

# 新型冠状病毒肺炎患者鼻咽拭子核酸阴转时间的影响因素

钱芳 宋美华 田地 葛子若 张婷玉 王爱彬 韩冰 徐艳利 陈志海

**【摘要】目的** 分析新型冠状病毒肺炎(COVID-19)患者鼻咽拭子新型冠状病毒(SARS-CoV-2)核酸阴转时间的影响因素。**方法** 本项单中心回顾性病例对照研究共收集2020年6月11日至2020年7月1日首都医科大学附属北京地坛医院收治的121例确诊为COVID-19患者的临床资料,采用Cox比例风险回归模型分析COVID-19患者鼻咽拭子SARS-CoV-2核酸阴转时间的独立影响因素。**结果** 121例COVID-19患者发病至鼻咽拭子核酸检测阴转时间为[27 (23, 34)] d。多因素Cox回归分析提示年龄 $> 45$ 岁( $HR = 0.583$ ,  $95\%CI: 0.388 \sim 0.877$ ,  $P = 0.010$ )和体温 $> 39^{\circ}C$ ( $HR = 0.482$ ,  $95\%CI: 0.254 \sim 0.914$ ,  $P = 0.025$ )均为影响SARS-CoV-2核酸阴转时间的独立危险因素;  $CD8^{+}$  T细胞 $> 300$ 个/ $\mu l$ ( $HR = 1.708$ ,  $95\%CI: 1.102 \sim 2.647$ ,  $P = 0.017$ )均为SARS-CoV-2核酸阴转时间的独立保护因素。**结论** 年龄 $> 45$ 岁、高热及 $CD8^{+}$  T细胞 $\leq 300$ 个/ $\mu l$ 等预测因子有助于临床医生早期识别可能出现SARS-CoV-2核酸阳性持续时间较长的COVID-19住院患者,促进改善治疗策略及调整隔离方案。

**【关键词】** 新型冠状病毒肺炎; 新型冠状病毒; 核酸阴转时间

**Influencing factors for negative conversion time of viral RNA from nasopharyngeal swabs of patients with coronavirus disease 2019** Qian Fang, Song Meihua, Tian Di, Ge Ziruo, Zhang Tingyu, Wang Aibin, Han Bing, Xu Yanli, Chen Zhihai. Department of Infectious Diseases, National Clinical Key Specialty for Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China  
Corresponding author: Chen Zhihai, Email: chenzhihai001@126.com

**【Abstract】Objective** To investigate the clinical and laboratory characteristics which influence the negative conversion time of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) ribonucleic acid (RNA) of nasopharyngeal swab in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). **Methods** Total of 121 patients diagnosed as COVID-19 were admitted to Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, from June 11st 2020 to July 1st 2020. Clinical data of these patients were collected in this single-center retrospective case-control study. Cox proportional hazard regression model analysis was used to investigate the independent factors influencing negative conversion time of virus RNA in nasopharyngeal swabs of patients with COVID-19. **Results** The period from illness onset to the first day of the two consecutive negative results of nucleic acid of 121 patients with COVID-19 were [27 (23, 34)] days. Multivariate Cox regression analysis indicated that older than 45 years old ( $HR = 0.583$ ,  $95\%CI: 0.388-0.877$ ,  $P = 0.010$ ) and body temperature  $> 39^{\circ}C$  ( $HR = 0.482$ ,  $95\%CI: 0.254-0.914$ ,  $P = 0.025$ ) were all independent risk factors for negative conversion time of SARS-CoV-2 RNA, while  $CD8^{+}$  T cells  $> 300$  cells/ $\mu l$  ( $HR = 1.708$ ,  $95\%CI: 1.102-2.647$ ,  $P = 0.017$ ) was an independent protective factor affecting negative conversion time of SARS-CoV-2 RNA. **Conclusions** Predictors such as age  $> 45$  years old, hyperthermia and  $CD8^{+}$  T lymphocyte count  $\leq 300$  cells/ $\mu l$  might help clinicians early identify the patients who may present with a longer positive duration of SARS-CoV-2 RNA, and adjust treatment strategies and

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2022.01.003

基金项目: 国家重点研发计划 (No. 2020YFC0848300)

作者单位: 100015 北京, 首都医科大学附属北京地坛医院感染性疾病诊疗中心、感染病科国家临床重点专科

通信作者: 陈志海, Email: chenzhihai001@126.com

isolation protocols.

