

冠状病毒眼部感染及检测

杨琴^{1,2}, 兰长骏^{1,2}, 廖莹^{1,2}

引用:杨琴,兰长骏,廖莹. 冠状病毒眼部感染及检测. 国际眼科杂志 2020;20(5):917-920

作者单位:¹(637000)中国四川省南充市,川北医学院附属医院眼科;²(637100)中国四川省南充市,川北医学院眼视光学系

作者简介:杨琴,在读硕士研究生,研究方向:视光基础与临床研究。

通讯作者:廖莹,教授,眼科副主任,研究方向:视光基础与临床研究. aleexand@163.com

收稿日期:2020-03-06 修回日期:2020-04-01

摘要

自严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)和中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)感染爆发以来,冠状病毒病原体研究和宿主生物鉴定一直是医学界的重要任务。2019年出现的新型冠状病毒(SARS-CoV-2)传染性和致病能力更强,迅速引起了全球的关注。目前已有临床报道冠状病毒感染患者可出现以结膜炎为主的眼部感染症状,并提出将眼部核酸检测等作为病毒早期鉴定的辅助手段。本文综述冠状病毒的眼部感染及其检测相关进展,以期对冠状病毒的进一步研究和防护提供参考。

关键词:冠状病毒;SARS-CoV-2;COVID-19;泪液;结膜;检测

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.5.41

Ocular infection and detection of coronavirus

Qin Yang^{1,2}, Chang-Jun Lan^{1,2}, Xuan Liao^{1,2}

¹Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan Province, China;

²Department of Ophthalmology & Optometry, North Sichuan Medical College, Nanchong 637100, Sichuan Province, China

Correspondence to: Xuan Liao. Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan Province, China; Department of Ophthalmology & Optometry, North Sichuan Medical College, Nanchong 637100, Sichuan Province, China. aleexand@163.com

Received:2020-03-06 Accepted:2020-04-01

Abstract

• Since the outbreak of severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) and Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV), the study of coronavirus pathogens and the identification of host organisms has been an important task in the medical domain. New coronavirus SARS-CoV-2 appeared in 2019

was more contagious and pathogenic, which quickly attracted a global attention. So far, there have been clinical reports that patients with coronavirus infection can develop ocular symptoms mainly conjunctivitis, and ocular nucleic acid detection has been proposed as an assistant method for early coronavirus identification. This paper reviewed the ocular manifestations and detection of coronavirus to provide references for further research.

• **KEYWORDS:** coronavirus; SARS-CoV-2; COVID-19; tear; conjunctiva; detection

Citation: Yang Q, Lan CJ, Liao X. Ocular infection and detection of coronavirus. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2020;20(5):917-920

0 引言

冠状病毒(coronavirus, CoVs)隶属冠状病毒科,包括 α 冠状病毒、 β 冠状病毒、 γ 冠状病毒和 δ 冠状病毒4种,是一种阳性的单链RNA病毒,编码非结构蛋白和结构蛋白,包括棘突蛋白(spike, S)、包膜蛋白(E)、膜蛋白(M)和核衣壳蛋白(N),突变率高于大部分DNA病毒。冠状病毒能够引起人类和其他哺乳动物、鱼类以及鸟类等多种宿主产生严重呼吸道、肠道和全身感染。人类冠状病毒(human coronavirus, HCoV)是一类可以跨物种屏障进行感染的病毒,在2019年出现的新型冠状病毒(SARS-CoV-2)之前,已被鉴定的人类冠状病毒有6种,包括HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-NL63、HCoV-HKU1、严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)和中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)^[1]。其具有基因组核苷酸替换率和重组率高的特征,每个位点每年约产生 10^{-4} 个核苷酸替换,每个复制周期都会出现突变,被认为是变异最快的病毒之一^[2]。SARS-CoV-2的基因组特征与MERS-CoV或SARS-CoV明显不同,有关SARS-CoV-2基因组对比分析的结果表明,基因组内的变异性相对较低,但病毒群中仍有变异性较高的核苷酸位点,这对病毒检测结果产生一定影响^[3]。

由病毒等诱发的呼吸道感染是世界范围内人类最常见的疾病之一。近20a来,先后出现SARS-CoV、MERS-CoV以及新近出现的SARS-CoV-2在全球爆发流行,可导致的死亡率高达10%~35%^[2,4]。SARS-CoV-2的感染率和致死率已严重威胁人类健康,世界卫生组织已将SARS-CoV-2感染引起的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)疫情视为国际关注的公共卫生紧急事件^[5]。自疫情爆发以来,临床上相继报道了部分伴有眼部表现的COVID-19病例,SARS-CoV-2能否引发眼部感染及通过眼部传播等问题愈发受到关注。本文基于眼科相关的文献报道,对冠状病毒的眼部感染及其相关检测方面的进展进行综述,以期对冠状病毒的进一步研究和防护提供参考。

