

新型冠状病毒感染者核酸复阳的 Ct 值跟踪分析

李育敏 郭东月 张兵 武薇 蔡燕燕 张秀明

深圳市罗湖医院集团医学检验实验室, 广东深圳 518001

通信作者: 张秀明, Email: zxm0760@163.com

【摘要】目的 对新型冠状病毒(新冠病毒)感染者的核酸检测结果进行跟踪分析,为新冠病毒感染复阳人群的核酸检测提供临床参考。**方法** 采用回顾性分析方法,收集 2022 年 1 月至 9 月深圳市罗湖医院集团医学检验实验室检测的 96 例新冠病毒感染者的多次核酸检测结果,总结和分析感染者核酸检测阳性的时间和循环数阈值(Ct 值)。**结果** 96 例新冠病毒感染者在初筛阳性后间隔至少 12 d 重新采样进行核酸检测,其中有 54 例感染者(占 56.25%)再次核酸检测过程中新冠病毒基因组中核壳蛋白(N)基因和(或)开放读码框 1ab 基因(ORF 1ab)Ct 值 < 35,另外 42 例(占 43.75%)N 基因和(或)ORF 1ab 基因 Ct 值 ≥ 35;再次核酸检测阳性的 N 基因 Ct 值为 25.08 ~ 39.98, ORF 1ab 基因 Ct 值为 23.16 ~ 39.56;有 90 例(93.75%)感染者再次核酸检测阳性的 N 基因和(或)ORF 1ab 基因 Ct 值较初筛阳性结果升高。1 例感染者在初筛阳性后间隔 178 d 仍可检测出双靶阳性(N 基因 Ct 值为 38.60, ORF 1ab 基因 Ct 值为 38.11)。**结论** 新冠病毒感染者在较长一段时间内可持续或反复多次核酸检测阳性,且复阳 Ct 值 < 35 者较多,但其是否具有传染性还需结合流行病学、变异株类型、是否携带活病毒、临床症状及体征进行综合评估。

【关键词】 新型冠状病毒; 核酸检测; 复阳; Ct 值

基金项目: 广东省深圳市医学重点学科建设项目(SZJK054)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20230107-01130

Tracking analysis of viral nucleic acid Ct value in patients with re-positive SARS-CoV-2 infection

Li Yumin, Guo Dongyue, Zhang Bing, Wu Wei, Cai Yanyan, Zhang Xiuming

Medical Laboratory, Shenzhen Luohu Hospital Group, Shenzhen 518001, Guangdong, China

Corresponding author: Zhang Xiuming, Email: zxm0760@163.com

【Abstract】Objective To track analysis of viral nucleic acid test results in patients with re-positive SARS-CoV-2 infection, and provide clinical reference for nucleic acid test of re-positive cases. **Methods** A retrospective study was conducted. The multiple nucleic acid results of 96 cases with SARS-CoV-2 infection tested by medical laboratory of Shenzhen Luohu Hospital Group from January to September in 2022 were analyzed. The test dates and cycle threshold (Ct) values of detectable positive virus nucleic acid in the 96 cases were summarized and analyzed. **Results** A total of 96 patients with SARS-CoV-2 infection were retested re-sampled for nucleic acid testing at least 12 days after the initial positive screening. Among them, 54 cases (56.25%) had Ct value of < 35 for nucleocapsid protein gene (N) and/or open reading frame 1ab gene (ORF 1ab), 42 cases (43.75%) had Ct value ≥ 35. In the re-sampling of infected patients, N gene titers were 25.08 to 39.98 Ct cycles, and ORF 1ab gene titers were 23.16 to 39.56 Ct cycles. Compared with the positive results of the initial screening, the Ct values of N gene and/or ORF 1ab gene positive were increased in 90 cases (93.75%). Among them, the patients with the longest duration of nucleic acid positive could still be positive for double targets (the Ct value of N gene was 38.60, and the Ct value of ORF 1ab gene was 38.11) at an interval of 178 days after the initial positive screening. **Conclusions** Patients infected with SARS-CoV-2 can be sustained or repeatedly tested positive for nucleic acid for a long period of time, and most of them had Ct values < 35. But whether it is infectious needs to be comprehensively evaluated by combining epidemiology, variant type, samples with the alive virus, and clinical symptoms and signs.