**【Key words】** Coronavirus disease 2019 (COVID-19); Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2); Negative conversion time

2019年底突发的新型冠状病毒肺炎 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 疫情肆虐全球已两年余, 新型冠状病毒 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 具有强传染性及持续变异性, 导致目前全球疫情形势依然复杂严峻。目前SARS-CoV-2感染人体的发病机制尚未完全明确, 其主要通过呼吸道飞沫在人群中传播<sup>[1-3]</sup>, COVID-19患者及无症状感染者是主要传染源, 且其潜伏期和恢复期也可有传染性, 故呼吸道病原体核酸检测结果是作为COVID-19诊断、解除隔离及出院标准的重要依据。人体清除SARS-CoV-2的机制以及病毒核酸在人体持续阳性是否具有传染性等问题仍是卫生管理及临床医学亟待解决的难题。本研究通过分析2020年6月11日至7月1日北京新发地疫情COVID-19住院患者入院时临床及实验室特征以探讨其鼻咽拭子SARS-CoV-2核酸核酸阴转时间的影响因素, 为临床医生早期识别病毒延迟阴转患者并制定更好的治疗及隔离策略提供依据, 现报道如下。

## 资料与方法

### 一、研究对象

本研究选取2020年6月11日至2020年7月1日首都医科大学附属北京地坛医院收治的121例COVID-19患者作为研究对象。

1. 纳入标准: ①COVID-19确诊患者及无症状感染者; ②入院时患者鼻咽拭子SARS-CoV-2核酸检测阳性。

2. 排除标准: ①除外合并HIV感染者; ②除外合并精神系统疾病患者; ③出院后对患者进行隔离观察28 d, 隔离期第14天及28天复查鼻咽拭子SARS-CoV-2核酸检测出现阳性患者; ④临床资料严重缺失患者。

本研究通过本院医学伦理委员会审核批准 (审批号: JDLY-2020-020-01)。

### 二、研究方法

通过本医院电子病历系统, 回顾性收集上述121例COVID-19住院患者的一般人口学资料及入院时实验室检测结果。

1. 一般资料: 包括性别、年龄、发病前存在的基础疾病, 患者首发症状, 患者SARS-CoV-2核酸阴转时间。

2. 实验室指标: 收集入院24 h内全血细胞计数、肝肾功能、C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、D-二聚体 (D-Dimer, D-D)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 以及淋巴细胞亚群 (lymphocytes subsets), 鼻咽拭子SARS-CoV-2核酸检测结果等。

本研究入组COVID-19患者的鼻咽拭子标本由经过专业培训的传染病专科护士经标准化流程留取 (采集部位为下鼻腔鼻腭处; 从鼻孔垂直面部方向插入至下鼻腔, 使拭子在鼻腔内停留15 s, 轻轻旋转3圈后拔出, 将拭子放入无菌采样管中密封)。于入院后24 h内采集患者鼻咽拭子样本进行SARS-CoV-2核酸检测, 此后每隔24 h采集患者鼻咽拭子样本监测SARS-CoV-2核酸变化, 直至间隔24 h连续两次鼻咽拭子核酸结果阴性。

实验室检测均由首都医科大学附属北京地坛医院检验科专业人员完成。淋巴细胞亚群检测使用碧迪器械有限公司 (BD Biosciences, San Jose, CA, USA)的BD FACSCanto II流式细胞分析仪及淋巴细胞检测试剂盒 (Four Color Human CD3/CD8/CD45/ CD4 Flow Kit) 完成。SARS-CoV-2核酸检测使用广州市中山大学达安基因股份有限公司SARS-CoV-2检测试剂盒通过实时荧光反转录PCR (real-time quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测患者鼻咽拭子SARS-CoV-2核酸ORF1ab基因和N基因。

### 三、诊断标准

1. COVID-19确诊患者诊断依据中国国家卫生健康委员会制定的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第七版)》<sup>[4]</sup>中诊断标准; SARS-CoV-2无症状感染者诊断依据我国国家卫生健康委员会制定的《新型冠状病毒肺炎防控方案 (第六版)》<sup>[5]</sup>的诊断标准。

2. 根据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第七版)》<sup>[4]</sup>对COVID-19确诊患者进行临床分型: ①轻型: 临床症状轻微, 影像学未见肺炎表现; ②普通型: 具有发热、呼吸道等症状, 影像学可见肺炎表现; ③重型, 成人符合下列任何1条:

