

新型冠状病毒肺炎患者病毒清除时间延迟的相关因素分析

王子豪 向烜 贺新良 韦晓山 叶琳琳 彭文贝 周琼

华中科技大学同济医学院附属协和医院呼吸与危重症医学, 武汉 430022

通信作者: 周琼, Email: zhouqiong@126.com

【摘要】 目的 探究已治愈新型冠状病毒肺炎(COVID-19)患者的病毒清除时间延迟相关因素。方法 以武汉协和医院 2020 年 1—3 月 228 例经核酸确诊的 COVID-19 病例为研究对象,根据病毒清除时间 21 d 为界,分为延迟清除组(136 例)和对照组(92 例),对比分析两组患者临床特征、发病至入院时间、实验室检查指标等。应用 Logistic 分析与 COVID-19 患者病毒清除时间延长风险相关的因素。采用 Kaplan-Meier 曲线描述不同 IL-6 水平、不同入院时间的病毒核酸阳性比例,使用 log-rank 检验比较延迟清除组和对照组病毒清除速度的差异。结果 所有病例总体病毒清除时间为 23.00(18.00, 30.25) d,两组常见临床症状为发热和咳嗽。病毒清除时间延迟的危险因素有发病至入院时间>10 d ($aOR=6.581$, $95\%CI:3.505\sim12.354$) 和 IL-6 浓度>17.49 pg/mL ($aOR=2.766$, $95\%CI:1.282\sim5.964$)。Kaplan-Meier 曲线显示,发病至入院时间>10 d 以及病程中 IL-6 浓度>17.49 pg/mL 的患者病毒清除速度更慢(log-rank $P<0.05$ 或 0.01)。结论 IL-6 浓度和发病至入院时间长短与 COVID-19 患者的病毒清除时间是否延长相关,因此在症状出现后尽早入院治疗有利于患者病毒清除。

【关键词】 新型冠状病毒肺炎;病毒清除;回顾性队列研究

基金项目:国家自然科学基金(81973990);中央高校基本科研业务费专项资金(2020kfyXGYJ030)

DOI:10.3760/cma.j.cn331340-20200717-00227

Factors associated with prolonged viral clearance in COVID-19 patients

Wang Zihao, Xiang Xuan, He Xinliang, Wei Xiaoshan, Ye Linlin, Peng Wenbei, Zhou Qiong

Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

Corresponding author: Zhou Qiong, Email: zhouqiong@126.com

【Abstract】 Objective To understand the factors associated with prolonged viral clearance in cured patients with COVID-19. **Methods** A total of 228 confirmed cases with COVID-19 in Union Hospital of Wuhan from January to March 2020 were enrolled. Based on the duration of viral clearance with 21 d as the cut-off point, patients were divided into prolonged viral clearance group (136 cases) and control group (92 cases). The clinical features, onset to door times, laboratory results between the two groups were compared. Multivariate Logistic regression analysis was used to explore factors associated with viral clearance. Kaplan-Meier curve was used to analyze the positive rates of viral RNA in different IL-6 levels and hospital admission times, and log-rank test was to compare the viral clearance between the two groups. **Results** The duration of viral clearance in 228 cases was 23.00 (18.00–30.25) days, and fever and cough were the common clinical manifestations in both groups. The risk factors of prolonged viral clearance were hospital admission time>10 days ($aOR=6.581$, $95\%CI:3.505\sim12.354$) and IL-6>17.49 pg/mL ($aOR=2.766$, $95\%CI:1.282\sim5.964$). Kaplan-Meier curves showed that the hospital admission time >10 days and IL-6 >17.49 pg/mL had a slower viral clearance (log-rank $P<0.05$ or 0.01). **Conclusions** IL-6 and the time from onset to admission are associated with the duration of viral clearance in COVID-19 patients. It is necessary for the patients to be admitted to the hospital as soon as possible after symptoms appear, in order to eliminate the virus quickly.