【Key words】 SARS-CoV-2; Nucleic acid test; Re-positive; Ct value

Fund program: Shenzhen Key Medical Discipline Construction Fund of Guangdong Province (SZJK054)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20230107-01130

随着我国新型冠状病毒(新冠病毒)感染疫情防控政策的调整,以及新冠病毒的不断变异,感染者群体中出现较多病毒核酸复阳现象。《新型冠状病毒感染诊疗方案(试行第十版)》^[1]诊断原则中明确提出,新冠病毒核酸检测阳性仍为确诊新冠病毒感染的首要标准。本研究跟踪了 96 例新冠病毒感染者多次核酸检测结果,对核酸检测阳性时间和循环数阈值(cycle threshold value, Ct 值)进行总结分析,为新冠病毒感染复阳人群的核酸检测提供临床参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象: 采用回顾性分析方法,收集 2022 年 1 月至 9 月本实验室检测的 96 例新冠病毒感染者的核酸检测结果。本研究符合医学伦理学标准,并通过了本院伦理委员会批准(审批号:2023-LHQRMYY-KYLL-013)。

1.2 数据收集及判定标准: 收集 96 例新冠病毒感染者所有核酸检测阳性数据,记录新冠病毒基因组中开放读码框 1ab 基因(open reading frame 1ab, ORF 1ab)和核壳蛋白基因

(nucleocapsid protein, N) 的 Ct 值及再次核酸检测与初筛阳性的间隔时间。初筛阳性标准:① 经本实验室新冠病毒核酸检测阳性;② 经深圳市疾控中心或深圳市罗湖区疾控中心复核结果为阳性。

1.3 统计学分析:采用 Excel 2010 软件进行数据收集及统计分析,计数资料用例数(%)表示。

2 结果

2.1 一般情况(表 1):96 例新冠病毒感染者中,13 例收集到 5 次核酸检测结果,16 例收集到 4 次检测结果,16 例收集到 3 次检测结果,51 例收集到 2 次检测结果。再次核酸检测与初筛阳性间隔时间 12~178 d;其中,间隔 178 d 者仍可检测出双靶标阳性(ORF 1ab 基因、N 基因 Ct 值均>35)。

