

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2020.03.005

全血 SARS-CoV-2 特异性抗体检测对 2019-冠状病毒病的临床应用价值分析

罗效梅¹, 王静¹, 张娅¹, 薛成军¹, 杨坤¹,
向利祥¹, 李海军¹, 韩梅², 李梅², 邓仁麇²,
罗福龙², 胡昌华⁴, 陈耀凯^{2,3,4}

1. 重庆市公共卫生医疗救治中心 医学检验科, 重庆 400036; 2. 重庆市公共卫生医疗救治中心 中心实验室, 重庆 400036;
3. 重庆市公共卫生医疗救治中心 感染科, 重庆 400036; 4. 西南大学 医学研究院, 重庆 400715

摘要: 为评价 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体检测在 2019-冠状病毒病(corona virus disease 2019, COVID-19)中的临床应用价值。本试验采用回顾性研究方法, 选择重庆市公共卫生医疗救治中心 2020 年 2 月 4—24 日门诊和住院患者作为研究对象, 其中 COVID-19 患者 101 例, 排除 COVID-19 的其他肺部疾病及发热患者 54 例作为对照组, 以 RT-PCR 检测结果作为金标准, 采用胶体金免疫层析法(gold immunochromatography assay, GICA)检测所有研究对象的 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体, 使用诊断特异性、敏感度、诊断准确度等指标对诊断价值进行评价, 并分析抗体与疾病病程以及疾病分型的关系, 采用 χ^2 检验对检测结果进行统计学分析。结果表明, SARS-CoV-2 特异性 IgM/IgG 临床诊断敏感度、特异度和诊断准确度分别为 92.1%, 90.7% 和 91.6%, 与 RT-PCR 方法相比, 经过 χ^2 检验, 二者差异无统计学意义($p > 0.05$)。SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体阳性率与病程的关系经过 χ^2 检验, 不同发病天数各组间差异有统计学意义($p > 0.05$)。不同疾病分型的 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体阳性率经过 χ^2 检验, 差异无统计学意义($p > 0.05$)。总之, SARS-CoV-2 特异性 IgG/gM 抗体的检测可用于 COVID-19 感染的诊断, 但在疾病早期可能存在漏检的风险。

关键词: 新型冠状病毒; 免疫球蛋白 M; 免疫球蛋白 G; 冠状病毒病; 血清学试验

中图分类号: R373.1⁺9; R563.1

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2020)03-0030-05

目前正在暴发流行的新型冠状病毒肺炎(novel coronavirus pneumonia, NCP)又称为 2019-冠状病毒病(corona virus disease 2019, COVID-19), 其病原体是严重急性呼吸综合征冠状病毒 2(SARS-CoV-2), 系单股正链 RNA 病毒, 传染性强, 人群普遍对其缺乏免疫力^[1]。目前, COVID-19 尚缺乏特效疗法, 对该疾病的预后与疫情防控, 做到早发现、早诊断、早隔离、早治疗具有十分重要的意义。目前, 主要使用 SARS-CoV-2 核酸检测作为 COVID-19 的病原学确诊方法^[1], 但由于样本采集与存放、检测灵敏度、病毒感染部位、RNA 提取方法和核酸检测试剂盒质量问题等多方面因素, 易出现假阴性结果, 不易完全做到早期临床

收稿日期: 2020-03-04

基金项目: 重庆市新型冠状病毒感染肺炎疫情应急科技攻关专项(cstc2020jsex-fyzx0074)。

作者简介: 罗效梅(1972—), 女, 硕士, 副主任医师, 主要从事临床检验技术应用研究。

共同第一作者: 王静(1975—), 女, 硕士, 副主任技师, 主要从事传染病临床检验技术应用研究。

通信作者: 陈耀凯, 主任医师, 博士研究生导师。

诊断^[2-4]. 血清学实验是临床病原学的主要诊断方法之一,其主要原理是利用病原体特异性抗原或特异性抗体对病毒特异性抗体和抗原进行检测. 目前, COVID-19 血清学试剂刚刚面世,如何有效地应用血清学检测方法,急需要进行评价和验证. 本研究主要通过胶体金免疫层析法检测确诊 COVID-19 患者、非 COVID-19 呼吸疾病组和发热患者的 SARS-CoV-2 特异性 IgG/IgM 抗体,并分析抗体与疾病病程和疾病分型的关系,来评估 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体检测在对 COVID-19 的临床应用价值.

