

• 新型冠状病毒肺炎 •

2 例新型冠状病毒肺炎粪便 SARS-CoV-2 核酸阳性临床启示*

李 萍¹, 赵四林², 陈煜枫¹, 胡 燕¹, 许 涛³, 谢小兵^{1△}

(湖南中医药大学第一附属医院; 1. 医学检验与病理中心; 2. 呼吸内科; 3. 急诊科, 湖南长沙 410007)

摘 要: 目前中国新型冠状病毒肺炎(COVID-19)疫情仍十分严峻, 及时、早期地识别 COVID-19 患者是控制疫情的关键步骤。而新型冠状病毒(SARS-CoV-2)核酸检测作为诊断 COVID-19 的金标准, 不但对检测技术提出更高的要求, 同时对不同病程患者如何选择标本类型也是一个挑战。本文报道 2 例 COVID-19 确诊病例的诊疗经过, 并分析采用不同类型标本检测 SARS-CoV-2 核酸的检出情况, 为临床诊断 COVID-19 时如何选择标本类型和如何提高核酸检出率提供参考。

关键词: 新型冠状病毒; 新型冠状病毒肺炎; 乙类传染病; 核酸检测

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.04.001 **中图法分类号:** R563.1

文章编号: 1673-4130(2020)04-0385-04 **文献标识码:** A

Clinical implications of 2 cases of corona virus disease positive for SARS-CoV-2 nucleic acid in feces*

LI Ping¹, ZHAO Silin², CHEN Yufeng¹, HU Yan¹, XU Tao³, XIE Xiaobing^{1△}

(1. Department of Medical Laboratory and Pathology Center; 2. Department of Respiratory Medicine; 3. Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

Abstract: At present, the epidemic situation of corona virus disease(COVID-19) in China is still very serious, and timely and early identification of COVID-19 patients is a key step in controlling the epidemic. As a gold standard for the diagnosis of COVID-19, the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2(SARS-CoV-2) nucleic acid test not only puts higher requirements on the detection technology, but also challenges the selection of specimen types for patients with different disease processes. This article reports the diagnosis and treatment of 2 COVID-19 confirmed cases, and analyzes the detection of SARS-CoV-2 nucleic acid detection using different types of specimens, which provides a reference for how to select specimen types and improve nucleic acid detection rate in clinical diagnosis of COVID-19.

Key words: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; corona virus disease; category B infectious diseases; nucleic acid detection



自 2019 年 12 月由武汉首次报道新型冠状病毒肺炎(COVID-19)感染以来, 疫情迅速在湖北省及中国其他地区蔓延^[1-2]。目前, 由感染新型冠状病毒(SARS-CoV-2)所导致的 COVID-19 已被纳入《中华

人民共和国传染病防治法》规定的乙类传染病, 并采取甲类传染病的预防和控制措施。根据国家卫生健康委员会办公厅/国家中医药管理局办公室发布的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第五版修正版)》^[3], 常见的临床表现有发热和(或)呼吸道症状, 疾病早期白细胞总数正常或减少, 或淋巴细胞计数减少。对确诊病例的诊断需具备以下病原学证据之一: (1)呼吸道标本或血液标本实时荧光定量 PCR 检测

* 基金项目: 湖南中医药大学一流学科开放基金项目(2018YXJS02)。

专家简介: 谢小兵, 医学博士, 主任技师, 教授, 硕士生导师, 湖南中医药大学第一附属医院医学检验与病理中心主任; 中国中西医结合学会检验医学专业委员会副主任委员; 中国医师协会检验医师分会委员; 中华医学会检验分会生物化学组副组长; 湖南省中医药和中西医结合学会检验医学专业委员会主任委员; 湖南省医学会检验专业委员会副主任委员; 撰写并发表 50 多篇学术论文, 其中 SCI 5 篇, 参编著作 8 部, 主持并参与国家级、省部级课题 8 项。

作者简介: 李萍, 女, 副教授, 主要从事疾病分子诊断方面的研究。△ 通信作者, E-mail: xxiaobing888@163.com。

本文引用格式: 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.