表 1 96 例新冠病毒感染者核酸跟踪检测 Ct 值变化

例序	初筛阳性(第 1 次检测) Ct 值		再次核酸检测 Ct 值											
	N 基因	ORF 1ab 基因	第 2 次检测		第 3 次检测		第 4 次检测		第 5 次检测					
			间隔时间 (d)	N 基因	ORF 1ab 基因	间隔时间 (d)	N 基因	ORF 1ab 基因	间隔时间 (d)	N 基因	ORF 1ab 基因			
例 1	24.97	24.10	29	37.68	未检出									
例 2	33.28	34.06	29	37.61	未检出									
例 3	26.32	25.19	73	35.35	36.12									
例 4	26.78	25.99	56	31.69	29.71	150	未检出	39.55						
例 5	26.56	28.08	42	32.27	33.63									
例 6	29.55	28.61	52	35.78	36.97									
例 7	33.57	36.71	57	未检出	38.80	62	30.05	32.59	87	未检出	37.08			
例 8	29.54	31.55	27	34.68	34.85		31.68	31.83	89	31.68	31.83			
例 9	33.04	34.88	32	37.50	未检出	69	35.63	40.22	114	39.30	未检出	138	未检出	37.59
例 10	33.19	34.59	69	29.59	31.96									
例 11	33.63	34.65	78	未检出	37.02									
例 12	27.83	25.82	106	37.21	未检出	117	37.68	未检出						
例 13	30.91	29.63	66	34.11	35.70									
例 14	37.28	44.67	44	35.37	未检出									
例 15	30.00	31.51	75	38.26	未检出									
例 16	38.04	38.82	21	36.89	未检出									
例 17	35.05	35.67	28	33.02	33.36	66	39.98	39.39						
例 18	32.42	32.18	23	34.88	37.86									
例 19	35.94	40.97	55	36.86	未检出									
例 20	29.35	28.51	20	37.30	未检出									
例 21	23.19	24.68	133	36.22	44.33									
例 22	32.62	32.43	21	35.72	未检出									
例 23	34.85	36.33	30	39.31	40.25									
例 24	34.02	35.99	48	未检出	39.31	50	35.97	34.38						
例 25	35.09	35.13	24	39.39	41.90									
例 26	30.88	31.57	14	37.16	35.38									
例 27	28.60	26.96	16	38.02	36.46									
例 28	38.00	40.00	30	36.16	未检出	34	37.34	未检出	60	37.23	未检出			
例 29	38.00	41.00	38	35.85	37.79	39	37.62	未检出						
例 30	16.00	16.00	79	37.18	未检出									
例 31	31.00	33.00	40	32.34	30.38									
例 32	36.00	37.00	36	35.54	未检出									
例 33	32.00	32.00	43	34.52	36.92	50	36.48	34.84						
例 34	31.83	30.82	21	32.00	32.00	25	36.00	未检出	44	未检出	36.00			
例 35	33.00	32.00	33	33.19	34.51	34	34.00	未检出	39	未检出	38.00			
例 36	25.00	23.00	31	35.00	35.00	58	28.10	26.38	60	34.35	33.23	67	36.84	35.14
例 37	34.94	33.97	48	34.62	未检出									
例 38	20.00	20.00	34	30.00	29.00	49	28.28	26.37	63	30.78	29.01			
例 39	34.24	31.90	14	38.00	未检出									
例 40	21.00	21.00	23	未检出	35.00	29	33.38	31.27	45	35.05	30.45			
例 41	26.93	26.29	23	未检出	39.56	27	32.47	35.35	30	30.51	28.58	46	35.32	32.39
例 42	36.00	34.00	36	35.26	33.22	41	35.51	34.55	44	35.26	34.86	45	32.20	30.37
例 43	24.00	23.00	27	35.37	34.97	32	31.10	29.00	38	31.22	29.68	49	31.60	29.22
例 44	33.00	32.00	38	39.22	34.52									
例 45	16.00	15.00	28	36.32	34.70	30	36.24	未检出	37	37.40	未检出			

注: Ct 值为循环数阈值, N 基因、ORF 1ab 基因分别为新冠病毒基因组中的核壳蛋白基因和开放读码框 1ab 基因;间隔时间为本次检测与初筛阳性的间隔时间;空白代表无此项

