |
| | 肛拭子 | - | 33.6/33.7(14) | 37/34.8(16) | - |
| 3 | 痰液 | N/32.8(6) | N/N(9) | N/N(11) | - |
| | 咽拭子 | N/35.3(6) | N/N(9) | N/N(11) | - |
| | 肛拭子 | - | 33.5/33.6(9) | 36.1/36.8(11) | - |
| 4 | 痰液 | N/34(25) | N/34.6(27) | N/N(29) | 36.1/N(30) |
| | 咽拭子 | N/N(25) | N/N(27) | N/N(29) | - |
| | 肛拭子 | - | - | 33.6/33.9(29) | - |
| 5 | 痰液 | - | - | - | - |
| | 咽拭子 | N/36.7(10) | N/N(12) | N/N(23) | - |
| | 肛拭子 | - | - | 30.8/30.6(23) | 30.8/30.6(24) |
| 6 | 痰液 | N/N(27) | N/35.2(28) | N/N(33) | N/N(34) |
| | 咽拭子 | N/36.4(27) | N/37.1(28) | N/N(33) | N/N(34) |
| | 肛拭子 | - | - | 35.6/36.2(33) | - |
| 7 | 痰液 | - | - | - | - |
| | 咽拭子 | N/N(12) | 32.6/32.4(14) | N/N(16) | N/N(19) |
| | 肛拭子 | 35.9/32.7(12) | N/34.7(14) | N/34.7(16) | N/35.6(19) |
| 8 | 痰液 | - | N/N(26) | - | - |
| | 咽拭子 | N/36.01(23) | N/N(26) | - | - |
| | 肛拭子 | - | 34.8/36.1(26) | - | - |
| 9 | 痰液 | N/37.1(13) | N/36.81(14) | N/N(15) | N/N(16) |
| | 咽拭子 | N/N(13) | N/N(14) | N/N(15) | N/N(16) |
| | 肛拭子 | - | - | - | 37.0/37.0(16) |
| 10 | 痰液 | N/34.1(12) | 36.5/33.2(15) | N/N(17) | N/N(19) |
| | 咽拭子 | N/N(12) | N/N(15) | N/N(17) | N/N(19) |
| | 肛拭子 | - | N/N(15) | - | 36.5/35.9(19) |

“/”前边数据表示SARS-CoV-2 ORF1ab基因检测结果,后边表示N基因检测结果;N表示结果阴性;“-”表示未检测;表中数据为Ct值;(n)表示入院天数

期3种标本做SARS-CoV-2核酸检测时,呼吸道标本核酸检测呈阴性,而肛拭子核酸检测均呈阳性。

3 讨论

3.1 COVID-19患者恢复期3种标本中SARS-CoV-2核酸检测结果比较 SARS-CoV-2存在人传人已经被证实,有研究报道还存在无症状感染患者传播^[6]。为了遏制病毒蔓延,无论是对密切接触者的的大排查,还是对康复出院患者的复查都至关重要。呼吸道标本的SARS-CoV-2核酸检测是COVID-19患者治疗后出院和解除隔离的标准之一。有研究表明,粪便标本中存在SARS-CoV-2颗粒^[7-8]。本研究对COVID-19患者恢复期痰液、咽拭子和肛拭子3种

标本同时检测SARS-CoV-2核酸(ORF1ab基因和N基因),发现痰液标本病毒核酸阳性率高于咽拭子。呼吸道标本尽量以痰液标本为主,当痰液标本无法获得时可考虑咽拭子标本。SARS-CoV-2核酸检测由于假阴性结果的存在,有的患者多次核酸检测阴性后又出现阳性结果,因此在标本取材时一定要按照正确的操作规范进行。有研究报道,粪便标本SARS-CoV-2核酸检测阳性率高于肛拭子^[4]。本研究发现COVID-19患者在恢复期痰液标本和肛拭子标本SARS-CoV-2核酸检测阳性率接近。50例患者中有10例恢复期肛拭子SARS-CoV-2核酸检测阳性,故患者肛拭子标本用于病毒核酸检测的价值应予以重视,能获取粪便标本检测核酸价值更高。