SARS-CoV-2 核酸阳性；(2)呼吸道标本或血液标本病毒基因测序,与已知的 SARS-CoV-2 高度同源。因此准确、及时的病原学核酸检测已成为诊断 COVID-19 的重要环节。

用于呼吸道病原体核酸检测的标本有上呼吸道标本(口咽拭子、鼻咽拭子、鼻咽抽取物等)和下呼吸道标本(深咳痰液、呼吸道抽取物、支气管灌洗液、肺泡灌洗液和肺组织活检标本等)。目前,进行 SARS-CoV-2 核酸检测最常用的标本类型为口/鼻咽拭子,而据现在已开展的 SARS-CoV-2 核酸检测情况来看,咽拭子标本核酸检出率偏低、灵敏度不高。本文报道 2 例 COVID-19 确诊病例的诊疗经过,并分析采用不同类型标本检测 SARS-CoV-2 核酸的检出情况,为临床诊断 COVID-19 时如何选择标本类型和如何提高核酸检出率提供参考。

1 临床资料

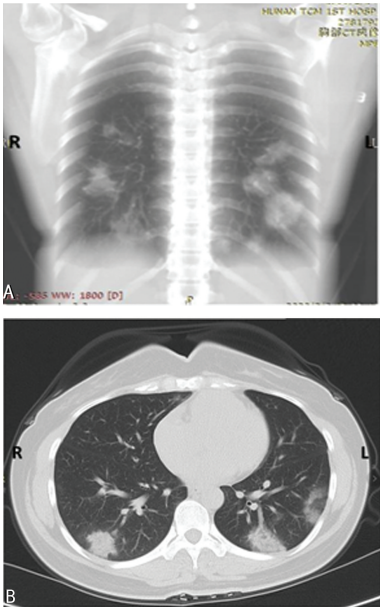
病例 1:女,34 岁。主诉“咳嗽咳痰 8 d”。患者自诉 2020 年 1 月 22 日曾与一武汉居住者有接触,1 月 24 日出现咽痛,未予重视,1 月 25 日出现咳嗽,咳黄痰,无乏力、发热、头痛、肌肉酸痛等。自行服用“莲花清瘟胶囊”和“银黄颗粒”药物后咳嗽次数有所减少,痰易咳出。1 月 28 日出现胃胀、腹泻,起初为水样,后为质稀。于 2 月 1 日在本院发热门诊进一步诊治。

入院后查体:体温 37.0℃,脉搏 113 次/分,呼吸 20 次/分,血压 128/84 mm Hg,指氧饱和度 99%。实验室检查(血常规+C-反应蛋白):白细胞总数 $6.15 \times 10^9/L$,嗜酸性粒细胞总数 $0.01 \times 10^9/L$,嗜酸性粒细胞百分比 0.2%,淋巴细胞百分比 29.4%,红细胞 $4.11 \times 10^{12}/L$,血红蛋白 128 g/L,血小板 $10^6 \times 10^9/L$,C-反应蛋白 42.1 mg/L。肝功能及肾功能未见明显异常。心肌酶谱:肌酸激酶 72 IU/L,肌酸激酶同工酶-MB 21.8 IU/L,乳酸脱氢酶 302 IU/L,肌红蛋白 33 μg/L。肺炎支原体免疫球蛋白 M 0.17 S/Co,免疫球蛋白 G 63 IU/mL,肺炎衣原体免疫球蛋白 M 0.07 S/Co,免疫球蛋白 G 69 IU/mL;输血前四项(乙型肝炎病毒表面抗原、丙型肝炎病毒抗体、人类免疫缺陷病毒抗体、梅毒螺旋体抗体)未见异常。胸部 CT:双肺多发斑片及片状密度影,考虑感染,不排除病毒性肺炎,隔离病房留观,见图 1。

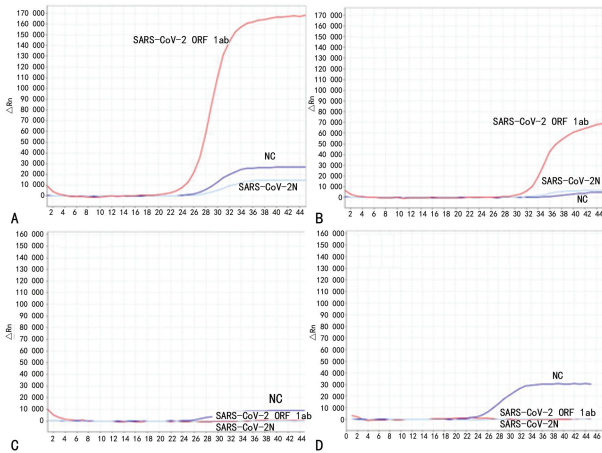
为进一步明确诊断,于 2 月 2 日采取咽拭子标本,采用手工磁珠法提取核酸,实时荧光定量 PCR 方法检测 SARS-CoV-2 核酸(靶标包括 SARS-CoV-2 ORF 1ab 及编码核衣壳蛋白 N 基因)。结果显示 SARS-CoV-2 ORF 1ab 及编码核衣壳蛋白 N 基因 2 种靶标均有典型 S 型扩增曲线[循环阈值(Ct 值)<