①出现气促,  $RR \geq 30$  次/min; ②静息状态下, 指氧饱和度  $\leq 93\%$ ; ③ $PaO_2/FiO_2 \leq 300$  mmHg; ④肺部影像学24~48 h进展  $> 50\%$ ; ⑤危重型: 出现呼吸衰竭, 且需要机械通气; 出现休克; 合并其他器官功能衰竭需ICU监护治疗。

本研究结合所有研究对象诊断及临床分型, 将SARS-CoV-2无症状感染者、COVID-19轻型及普通型患者归为非重症患者组, 将COVID-19重型及危重型患者归为重症患者组。

3. SARS-CoV-2核酸阴转及核酸阴转时间定义: SARS-CoV-2核酸阴转: 患者入院后隔日采集鼻咽拭子标本, 连续两次检测结果为阴性, 每次采样间隔至少1 d; 鼻咽拭子病毒核酸阴转时间: 患者发病日期(COVID-19确诊患者)或第1次SARS-CoV-2核酸检测阳性时间(SARS-CoV-2无症状感染者)至连续两次鼻咽拭子核酸阴性检测的第1次标本采集日期之间的天数。

#### 四、统计学处理

采用SPSS 26.0对数据进行统计学分析, 应用Graphpad Prism 8.0作图。患者年龄及实验室检查指标均为非正态分布的计量资料, 采用中位数(四分位数)[M (P25, P75)]表示。患者的性别、基础疾病、临床症状和诊断分型等均为计数资料, 采用[例(%)]表示。应用Cox风险比例回归模型进行分析, 影响因素与SARS-CoV-2核酸阴转时间的关联性通过风险比(HR)进行量化。设定SARS-CoV-2阴转为阳性事件, 当 $HR < 1$ 时, 该因素为核酸阴转时间的危险因素; 反之 $HR > 1$ , 该因素为核酸阴转时间的保护因素。应用Graphpad Prism对独立影响因素分组的COVID-19患者的核酸阴转时间的Kaplan-Meier生存曲线进行可视化呈现。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、121例患者的临床资料

本研究共纳入符合纳入及排除标准的121例COVID-19确诊患者, 年龄19~70岁[43 (31, 51)岁], 其中男性72例、女性49例。入组患者包括SARS-CoV-2无症状感染者7例和COVID-19确诊患者114例, 其中轻型患者12例, 普通型患者92例, 重型患者7例及危重型患者3例。患者一般资料、临床症状以及基线实验室指标详见表1。

表1 121例 COVID-19 患者一般资料、临床症状和实验室指标

项目	数值
年龄 [M (P25, P75), 岁]	43.0 (31.0, 51.0)
性别 [例 (%)]	
男	72 (59.5)
女	49 (40.5)
基础疾病 [例 (%)]	
高血压病	7 (5.8)
冠心病	4 (3.3)
糖尿病	4 (3.3)
慢性支气管炎	2 (1.7)
临床症状 [例 (%)]	
发热	75 (62.0)
乏力	32 (26.4)
咳嗽	59 (48.8)
咯痰	40 (33.1)
咽痛	29 (24.0)
胸闷	17 (14.0)
诊断分型 [例 (%)]	
无症状感染者	7 (5.8)
轻型	12 (9.8)
普通型	92 (76.0)
重型	7 (5.8)
危重型	3 (2.5)
入院实验室指标 [M (P25, P75)]	
WBC ( $\times 10^9/L$ )	4.9 (3.8, 6.1)
NE ( $\times 10^9/L$ )	2.8 (2.0, 3.9)
LY ( $\times 10^9/L$ )	1.5 (1.2, 2.0)
NK细胞 (个/ $\mu l$ )	212.0 (131.0, 298.0)
B细胞 (个/ $\mu l$ )	175.0 (124.0, 258.0)
CD3 <sup>+</sup> T细胞 (个/ $\mu l$ )	910.0 (692.0, 1399.0)
CD4 <sup>+</sup> T细胞 (个/ $\mu l$ )	567.0 (398.0, 788.0)
CD8 <sup>+</sup> T细胞 (个/ $\mu l$ )	318.0 (225.0, 490.0)
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> T	1.6 (1.4, 2.2)
ALT (U/L)	19.0 (12.0, 34.5)
AST (U/L)	20.6 (16.3, 29.0)
ALB (g/L)	43.5 (41.0, 45.3)
BUN (mmol/L)	4.5 (3.6, 5.5)
CREA ( $\mu mol/L$ )	63.9 (53.4, 74.3)
CRP (mg/L)	2.7 (0.8, 10.0)
D-Dimer (mg/L)	0.2 (0.1, 0.4)
LDH (U/L)	193.2 (169.8, 231.8)