续表 1

表 1 96 例新冠病毒感染者核酸跟踪检测 Ct 值变化														
例序	初筛阳性(第 1 次检测) Ct 值			再次核酸检测 Ct 值										
			间隔时间 (d)	第 2 次检测		第 3 次检测		第 4 次检测		第 5 次检测				
	N 基因	ORF 1ab 基因		N 基因	ORF 1ab 基因	N 基因	ORF 1ab 基因	N 基因	ORF 1ab 基因	间隔时间 (d)	N 基因	ORF 1ab 基因		
例 46	32.00	31.00	25	未检出	34.65	41	36.44	未检出						
例 47	27.00	27.00	55	35.50	33.73									
例 48	21.00	19.00	25	37.77	35.14	28	36.50	未检出	30	36.53	未检出	35	30.02	29.04
例 49	27.00	28.00	33	33.55	33.67									
例 50	18.00	18.00	38	31.39	30.45	40	36.00	未检出	42	35.48	34.04			
例 51	33.26	32.55	24	35.02	34.93									
例 52	18.00	18.00	34	未检出	34.35									
例 53	17.00	15.00	26	36.68	34.91	32	34.06	33.85	36	35.26	33.21			
例 54	22.00	21.00	35	34.00	未检出	39	31.80	30.13	42	34.95	32.95	45	25.08	23.16
例 55	29.00	27.00	31	32.58	32.02	35	35.56	33.39						
例 56	31.00	28.00	20	33.29	33.27									
例 57	16.00	15.00	27	未检出	36.00	31	29.68	31.76	33	35.22	未检出			
例 58	31.00	29.00	22	36.00	未检出	26	35.01	未检出	28	未检出	34.66	30	34.79	30.33
例 59	19.00	16.00	23	未检出	37.00	25	37.00	未检出	27	35.25	33.58			
例 60	25.00	25.00	29	35.40	34.88									
例 61	31.00	31.00	21	35.42	35.26	24	33.59	31.26						
例 62	28.00	25.00	33	36.51	33.92									
例 63	18.00	18.00	34	31.03	31.03									
例 64	26.00	26.00	29	37.00	未检出	31	36.00	未检出						
例 65	20.00	19.00	23	29.33	27.36									
例 66	33.00	35.00	14	33.61	33.43	15	38.89	42.61	20	35.22	35.01			
例 67	26.00	24.00	20	34.00	未检出	22	36.28	未检出						
例 68	35.83	34.70	27	36.00	38.00									
例 69	27.00	25.00	21	35.00	34.00									
例 70	25.33	23.16	22	28.74	27.68									
例 71	28.74	26.02	23	40.07	未检出									
例 72	24.71	23.95	14	未检出	37.19	28	35.08	未检出						
例 73	19.09	17.01	12	29.53	31.10	27	35.55	36.63	33	32.14	34.78			
例 74	25.00	23.00	20	35.20	36.97	23	未检出	38.42	40	35.31	未检出	66	32.43	36.64
例 75	35.12	37.12	28	37.18	未检出	36	37.17	未检出	37	31.45	34.08			
例 76	26.65	25.78	22	36.00	未检出	31	32.35	34.88	33	32.45	36.15	36	33.88	36.43
例 77	33.42	32.12	21	36.06	38.00									
例 78	32.05	35.46	20	36.20	38.96	23	35.45	39.55	37	35.69	38.38	45	33.29	33.63
例 79	34.95	32.43	21	38.54	37.21									
例 80	26.15	26.31	12	37.75	未检出	16	35.03	36.00	22	38.54	37.21			
例 81	22.34	21.01	25	33.73	35.03	29	37.04	37.01	39	33.77	37.19	78	34.55	36.67
例 82	16.50	16.46	23	36.63	37.23	26	35.10	36.85						
例 83	35.00	33.00	91	35.22	未检出	110	35.22	38.56						
例 84	17.70	16.20	29	32.39	35.55	31	37.57	未检出	40	26.58	29.65	42	38.25	未检出
例 85	34.82	37.60	31	37.12	36.57									
例 86	35.02	35.12	20	35.08	36.60	21	33.34	34.21						
例 87	35.29	34.97	32	36.54	未检出									
例 88	37.18	37.16	36	未检出	38.17									
例 89	31.48	33.80	37	33.24	36.35									
例 90	30.14	28.51	35	36.34	38.77	43	36.05	38.62						
例 91	35.09	36.57	107	39.31	未检出									
例 92	30.16	30.56	178	38.60	38.11									
例 93	35.68	35.86	28	36.90	36.17									
例 94	33.62	32.26	21	40.43	39.29									
例 95	28.51	29.61	24	37.96	37.34									
例 96	36.12	36.42	30	39.56	38.76									