3.2 肛拭子病毒核酸阳性患者痰液和咽拭子标本病毒核酸检测分析 本研究中 COVID-19 患者住院最短 11 d, 最长 36 d, 住院期间多次检测病毒核酸。尤其是呼吸道标本, 在患者恢复期基本上是隔天检测病毒核酸, 观察是否转阴, 连续测得核酸阴性以及肺部 CT 显示明显好转即可出院。俞龙等^[4,8]报道粪便标本核酸检测阳性率高于肛拭子, 由于粪便标本处理流程比较麻烦, 而且同期粪便标本可能不能及时留取, 本研究只留取了肛拭子, 较粪便标本在做 RT-qPCR 前处理过程简单。本研究发现 10 例患者在恢复期 SARS-CoV-2 肛拭子核酸检测呈阳性。患者 7, 年龄 1 岁, 无法自主深咳痰液做病毒核酸检测, 故采集咽拭子标本检测核酸; 在住院第 12 天时同时检测了咽拭子和肛拭子的 SARS-CoV-2 核酸, 咽拭子呈阴性而肛拭子呈阳性; 入院第 12 天时患者肺部 CT 显示病灶有所吸收, 后期是隔天采集咽拭子和肛拭子, 最后咽拭子转阴后肛拭子仍然可疑。50 例患者中 6 例患者有腹泻症状, 包括患者 7。患者 10 入院 15 d 时呼吸道标本核酸检测呈阳性, 肛拭子呈阴性, CT 显示病灶明显吸收; 入院 19 d 时呼吸道标本病毒核酸转阴, 肛拭子呈阳性, 但是该患者并无腹泻症状。SARS-CoV-2 最主要的传播途径是经呼吸道传播^[9], 至于患者出现肛拭子核酸检测呈现阳性的原因, 以及是否存在以粪-口方式传播有待进一步研究。世界卫生组织 (WHO) 指出 SARS-CoV-2 检测结果的临床意义为阳性结果表明患者现在或过去被 SARS-CoV-2 感染, 但不一定出现症状; 阴性结果则不一定表明患者没有被 SARS-CoV-2 感染。本研究发现在 COVID-19 患者治疗恢复期呼吸道标本中核酸检测转阴的情况下, 肛拭子仍然是阳性, 有的患者还有腹泻症状, 有的则没有。Huang 等^[10]也提到 COVID-19 部分患者有腹泻症状。COVID-19 患者粪便中存在 SARS-CoV-2 颗粒, 是由于呼吸道入侵后通过消化系统排毒, 还是由于本身对消化系统有损伤, 这些都有待证明。这一检测结果需要引起临床的重视。应尽可能加大力度进行排查, 防止疫情进一步扩大。

3.3 局限性 本研究样本量偏小, 对结果分析可能存在一定的影响。实验室在后期才开展的肛拭子检测 SARS-CoV-2 核酸, 同一患者未进行多次肛拭子病毒核酸检测。如果肛拭子进行连续 2 次以上 SARS-CoV-2 核酸检测将更有说服力。

综上所述, 对从 COVID-19 患者粪便中检测到 SARS-CoV-2 RNA 是否具有传染性, 还须进行病毒的细胞培养和流行病学调查。此外, 在 COVID-19 患者恢复期对粪便或者肛拭子标本进行病毒核酸检

测同样值得重视。

参考文献

- [1] Lu H, Stratton CW, Tang YW. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle [J]. *J Med Virol*, 2020, 92: 401-402. doi: 10.1002/jmv.25678.
- [2] 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. doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
- [3] 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. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
- [4] 俞龙, 彭伟, 朱丹. 2019 冠状病毒患者出院前核酸检测粪便标本阳性而肛拭子、咽拭子阴性 1 例报告 [J/OL]. *解放军医学院学报*, 2020, 41 (2). (2020-02-22) [2020-04-03]. Yu L, Peng W, Zhu D. SARS-CoV-2 nucleic acid were negative in feces specimens while the anal swabs and swabs samples detection were positive in patient with COVID-19 before discharge: a case report [J/OL]. *Acad J Chin PLA Med Sch*, 2020, 41 (2). (2020-02-22) [2020-04-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/10.1117.r.20200221.2036.003.html>.
- [5] 国家卫生健康委办公厅. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第七版) [J]. *传染病信息*, 2020, 33 (1): 1-6, 26. General Office of the National Health and Health Commission. Novel Coronavirus Pneumonia Diagnosis and Treatment Plan (Trial 7th Edition) [J]. *Infect Dis Info*, 2020, 33 (1): 1-6, 26. doi: 10.3969/j.issn.1007-8134.2020.01.001.
- [6] Bai Y, Yao L, Wei T, et al. Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19 [J]. *JAMA*, 2020. doi: 10.1001/jama.2020.2565. [Epub ahead of print].
- [7] 李萍, 赵四林, 陈煜枫, 等. 2 例新型冠状病毒肺炎粪便 SARS-CoV-2 核酸阳性临床启示 [J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41 (4): 385-388. Li P, Zhao SL, Chen YF, et al. Clinical implications of 2 cases corona virus disease positive for SARS-CoV-2 nucleic acid in feces [J]. *Int J Lab Med*, 2020, 41 (4): 385-388. doi: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.04.001.
- [8] 吴冰珊, 俞婷婷, 黄枝妙, 等. 新型冠状病毒肺炎确诊病例粪便标本的病毒核酸检测 [J/OL]. *中国人兽共患病学报*, 2020. (2020-02-13) [2020-04-03]. Wu BS, Yu TT, Huang ZM, et al. Nucleic acid detection of fecal samples from confirmed cases of COVID-19 [J/OL]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2020. (2020-02-13) [2020-04-03]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/35.1284.r.20200226.2213.003.html>. doi: 10.3969/j.issn.1002-2694.2020.00.027.
- [9] Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China [J]. *JAMA*, 2020. doi: 10.1001/jama.2020.1585. [Epub ahead of print].
- [10] 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. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.

(2020-03-20 收稿 2020-04-03 修回)

(本文编辑 李鹏)