注: WBC: 白细胞, NE: 中性粒细胞, LY: 淋巴细胞, NK: 自然杀伤细胞, ALT: 丙氨酸氨基转移酶, AST: 天门冬氨酸氨基转移酶, ALB: 白蛋白, BUN: 尿素氮, CREA: 肌酐, CRP: C-反应蛋白, D-D: D-二聚体, LDH: 乳酸脱氢酶

## 二、治疗及预后

入组患者治疗以清肺排毒的中药方剂为基础治疗,均未应用干扰素雾化,未口服氯喹、阿比多尔等药物抗病毒治疗;其中给予抗菌药物患者6例(5.0%),经鼻高流量吸氧患者10例(8.3%),行呼吸机辅助通气患者2例(1.7%),应用体外膜肺氧合(extracorporeal membrane oxygenation, ECMO)患者1例(0.8%)。

111例非重症患者(7例无症状感染者、12例轻型及92例普通型肺炎患者)均未合并细菌感染,故未应用抗菌药物治疗。

10例重症患者(其中7例重型和3例危重型)入院时均收治于重症监护室并给予经鼻高流量吸氧改善通气;7例重型COVID-19患者中3例合并细菌感染,则给予左氧氟沙星或莫西沙星抗菌治疗;3例危重型患者均合并细菌感染,1例患者诊断脓毒性休克,给予利奈唑胺联合美罗培南抗细菌治疗,应用呼吸机辅助通气及ECMO辅助循环,1例患者应用头孢哌酮/舒巴坦抗细菌治疗并应用呼吸机辅助通气,此2例患者撤机后经鼻高流量吸氧辅助通气;另1例患者肺部感染合并心功能不全,除应用头孢哌酮/舒巴坦抗细菌治疗,同时行强心、利尿

等治疗改善心功能。

入组患者治疗后均好转出院,无1例死亡。患者出院后14 d和28 d回院复查鼻咽拭子SARS-CoV-2核酸均为阴性。

## 三、鼻咽拭子SARS-CoV-2核酸阴转时间的影响因素

单因素Cox回归分析显示:年龄 $> 45$ 岁、体温 $> 39.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、出现胸闷症状、 $\text{CD}3^{+}$ T淋巴细胞计数 $> 1\ 000$ 个/ $\mu\text{l}$ 、 $\text{CD}8^{+}$ T淋巴细胞计数 $> 300$ 个/ $\mu\text{l}$ 、D-二聚体 $> 0.5\text{ mg/L}$ 均为SARS-CoV-2核酸阴转时间的影响因素( $P$ 均 $< 0.05$ ),见表2。

将上述具有统计学差异的变量纳入Cox风险比例模型进行多因素分析,结果显示:年龄 $> 45$ 岁( $HR = 0.583$ 、95%CI: 0.388~0.877、 $P = 0.01$ )和体温 $> 39.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ( $HR = 0.482$ 、95%CI: 0.254~0.914、 $P = 0.025$ )均为影响SARS-CoV-2核酸阴转时间的独立危险因素, $\text{CD}8^{+}$ T淋巴细胞计数 $> 300$ 个/ $\mu\text{l}$ ( $HR = 1.708$ 、95%CI: 1.102~2.647、 $P = 0.017$ )为促进SARS-CoV-2核酸阴转的独立保护性因素。其他变量对核酸阴转时间的影响无统计学意义( $P$ 均 $> 0.05$ ),见图1和表3。

表2 121例 COVID-19 患者鼻咽拭子 SARS-CoV-2 核酸阴转时间影响因素的单因素 Cox 回归分析

变量	$\beta$ 值	SE值	Wald $\chi^2$ 值	P值	HR值	95%CI
性别						
男 <sup>a</sup>						
女	-0.165	0.190	0.756	0.384	0.874	0.584~1.231
年龄						
$\leq 45$ 岁 <sup>a</sup>						
$> 45$ 岁	-0.603	0.193	9.798	0.002	0.547	0.375~0.798
病情						
非重症 <sup>a</sup>						
重症	-0.627	0.334	3.516	0.061	0.534	0.277~1.029
体温						
$\leq 39\text{ }^{\circ}\text{C}$ <sup>a</sup>						
$> 39\text{ }^{\circ}\text{C}$	-0.716	0.262	7.495	0.006	0.489	0.293~0.816
发热						
无 <sup>a</sup>						
有	-0.257	0.189	1.842	0.175	0.773	0.533~1.121

