

• 案例分析 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2020. 20. 049

COVID-19 患者治愈出院后反复核酸检测阳性 1 例*

朱小岚¹, 吴 逊^{2△}, 李 泉¹

重庆市长寿区人民医院:1. 医学检验科;2. 门诊部, 重庆 401220

关键词:新型冠状病毒肺炎; 核酸检测; 淋巴细胞亚群
中图分类号:R563. 1 文献标志码:C 文章编号:1672-9455(2020)20-3063-03

部分新型冠状病毒肺炎(COVID-19)患者经住院治愈后的隔离期间,其核酸检测结果为阳性。本例患者为确诊的 COVID-19 患者,按《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[1]出院标准治愈后出院,后又在隔离期核酸检测 2 次呈阳性。本研究对该例患者的淋巴细胞亚群及抗体水平进行分析,发现这可能与患者存在免疫功能缺陷,特别是细胞免疫功能未完全建立有关,现报道如下。

1 临床资料

1.1 入院情况 患者,女,50 岁,因“咳嗽 3 d,伴发热 1 d”于 2020 年 1 月 18 日本院门诊以“流行性感冒?肺炎?”收入院。3 d 前无明显诱因出现咳嗽,咳少许白色黏液痰,稍活动后感喘憋、劳累。2020 年 1 月 15 日患者曾在当地镇医院就诊,具体诊断不详,给予治疗后感憋、劳累及咳嗽症状有所减轻。2020 年 1 月 17 日患者在上诉症状基础上出现发热,最高体温 39.5℃,伴畏寒、咳嗽,咳少许黏液痰,气促。流行病学史:患者近期(约 30 d 前)在武汉暂住 8 d,于 2019 年 12 月 30 日及 12 月 31 日在武汉华南海鲜市场从事捡虾螺工作 2 d。胸部 CT:双肺纹理增粗、模糊并散在斑片状模糊影。2020 年 1 月 19 日患者新型冠状病毒(简称新冠病毒)核酸检测阳性,2020 年 1 月 29 日转入定点医院进一步治疗。

1.2 诊疗过程 2020 年 2 月 10 日及 2 月 12 日复查新冠病毒核酸转阴性,于 2020 年 2 月 12 日出院。患者首次发病潜伏期约 15 d,总病程长约 28 d。随后出院隔离观察 11 d 后,2020 年 2 月 23 日新冠病毒核酸检测阳性,以“发现新冠病毒核酸阳性 1 月,复检阳性 1 d”于 2020 年 2 月 24 日再次入院。入院时体温 37.4℃,自感咽干、稍胸闷,无其他症状。胸部 CT:双肺感染明显吸收,现双肺仍散在浅淡斑片状模糊影。临床使用胸腺五肽加中药抗病毒治疗。2020 年 3 月 10 日,患者体温正常,已无不适症状,近 3 次行鼻咽拭子检查新冠病毒核酸结果均为阴性后再次出院,此次病程约 17 d。出院隔离 9 d 后,2020 年 3 月 19 日再次因核酸检测阳性入院,临床仍使用胸腺五肽加中药抗病毒治疗,2020 年 3 月 24 日再次进行鼻咽拭

子、肛门、尿液、大便的核酸检测均为阴性,出院后继续定点隔离观察。

1.3 实验室检验结果

1.3.1 患者白细胞计数(WBC)、淋巴细胞绝对值(L#)及淋巴细胞百分比(LE%)动态变化 表 1 可见:WBC 及 L# 在第 1 次治愈出院后变化不大,维持在一个相对正常水平,但 LE% 呈总体上升趋势。

1.3.2 患者 IgM、IgG 抗体检测结果 表 2 可见:患者 IgM、IgG 抗体在 2020 年 2 月 25 日水平最高,随后开始下降且维持在一个较高水平,但 IgG 抗体水平在 2020 年 2 月 28 日后无显改变。

