

新型冠状病毒奥密克戎株核酸检测循环阈值与感染患者转阴周期的相关性及其影响因素分析

丁宁, 陈诗恺, 孟俊, 戴菁, 金佩佩
(上海交通大学医学院附属瑞金医院检验科, 上海 201801)

[摘要] 目的: 探讨入院首次新型冠状病毒(新冠)奥密克戎株(Omicron)核酸检测 *ORF1ab* 基因、*N* 基因的循环阈值(cycle threshold, Ct)与新冠感染患者转阴周期之间的相关性及其影响因素。方法: 选取 2022 年 3 月到 4 月期间, 上海交通大学医学院附属瑞金医院北部院区收治的 5 212 例新冠奥密克戎变异株感染者, 依据患者既往史及入院后相关指标检验, 将其分为无基础疾病组(2 746 例)及合并基础疾病组(2 466 例)。检测所有研究对象 *ORF1ab* 基因和 *N* 基因的 Ct 值, 分析入院首次检测不同 Ct 值下无基础疾病组与合并基础疾病组的 *ORF1ab* 基因、*N* 基因的转阴周期之间的差异。采用 Pearson 线性相关性分析, 评估 *ORF1ab* 基因、*N* 基因检测的 Ct 值与转阴周期的相关性, 并采用多元线性回归分析转阴周期的影响因素。结果: 新冠患者 *ORF1ab* 基因、*N* 基因的 Ct 值与转阴周期均呈负相关($r_{ORF1ab} = -0.4622, P < 0.01$; $r_N = -0.5428, P < 0.01$)。Ct 值 ≤ 20 和 $20 < Ct \leq 30$ 的情况下, 合并基础疾病组的转阴周期均明显长于无基础疾病组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。多元线性回归分析显示, *ORF1ab* 基因的 Ct 值每升高一个循环次数, 转阴周期缩短 0.21 d, *N* 基因的 Ct 值每升高一个循环次数, 转阴周期缩短 0.26 d; 年龄合并基础疾病为危险因素。结论: 入院首次检测的新冠奥密克戎株 *ORF1ab* 基因、*N* 基因的 Ct 值与新冠患者转阴周期有关, 年龄、基础疾病为转阴周期长的危险因素, 该值可作为新冠患者转阴周期的预测因子, 可今后指导新冠患者减少核酸检测频次及评估疾病进程具有一定价值。

关键词: 新型冠状病毒; *ORF1ab* 基因; *N* 基因; 循环阈值; 转阴周期

中图分类号: R715.2 文献标志码: A 文章编号: 1671-2870(2022)02-0169-05

DOI: 10.16150/j.1671-2870.2022.02.013

Correlation and influencing factors analysis of the cycle threshold value in detection of novel coronavirus nucleic acid (Omicron) and the negative conversion cycle in infected patients DING Ning, CHEN Shikai, MENG Jun, DAI Jing, JIN Peipei. Department of Laboratory Medicine, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 201801, China

[Abstract] Objective: To explore the relationship between the cycle threshold (Ct) value of *ORF1ab* gene and *N* gene in the first admission detected by novel coronavirus (Omicron) nucleic acid and the negative conversion cycle of infected patients. **Methods:** 5 212 patients with novel coronavirus omicron variant infection were admitted to the Northern Ruijin Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine from March 2022 to April 2022 were collected, according to the patient's previous history and the tests of relevant indexes after admission, including 2 746 cases in non-basic disease group and 2 466 cases in the basic disease group. All subjects received the Ct value of the *ORF1ab* genes and the *N* genes tests. Statistical analysis of the difference of the negative conversion cycle of *ORF1ab* gene and *N* gene between non-basic disease group and basic disease group under different Ct values at the first admission. Pearson linear correlation analysis was used to assess the association of Ct value of *ORF1ab* gene and *N* gene with the negative conversion cycle, and multiple linear regression was used to analyze the factors affecting the negative conversion cycle. **Results:** The Ct values of *ORF1ab* gene and *N* gene in patients novel coronavirus infection were negatively correlated with the negative conversion cycle ($r_{ORF1ab} = -0.4622, P < 0.01$; $r_N = -0.5428, P < 0.01$). In the case of Ct value ≤ 20 and $20 < Ct \leq 30$, there was a significant difference in the negative conversion cycle between the group with basic diseases and

基金项目: 上海市临床重点专科建设项目-瑞金医院医学检验科(2019)

通信作者: 金佩佩 E-mail: jppe924@163.com

the group with non-basic disease, which the negative conversion cycle of the group with basic diseases was significantly higher than that of the group with non-basic disease ($P<0.05$); When the Ct value of the ORF1ab gene increases by one cycle, the negative conversion cycle is shortened by 0.21 days, and when the Ct value of the N gene increases by one cycle, the negative conversion cycle is shortened by 0.26 days, in addition, age and basic diseases are risk factors. **Conclusions:** The Ct values of ORF1ab gene and N gene in the first admission are related to the negative conversion cycle of patients with novel coronavirus (Omicron) infection, which can be used as an independent predictor of the negative conversion cycle of patients with novel coronavirus infection and have a certain value in guiding patients with novel coronavirus infection to reduce the frequency of nucleic acid detection and to assess disease progression.