续表 2

变量	$\beta$ 值	SE值	Wald $\chi^2$ 值	P值	HR值	95%CI
乏力						
无 <sup>a</sup>						
有	-0.373	0.21	3.143	0.076	0.689	0.456~1.040
咳嗽						
无 <sup>a</sup>						
有	-0.283	0.183	2.391	0.122	0.753	0.526~1.079
咯痰						
无 <sup>a</sup>						
有	-0.247	0.195	1.605	0.205	0.781	0.533~1.145
咽痛						
无 <sup>a</sup>						
有	-0.305	0.217	1.974	0.160	0.737	0.482~1.128
胸闷						
无 <sup>a</sup>						
有	-0.602	0.267	5.085	0.024	0.548	0.324~0.924
WBC ( $\times 10^9/L$ )						
$\leq 4^a$						
$> 4$	0.110	0.202	0.298	0.585	1.117	0.751~1.660
NE ( $\times 10^9/L$ )						
$\leq 2.5^a$						
$> 2.5$	0.051	0.188	0.075	0.785	1.053	0.728~1.523
LY ( $\times 10^9/L$ )						
$\leq 1^a$						
$> 1$	0.131	0.257	0.261	0.609	1.140	0.689~1.886
NK细胞 (个/ $\mu l$ )						
$\leq 200^a$						
$> 200$	-0.086	0.183	0.219	0.640	0.918	0.641~1.314
B细胞 (个/ $\mu l$ )						
$\leq 200^a$						
$> 200$	0.099	0.188	0.275	0.600	1.104	0.764~1.595
CD3 <sup>+</sup> T细胞 (个/ $\mu l$ )						
$\leq 1\ 000^a$						
$> 1\ 000$	0.440	0.187	5.502	0.019	1.552	1.075~2.241
CD4 <sup>+</sup> T细胞 (个/ $\mu l$ )						
$\leq 350^a$						
$> 350$	-0.030	0.238	0.015	0.901	0.971	0.608~1.549

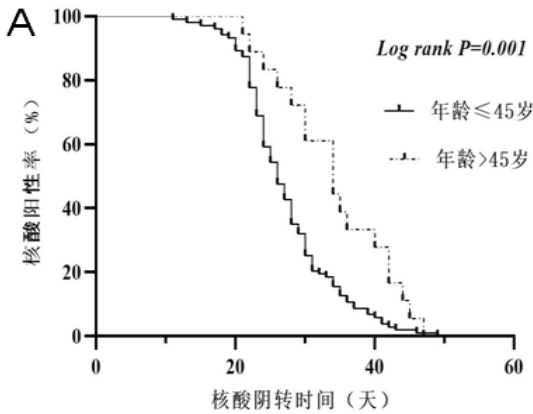
续表 2

变量	$\beta$ 值	SE值	Wald $\chi^2$ 值	P值	HR值	95%CI
CD8 <sup>+</sup> T细胞 (个/ $\mu$ l)						
$\leq 300^a$						
> 300	0.569	0.19	8.973	0.003	1.767	1.217~2.564
CRP (mg/L)						
$\leq 5^a$						
> 5	-0.042	0.19	0.05	0.823	0.958	0.661~1.390
D-Dimer (mg/L)						
$\leq 0.5^a$						
> 0.5	-0.512	0.221	5.354	0.021	0.600	0.389~0.925
ALB (g/L)						
$\leq 40^a$						
> 40	0.297	0.239	1.541	0.214	1.346	0.842~2.150
LDH (U/L)						
$\leq 250^a$						
> 250	-0.350	0.238	2.169	0.141	0.705	0.442~1.123

注: <sup>a</sup>: 对照; WBC: 白细胞, NE: 中性粒细胞, LY: 淋巴细胞, NK: 自然杀伤细胞, ALB: 白蛋白, BUN: 尿素氮, CREA: 肌酐, CRP: C-反应蛋白, D-D: D二聚体, LDH: 乳酸脱氢酶

