

· 论 著 ·

# 宁波市新型冠状病毒肺炎确诊病例SARS-CoV-2 靶标基因水平及影响因素分析

张丹丹, 傅小红, 焦素黎, 顾文珍, 许国章

宁波市疾病预防控制中心, 浙江 宁波 315010

**摘要:** **目的** 分析宁波市新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 病例确诊时严重急性呼吸综合征冠状病毒2型 (SARS-CoV-2) 靶标基因水平及影响因素。**方法** 通过中国疾病预防控制中心信息系统收集2020年1月21日—2月20日宁波市报告的COVID-19确诊病例人口学信息和临床资料, 通过宁波市疾病预防控制中心和定点医院收集确诊时SARS-CoV-2 ORF1ab基因和N基因的Ct值; 比较不同性别、年龄、症状严重程度、病例类型、病例来源、采样时间和采样部位的Ct值。**结果** 收集157例COVID-19确诊病例资料, 40~<60岁67例, 占42.68%。其中男性56例, 占35.67%; 女性101例, 占64.33%。女性病例ORF1ab基因和N基因Ct值分别为 $29.96\pm 5.28$ 和 $30.38\pm 4.90$ , 均高于男性病例的 $27.56\pm 4.94$ 和 $28.03\pm 4.88$  ( $P<0.05$ )。不同采样时间ORF1ab基因和N基因的Ct值差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 发病后1~7 d采样检测的ORF1ab基因和N基因的Ct值均最低, 分别为 $27.84\pm 4.80$ 和 $28.35\pm 4.65$ 。ORF1ab基因 ( $r_s=0.288$ ,  $P=0.001$ ) 和N基因 ( $r_s=0.296$ ,  $P=0.001$ ) Ct值均与采样时间呈正相关。咽拭子和痰液标本检测的ORF1ab基因Ct值分别为 $29.19\pm 4.85$ 和 $28.74\pm 6.40$ , N基因Ct值分别为 $29.61\pm 4.60$ 和 $29.22\pm 6.10$ , 差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。**结论** 采样时间对SARS-CoV-2核酸ORF1ab基因和N基因的Ct值影响较大。

**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型; 核酸检测; 靶标基因

中图分类号: R563.1 文献标识码: A 文章编号: 2096-5087 (2020) 12-1213-04

## Concentration of target genes of SARS-CoV-2 and influencing factors in the confirmed cases with COVID-19 in Ningbo

ZHANG Dandan, FU Xiaohong, JIAO Suli, GU Wenzhen, XU Guozhang

Ningbo Center for Disease Control and Prevention, Ningbo, Zhejiang 315010, China

**Abstract: Objective** To learn the concentration of target genes of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and the influencing factors in the confirmed cases with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Ningbo. **Methods** Demographic information and clinical diagnosis of COVID-19 cases reported in Ningbo from January 21 to February 20, 2020 were collected through China Disease Control and Prevention Information System. The Ct values of ORF1ab and N of the cases were collected through Ningbo Center for Disease Control and Prevention and designated hospitals, and analyzed in terms of gender, age, severity, clinical classification, source of case, sampling time and specimen type. **Results** There were 157 confirmed COVID-19 cases, including 56 males (35.67%) and 101 females (64.33%). Sixty-seven cases (42.68%) aged between 40 and 60 years old. The Ct values of ORF1ab and N in females were  $29.96\pm 5.28$  and  $30.38\pm 4.90$ , which were higher than  $27.56\pm 4.94$  and  $28.03\pm 4.88$  in males ( $P<0.05$ ). The Ct values of ORF1ab

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2020.12.006

基金项目: 宁波市科技重大专项-新型冠状病毒肺炎疫情防控应急科技攻关项目 (2020C50001); 宁波市医疗卫生品牌学科 (PPXK2018-10); 浙江省医学重点学科 (07-013)