1 人类冠状病毒及其感染表现

人类冠状病毒属于呼吸道病毒,是导致呼吸道综合征的病毒之一,可以引发上呼吸道感染或包括肺炎、毛细支气管炎在内的下呼吸道感染,以后者表现更严重^[6]。呼吸道病毒通常是通过吸入含有病毒的飞沫、直接或间接接触外部环境表面上被病毒污染的尘螨而传播的,长时间暴露于存在高浓度气溶胶的封闭环境中也存在经气溶胶传播的可能,其他潜在传播途径尚待进一步研究。进入呼吸道的病毒通过体液循环可以到达身体的多个部位^[7]。

1.1 SARS-CoV SARS-CoV 病毒是一种新型 β -冠状病毒,属于 C 亚群,感染人体后能够引起致死性疾病,其特点是加剧体内的炎症反应,使肺部病理性改变更加广泛^[8]。SARS-CoV 的感染机制主要是由 S1 和 S2 亚基组成的糖蛋白介导的,S1 和 S2 亚基在病毒膜上形成三聚体从而发挥作用^[9]。SARS-CoV 感染具有高度传染性,其临床特点是使患者出现呼吸困难、干咳等肺部炎症表现和高热等症状^[10]。

1.2 MERS-CoV MERS-CoV 是 β -冠状病毒 C 亚群的成员,具有高度传染性,是导致高发病率和高死亡率的呼吸道感染病毒^[11]。流行病学相关报道显示,骆驼可能是人类感染 MERS-CoV 的主要来源^[4]。感染者通常表现为呼吸系统症状,典型的临床表现有发热、咳嗽、呼吸急促等,严重的可发展至肺部疾病,疾病的严重程度可以通过气管抽吸物、痰液、血液或血清中检测到的病毒载量高低来判断^[12]。

1.3 SARS-CoV-2 SARS-CoV-2 属于 β -冠状病毒,是近 20a 内继 SARS-CoV 和 MERS-CoV 后出现的第三种致病率较高的人类冠状病毒,自发病以来已经在全球范围内对人类的健康造成影响^[2]。感染 SARS-CoV-2 的患者通常会产发热、咳嗽、乏力等临床症状,少数伴有鼻塞、流泪、咽痛、肌痛和腹泻等症状。严重者可能引发急性呼吸窘迫综合征、急性心脏损伤等并发症,也有继发多器官衰竭的可能^[13]。

1.4 人类冠状病毒眼部感染及表现 暴露在病原体环境中的黏膜(眼结膜、鼻腔黏膜、口腔黏膜等)是病原体侵入机体的主要通道,也是其增殖传播的重要场所。从眼部解剖学来看,眼表组织暴露于体表,从而增加了受到病毒等外界病原体侵袭的机会^[14]。泪道系统在眼表组织和呼吸组织之间充当一个解剖桥梁的角色,将眼表组织与呼吸系统联系起来,而泪液(体液)则成为可能隐藏病毒的载体。通过泪道,眼结膜与鼻腔黏膜相通,载有病原体的泪液借此可以进入鼻腔和口腔,从而引发呼吸系统及全身感染表现。此外,眼组织和呼吸道中分布的部分细胞受体存在与冠状病毒结合的可能,因此也可能引发病毒的感染^[7]。冠状病毒所导致的病理学特征存在一定的相似性。经呼吸道感染人体后,能够造成以弥漫性损伤与细胞炎性渗出为主的病毒性肺炎,并不同程度地累及心脏、肝脏等其他组织^[15];呼吸道病毒具有一定的眼部倾向性,感染人体后能够导致眼部并发症,可能引起流行性角膜结膜炎、急性滤泡性结膜炎或咽结膜热等结膜炎表现^[7]。眼部组织炎性反应和病理变化的程度与机体免疫状态和受病毒损