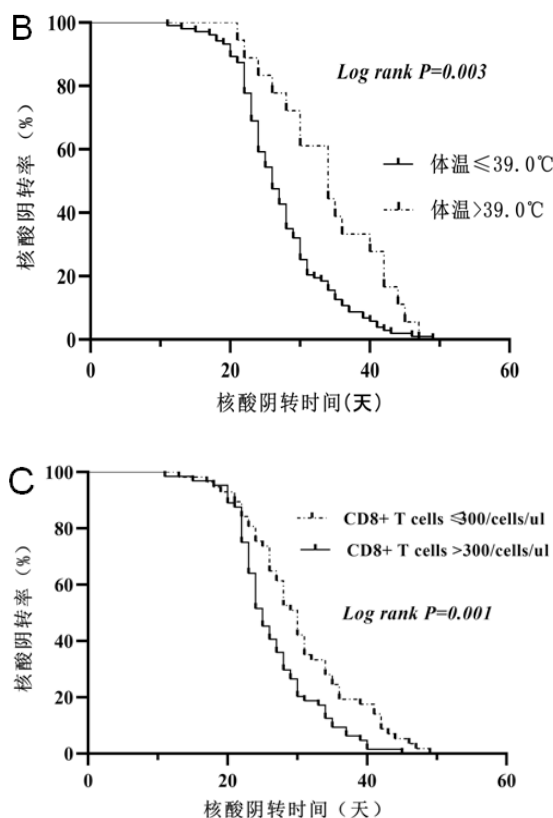
表 3 影响 COVID-19 患者鼻咽拭子 SARS-CoV-2 核酸阴转时间的多因素 Cox 回归分析

变量	$\beta$ 值	SE值	Wald $\chi^2$ 值	P值	HR值	95%CI
年龄> 45岁	-0.539	0.208	6.71	0.010	0.583	0.388~0.877
体温> 39 °C	-0.729	0.326	4.99	0.025	0.482	0.254~0.914
胸闷	0.085	0.326	0.068	0.794	1.087	0.575~2.062
CD3 <sup>+</sup> T细胞> 1 000个/ $\mu$ l	-0.108	0.232	0.217	0.642	0.898	0.569~1.415
CD8 <sup>+</sup> T细胞> 300个/ $\mu$ l	0.535	0.224	5.727	0.017	1.708	1.102~2.647
D-Dimer> 0.5 mg/L	-0.303	0.238	1.631	0.202	0.738	0.463~1.176



注: A: 年龄 $\leq 45$ 岁 vs. 年龄 $> 45$ 岁患者; B: 最高体温 $\leq 39.0$  °C vs. 最高体温 $> 39.0$  °C患者; C: 入院患者外周血CD8<sup>+</sup> T细胞 $\leq 300$ 个/ $\mu$ l vs. CD8<sup>+</sup> T细胞 $> 300$ 个/ $\mu$ l患者

图1 不同分组的COVID-19患者鼻咽拭子SARS-CoV-2核酸阴转时间



续图1 不同分组的COVID-19患者鼻咽拭子SARS-CoV-2核酸阴转时间

## 讨 论

COVID-19是一种新发突发传染病，SARS-CoV-2感染人体的发病机制以及机体清除该病毒的机制尚未明确。既往研究揭示COVID-19患者的呼吸道、消化道及血液中均可以检测出SARS-CoV-2<sup>[6-7]</sup>，但目前COVID-19的病原学确诊仍需依赖上呼吸道SARS-CoV-2核酸检测结果，同时其也作为COVID-19患者出院及解除隔离的最重要依据。但部分COVID-19患者存在临床症状已消失而呼吸道标本核酸持续阳性的情况。因此，研究COVID-19患者呼吸道标本核酸阳性持续时间及相关影响因素对于临床诊疗及制定相应的隔离措施具有重要意义。本研究回顾性分析2020年6月11日至7月1日北京新发地疫情初期本院收治的121例新冠肺炎住院患者的一般人口学资料、临床特征及实验室数据，探讨COVID-19住院患者鼻咽拭子SARS-CoV-2核酸阳性持续时间以及影响核酸阴转时间的因素。

本研究发现COVID-19患者鼻咽拭子SARS-CoV-2核酸阴转中位时间为27 d，其中最长持续时间为49 d，最短持续时间为11 d。Ling等<sup>[8]</sup>报道66例好

转出院的COVID-19患者，其口咽拭子SARS-CoV-2核酸阴转中位时间为9.5 d，而Zhou等<sup>[9]</sup>报道191例COVID-19患者（其中存活137例，死亡54例），存活患者口咽拭子核酸阴转中位时间为20.0 d，其中病毒核酸阴转时间最长为37 d。本研究中患者病毒核酸阴转中位时间与既往研究稍有不同，可能与进行SARS-CoV-2核酸检测的呼吸道标本来源不同有关。