40],见图 2。经专家组会诊,患者 2 月 2 日晚上出现发热(38.2℃),结合其他临床表现、影像学、接触史及 SARS-CoV-2 核酸检测结果确诊为 COVID-19。

为进一步验证患者其他体液及粪便标本中能否检出 SARS-CoV-2 核酸,于 2 月 4 日早晨采集患者乙二胺四乙酸抗凝全血、尿液和粪便标本,分别进行 SARS-CoV-2 核酸检测。其中粪便标本用生理盐水预处理制备粪便混悬液,离心后取上清,备用。后续核酸提取和 PCR 检测方法同上述咽拭子的处理方法。该患者全血和尿液标本中未检出 SARS-CoV-2 核酸,但粪便中 SARS-CoV-2 ORF 1ab 及编码核衣壳蛋白 N 基因 2 种靶标均有典型 S 型扩增曲线(Ct 值<40),见图 2。



注:A 表示冠状位重组图;B 表示横断位图。
图 1 病例 1 的 CT 影像学检查结果



注:A 表示咽拭子;B 表示粪便;C 表示全血;D 表示尿液;NC 表示内参基因;SARS-CoV-2 ORF 1ab 表示开放读码框 1a/b 基因;SARS-CoV-2 表示核衣壳蛋白 N 基因。

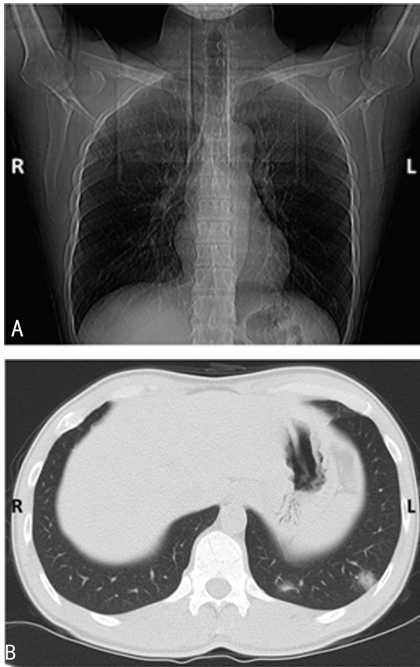
图 2 病例 1 的 4 种标本 SARS-CoV-2 核酸实时荧光定量 PCR 结果扩展曲线

病例 2:男,39 岁,与病例 1 为夫妻关系。主诉“咳嗽、咳痰 5 d”。患者自诉 2020 年 1 月 22 日曾与一武汉居住者有接触,与其妻子同住。1 月 29 日出现咳嗽,咳少量黄色脓痰,伴全身酸痛,无恶寒、发热等其余不适。自服“银花清肺胶囊”和“莲花清瘟胶囊”后咳嗽、咳痰较前好转,改服“银黄颗粒”。2 月 1 日开始出现鼻塞、咽痛,胸背部酸胀感,自觉燥热,无恶寒、发热、恶心、呕吐、腹胀、腹泻等其余不适,食欲、睡眠欠佳,精神一般,大小便正常。于 2 月 3 日于本院发热门诊进一步诊治。

入院后查体:体温 37.0℃,脉搏 86 次/分,呼吸 18 次/分,血压 126/84 mm Hg,指氧饱和度 99%。实验室检查(血常规+C-反应蛋白):白细胞 $3.52 \times 10^9/L$,嗜酸性粒细胞总数 $0.01 \times 10^9/L$,嗜酸性粒细胞百分比 0.2%,单核细胞百分比 10.3%,淋巴细胞总数 $0.94 \times 10^9/L$,血小板 $78 \times 10^9/L$,C-反应蛋白 6.48 mg/L。肝功能、肾功能、心肌酶、降钙素原及 D-二聚体未见异常。胸部 CT:双肺下叶后基底段斑片状高密度影,考虑感染,不排除病毒性肺炎;双肺多发小结节影,右肺上叶及下叶背段病灶考虑结核可能性大,见图 3。隔离病房留观。