伤的严重程度有关。最新的恒河猴动物实验结果表明,结膜接种的 SARS-CoV-2 能够通过感染眼结膜引发强烈的结膜上皮细胞炎性反应,结膜接种后 14~21d,恒河猴体内可以检测到 SARS-CoV-2 的特异性 IgG 抗体;实验通过结膜单途径接种病毒,避免了其他途径对 SARS-CoV-2 能够在眼部结膜组织引起感染这一结果的干扰^[16]。临床报道,COVID-19 患者中以结膜充血为首发症状的感染者多表现出结膜充血、畏光流泪、浆液性分泌物增多以及眼干、瘙痒、异物感和视力模糊等眼部表现^[17]。虽然眼部不是主要的受累器官,但眼部感染问题仍需要引起重视。

2 冠状病毒检测原理及眼部检测 传染病的诊断和流行病学调查方法通常采用检测病原体本身或检测人体为了抵抗病原体而产生的抗体的方式。感染初期,病原体抗原含量较低,免疫功能较弱的患者抗体产生量低,因而不易检出^[18]。目前检测病原体的核酸序列被广泛采用。SARS-CoV-2 核酸检测的原理是从基因组中高度保守的核壳蛋白 N 基因、E 基因和开放读码框 1a/b (open reading frame 1ab, ORF1ab) 中选取 2~3 个作为靶标,进行特异性实时荧光逆转录聚合酶链反应(reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR),可以根据情况选择多重检测同步进行或分步进行检测^[19]。RT-PCR 是目前常用的检测呼吸道病毒的技术之一,灵敏性较高,可以定量检测,被认为是 SARS-CoV-2 感染诊断的金标准^[20]。Wu 等^[21]通过 RT-PCR 技术首次鉴定出 SARS-CoV-2 全基因组序列(5'-3')依次为 ORF1ab、S、E、M 和 N。

目前普遍认为 SARS-CoV-2 的潜伏期为 1~14d,少数病例潜伏期稍长^[12]。在人体内,SARS-CoV 病毒载量通常在感染后的第 10d 达到峰值,SARS-CoV-2 病毒载量在症状出现后约 5~6d 达到高峰;动物模型研究显示,MERS-CoV 病毒载量大约在病毒感染 6d 后开始下降^[22-24]。病毒载量的高低会对病毒的阳性检出率及并发症的严重程度造成影响,总体而言,发病早期病毒载量较高。既往研究表明,眼部除了和呼吸道组织具有解剖联系以及细胞受体与病毒相结合的趋向性以外,眼表的结膜、巩膜和角膜均能吸收眼部含有病毒的液体,因此可能具有较高的病毒载量^[7]。Deng 等^[16]在 SARS-CoV-2 的眼部感染途径的研究过程中发现,结膜接种后恒河猴的病毒载量主要分布在鼻泪腺系统和眼部,包括泪腺、视神经、结膜和鼻腔等部位。有研究者认为眼部核酸检测可以作为病毒早期诊断的一种辅助手段^[25],泪液等标本采集简单、方便,是一种可重复性较高的取材方法。

2.1 经泪液的核酸检测 泪液是传播病毒的体液之一^[26]。既往研究报道,SARS-CoV 流行期间进行感染者泪液采集及泪液核酸检测可以作为早期鉴定病毒的方法^[27]。Xia 等^[20]通过 RT-PCR 技术在结膜炎患者的泪液和结膜分泌物中检测到 SARS-CoV-2。Hui 等^[28]报道,除了在 SARS-CoV 感染患者的呼吸道分泌物、尿液、粪便中能检测到 SARS-CoV 以外,部分患者的泪液 RT-PCR 检测结果也呈现阳性,这与 Loon 等^[25]和 Belser 等^[7]研究报告结果一致。Loon 等^[25]首次发现可以从感染者的泪液中检测出 SARS-CoV 的 RNA。Belser 等^[7]通过 RT-PCR 检测在临床采集

的感染患者的泪液样本,也检测出了 SARS-CoV。目前,利用以泪液为样本的 PCR 检测技术已被眼科临床广泛用于多种病毒的眼部感染诊断^[25]。

2.2 经结膜的核酸检测 Chan 等^[26]进行的前瞻性病例研究表明,SARS-CoV 感染患者的结膜细胞中有检出 SARS-CoV 的可能。随后,de Wit 等^[24]在恒河猴模型中发现,在感染早期利用 RT-PCR 技术可在结膜中检测到 MERS-CoV 的 RNA。Zhang 等^[29]最新的一项研究收集了 102 例 COVID-19 临床确诊病例,对其鼻咽拭子和结膜拭子样本中的 SARS-CoV-2 进行 RT-PCR 检测,发现 72 例患者检测结果呈阳性,提示具有结膜炎表现的患者结膜囊分泌物的核酸检测结果可能为 SARS-CoV-2 阳性。Zhou 等^[30]对 67 例确诊或疑似 COVID-19 病例进行了回顾分析,虽然临床尚不能肯定 SARS-CoV-2 可通过结膜途径传播,但实验数据显示 COVID-19 患者的结膜囊中可以检测到 SARS-CoV-2。