本研究中多因素Cox回归分析发现年龄 > 45岁和高热是影响SARS-CoV-2核酸阴转时间的独立危险因素。既往多个研究报道年龄增长与COVID-19患者的疾病严重程度以及不良临床结局相关<sup>[9-12]</sup>。与年轻COVID-19患者相比，年龄较大的患者存在更多的基础疾病<sup>[13]</sup>，病情更加错综复杂。T淋巴细胞数量与功能受衰老影响使机体难以清除病毒并更易出现炎症因子风暴<sup>[14-16]</sup>，导致患者预后不良及SARS-CoV-2核酸阴转时间延迟。Guan等<sup>[17]</sup>对全国1 099例确诊新冠肺炎患者分析发现，最常见症状是发热（87.9%）和咳嗽（67.7%），且重症患者高热比例高于非重症患者。Wu等<sup>[18]</sup>研究显示体温 > 39.0 °C 虽为COVID-19发生急性呼吸窘迫综合征（acute respiratory distress syndrome, ARDS）的独

立危险因素,但同时预示更低的死亡风险。Hu等<sup>[19]</sup>报道与轻症COVID-19患者相比,重症患者发热持续时间更长且呼吸道病毒核酸阴转时间更长。本研究提示高热为影响COVID-19患者呼吸道SARS-CoV-2核酸阴转时间的独立危险因素,与Hu等<sup>[19]</sup>研究结果一致。

SARS-CoV-2感染人体后可激活先天和适应性免疫系统<sup>[20]</sup>,CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞激活B细胞分化为生成抗体的浆细胞和记忆B细胞<sup>[21-22]</sup>,CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞可诱导病毒感染的细胞凋亡,并通过分泌包括穿孔素、颗粒酶和干扰素等多种分子与病毒感染的细胞结合从而发挥细胞毒作用,以清除被病毒感染的细胞<sup>[23]</sup>。既往研究<sup>[24-25]</sup>提示COVID-19患者在发病初期外周血淋巴细胞尤其是CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞计数下降为该患者显著特征之一<sup>[26]</sup>。多项研究均支持重症COVID-19患者外周血总T淋巴细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞和B细胞计数较轻症患者下降更为显著<sup>[25, 27]</sup>。一项关于传染性非典型肺炎(severe acute respiratory syndrome, SARS)研究<sup>[28]</sup>同样发现,患者入院时外周血CD4<sup>+</sup>T和CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞降低与不良临床结局相关。本研究提示COVID-19患者入院时外周血CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞计数>300个/ $\mu$ l为SARS-CoV-2核酸阴转的保护因素,与既往研究关于CD8<sup>+</sup>T细胞具有清除病毒感染细胞作用的观点一致。COVID-19患者发病初期外周血CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞数量减少及功能紊乱可能导致SARS-CoV-2延迟清除,从而使COVID-19患者病情加重、病死率增高<sup>[29]</sup>。

本研究主要局限性:首先,本研究样本量较小,重症新冠肺炎患者样本量更少,但所有研究对象均来源于北京新发地疫情早期的入院患者,同时包括了SARS-CoV-2无症状感染者及COVID-19临床轻、普通、重及危重型患者,具有一定的代表性;第二,因新发地疫情期间本院实验室检测条件所限无法提供患者呼吸道标本SARS-CoV-2核酸检测的循环阈值,故本研究未能分析发病初期COVID-19患者呼吸道病毒核酸载量对核酸阴转时间的影响。本研究团队将在后续研究中纳入更多的病例,结合COVID-19患者发病初期呼吸道核酸定量检测结果并分析其动态变化规律,以得到更科学严谨的结论。

综上,本研究揭示了年龄>45岁、体温>39.0℃及CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞 $\leq$ 300个/ $\mu$ l可作为早期预测SARS-CoV-2核酸阴转时间的独立危险因素,有