【Key words】 COVID-19; Viral clearance; Retrospective cohort study

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81973990); Fundamental Research Funds for the Central Universities (2020kfyXGYJ030)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20200717-00227

与新型冠状病毒(COVID-19)的病毒载量和清除相关的研究显示,年龄与上呼吸道病毒载量有关,性别、有创通气、入院时间与病毒清除时间有关^[1-2],但病毒清除时间的延迟因素尚无相关研究。本研究回顾性分析与 COVID-19 病毒清除时间延迟相关的临床因素,以期为 COVID-19 的临床治愈提供更多的依据。

对象与方法

一、研究对象

本研究共纳入武汉协和医院 2020 年 1—3 月呼吸内科收治的 413 名患者,排除 185 例缺乏完整临床信息和核酸检测报告的病例,最终纳入 228 例已治愈出院的确诊病例。COVID-19 的诊断标准和临床分型均参照《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第五版)》。研究对象的纳入标准包括:(1)年龄 ≥ 18 岁;(2)治愈出院;(3)经核酸检测确认病毒清除;(4)普通型和重型患者。排除标准包括:(1)死亡患者;(2)经核酸检测复阳患者;(3)无症状感染者、轻型和危重型患者。本研究已通过华中科技大学同济医学院医学伦理委员会批准(审批号:2020-0120),所有患者均签署了知情同意书。

二、数据收集

收集患者在电子病例系统中的病例数据,包括年龄、性别、基础疾病、临床分型、临床症状、发病至入院时间、病毒清除时间以及入院后首次实验室检查数据。使用统一的格式录入所有数据,录入数据后,由专人负责数据审核,发现问题及时予以纠正,对于不合格的数据进行剔除重查。

三、病毒清除时间定义

病毒清除时间定义为:从症状出现到两次间隔至少 24 h 的阴性报告中前一次的时间。观察起点是症状出现时间,入院后每 3~5 天进行一次核酸检测,报告结果显示阴性后间隔 24 h 再进行一次

测,以排除假阴性。研究显示,武汉 COVID-19 存活患者的病毒清除时间是 20.00(17.00,24.00) d,重症患者病毒清除时间是 31.00(24.00,40.00) d^[3-4],结合本研究实际情况,患者以病毒清除时间 21 d 为界分组。病毒清除时间 >21 d 为病毒清除延迟组(以下简称延迟清除组),以病毒清除时间 ≤ 21 d 为对照组。

四、统计学分析

采用 EpiData 3.1 软件建立数据库,进行数据双录入,并且经逻辑纠错,随机抽样 10%复查。采用 R 3.6.1 软件和 SPSS 25.0 统计软件进行统计学分析。计量资料符合正态分布的采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;不符合分布的采用 $M(Q_{25}, Q_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验;计数资料采用例数和率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用非条件 Logistic 回归模型计算临床因素与病毒清除时间延长风险的 OR 值及其 95%CI。使用 Kaplan-Meier 曲线描述新型冠状病毒核酸阳性比例,使用 log-rank 检验比较病毒清除速度的差异,使用 Survival 包计算 IL-6 浓度的临界值。以上均以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、一般情况

228 名患者的年龄是 (51.30 ± 16.44) 岁,范围 24~85 岁,病毒清除时间 23.00(18.00,30.25) d,范围 5~51 d。其中 42.10%(96 例)是男性,31.58%(72 例)伴有基础疾病,39.04%(89 例)是重型。基础疾病主要包括高血压、糖尿病、高脂血症、慢性支气管炎等。发热和咳嗽是最常见的临床症状,其他症状包括乏力、咳痰、咽痛、肌肉酸痛、胸部不适、头晕头痛、腹泻、呼吸困难等。228 例患者在住院期间均未行有创通气,且均已治愈出院。延迟清除组平均年龄为 (54.01 ± 16.27) 岁,高于对照组的 (47.28 ± 15.95) 岁,差异具有统计学意义($t=3.101, P<0.01$);延迟清除组患者发热的比例为 75.74%,低于对照

组, ($\chi^2=6.435, P<0.05$); 延迟清除组患者发病至入院时间>10 d 的比例为 66.18%, 高于对照组 ($\chi^2=41.280, P<0.01$)。两组之间性别、临床分型、基础疾病以及其他临床表现差异不具有统计学意义(P 均>0.05)。详见表 1。

二、实验室检查结果

228 例患者的 IL-6 浓度为 835(386,20.10) pg/mL, 范围 0.98~925.39 pg/mL。延迟清除组的 IL-6 浓度为 9.55(4.14,25.82) pg/mL, 高于对照组, 两组间差异具有统计学意义($Z=2.017, P<0.05$)。尽管两组间白细胞计数、中性粒细胞计数、血小板计数、血红蛋白、CD8⁺ T 细胞的数量、IL-4 和 TNF- α 的浓度、肌酸激酶、白蛋白、总胆红素的水平差异具有统计学意义(P 均<0.05), 但这些指标在正常范围内波动, 未纳