注: Ct 值为循环数阈值, N 基因、ORF 1ab 基因分别为新冠病毒基因组中的核壳蛋白基因和开放读码框 1ab 基因; 间隔时间为本次检测与初筛阳性的间隔时间; 空白代表无此项

2.2 核酸检测结果(表1):96例新冠病毒感染者中,有54例(占56.25%)再次核酸检测过程中N基因和(或)ORF1ab基因Ct值 <35 ,另外42例(占43.75%)N基因和(或)ORF1ab基因Ct值 ≥ 35 ;所有感染者再次核酸检测阳性的N基因Ct值为25.08~39.98,ORF1ab基因Ct值为23.16~39.56;有90例(93.75%)感染者再次核酸检测阳性的N基因和(或)ORF1ab基因Ct值较初筛阳性结果升高。

3 讨论

复阳是指新冠病毒感染者解除隔离、治疗或出院后,核酸检测再次出现阳性结果。复阳的原因主要有两种情况:一是感染者体内残留病毒核酸片段,间歇性病毒片段脱落,或存在死病毒^[2];二是感染者再次感染新冠病毒变异株^[3]。只有从感染者样本中分离出活病毒才代表具有传播风险,而核酸持续或反复阳性,并不代表复阳个体具有传染性。新冠病毒核酸检测采用荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)技术,以Ct值判断病毒浓度,Ct值越低,代表病毒浓度越高,反之代表病毒浓度越低。

本研究中观察到新冠病毒感染者复阳个体在很长一段时间内可以反复多次核酸检测出现阳性,最长者在初筛阳性后间隔178d仍可检测出双靶标阳性,且大部分复阳个体的核酸检测Ct值均高于初次感染。Hong等^[4]针对37例新冠病毒感染者进行观察后发现,感染者在临床治愈后,其核酸检测仍持续或反复出现阳性结果,最长可间隔120d,其中有9例患者复阳前已完成14d隔离观察,并累计与家人密切接触生活258人天,而未传染给任何密切接触者。Hu等^[5]对再次入院的21例新冠病毒核酸复阳者研究发现,与传染性相关的病毒复制标志物亚基因组信使RNA(subgenomic messenger RNA, sgmRNA)仅在3个肛拭子样本中检出,且病毒载量明显低于感染初期,这与其抗体产生缓慢和抗体水平低下导致胃肠道新冠病毒清除较慢有关。Li等^[6]对2021年广州837例新冠病毒复阳者的回顾性分析表明,德尔塔变异株的复阳率为61.4%,需21~42d才能完全清除病毒残留,核酸检测结果转阴,但复阳期间的病毒核酸载量明显下降,且并未分离出活病毒,临床症状也未加重。以上研究结果表明,复阳个体如未发生二次感染和(或)携带活病毒,则并不具有传染风险。本研究在对复阳个体Ct值追踪观察中发现,Ct值 <35 者占56.25%,较Ct值 ≥ 35 者更多,但这并不意味着Ct值 <35 者具有传染性,还需结合流行病学、临床表现及是否携带活病毒等综合分析。

本研究中观察到,部分新冠病毒感染者在复阳阶段再次核酸检测过程中可出现Ct值较前一次降低后再次增高,或检测出单靶标阳性后,再次检测为双靶标阳性,然后又多次检测出单靶标阳性,或再次检测为另一种单靶标基因阳性等情况,这与复阳个体的体内核酸片段残留、病毒序列不完整、病毒拷贝数较低、病毒清除时间较长、检测试剂灵敏度等多种因素有关。因此,复阳个体可能出现核酸检测阳性后,再次核酸检测为阴性,连续多日阴性后又检测出阳性等多次

核酸检测反复阳性的情况,或采用同一种试剂重复测定,部分孔位阳性,部分孔位阴性或检测出不同单靶标,或不同的试剂检测出不同单靶标等现象;另外,采样及样本保存等因素也会影响核酸检测结果^[7]。