表 1 COVID-19 患者 WBC、L# 及 LE% 在不同时间点的检测结果

日期	WBC(×10 ⁹ /L)	LE%	L#(×10 ⁹ /L)
1 月 18 日	10.05	11.2	1.13
1 月 20 日	7.91	8.6	0.68
1 月 24 日	5.41	13.6	0.73
2 月 25 日	6.08	21.8	1.33
3 月 1 日	5.64	17.1	0.98
3 月 5 日	4.68	22.4	1.05
3 月 8 日	4.25	21.4	0.91
3 月 12 日	4.86	25.8	1.25
3 月 20 日	5.62	19.1	1.07

注:时间为 2020 年。

表 2 COVID-19 患者 IgM、IgG 抗体水平在不同时间点的检测结果(AU/mL)

指标	2 月 25 日	2 月 28 日	3 月 5 日	3 月 8 日	3 月 12 日	3 月 23 日
IgM 抗体	124.37	81.51	70.95	63.20	62.16	65.35
IgG 抗体	289.19	203.53	193.79	206.87	201.87	209.14

注:IgM、IgG 抗体<10 AU/mL 为阴性;IgM、IgG 抗体≥10 AU/mL 为阳性;时间为 2020 年。

1.3.3 患者淋巴细胞亚群检测结果 表 3 可见:患者在 2020 年 1 月 22 日表现出自然杀伤细胞(NK 细胞)及 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞亚群水平降低,2020

* 基金项目:重庆市长寿区科技计划项目(CS2020XG009)。
△ 通信作者,E-mail:877158827@qq.com。

年 2 月 25 日后患者 NK 细胞亚群水平逐渐恢复正常,CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞也逐渐恢复正常。但在

2020 年 3 月 23 日 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞出现减少现象。

表 3 COVID-19 患者淋巴细胞亚群在不同时间点的检测结果

指标	1 月 22 日	2 月 25 日	3 月 5 日	3 月 9 日	3 月 12 日	3 月 23 日
T 淋巴细胞百分比(%)	70.59	74.76	74.07	69.62	69.26	70.41
CD4 ⁺ T 淋巴细胞百分比(%)	43.77	46.74	46.56	40.36	40.70	44.24
CD8 ⁺ T 淋巴细胞百分比(%)	23.12	23.00	24.24	21.63	23.76	21.96
B 淋巴细胞百分比(%)	11.58	8.68	9.00	8.12	8.92	12.40
NK 细胞百分比(%)	1.34	11.60	0.84	14.21	17.14	15.94
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.89	2.03	1.92	1.87	1.71	2.01
淋巴细胞亚群(/μL)	566.00	1 245.00	1 030.00	1 165.00	1 325.00	616.00
T 淋巴细胞亚群(/μL)	400.00	931.00	764.00	811.00	918.00	434.00
CD4 ⁺ T 淋巴细胞亚群(/μL)	251.00	567.00	497.00	475.00	537.00	280.00
CD8 ⁺ T 淋巴细胞亚群(/μL)	133.00	279.00	259.00	255.00	314.00	139.00
B 淋巴细胞亚群(/μL)	65.00	111.00	89.00	94.00	119.00	74.00
NK 细胞亚群(/μL)	7.00	148.00	88.00	164.00	228.00	95.00

注:时间为 2020 年。

2 讨 论

患者首次发病期间,外周血淋巴细胞一直处于较低水平,因新冠病毒可侵袭患者的淋巴结和脾等免疫器官,并不断增殖,从而感染更多的淋巴细胞和单核细胞,导致细胞死亡^[2]。有研究表明,在 COVID-19 急性期 CD3⁺、CD4⁺ T 淋巴细胞表达普遍下降,重型、危重型组尤为明显,说明 T 淋巴细胞的免疫功能受到了抑制^[3]。CD8⁺ T 淋巴细胞分为抑制性 T 淋巴细胞和细胞毒性 T 淋巴细胞,CD8⁺ T 淋巴细胞水平的轻度下降表明患者机体免疫力被激活。以往研究发现,严重急性呼吸综合征(SARS)患者外周血 T 淋巴细胞亚群,CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞亚群水平均明显降低,尤其 CD4⁺ T 淋巴细胞最为明显^[4],反映出机体的免疫功能被明显抑制,这可能是病毒直接作用的结果。B 淋巴细胞可调节 T 淋巴细胞亚群及树突状细胞功能,并激活 T 淋巴细胞。NK 细胞在抗病毒感染免疫的早期具有重要的作用。从表 3 中可以发现,患者早期淋巴细胞亚群水平降低,不能及时参与免疫应答清除体内的病毒,患者病情发展急速,临床症状较典型。