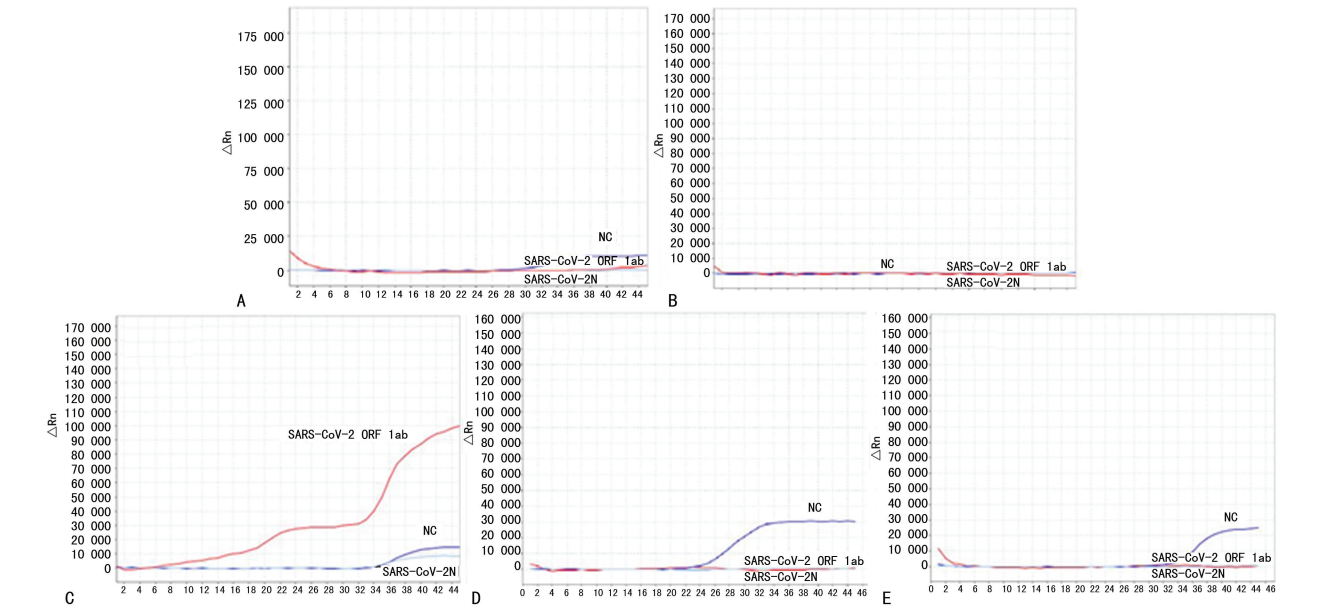
为进一步明确诊断,于 2 月 3 日采集患者咽拭子标本进行 SARS-CoV-2 核酸检测(方法同病例 1),核酸结果为阴性。2 月 4 日再次采集患者咽拭子、乙二胺四乙酸抗凝全血、尿液及粪便标本分别进行 SARS-CoV-2 核酸检测(方法同病例 1),咽拭子 PCR 结果中

内参基因未起峰,在排除了检验操作和试剂问题后,考虑为取样不合格;全血和尿液标本中未检出 SARS-CoV-2 核酸,但粪便中 SARS-CoV-2 ORF 1ab 及编码核衣壳蛋白 N 基因 2 种靶标均有典型 S 型扩增曲线(Ct 值<40),见图 4。经专家组会诊,该病例有明确的接触史,结合其他临床表现、影像学及 SARS-CoV-2 粪便标本中核酸检测结果,确诊为 COVID-19。



注:A 表示冠状位重组图;B 表示横断位图。

图 3 病例 2 的 CT 影像学检查结果



注:A 表示第 1 次咽拭子;B 表示第 2 次咽拭子;C 表示粪便;D 表示全血;E 表示尿液;NC 表示内参基因;SARS-CoV-2 ORF 1ab 表示开放读码框 1a/b 基因;SARS-CoV-2 表示核衣壳蛋白 N 基因。

图 4 病例 2 的 4 种标本 SARS-CoV-2 核酸实时荧光定量 PCR 结果扩展曲线

2 讨 论

COVID-19 疫情在中国已进入关键时期,及时、早期诊断是疫情防控工作中的重要环节。在临床诊疗过程中,仅依靠临床症状或者实验室常规检查及影像学检查均不能作为确诊 COVID-19 的准确依据,而检出 SARS-CoV-2 核酸是确诊 COVID-19 的金标准,因此,及时、准确的病毒核酸检测不仅为尽早采取隔离措施,进行及时、有效治疗、阻止疫情进一步扩大发挥至关重要的作用,也为重新识别与患者密切接触、被隔离的大量观察者节省宝贵的医疗资源。