助于临床医师甄别此类患者,采取个体化的治疗及相应的隔离策略。

## 参 考 文 献

- [1] Lu CW, Liu XF, Jia ZF. 2019-nCoV transmission through the ocular surface must not be ignored[J]. *Lancet*,2020,395(10224):e39.
- [2] Liu Y, Gayle AA, Wilder-Smith A, et al. The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus[J]. *J Travel Med*,2020,27(2):taaa021.
- [3] 王凌航. 新型冠状病毒感染的特征及应对[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*,2020,14(1):1-4.
- [4] 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]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>. (accessed on 19 May 2021).
- [5] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎防控方案(第六版)[EB/OL]. 2021. <http://www.nhc.gov.cn/jkj/s3577/202003/4856d5b0458141fa9f376853224d41d7.shtml>.
- [6] Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. *Lancet*,2020,395(10223):497-506.
- [7] Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, et al. First case of 2019 novel coronavirus in the United States[J]. *N Engl J Med*,2020,382(10):929-936.
- [8] Ling Y, Xu SB, Lin YX, et al. Persistence and clearance of viral RNA in 2019 novel coronavirus disease rehabilitation patients[J]. *Chin Med J (Engl)*,2020,133(9):1039-1043.
- [9] Zhou F, Yu T, Du R, 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(10229):1054-1062.
- [10] 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*,323(11):1061-1069.
- [11] 胡文佳,陈铁龙,严亚军,等. 44例不同严重程度新型冠状病毒肺炎患者临床检测指标分析[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*,2021,15(1):15-21.
- [12] Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study[J]. *Lancet*,2020,395(10223):507-513.
- [13] Liu K, Chen Y, Lin R, et al. Clinical features of COVID-19 in elderly patients: A comparison with young and middle-aged patients[J]. *Infect*,2020,80(6):e14-e18.
- [14] Webster RG. Immunity to influenza in the elderly[J]. *Vaccine*,2000,18(16):1686-1689.
- [15] Goronzy JJ, Lee WW, Weyand CM. Aging and T-cell diversity[J]. *Exp Gerontol*,2007,42(5):400-406.
- [16] 陈琼,余维巍,王丽静,等. 老年人新型冠状病毒肺炎防治要点(试行)[J]. *中华老年医学杂志*,2020,39(2):113-118.
- [17] Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China[J]. *N Engl J Med*,2020,382(18):1708-1720.
- [18] Wu C, Chen X, Cai Y, et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China[J]. *JAMA Intern*



- Med,2020,180(7):934-943.
- [19] Hu H, Du H, Li J, et al. Early prediction and identification for severe patients during the pandemic of COVID-19: A severe COVID-19 risk model constructed by multivariate logistic regression analysis[J]. J Glob Health,2020,10(2):020510.
- [20] Yao C, Bora SA, Parimon T, et al. Cell-type-specific immune dysregulation in severely ill COVID-19 patients[J]. Cell Rep,2021,34(1):108590.
- [21] Liao W, Hua Z, Liu C, et al. Characterization of T-dependent and T-independent B cell responses to a virus-like particle[J]. J Immunol,2017,198(10):3846-3856.
- [22] Vos Q, Lees A, Wu Z, et al. B-cell activation by T-cell-independent type 2 antigens as an integral part of the humoral immune response to pathogenic microorganisms[J]. Immunol Rev,2000,176:154-170.
- [23] Mescher MF, Curtsinger JM, Agarwal P, et al. Signals required for programming effector and memory development by CD8<sup>+</sup> T cells[J]. Immunol Rev,2006,211:81-92.
- [24] Wen W, Su W, Tang H, et al. Immune cell profiling of COVID-19 patients in the recovery stage by single-cell sequencing[J]. Cell Discov,2020,6:31.
- [25] Qin C, Zhou L, Hu Z, et al. Dysregulation of immune response in patients with Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China[J]. Clin Infect Dis,2020,71(15):762-768.
- [26] Liu J, Li S, Liu J, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients[J]. EBioMedicine,2020,55:102763.
- [27] Lagadinou M, Zareifopoulos N, Gkentzi D, et al. Alterations in lymphocyte subsets and monocytes in patients diagnosed with SARS-CoV-2 pneumonia: a mini review of the literature[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2021,25(15):5057-5062.
- [28] Wong RS, Wu A, To KF, et al. Haematological manifestations in patients with severe acute respiratory syndrome: retrospective analysis[J]. BMJ,2003,326(7403):1358-1362.
- [29] Peng X, Ouyang J, Isnard S, et al. Sharing CD4<sup>+</sup> T cell loss: When COVID-19 and HIV collide on immune system[J]. Front Immunol,2020,11:596631.

(收稿日期: 2021-05-21)

(本文编辑: 孙荣华)

钱芳, 宋美华, 田地, 等. 新型冠状病毒肺炎患者鼻咽拭子核酸阴转时间的影响因素[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2022,16(1):16-24.