除了人类冠状病毒之外,猫冠状病毒 (feline coronavirus, FCoV) 和牛冠状病毒 (bovine coronavirus, BCoV) 等也可以从被感染动物的眼部检出,FCoV 在猫房水中被发现,而 BCoV 主要通过泪液检测^[31-32]。

2.3 眼部受体的检测 病毒感染主要包括受体结合、S 糖蛋白构象变化和内含体组织蛋白酶 L 蛋白水解三个步骤^[28]。冠状病毒表面的 S 蛋白在感染过程中起着至关重要的作用,通过 S 蛋白上的 S1 亚基与人体内的血管紧张素转换酶 2 (angiotensinogen 2, ACE2) 受体结合,介导宿主受体的结合与病毒入侵。ACE2 是一种金属肽酶,在人体的多种器官组织中表达。孙琰等^[33]研究表明,眼角膜和结膜上也有 ACE2 的表达,并且结膜上的表达量相对较高,具有 ACE2 表达的细胞可能是病毒感染的主要靶细胞,通过允许冠状病毒的进入与增殖而导致发病进而传播,因此眼表检测 ACE2 阳性表达可能提示存在冠状病毒感染的风险^[34]。目前关于眼部 ACE2 的研究较少,还有待进一步深入研究。

2.4 其他 综合流行病学史、临床表现和影像学表现等考虑 COVID-19 疑似病例,需要病原学或血清学证据进行确诊。冠状病毒检测样本的采集主要包括咽拭子、鼻拭子、鼻咽抽取物等上呼吸道标本,痰液、呼吸道抽取物、支气管灌洗液等下呼吸道标本以及血液、血清标本等,其中以下呼吸道标本的检测较为准确。需要注意的是,各类标本都应在感染早期采集并且在提取后及时进行检测。尽管泪液等眼部样本具有方便采集的优势,但可能因病毒浓度或载量较低而产生低阳性率或假阴性的结果,对于一些眼部组织核酸检测显示阴性的结果,不排除有假阴性的可能^[25, 29]。目前部分临床研究虽然已经确定眼部样本具有检出冠状病毒的可能,但仍需大量实验研究评估这一途径的可行性。

3 小结

近 20a 来,人类多次遭受冠状病毒带来的人畜共患病的侵袭,由于病毒感染初期症状与普通感冒类似,往往容易忽视。冠状病毒大多传染性较强,易累及肺部及肾脏等器官病变,因而引发广泛关注。目前关于冠状病毒与眼部

的研究报道提示其存在眼部感染的可能性,处于前线工作的医护人员有必要进行严格的眼部防护,避免交叉感染。此次 COVID-19 的流行提示未知的冠状病毒可能会成为威胁人类健康的潜在因素,从长远来看其形势仍然很严峻,病毒在眼部的生物学特性及其致病机制仍需进一步探索和研究。