针对 SARS-CoV-2 核酸检测,目前已有多家公司开发出实时荧光定量 PCR 检测试剂,但近期有媒体及专家反映 SARS-CoV-2 核酸阳性率偏低,有的病例重复检测多次阴性后又出现阳性结果。也有医生反映咽拭子标本多次检测阴性但最后在呼吸道灌洗液标本中检出阳性结果,以及 CT 影像筛查出现 COVID-19 特征但核酸检测为阴性等问题。为了评估和验证不同类型标本的 SARS-CoV-2 核酸检出情况,本研究在确诊的 2 例 COVID-19 患者采集了 4 种不同类型标本分别进行 SARS-CoV-2 核酸检测,这 2 例患者粪便标本均检出核酸阳性,特别是病例 2,第 1 次取咽拭子标本,结果为阴性;次日再取咽拭子,内参基因未起峰,已排除本次实验操作和试剂问题,所以判断为咽拭子取样不合格或咽拭子取样时存在影响 PCR 的抑制剂,但同批次检测的该患者粪便标本为阳性结果。这提示笔者有以下几点值得重视:(1)标本采集方法和类型的问题:咽拭子取样必须遵照取样操作规范,最好同时取口咽拭子和鼻咽拭子放在同一根保存管中,以提高病毒检出率;粪便标本用于检测 SARS-CoV-2 核酸的价值值得重视。粪便取样方便,且不像咽拭子标本对取样要求高,粪便标本的量和质容易得到满足。(2)患者的病情和病程:不同病程、不同病情患者体内的病毒存在量可能不同,在疾病的早期或轻症患者,口/鼻咽部可能病毒载量低,造成核酸检测假阴性结果,这时选择粪便标本进行核酸检测可能是较好的策略,而不论其是否有腹泻等消化道症状。(3)关于试剂和检测的问题:选择质量可靠、有保证的检测试剂。选择至少含 SARS-CoV-2 基因的 2 个位点(开放读码框 1a/b、核衣壳蛋白 N 或 E 结构蛋白)^[4]。选择内参基因为内源性内参,而非人工加入的外源性

内参,以排除取样不合格造成的结果假阴性问题。具体核酸检测的质量控制参照由中华医学会检验医学分会发布的《新型冠状病毒肺炎病毒核酸检测专家共识》^[5]。

本文中的 2 例确诊病例并没有明显的发热,只有轻微的上呼吸道症状,有病毒性肺炎的影像学改变,因此,在诊断 COVID-19 需要结合呼吸道症状、CT 影像学检查及 SARS-CoV-2 核酸结果综合判断。同时,笔者建议在无法获得下呼吸道标本的情况下,同时送检口/鼻咽拭子标本和粪便标本进行 SARS-CoV-2 核酸检测,以期提高核酸检测的阳性率。由于只有 2 例确诊病例的粪便检测结果,尚还不具代表性,期待更多的临床数据验证。

志谢:

感谢湖南中医药大学第一附属医院放射科沈宏荣教授为本文提供的 CT 影像学资料!

参考文献

[1] JIANG S B,XIA S,YING T L,et al. A novel coronavirus (2019-nCoV) causing pneumonia-associated respiratory syndrome[J/OL]. Cell Mol Immunol, 2020, [2020-02-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>. DOI: 10. 1038/s41423-020-0372-4.

[1] QURESHI U U R, SALEEM S, KHAN A, et al. Outbreak of novel corona virus (2019-nCoV); implications for travelers to Pakistan[J/OL]. Travel Med Infect Dis, 2020: 101571, [2020-02-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>. DOI: 10. 1016/j. tmaid. 2020. 101571.

[3] 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治疗方案(试行第五版修正版)[S/OL]. (2020-02-04) [2020-02-08]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202002/3b09b894ac9b4204a79db5b8912d4440.shtml>.

[4] 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(第三版)[S/OL]. (2020-01-28) [2020-01-28]. <http://www.nhc.gov.cn/jkj/s7923/202001/470b128513fe46f086d79667db9f76a5.shtml>.

[5] 中华医学会检验医学分会. 新型冠状病毒肺炎病毒核酸检测专家共识[J]. 中华医学杂志, 2020, 100(1): 3.

(收稿日期:2020-02-13 修回日期:2020-02-14)