入分析。其他实验室检查指标(例如淋巴细胞、CD3⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、ALT、AST、肌酐、血尿素氮、直接胆红素、C 反应蛋白、乳酸脱氢酶、IL-2、IL-10 和 IFN- γ 等)的水平在两组之间的差异不具有统计学意义(P 均>0.05)。详见表 2。

三、病毒清除时间相关因素

将上述有意义的因素包括年龄、发热、发病至入院时间、IL-6 浓度纳入非条件 Logistic 回归模型, 结果显示发病至入院时间>10 d 者病毒清除时间延长的风险是发病至入院时间较 ≤ 10 d 者的 6.581 倍 ($aOR=6.581, 95\%CI: 3.505\sim 12.354, P<0.01$)。IL-6 浓度>17.49 pg/mL 者病毒清除时间延长的风险是 IL-6 浓度 ≤ 17.49 pg/mL 者的 2.766 倍 ($aOR=2.766, 95\%CI: 1.282\sim 5.964, P<0.01$)。Kaplan-Meier 曲线显示,

表 1 新型冠状病毒肺炎患者一般情况

变量	所有患者($n = 228$)	延迟清除组($n = 136$)	对照组($n = 92$)	统计值	P 值
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	51.30 \pm 16.44	54.01 \pm 16.27	47.28 \pm 15.95	3.101 ^b	<0.01
性别[例(%)]				0.119 ^c	>0.05
男	96(42.10)	56(41.18)	40(43.48)		
女	132(57.89)	80(58.82)	52(56.52)		
基础疾病 ^a [例(%)]				2.153 ^c	>0.05
有	72(31.58)	48(35.29)	24(26.09)		
无	156(68.42)	88(64.71)	68(73.91)		
临床分型[例(%)]				1.172 ^c	>0.05
重型	89(39.04)	57(41.91)	32(34.78)		
普通型	139(60.96)	79(58.09)	60(65.22)		
临床症状[例(%)]					
发热	185(81.14)	103(75.74)	82(89.13)	6.435 ^c	<0.05
咳嗽	141(61.84)	88(64.71)	53(57.61)	1.171 ^c	>0.05
乏力	99(43.42)	58(42.65)	41(44.57)	0.082 ^c	>0.05
咳痰	59(25.88)	34(25.00)	25(27.17)	0.135 ^c	>0.05
咽痛	33(14.47)	20(14.71)	13(14.13)	0.015 ^c	>0.05
肌肉酸痛	52(22.81)	32(23.53)	20(21.74)	0.100 ^c	>0.05
胸部不适	78(34.21)	50(36.76)	28(30.43)	0.977 ^c	>0.05
头晕头痛	34(14.91)	19(13.97)	15(16.30)	0.236 ^c	>0.05
腹泻	46(20.18)	26(19.12)	20(21.74)	0.234 ^c	>0.05
呼吸困难	37(16.23)	24(17.65)	13(14.13)	0.499 ^c	>0.05
发病至入院时间[例(%)]				41.280 ^c	<0.01
>10 d	111(48.68)	90(66.18)	21(22.83)		
≤ 10 d	117(51.32)	46(33.82)	71(77.17)		
病毒清除时间[d, $M(Q_{25}, Q_{75})$]	23.00(18.00, 30.25)	29.00(24.00, 34.00)	17.00(14.00, 19.00)	12.813 ^d	<0.01

注:^a 基础疾病包括高血压、糖尿病、慢性支气管炎、高脂血症、冠心病等;^b 为 t 值;^c 为 χ^2 值;^d 为 Z 值;延迟清除组为病毒清除时间>21 d 的患者, 对照组为病毒清除时间 ≤ 21 d 的患者