作者简介: 张丹丹, 硕士, 副主任医师, 主要从事疾病预防控制工作

通信作者: 许国章, E-mail: xugz@nbcdc.org.cn

and N were the lowest when sampled at 1-7 days after onset ( $P < 0.05$ ), which were  $27.84 \pm 4.80$  and  $28.35 \pm 4.65$ . The Ct values of ORF1ab ( $r_s = 0.288$ ,  $P = 0.001$ ) and N ( $r_s = 0.296$ ,  $P = 0.001$ ) were positively correlated with sampling time. The Ct values of ORF1ab in pharyngeal swab and sputum were  $29.19 \pm 4.85$  and  $28.74 \pm 6.40$ , the Ct values of N in pharyngeal swab and sputum were  $29.61 \pm 4.60$  and  $29.22 \pm 6.10$ , both without significant differences between different samples ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Sampling time has a great influence on the Ct values of ORF1ab and N of SARS-CoV-2.

**Keywords:** coronavirus disease 2019; severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; nucleic acid detection; target genes

严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 型 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 可通过呼吸道飞沫、接触、长时间暴露于高浓度气溶胶等途径造成人与人的传播<sup>[1-2]</sup>, 大量无症状感染者使新型冠状病毒肺炎 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 疫情防控面临极大挑战<sup>[3-4]</sup>, 开展 SARS-CoV-2 检测对于 COVID-19 病例的早发现、早隔离、早治疗具有重要意义。SARS-CoV-2 核酸检测荧光 RT-PCR 法具有特异性强、灵敏度高、检测周期短和可定量等优点<sup>[5]</sup>, 但也存在假阴性和假阳性问题<sup>[6-7]</sup>。我国批准的 PCR 试剂盒扩增的靶区包括 SARS-CoV-2 基因组中的开放读码框 1ab (open reading frame 1ab, ORF1ab)、包膜蛋白 (envelope protein, E) 和核壳蛋白 (nucleocapsid protein, N)<sup>[8]</sup>。本文收集 2020 年 1 月 21 日—2 月 20 日宁波市报告的 157 例 COVID-19 确诊病例资料, 分析病例确诊时检测的 SARS-CoV-2 核酸靶标基因 ORF1ab 和 N 的相对浓度水平及其影响因素, 为 COVID-19 病例早期诊断提供依据。

## 1 资料与方法

**1.1 资料来源** 宁波市 COVID-19 确诊病例资料来源于中国疾病预防控制中心传染病监测系统。病例确诊时检测的 SARS-CoV-2 核酸 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值来源于宁波市疾病预防控制中心和市级定点医院。

**1.2 方法** 病例痰液和咽拭子标本采集依据《新型冠状病毒感染的肺炎防控方案 (第二版)》<sup>[9]</sup>, SARS-CoV-2 核酸 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值检测依据《新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南 (第二版)》<sup>[10]</sup>, 并严格按照检测试剂盒说明书操作及结果判读。比较不同性别、年龄、症状严重程度、病例类型、病例来源、采样时间、采样部位的 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值。

**1.3 统计分析** 采用 Excel 2007 软件整理数据, 采用 SPSS 17.0 软件统计分析。定量资料服从正态分布的采用均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 描述, 组间比较采用 *t* 检

验或单因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD 检验; 不服从正态分布的采用中位数和四分位数间距 [ $M(Q_R)$ ] 描述, 组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验。定性资料采用相对数描述, 组间比较采用  $\chi^2$  检验校正公式。采样时间与 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值的相关性采用 Spearman 秩相关分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 宁波市 157 例 COVID-19 确诊病例基本情况** 男性 56 例, 占 35.67%; 女性 101 例, 占 64.33%。年龄最小 1 岁, 最大 96 岁; 其中 40~<60 岁 67 例, 占 42.68%。严重程度以轻症为主, 138 例占 87.90%。聚集性病例 137 例, 占 87.26%; 散发病例 20 例, 占 12.74%。输入病例 51 例, 占 32.48%; 本地病例 104 例, 占 66.24%; 不详 2 例, 占 1.27%。