Key words: Novel coronavirus; ORF1ab gene; N gene; Cycle threshold value; Negative conversion cycle

随着新型冠状病毒(新冠)奥密克戎(Omicron)变异株的出现,由于其高传播率和突变数量,引起各国的重视。奥密克戎变异株的传染性很强,传播速度比以前的任何变异体都快,其可能导致一系列疾病,从新冠无症状感染到重症新冠肺炎。新冠无症状感染者中大部分无基础疾病,而重症新冠肺炎患者则多合并基础疾病(包括高血压、糖尿病、冠心病、肾病综合征等)。以往研究表明,在新冠感染疫情初期,住院的新冠感染者中,约有1/3合并基础疾病的患者需要入住重症监护病房,其中1/9的患者已经死亡^[1-4]。目前已知的可导致新冠奥密克戎变异株感染恶化的风险因素包括高龄、肥胖、心力衰竭等特定的疾病^[5-7]。

循环阈值(cycle threshold, Ct)值是在反转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)中,扩增病毒RNA达到可检测水平所需的循环次数。Ct值与病毒载量和在体外生长新冠病毒的传播能力呈负相关^[8-10]。虽然Ct值与病毒载量成反比,但这种相关性是非线性的,而且受多种因素影响^[11]。通常在病程早期,患者会有更高的病毒载量,临床医师对如何利用Ct值更好地管理新冠感染者及开展预后评估等方面经验仍存在不足。本研究拟分析入院首次检测ORF1ab基因、N基因的Ct值,与奥密克戎变异株感染患者转阴周期间的相关性,探讨通过检测ORF1ab基因、N基因的Ct值指导新冠感染者的核酸检测频次,并为其疾病进程评估提供有利依据。

材料与方法

一、资料

选取2022年3月到4月期间,上海交通大学医学院附属瑞金医院北部院区收治的5212例新冠奥密克戎变异株感染患者,按患者既往史及入

院后相关指标检验分为无基础疾病组(2746例)和合并基础疾病组(2466例,包括高血压、糖尿病、冠心病、肾病综合征等),其中男性2621例,女性2591例。

新冠感染及新冠肺炎的诊断标准和临床分型方法参照根据国家卫生健康委员会颁布的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第九版)》。所有研究对象的鼻咽拭子首次新冠核酸检测为阳性(Ct值<40)。新冠病毒奥密克戎变异株感染患者转阴周期为入院到连续2次核酸检测Ct值>35的周期。本研究经上海交通大学医学院附属瑞金医院伦理委员会批准[伦理号:(2019)临伦审第(54)号],所有对象均知情同意。

二、方法

每天采集所有新冠感染者的样本后,于8h内送至实验室,在24h内完成核酸检测。取300μL混合样本加入提取试剂盒(上海之江生物,货号Z-ME-0092-96A),在配套的全自动核酸提取仪上完成核酸抽提,采用2019新型冠状病毒(ORF1ab/N基因)核酸扩增试剂盒(双重荧光PCR法)(上海之江生物,货号Z-RR-0479-02-50),在实时荧光PCR仪(上海宏石SLAN-96P)上进行扩增检测,严格按照试剂说明书操作。

以患者于入院首次新冠核酸检测ORF1ab基因、N基因的Ct值,将其分为Ct值≤20组、20<Ct值≤30组和30<Ct值<40组。

三、统计学方法

采用GraphPad Prism 8软件进行数据分析。呈正态分布的数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,2组之间比较采用t检验;采用Pearson线性相关性分析评估ORF1ab基因、N基因的Ct值与转阴周期的相关性。采用多元线性回归分析转阴周期的风险因素。计量资料使用(%)表示,两两比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、基本资料

无基础疾病组与合并基础疾病组间的年龄差异有统计学意义($P<0.05$),而 2 组间 *ORF1ab* 基因、*N* 基因的 Ct 值差异无统计学意义($P>0.05$)。2 组间的性别构成差异无统计学意义($P>0.05$) (见表 1)。