2022年流行的新冠病毒奥密克戎变异株与之前的变异株相比,其变异程度更大,免疫逃逸能力更强,尤其是BA.2、BA.4、BA.5、BA.7亚分支,均有较高的再生指数,在一些国家和地区已经成为流行的优势毒株,其传播力、致病力和病死率都有所增加,对现有各种类型的新冠疫苗及既往感染所诱导的人体中和抗体也存在一定影响。Li等^[6]发现,接种疫苗并不能降低复阳的发生率,但有助于改善复阳的症状,缩短核酸检测阳性的持续时间。二次感染可能多见于免疫功能较低的人群,人体感染新冠病毒1~2周开始产生抗体,但抗体水平达到高峰后会随着时间延长逐渐下降^[8-9],康复人群可再次感染新毒株。

综上所述,新冠病毒感染者在较长一段时间内可持续或反复多次核酸检测出现阳性,且复阳的Ct值 <35 者较多,但其是否具有传染性或二次感染,需要结合流行病学史、变异株类型、临床症状、体征和影像学特征^[10]及核酸检测Ct值等综合判断,以科学有效地进行传染病防治。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染诊疗方案(试行第十版)[EB/OL]. (2023-01-05) [2023-01-06]. <http://www.nhc.gov.cn/ylyjs/pqt/202301/32de5b2ff9bf4ea88e75bdf7223a65a.shtml>.
- [2] Kang YJ. South Korea's COVID-19 infection status: from the perspective of re-positive test results after viral clearance evidenced by negative test results [J]. Disaster Med Public Health Prep, 2020, 14 (6): 762-764. DOI: 10.1017/dmp.2020.168.
- [3] Gao ZR, Xu YH, Guo Y, et al. A systematic review of re-detectable positive virus nucleic acid among COVID-19 patients in recovery phase [J]. Infect Genet Evol, 2020, 85: 104494. DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104494.
- [4] Hong K, Cao W, Liu ZY, et al. Prolonged presence of viral nucleic acid in clinically recovered COVID-19 patients was not associated with effective infectiousness [J]. Emerg Microbes Infect, 2020, 9 (1): 2315-2321. DOI: 10.1080/22221751.2020.1827983.
- [5] Hu FY, Chen FJ, Ou ZH, et al. A compromised specific humoral immune response against the SARS-CoV-2 receptor-binding domain is related to viral persistence and periodic shedding in the gastrointestinal tract [J]. Cell Mol Immunol, 2020, 17 (11): 1119-1125. DOI: 10.1038/s41423-020-00550-2.
- [6] Li L, Tang JY, Xie ZW, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 delta variant-infected individuals with intermittently positive retest viral RNA after discharge [J]. Natl Sci Rev, 2022, 9 (10): nwac141. DOI: 10.1093/nsr/nwac141.
- [7] 李艳, 郭心灵, 马晓霞, 等. 样本分析前质量控制对新型冠状病毒核酸检测结果的影响 [J]. 实用检验医师杂志, 2022, 14 (3): 321-324. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2022.03.024.
- [8] Alonso FOM, Sabino BD, Guimarães MAAM, et al. Recurrence of SARS-CoV-2 infection with a more severe case after mild COVID-19, reversion of RT-qPCR for positive and late antibody response: case report [J]. J Med Virol, 2021, 93 (2): 655-656. DOI: 10.1002/jmv.26432.
- [9] 郑祥德, 周睿, 卢自文, 等. 危重型新型冠状病毒肺炎患者的远期预后与抗体水平变化——1例持续6个月的系统性观察 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2021, 28 (2): 225-227. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2021.02.023.
- [10] 曹玉芳, 王小智, 谢晓红, 等. 新型冠状病毒、细菌和病毒性肺炎患者胸部影像学特征分析 [J]. 中华危重病急救医学, 2023, 35 (1): 28-31. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210318-00394.

(收稿日期: 2023-01-07)