**2.2 不同特征 COVID-19 病例 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值比较** 女性病例确诊时检测的 ORF1ab 基因和 N 基因的 Ct 值均高于男性病例 ( $P < 0.05$ )。不同年龄、症状严重程度、类型和来源病例 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

**2.3 不同采样时间 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值比较** 采样时间多在发病后, 148 例占 94.27%。发病前、发病后 1~7 d、发病后 8~17 d 采样标本 ORF1ab 基因 ( $F = 9.930$ ,  $P < 0.001$ ) 和 N 基因 ( $F = 9.659$ ,  $P < 0.001$ ) Ct 值差异均有统计学意义; 两两比较结果显示, 发病后 1~7 d 采样标本 ORF1ab 基因 ( $t = -3.937$ ,  $P < 0.001$ ) 和 N 基因 ( $t = -7.716$ ,  $P < 0.001$ ) Ct 值均最低; 发病前和发病后 8~17 d 比较, 差异无统计学意义 ( $t = 0.221$ ,  $P = 0.904$ )。女性病例发病后 1~7 d 采样标本 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值均高于男性病例 ( $P < 0.05$ ); 不同性别发病前、发病后 8~17 d 采样标本 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。Spearman 秩相关分析结果显示, ORF1ab 基因 ( $r_s = 0.288$ ,  $P = 0.001$ ) 和 N 基因 ( $r_s = 0.296$ ,  $P = 0.001$ ) Ct 值均与采

样时间呈正相关。

表 1 不同特征 COVID-19 病例 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值比较

项目	例数 [n (%)]	ORF1ab 基因			N 基因		
		Ct 值	统计量	P 值	Ct 值	统计量	P 值
性别 <sup>a</sup>			-2.794	0.006		-2.880	0.005
男	56 (35.67)	27.56±4.94			28.03±4.88		
女	101 (64.33)	29.96±5.28			30.38±4.90		
年龄 (岁) <sup>b</sup>			0.225	0.798		0.121	0.886
<40	45 (28.66)	28.86±5.46			29.57±5.15		
40~	67 (42.68)	28.98±5.38			29.34±5.23		
≥60	45 (28.66)	29.55±5.00			29.11±5.27		
严重程度 <sup>c</sup>			-0.857	0.391		-0.790	0.430
重症	19 (12.10)	28.00 (7.00)			29.00 (9.00)		
轻症	138 (87.90)	30.00 (8.00)			30.00 (7.25)		
病例类型 <sup>c</sup>			-1.836	0.066		-0.902	0.367
聚集性病例	137 (87.26)	30.00 (8.00)			30.00 (8.00)		
散发病例	20 (12.74)	27.00 (7.50)			28.00 (6.50)		
病例来源 <sup>c</sup>			-1.383	0.167		-0.658	0.510
输入病例	51 (32.48)	28.00 (8.00)			30.00 (7.00)		
本地病例	104 (66.24)	30.00 (7.00)			30.00 (8.00)		

注: a 表示采用  $\bar{x} \pm s$  描述, 统计量为  $t$  值; b 表示采用  $\bar{x} \pm s$  描述, 统计量为  $F$  值; c 表示采用  $M (Q_R)$  描述, 统计量为  $Z$  值。

表 2 不同采样时间 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值比较

采样时间	例数 [n (%)]	ORF1ab 基因			N 基因		
		Ct 值 ( $\bar{x} \pm s$ )	$t$ 值	P 值	Ct 值 ( $\bar{x} \pm s$ )	$t$ 值	P 值
发病前	9 (5.73)	31.78±5.26	-1.993	0.085	31.56±4.39	-1.660	0.141
男	6 (66.67)	29.67±4.97			30.00±4.43		
女	3 (33.33)	36.00±3.00			34.67±2.52		
发病后 1~7 d	104 (66.24)	27.84±4.80	-3.080	0.003	28.35±4.65	-2.740	0.007
男	37 (35.58)	25.96±3.75			26.72±4.16		
女	67 (64.42)	28.88±5.02			29.25±4.68		
发病后 8~17 d	44 (28.03)	31.56±5.38	-0.331	0.743	31.94±5.06	-0.932	0.357
男	13 (29.55)	31.14±5.96			30.84±5.79		
女	31 (70.45)	31.73±5.21			32.40±4.75		