二、Ct 值下的不同疾病组 *ORF1ab* 基因、*N* 基因转阴周期(d)比较

Ct 值 ≤ 20 、 $20<Ct$ 值 ≤ 30 值中,合并基础疾病组的转阴周期较无基础疾病组长,差异有统计学意义($P<0.05$) (见表 2、3)。

三、*ORF1ab* 基因、*N* 基因的 Ct 值与转阴周期(d)的相关性

Pearson 相关分析结果显示,新冠感染患者 *ORF1ab* 基因、*N* 基因的 Ct 值与转阴周期(d)均呈负相关($r_{ORF1ab}=-0.4622, P<0.01; r_N=-0.5428, P<0.01$)

(见图 1)。

四、多元线性回归分析转阴周期的影响因素

多元线性回归分析显示,*ORF1ab* 基因、*N* 基因的 Ct 值及年龄、合并基础疾病均为转阴周期的影响因素($P<0.05$) (见表 4、5)。

表 2 不同 Ct 值下的不同疾病组 *ORF1ab* 基因转阴周期(d)比较

组别	转阴周期(d)		
	Ct 值 ≤ 20	$20<Ct$ 值 ≤ 30	$30<Ct$ 值 <40
无基础疾病组	9.95 \pm 2.47	9.20 \pm 2.54	6.90 \pm 2.72
合并基础疾病组	10.60 \pm 2.67	9.60 \pm 3.16	7.07 \pm 2.25
<i>t</i> 值	2.308	2.437	1.059
<i>P</i> 值	0.022	0.015	0.289

表 3 不同 Ct 值下的不同疾病组 *N* 基因转阴周期(d)比较

组别	转阴周期(d)		
	Ct 值 ≤ 20	$20<Ct$ 值 ≤ 30	$30<Ct$ 值 <40
无基础疾病组	8.34 \pm 3.13	7.42 \pm 2.65	5.45 \pm 2.74
合并基础疾病组	9.23 \pm 3.53	8.00 \pm 2.60	5.62 \pm 2.53
<i>t</i> 值	4.168	3.541	0.991
<i>P</i> 值	<0.001	0.004	0.322

表 1 研究对象的基本资料

组别	<i>ORF1ab</i> 基因 Ct 值	<i>N</i> 基因 Ct 值	年龄(岁)	性别[n(%)]	
				男性	女性
无基础疾病组	27.72 \pm 6.371	27.08 \pm 6.714	42.01 \pm 12.37	1 375(50.07)	1 371(49.93)
合并基础疾病组	27.59 \pm 6.509	26.86 \pm 6.749	47.07 \pm 16.73	1 246(50.03)	1 220(49.47)
χ^2 值	0.483 0	0.787 2	12.290 0	0.107 3	
<i>P</i> 值	0.629 1	0.431 3	<0.001 0	0.743 3	

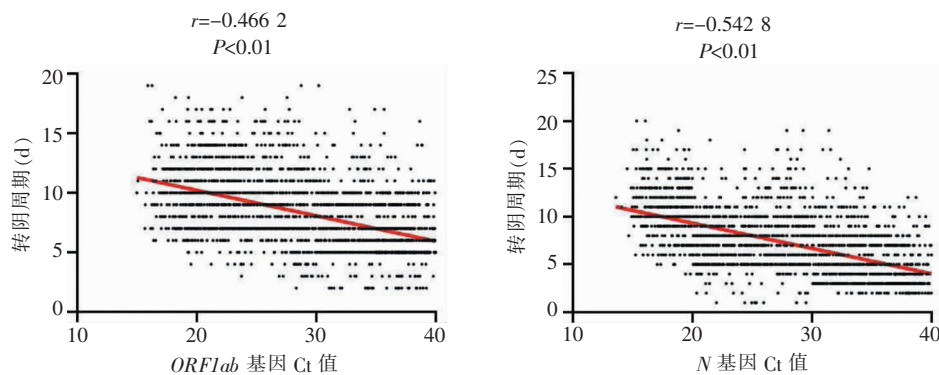


图 1 *ORF1ab*、*N* 基因的 Ct 值与转阴周期(d)的相关性

表 4 *ORF1ab* 基因转阴周期影响因素的多元线性回归分析

变量	UC	SE	SRC	<i>t</i>	<i>P</i>	UC 95%CI
<i>ORF1ab</i> 基因 Ct 值	-0.211 0	0.008 2	0.027 5	25.70	<0.000 1	-0.227 1~-0.194 9
年龄	0.013 1	0.003 6	0.040 9	3.643	<0.000 1	0.006 1~-0.020 2
性别	-0.030 9	0.105 9	0.020 6	0.291 9	0.770 4	-0.238 6~-0.176 8
合并基础疾病	0.240 5	0.106 1	0.030 2	2.266	0.023 5	0.0324~-0.448 6
常数项	13.74	0.307 7	-	44.65	<0.000 1	13.13~14.34