表 2 新型冠状病毒肺炎病毒延迟清除组与对照组的部分实验室检查数据比较

实验室检查项目	正常参考范围	延迟清除组 (n=136) [M (Q ₂₅ , Q ₇₅)]	对照组 (n=92) [M (Q ₂₅ , Q ₇₅)]	Z 值	P 值
白细胞($\times 10^9/L$)	3.50~9.50	5.18(4.14, 6.67)	4.53(3.28, 6.10)	2.869	<0.01
中性粒细胞($\times 10^9/L$)	1.80~6.30	3.19(2.47, 4.40)	2.73(1.86, 4.36)	2.204	<0.05
血小板($\times 10^9/L$)	125.00~350.00	232.00(170.50, 280.00)	192.00(151.50, 255.50)	2.523	<0.05
血红蛋白(g/L)	115.00~150.00	123.00(114.00, 131.50)	127.00(117.50, 136.00)	-1.990	<0.05
CD8 ⁺ T 细胞(%)	14.23~38.95	23.2(19.48, 28.22)	26.21(20.70, 31.42)	-2.357	<0.05
肌酸激酶(U/L)	38.00~174.00	47.00(31.00, 73.50)	61.00(43.00, 101.00)	-2.615	<0.01
白蛋白(g/L)	35.00~55.00	37.20(33.75, 40.35)	39.20(35.35, 41.70)	-2.483	<0.05
总胆红素($\mu\text{mol/L}$)	5.10~19.00	10.90(8.70, 14.10)	9.15(7.58, 11.28)	3.788	<0.01
细胞因子(pg/mL)					
IL-4	0.10~3.20	2.16(1.76, 2.54)	1.95(1.58, 2.31)	2.862	<0.01
IL-6	0.10~2.90	9.55(4.14, 25.82)	6.93(3.64, 16.46)	2.017	<0.05
TNF- α	0.10~23.00	2.59(2.15, 4.37)	2.21(1.89, 2.54)	3.967	<0.01

注:延迟清除组为病毒清除时间>21 d 的患者,对照组为病毒清除时间<21 d 的患者

发病至入院时间>10 d 者的病毒清除速度更慢(log-rank $P<0.01$);IL-6 浓度>17.49 pg/mL 者的病毒清除速度更慢(log-rank $P<0.05$)。详见表 3 和图 1。

讨 论

对于 COVID-19 患者病毒清除时长, Qi 等^[3]发现入院时最高体温、发病至入院时间和住院时间等均与病毒清除时间相关。Fu 等^[4]认为冠心病、白蛋白水平和抗病毒治疗的初始时间与病毒清除时间延长相关。本研究显示病毒清除时间延长的风险随着发病至入院时间的延长而增加,这与之前的研究相一致。另外,本文女性患者的数量多于男性患者,但两者病毒清除时间的差异却不具有统计学意义,虽然已有研究显示性别与 COVID-19 疾病严重程度相关^[5],然而性别对于病毒清除时间的影响还有待研究。

本研究未发现发热的患者病毒清除时间延长的比例更高。发热通常被视作机体抵御感染的一种机制,研究显示发热的诱发与固有免疫反应相关,例如病原相关分子模式(脂多糖、病毒 RNA 等)与病原体识别受体(toll 样受体)的结合^[6]。虽然绝大多数 COVID-19 患者在病程中都出现了发热,然而仍有少部分患者在整个病程中未出现发热症状,因此发热与新型冠状病毒核酸清除背后的机制有待进

一步明确。

本文发现,延迟清除组在病程中 IL-6 浓度明显高于对照组,提示细胞因子可能与病毒清除相关。既往研究表明,淋巴细胞减少、C 反应蛋白和 IL-6 水平升高与 COVID-19 患者病情严重程度相关,且 IL-6 水平的升高与血清可检测到的新型冠状病毒 RNA 相关^[7-9]。IL-6 是一种由多种细胞产生的多效、促炎、多功能的细胞因子,机体在抵御新型冠状病毒感染时,活化的巨噬细胞产生大量 IL-6。此外,部分病毒感染诱发急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的实验模型显示,IL-6 可能具有保护作用,阻断 IL-6 信号通路会增加死亡率,不同的实验模型显示,IL-6 具有促进或抑制病毒复制的作用^[10]。有关 IL-6 与新型冠状病毒 RNA 清除之间的联系也有待继续研究。