2.4 不同采样部位 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值比较 确诊时检测的标本为咽拭子 116 例, 占 73.88%; 痰液 40 例, 占 25.48%; 粪便 1 例, 占 0.64%。咽拭子和痰液标本检测的 ORF1ab 基因 Ct 值分别为 29.19±4.85 和 28.74±6.40, 差异无统计学意义 ( $t=0.408, P=0.685$ ); N 基因 Ct 值分别为 29.61±4.60 和 29.22±6.10, 差异无统计学意义 ( $t=0.376, P=0.708$ )。对 25 例病例同时采集咽拭子和痰液检测 SARS-CoV-2 核酸, 咽拭子标本检测 ORF1ab

基因和 N 基因均阳性 19 例, 阳性率为 76.00%; 痰液标本检测 ORF1ab 基因和 N 基因均阳性 25 例, 阳性率为 100.00%; 痰液标本 2 种基因双阳性率高于咽拭子标本 ( $\chi^2=4.735, P=0.030$ )。

### 3 讨论

研究结果显示, 采样时间对 SARS-CoV-2 核酸 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值的影响较大, 发病后 1~7 d 病例呼吸道标本病毒载量浓度最高, 随着时间

延长,浓度逐渐降低,提示发病后尽早采集呼吸道标本检测病毒核酸可提高检出率,与 ZHAO 等<sup>[11]</sup>研究结果一致。因此,发病至诊断的平均间隔时间越短,发现和诊断 COVID-19 的能力越强<sup>[12]</sup>。已有研究证实无症状感染者具有传染性<sup>[12-13]</sup>。本文有 9 例病例在进行核酸检测时虽未发病,但检测 SARS-CoV-2 阳性,提示应及时对确诊病例的密切接触者进行排查和采样检测,并做好隔离管理<sup>[14]</sup>。

女性病例确诊时检测 ORF1ab 基因和 N 基因的 Ct 值均高于男性病例,可能与采样时间不同有关。对采样时间分层分析发现,女性病例发病后 1~7 d 采样标本检测的 ORF1ab 基因和 N 基因 Ct 值均高于男性病例,而在发病前和发病后 8~17 d 不同性别差异均无统计学意义。重症与轻症病例确诊时检测的 ORF1ab 基因和 N 基因的 Ct 值差异无统计学意义,流行病学调查发现,重症 COVID-19 的高危人群大多为伴有高血压、肺结核、慢性肝病和恶性肿瘤等基础性疾病的老年人<sup>[15-17]</sup>,而症状严重程度与 SARS-CoV-2 病毒载量的关系尚不明确,仍需进一步研究。此外,不同年龄段病毒核酸检测结果也表明人群对 SARS-CoV-2 普遍易感,需做好个人防护,与曾希鹏等<sup>[18]</sup>研究结果一致。

本研究显示,痰液标本检测的 ORF1ab 基因和 N 基因阳性率均高于咽拭子标本,提示痰液标本的病毒含量高于咽拭子标本<sup>[19]</sup>,可能与 SARS-CoV-2 主要侵袭下呼吸道细胞有关。且鼻、咽拭子等标本病毒核酸检出率与病毒感染进程密切相关<sup>[20]</sup>。因此,需谨慎将咽拭子标本 SARS-CoV-2 核酸检测阴性作为排除感染及治愈标准,必要时可采集痰液等标本检测。

鉴于 SARS-CoV-2 核酸检测受采样时间影响较大,应对确诊病例及密切接触者进行早发现、早隔离、早检测。由于在核酸检测过程中不可避免地存在假阴性或假阳性,应结合流行病学史、临床表现和其他实验室检测结果做出综合判断。

## 参考文献

- [1] 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防控方案(第六版)的通知 [EB/OL]. (2020-03-07) [2020-09-10]. <http://www.nhc.gov.cn/jkj/s3577/202003/4856d5b0458141fa9f376853224d41d7.shtml>.
- [2] World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) outbreak situation [EB/OL]. (2020-06-10) [2020-09-10]. [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200610-covid-19-sitrep-142.pdf?sfvrsn=180898cd\\_6](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200610-covid-19-sitrep-142.pdf?sfvrsn=180898cd_6).
- [3] 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. 新型冠状病毒肺炎流行病学特征分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41 (2): 145-151.