表 5 *N* 基因转阴周期影响因素的多元线性回归分析

变量	UC	SE	SRC	<i>t</i>	<i>P</i>	UC 95%CI
<i>N</i> 基因 Ct 值	-0.258 3	0.008 4	0.049 6	30.85	<0.000 1	-0.274 7~-0.241 9
年龄	0.016 4	0.003 8	0.040 0	4.302	<0.000 1	0.008 9~-0.023 9
性别	-0.187 0	0.113 0	0.054 6	1.656	0.097 9	-0.408 6~-0.034 5
合并基础疾病	0.581 6	0.112 9	0.041 6	5.149	<0.000 1	0.360 1~-0.803 0
常数项	13.56	0.293 5	-	46.20	<0.000 1	12.99~14.14

讨 论

一、新冠感染者核酸检测 Ct 值与其疾病程度间的相关性

为了尽快筛选出新冠感染者并采取有力的传染病防治手段,RT-PCR 检测技术在此次疫情防控中得到了广泛应用。虽然其是一种半定量检测技术,但有研究显示,Ct 值指标可被用来评估病毒载量,并可能对疾病的预后和严重程度有一定的预测作用。核酸检测样本的采样技术、采样时间、采样位置、采样所处的疾病阶段,以及从采样到分析的持续时间,对 Ct 值有着重要影响,而 Ct 值与疾病严重程度、死亡率、传染性甚至康复情况有关。通过对现有文献数据的研究发现,Ct 值可能为医疗保健专业人员和临床医师对新冠感染者的诊疗提供潜在的信息,同时也有助于指导新冠感染控制,并就职业和公共卫生做出决策。在病程早期,新冠感染者的 Ct 值通常较低,而随着其症状的进展,患有基础疾病住院治疗的患者,持续存在高病毒载量时,可能会出现疾病恶化,所以 Ct 值可作为患者预后评估的良好指标。有研究^[12]表明,35%的患者 Ct 值低于 20 时病毒载量较高,18%的患者 Ct 值介于 25~30 之间时病毒载量中等,6%的患者 Ct 值高于 30 时病毒载量较低。Fajnzylber 等^[13]报道了病毒载量可被视为发病率和死亡率的预测因子。尽管与新冠病毒相关的临床信息不断增加,但很少有研究详细阐述了病毒载量与疾病进展及感染者转阴周期期间的关系^[14]。其中,7 项研究表明 Ct 值随疾病严重程度降低,这与早期关于不同呼吸道感染 Ct 值的研究一致^[15-17]。因此,临床医师和研究人员可使用 Ct 值预测病毒载量,这可能与疾病严重程度有关。

二、在合并基础疾病组与无基础疾病组中 Ct 值对转阴周期(d)的影响

本研究显示,新冠奥密克戎变异株感染患者中合并基础疾病组的平均年龄高于无基础疾病组,差异有统计学意义($P<0.01$),表明随着年龄的增大,患者合并基础疾病的风险增加。但入院首次检测

ORF1ab 基因、*N* 基因的 Ct 值在合并基础疾病组与无基础疾病组间无差异($P>0.05$),与 Miller 等^[18]的研究一致。进而本研究在入院首次检测的不同 Ct 值下,对合并基础疾病组与无基础疾病组感染者转阴周期进行比较后发现,Ct 值 ≤ 20 、 $20<Ct$ 值 ≤ 30 时,合并基础疾病组的转阴周期明显高于无基础疾病组;在 $30<Ct$ 值 <40 时,2 组的转阴周期差异无统计学意义,说明此时感染者的病毒载量很低,病情恢复较快。

三、转阴周期(d)与新冠感染者 Ct 值间的相关性及影响因素

本研究结果还显示,新冠感染者 *ORF1ab* 基因、*N* 基因的 Ct 值与转阴周期(d)均呈负相关,表明随着 Ct 值的增大转阴周期缩短。多元线性回归分析显示,*ORF1ab* 基因的 Ct 值每升高一个循环次数,转阴周期缩短 0.21 d,*N* 基因的 Ct 值每升高一个循环次数,转阴周期缩短 0.26 d。另外,年龄及合并基础疾病为危险因素。因此,入院首次新冠核酸检测的 Ct 值可作为新冠感染者转阴周期的预测指标,对指导新冠感染者减少核酸检测频次及评估其疾病进程有重要意义。