通常病毒感染人体后,免疫系统在 5~7 d 会产生 IgM 抗体,而 IgG 抗体可在 10~15 d 产生^[5]。患者在首次核酸复阳时并无临床症状,胸部 CT 提示原感染灶明显吸收,血常规、肝肾功能正常,此时机体已获得体液免疫,新冠病毒 IgM、IgG 抗体水平较高。发病 1+月(约 42 d)后 IgM 抗体仍处在较高水平,考虑可能是患者处于恢复期。患者 IgG 抗体维持在一定水平,表明没有被再次感染,可能是体内病毒尚未完全清除所致。而同期的淋巴细胞各项指标也基本恢复正常,这可能是由于新冠病毒感染后,患者经过治

疗,其自身免疫功能逐渐恢复,产生大量 NK 细胞杀伤病毒,保护机体各器官不受损伤,所以未表现出临床症状^[3]。

有研究发现,将 COVID-19 恢复期核酸检测阴性者(阴性组)和治愈后隔离期间核酸复阳者(复阳组)外周血异形淋巴细胞进行对比分析,发现阴性组外周血在镜下可见大量花瓣样、蝴蝶样或不规则样异形淋巴细胞,而复阳组几乎不可见此类细胞^[6]。该研究表明,这类细胞可能就是杀伤性 T 淋巴细胞(CTL)。CTL 为细胞免疫效应细胞,具有识别特异性抗原的能力,能特异性识别 MHC1 结合的抗原肽,经抗原致敏后,可特异性杀伤带致敏抗原的靶细胞。并且笔者发现,COVID-19 患者核酸转阴时间与异形淋巴细胞出现的时间和数量有关,可能是由于感染新冠病毒后细胞免疫缺陷或应答障碍,从而导致免疫应答水平降低,此类细胞产生减少,这可能是患者核酸复阳的原因之一。当然,这仅仅是对此病例进行的个案分析,还需要收集更多的临床病例进行验证。

综上所述,新冠病毒感染患者的 T 淋巴细胞参与了对新冠病毒的清除。但是 CTL 不能保持较高水平并持续对病毒进行清除,可能是其核酸复阳的主要原因。动态观察各项检验指标,特别是 T 淋巴细胞亚群变化对该病的治疗、病情评估具有重要的临床意义。

参考文献

[1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)的通知(国卫办医函[2020]184 号)[EB/OL]. (2020-03-03)[2020-03-10]. http://www.nhc.gov.cn/zyygi/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef_80dc7f5912eb1989.shtml.

- [2] 侯可可,张娜,李桃,等. 新型冠状病毒肺炎不同时期 CT 表现及中性粒细胞/淋巴细胞比值、T 淋巴细胞亚群变化[J]. 放射学实践,2020,35(3):272-276.
- [3] 李泉,聂珂,乔正荣,等. 淋巴细胞亚群在新型冠状病毒肺炎患者外周血中的表达及临床意义[J/OL]. 国际检验医学杂志,2020(2020-03-05)[2020-03-22]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1176.R.20200305.1440.002.html>.
- [4] 李建国,陈瑞,魏菁. SARS 患者急性期外周血 CD3⁺、CD4⁺ 及 CD8⁺ 细胞数量的变化[J]. 免疫学杂志,2004,20(5):382-384.
- [5] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J]. Nature,2020,579(7798):270-273.
- [6] 李泉,张浩,邓斯予,等. COVID-19 恢复期病毒核酸检测复阳与阴性患者淋巴细胞亚群及形态学特征比较研究[J/OL]. 重庆医学,2020(2020-04-03)[2020-04-05]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.R.20200402.1901.010.html>.