- [4] BAI Y, YAO L, WEI T, et al. Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19 [J]. JAMA, 2020, 323 (14): 1406-1407.
- [5] 安娜, 俸家富. 医学检验技术在新型冠状病毒肺炎诊疗中的应用 [J]. 检验医学与临床, 2020, 17 (7): 865-868, 872.
- [6] 里进, 叶光明, 陈良君, 等. 新型冠状病毒核酸检测假阴性结果原因分析及对策 [J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43 (3): 221-225.
- [7] 王达, 董梁, 卿松, 等. 新型冠状病毒核酸检测中的思维误区 [J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30 (8): 1167-1170.
- [8] CERAOLO C, GIORGI F M. Genomic variance of the 2019-nCoV coronavirus [J/OL]. J Med Virol (2020-02-06) [2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Genomic+variance+of+the+2019-nCoV+coronavirus>. DOI: 10.1002/jmv.25700.
- [9] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染的肺炎防控方案(第二版) [Z/OL]. (2020-01-22) [2020-09-10]. [http://health.cnrcn/jkdxw/20200123/t20200123\\_524947936.shtml](http://health.cnrcn/jkdxw/20200123/t20200123_524947936.shtml).
- [10] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南(第二版) [Z/OL]. (2020-01-22) [2020-09-10]. <https://max.book118.com/html/2020/0123/8000037012002074.shtml>.
- [11] ZHAO J, YUAN Q, WANG H, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019 [J/OL]. Clin Infect Dis (2020-03-28) [2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7184337/pdf/ciaa344.pdf>. DOI: 10.1093/cid/ciaa344.
- [12] 中华预防医学会新型冠状病毒肺炎防控专家组. 新型冠状病毒肺炎流行病学特征的最新认识 [J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41 (2): 139-144.
- [13] 陈奕, 王爱红, 易波, 等. 宁波市新型冠状病毒肺炎密切接触者感染流行病学特征分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41 (5): 667-671.
- [14] 高文静, 郑可, 柯骥, 等. 新型冠状病毒肺炎无症状感染者感染相关研究进展 [J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41 (7): 990-993.
- [15] 程芳, 刘赛朵, 叶新春, 等. 新型冠状病毒肺炎普通型和重症病例临床特征比较 [J]. 预防医学, 2020, 32 (9): 886-890, 894.
- [16] 林君芬, 吴梦娜, 吴昊澄, 等. 浙江省新型冠状病毒肺炎病例流行特征分析 [J]. 预防医学, 2020, 32 (3): 217-221, 225.
- [17] 张栋梁, 易波, 陈奕, 等. 宁波市新型冠状病毒肺炎病例流行特征分析 [J]. 预防医学, 2020, 32 (4): 330-333.
- [18] 曾希鹏, 谢朝梅, 谢燕湘, 等. 常德市 79 例新型冠状病毒肺炎确诊病例本底资料及核酸检测结果分析 [J/OL]. 实用预防医学 (2020-03-09) [2020-09-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/43.1223.r.20200306.1249.006.html>.
- [19] CHARLTON C L, BABADY E, GINOCCHIO C C, et al. Practical guidance for clinical microbiology laboratories: viruses causing acute respiratory tract infections [J]. Clin Microbiol Rev, 2018, 32 (1): 1-49.
- [20] 莫茜, 秦炜, 傅启华, 等. 正确认识新型冠状病毒核酸检测的影响因素 [J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43 (3): 213-216.

收稿日期: 2020-06-11 修回日期: 2020-09-10 本文编辑: 徐文璐