综上所述,入院首次新冠核酸检测的 Ct 值与感染者转阴周期有关,对感染者的预后评估有一定价值。因此,临床医师和研究人员可使用 Ct 值预测病毒载量,指导新冠感染者减少核酸检测频次,同时及时识别高危患者,缩短新冠感染者的出院周期。

[参考文献]

- [1] Asch DA, Sheils NE, Islam MN, et al. Variation in US Hospital Mortality Rates for Patients Admitted With COVID-19 During the First 6 Months of the Pandemic[J]. JAMA Intern Med,2021,181(4):471-478.
- [2] Kompaniyets L, Goodman AB, Belay B, et al. Body Mass Index and Risk for COVID-19-Related Hospitalization, Intensive Care Unit Admission, Invasive Mechanical Ventilation, and Death - United States, March-December 2020[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep,2021,70(10):355-361.

- [3] Nguyen NT, Chinn J, Nahmias J, et al. Outcomes and Mortality Among Adults Hospitalized With COVID-19 at US Medical Centers[J]. *JAMA Netw Open*,2021,4(3): e210417.
- [4] Roth GA, Emmons-Bell S, Alger HM, et al. Trends in Patient Characteristics and COVID-19 In-Hospital Mortality in the United States During the COVID-19 Pandemic[J]. *JAMA Netw Open*,2021,4(5):e218828.
- [5] Garg S, Kim L, Whitaker M, et al. Hospitalization Rates and Characteristics of Patients Hospitalized with Laboratory-Confirmed Coronavirus Disease 2019 - COVID-NET, 14 States, March 1-30, 2020[J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*,2020,;69(15):458-464.
- [6] Peckham H, de Gruijter NM, Raine C, et al. Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ITU admission[J]. *Nat Commun*, 2020,11(1):6317.
- [7] Ioannou GN, Locke E, Green P, et al. Risk Factors for Hospitalization, Mechanical Ventilation, or Death Among 10 131 US Veterans With SARS-CoV-2 Infection[J]. *JAMA Netw Open*,2020,3(9):e2022310.
- [8] Bullard J, Dust K, Funk D, et al. Predicting Infectious Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 From Diagnostic Samples[J]. *Clin Infect Dis*,2020,71(10):2663-2666.
- [9] Gniazdowski V, Paul Morris C, Wohl S, et al. Repeated Coronavirus Disease 2019 Molecular Testing: Correlation of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Culture With Molecular Assays and Cycle Thresholds[J]. *Clin Infect Dis*,2021,73(4):e860-e869.
- [10] Young BE, Ong SWX, Ng LFP, et al. Viral Dynamics and Immune Correlates of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Severity[J]. *Clin Infect Dis*,2021,73(9):e2932-e2942.
- [11] Dahdouh E, Lázaro-Perona F, Romero-Gómez MP, et al. C t values from SARS-CoV-2 diagnostic PCR assays should not be used as direct estimates of viral load[J]. *J Infect*,2021,82(3):414-451.
- [12] Magleby R, Westblade LF, Trzebucki A, et al. Impact of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Viral Load on Risk of Intubation and Mortality Among Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019[J]. *Clin Infect Dis*,2021,73(11):e4197-e4205.
- [13] Fajnzylber J, Regan J, Coxen K, et al. SARS-CoV-2 viral load is associated with increased disease severity and mortality[J]. *Nat Commun*,2020,11(1):5493.
- [14] Rao SN, Manissero D, Steele VR, et al. A Systematic Review of the Clinical Utility of Cycle Threshold Values in the Context of COVID-19[J]. *Infect Dis Ther*,2020,9(3): 573-586.
- [15] Feikin DR, Alraddadi B, Qutub M, et al. Association of Higher MERS-CoV Virus Load with Severe Disease and Death, Saudi Arabia, 2014[J]. *Emerg Infect Dis*,2015,21(11): 2029-2035.
- [16] Lee N, Chan MC, Lui GC, et al. High Viral Load and Respiratory Failure in Adults Hospitalized for Respiratory Syncytial Virus Infections[J]. *J Infect Dis*,2015,212(8): 1237-1240.
- [17] Cereda D, Manica M, Tirani M, et al. The early phase of the COVID-19 epidemic in Lombardy, Italy[J]. *Epidemics*, 2021,37:100528.
- [18] Miller EH, Zucker J, Castor D, et al. Pretest Symptom Duration and Cycle Threshold Values for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction Predict Coronavirus Disease 2019 Mortality[J]. *Open Forum Infect Dis*,2021,8(2): ofab003.

(收稿日期:2022-05-27)

(本文编辑:张 宁)