(收稿日期:2020-04-06 修回日期:2020-04-07)

• 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.20.050

1 例利福平 rpoB 基因多个位点缺失引起的耐药分析*

王明栋¹,秦 万^{1△},夏凤琼²,欧维正¹,张 娟¹,徐 勇¹,杨儒斌¹

1. 贵州省贵阳市公共卫生救治中心检验科,贵州贵阳 550003;2. 贵州省骨科医院检验科,贵州贵阳 550004

关键词: rpoB 基因; 位点缺失; 耐药; 利福平
中图法分类号: R521 **文献标志码:** C

文章编号: 1672-9455(2020)20-3065-03

耐药结核病的流行使当前结核病的控制工作面临着严峻的挑战。研究发现,结核病初治耐药的形成一方面与结核分枝杆菌的基因变异有关,另一方面是健康人被复治的耐药患者携带的结核分枝杆菌感染所致,而复治耐药结核病患者的出现则与用药史有很大关系^[1]。利福平通过与由 rpoB 基因编码的 RNA 聚合酶亚基特异性结合,阻断结核分枝杆菌 RNA 的合成,导致结核分枝杆菌的死亡^[2],从而达到治疗目的。rpoB 基因在结核分枝杆菌基因组中只有 1 个拷贝,它含有 3 534 bp 的开放读码框,当 507~533 位 27 个氨基酸密码子的 81 个碱基的 RRDR 区发生突变(包括点突变或短的插入、缺失突变等)时,使 DNA 依赖的 RNA 聚合酶活性下降,利福平与 RNA 聚合酶亚单位结合力减弱,从而发生细菌对利福平的耐药^[3]。有关研究报道,95% 或更高比例的利福平耐药株的 rpoB 基因突变位于此区域^[4]。贵阳市公共卫生救治中心于 2019 年 1 月 26 日收治 1 例肺结核复治病例,痰液核酸检测结果为结核分枝杆菌阳性,然后进行耐药基因芯片扫描检测 rpoB 基因,显示为 511 位点信号值极低、513 位点和 516 位点无信号值,高度怀疑为缺失,异烟肼结果敏感。为进一步明确 rpoB 基因是否存在多个位点缺失,本研究进行第一代基因测序,现就患者出现的 rpoB 基因多位点缺失及治疗欠佳的原因进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者,男,19 岁,厨师,身高 172 cm,

体质量 49 kg,近 1 年来体质量明显减轻。主诉:间断咳嗽 1 年,再发 7 个月,加重 1 个月。患者出生并生活于原籍,近期末到过其他疫区。既往有吸烟史 3 年,每天至少 40 支,现已戒烟近 1 年;既往有饮酒史 3 年,以啤酒为主,每周 3~4 次,每次 4~6 瓶,已戒酒近 1 年。1 年前患者无明显诱因出现咳嗽,呈阵发性,咳少许黄白色黏液痰,偶有间断痰血,痰多血少、色鲜红,伴乏力、食欲缺乏、盗汗、活动后气促气喘,平路步行 100 m 感气促气喘。初期以“感冒”治疗,无效后于当地医院诊断为肺结核,予瓶装异烟肼、利福平、吡嗪酰胺及乙胺丁醇(HRZE)抗结核治疗 1 个月后症状明显好转,便自行停药。7 个月前患者无明显诱因再次出现以上症状且有加重情况,故又到当地医院就诊,完善相关检查后诊断为肺结核复治,仍以上述抗结核药物治疗,但咳嗽、咳痰症状易反复,呈逐渐加重趋势,咳嗽剧烈及深呼吸时感双侧胸痛,呈阵发性钝痛,以右侧为主。患者再一次就诊于当地医院,怀疑为耐药肺结核,后转入贵阳市公共卫生救治中心治疗。利福平耐药实时荧光定量核酸扩增技术(Gene Xpert MTB/RIF)检出痰液中有结核分枝杆菌并对利福平耐药,故以耐药肺结核收治于结核科。实验室检查:血生化腺苷脱氨酶(ADA)为 28.7 U/L;结核抗体 IgG 阳性;红细胞沉降率 28 mm/h。B 超:右侧胸腔少量包裹性积液。胸部 CT:右侧胸廓塌陷,右侧胸壁见宽基底弧形影,内见液平面形成,边缘清,局部见胸膜反应;右上叶支气管壁增宽、增厚呈“双轨征”。病

* 基金项目:贵州省贵阳市科技计划项目(筑科合同[2018]1-41 号)。

△ 通信作者,E-mail:qinwanhwm@163.com。