参考文献

- 1 Seah I, Su X, Lingam G. Revisiting the dangers of the coronavirus in the ophthalmology practice. *Eye (Lond)* 2020[Online ahead of print]
- 2 Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus; implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 2020; 395(10224): 565-574
- 3 Wang C, Liu Z, Chen Z, et al. The establishment of reference sequence for SARS-CoV-2 and variation analysis. *J Med Virol* 2020 [Online ahead of print]
- 4 Malik YS, Sircar S, Bhat S, et al. Emerging novel Coronavirus (2019-nCoV) - Current scenario, evolutionary perspective based on genome analysis and recent developments. *Vet Q* 2020; 40(1): 68-76
- 5 Eurosurveillance editorial team. Note from the editors: World Health Organization declares novel coronavirus (2019-nCoV) sixth public health emergency of international concern. *Euro Surveill* 2020; 25(5)
- 6 Liu GS, Li H, Zhao SC, et al. Viral and bacterial etiology of acute febrile respiratory syndrome among patients in Qinghai, China. *Biomed Environ Sci* 2019; 32(6): 438-445
- 7 Belser JA, Rota PA, Tumpeya TM. Oculotropism of respiratory viruses. *Microbiol Mol Biol Rev* 2013; 77(1): 144-156
- 8 Morales L, Oliveros JC, Fernandez-Delgado R, et al. SARS-CoV-encoded small RNAs contribute to infection-associated lung pathology. *Cell Host Microbe* 2017; 21(3): 344-355
- 9 Gui M, Song W, Zhou H, et al. Cryo-electron microscopy structures of the SARS-CoV spike glycoprotein reveal a prerequisite conformational state for receptor binding. *Cell Res* 2017; 27(1): 119-129
- 10 Srivastava S, Kamthania M, Kumar Pandey R, et al. Design of novel multi-epitope vaccines against severe acute respiratory syndrome validated through multistage molecular interaction and dynamics. *J Biomol Struct Dyn* 2018; 37(16): 4345-4360
- 11 Huang P, Wang H, Cao Z, et al. A rapid and specific assay for the detection of MERS-CoV. *Lancet* 2020; 395(10223): 497-506
- 12 Cockrell AS, Johnson JC, Moore IN, et al. A spike-modified Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infectious clone elicits mild respiratory disease in infected rhesus macaques. *Sci Rep* 2018; 8(1): 10727
- 13 Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395(10223): 497-506
- 14 牛福来, 库娜娜, 孙熠. 从 SARS 冠状病毒探讨新型冠状病毒眼途径传播的可能机制. *国际眼科杂志* 2020; 20(4): 1-7
- 15 Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med* 2020[Online ahead of print]
- 16 Deng W, Bao L, Gao H, et al. Rhesus macaques can be effectively infected with SARS-CoV-2 via ocular conjunctival route. *bioRxiv* 2020
- 17 Chen L, Deng C, Chen X, et al. Ocular manifestations and clinical characteristics of 534 cases of COVID-19 in China: A cross-sectional study. *medRxiv* 2020
- 18 Li Z, Yi Y, Luo X, et al. Development and Clinical Application of A Rapid IgM-IgG Combined Antibody Test for SARS-CoV-2 Infection Diagnosis. *J Med Virol* 2020[Online ahead of print]
- 19 Souza LDC, Blawid R, Silva JMF. Human virome in nasopharynx and tracheal secretion samples. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2019; 114: e190198

- 20 Xia J, Tong J, Liu M, *et al.* Evaluation of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection. *J Med Virol* 2020[Online ahead of print]
- 21 Wu F, Zhao S, Yu B, *et al.* A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 2020; 579(7798): 265-269
- 22 To KK, Tsang OT, Chik-Yan Yip C, *et al.* Consistent detection of 2019 novel coronavirus in saliva. *Clin Infect Dis* 2020[Online ahead of print]
- 23 Pan Y, Zhang D, Yang P, *et al.* Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *T Lancet Infect Dis* 2020[Online ahead of print]
- 24 de Wit E, Rasmussen AL, Falzarano D, *et al.* Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) causes transient lower respiratory tract infection in rhesus macaques. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(41): 16598-16603
- 25 Loon SC, Teoh SCB, Oon LL, *et al.* The severe acute respiratory syndrome coronavirus in tears. *Br J Ophthalmol* 2004; 88(7): 861-863
- 26 Chan WM, Yuen KS, Fan DS, *et al.* Tears and conjunctival scrapings for coronavirus in patients with SARS. *Br J Ophthalmol* 2004; 88(7): 968-969
- 27 Bonn D. SARS virus in tears? *Lancet Infect Dis* 2004; 4(8): 480
- 28 Hui DSC, Zumla A. Severe acute respiratory syndrome: Historical, epidemiologic, and clinical features. *Infect Dis Clin North Am* 2019; 33(4): 869-889
- 29 Zhang X, Chen X, Chen L, *et al.* The infection evidence of SARS-CoV-2 in ocular surface: a single-center cross-sectional study. *medRxiv* 2020
- 30 Zhou Y, Zeng Y, Tong Y, *et al.* Ophthalmologic evidence against the interpersonal transmission of 2019 novel coronavirus through conjunctiva. *medRxiv* 2020
- 31 Decaro N, Elia G, Campolo M, *et al.* Detection of bovine coronavirus using a TaqMan-based real-time RT-PCR assay. *J Virol Methods* 2008; 151(2): 167-171
- 32 Felten S, Hartmann K. Diagnosis of feline infectious peritonitis: A review of the current literature. *Viruses* 2019; 11(11): 1068
- 33 孙琰, 柳林, 潘欣, 等. SARS-CoV S240 蛋白与眼部 ACE2 受体作用机制的研究. *国际眼科杂志* 2006; 6(4): 783-786
- 34 Zou X, Chen K, Zou J, *et al.* Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med* 2020[Epub ahead of print]