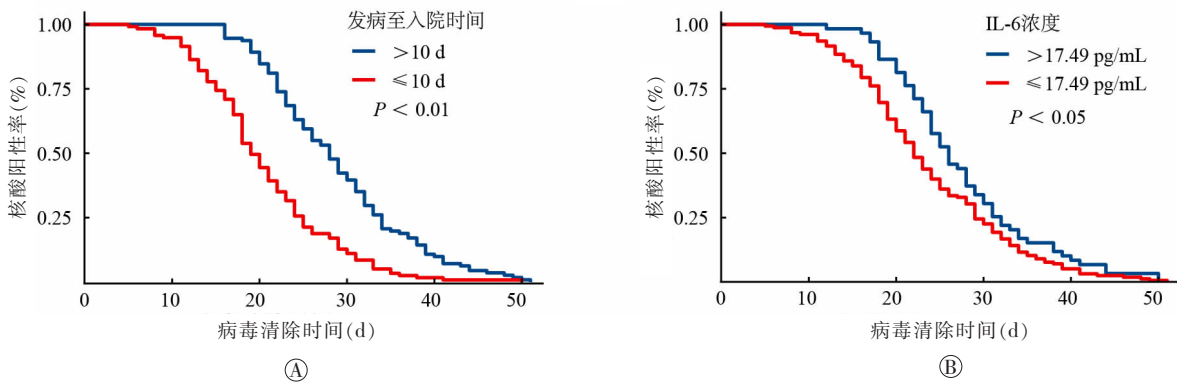
本研究由于新入院人数在 3 月中下旬明显减少,因此纳入样本量较少;其次,纳入的所有患者均是普通型和重型,因此有关无症状感染者、轻型和危重型患者病毒清除时间的研究依然有待进行。总之,IL-6 浓度、发病至入院时间长短等均与 COVID-19 患者的病毒清除时间是否延长相关,通过对病毒清除时间相关因素进行分析,有助于我们理解病毒核酸清除机制,并完善患者的治疗方案。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

表 3 228 例新型冠状病毒肺炎患者病毒清除时间延长的 Logistic 回归分析

变量	β 值	Sx 值	Wald χ^2 值	aOR (95%CI) ^a	P 值
常量	-0.182	0.444	0.167	0.683	>0.05
>60 岁	0.234	0.337	0.482	1.264(0.652~2.449)	>0.05
发热	-0.696	0.428	2.642	0.498(0.216, 1.154)	>0.05
发病至入院时间>10 d	1.884	0.321	34.383	6.581(3.505, 12.354)	<0.01
IL-6 浓度>17.49 pg/mL	1.017	0.392	6.731	2.766(1.282, 5.964)	<0.01

注：^a调整年龄、发热、发病至入院时间和 IL-6 浓度



注：(A)不同发病至入院时间分组病毒清除速度(log-rank $P < 0.01$)；(B)不同 IL-6 浓度分组病毒清除速度(log-rank $P < 0.05$)

图 1 发病至入院时间、IL-6 浓度分组后新型冠状病毒核酸阳性率的 Kaplan-Meier 曲线

参 考 文 献

[1] To KK, Tsang OT, Leung WS, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study[J]. Lancet Infect Dis, 2020, 20(5): 565-574. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1.

[2] Xu K, Chen Y, Yuan J, et al. Factors associated with prolonged viral RNA shedding in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19)[J]. Clin Infect Dis, 2020, 71(15): 799-806. DOI: 10.1093/cid/ciaa351.

[3] Qi L, Yang Y, Jiang D, et al. Factors associated with the duration of viral shedding in adults with COVID-19 outside of Wuhan, China: a retrospective cohort study[J]. Int J Infect Dis, 2020, 96: 531-537. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.05.045.

[4] Fu Y, Han P, Zhu R, et al. Risk factors for viral RNA shedding in COVID-19 patients[J]. Eur Respir J, 2020, 56(1): 2001190. DOI: 10.1183/13993003.01190-2020.

[5] Levis B, Sun Y, He C, et al. Accuracy of the PHQ-2 alone and in combination with the PHQ-9 for screening to detect major depression: systematic review and meta-analysis[J]. JAMA, 2020, 323(22): 2290-2300. DOI: 10.1001/jama.2020.6504.

[6] Evans SS, Repasky EA, Fisher DT. Fever and the thermal regulation of immunity: the immune system feels the heat[J]. Nat Rev Immunol, 2015, 15(6): 335-349. DOI: 10.1038/nri3843.

[7] Chen G, Wu D, Guo W, et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019[J]. J Clin Invest, 2020, 130(5): 2620-2629. DOI: 10.1172/JCI137244.

[8] Pedersen SF, Ho YC. SARS-CoV-2: a storm is raging[J]. J Clin Invest, 2020, 130(5): 2202-2205. DOI: 10.1172/JCI137647.

[9] Chen X, Zhao B, Qu Y, et al. Detectable serum SARS-CoV-2 viral load (RNAemia) is closely correlated with drastically elevated interleukin 6 (IL-6) level in critically ill COVID-19 patients[J]. Clin Infect Dis, 2020, ciaa449. DOI: 10.1093/cid/ciaa449.

[10] Velazquez-Salinas L, Verdugo-Rodriguez A, Rodriguez LL, et al. The role of interleukin 6 during viral infections[J]. Front Microbiol, 2019, 10: 1057. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01057.

(收稿日期: 2020-07-17)