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

选择重庆市公共卫生医疗救治中心 2020 年 2 月 4—24 日收治的 COVID-19 患者 101 例作为研究对象,诊断标准为《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》第 6 版. 研究对象与对照具体情况见表 1,对照组均经过新冠核酸检测确诊为阴性,病例组与对照组患者的年龄和性别比较,差异无统计学意义($p>0.05$),具有可比性. 本实验经重庆市公共卫生医疗救治中心医学伦理委员会批准(批准号:2020-019-01-KY).

表 1 研究对象与对照基本情况

类型	病例数/例	男性/例	年龄/岁	类型 1	类型 2	类型 3	类型 4
新冠	101	44(43.6%)	47.6±15.6	轻型 3 例	普通型 94 例	重型 2 例	危重型 2 例
非新冠	54	29(53.7%)	51.5±21.1	社区获得性肺炎 19 例	上呼吸道感染 29 例	肺癌 2 例	慢阻肺 4 例

1.2 研究方法

SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体检测试剂由江苏美克医学技术有限公司提供. 实验所需血液标本的采集保存处理和检测程序以及结果判定按照试剂说明书进行:取全血样本 15 μ L 加入检测孔,滴入样本稀释液 3 滴,室温下孵育 15 min,进行结果判定. 出现质控线证明结果有效,出现检测线判定为阳性.

1.3 统计学分析

使用诊断特异性、敏感度和准确度等指标对诊断价值进行评价^[5]. 采用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据分析,组间比较采用 χ^2 检验,以 $p<0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体检测结果

101 名 COVID-19 患者中, IgM 单独阳性 91 例(90.1%), IgG 单独阳性 63 例(62.4%), IgM 和 IgG 抗体联合测定(IgM 和 IgG 抗体任一阳性即确定为阳性)阳性 93 例,阳性率 92.1%. 54 名非 COVID-19 患者中, 4 名患者出现 IgM 阳性, 1 名出现 IgG 阳性.

2.2 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体对 COVID-19 的诊断效能

以 RT-PCR 结果为金标准,计算 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体对 COVID-19 的诊断效能. 实验结果显示,敏感度 92.1%,特异度 90.7%,诊断准确度 91.6%,阳性似然比 9.90,阴性似然比 0.087,尤登指数 0.83. 与 RT-PCR 方法相比较, SARS-CoV-2 特异性 IgM/IgG 抗体二者联合诊断 COVID-2019,经 χ^2 检验, $p=0.581$, p 大于 0.05,说明 2 种指标诊断 2019-nCoV 感染的差异无统计学意义.

2.3 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体阳性率与病程的关系

SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体阳性率与病程的关系见表 2,其中 8 例因属于无症状感染者,经过主动筛查发现,无法确定发病时间,未统计在内. 经过卡方检验,不同发病天数各组间差别有统计学意义. 从表中可以看出,发病天数少于或等于 28 d, IgM 与 IgG 的阳性率差异有统计学意义($p<0.05$). 本研究显示,最早在发病 4 d 时可检测出 IgM 阳性. 在发病后 8 d,抗体 IgM 阳性率达到 100%. 随着病程的进展,发病 28 d 后, IgM 开始消失, IgG 抗体阳性率开始提高.

表 2 IgM 和 IgG 抗体阳性率与病程的关系

发病天数/d	病例数/例	IgM+/例	IgG+/例	χ^2	p
≤ 7	15	8(53.3%)	2(13.3%)	5.40	0.020
8~14	29	29(100%)	14(48.3%)	20.23	<0.001
15~28	43	43(100%)	38(88.4%)	5.31	0.020
≥ 28	6	4(66.7%)	6(100%)	2.40	0.121

2.4 不同临床类型 COVID-19 患者 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体阳性率

不同临床类型 COVID-19 患者 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体阳性率见表 3, 从表 3 中可以看出, 不同疾病分型, IgM 和 IgG 抗体阳性率差别无统计学意义。

表 3 IgM 和 IgG 抗体阳性率与新冠肺炎临床分型的关系

疾病分型	病例数/例	IgM/IgG+	Fisher 值	p
轻型	3	3(100%)	1.121	>0.05
普通型	94	86(91.5%)		
重型/危重型	4	4(100%)		

3 讨论与结论

病原特异性抗体检测是协助临床诊断的重要手段之一, 《中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南(2016 年版)》明确推荐血清特异性抗体检测作为病毒学检测方法之一^[6]。国家卫生健康委发布的《新型冠状病毒肺炎防控方案(第 5 版)》附件 4《新型冠状病毒肺炎实验室检测技术指南》^[7]指出, 抗体检测可作为新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的辅助诊断方法。在《军队支援湖北医疗队新型冠状病毒疾病诊疗方案(试行第 1 版)》中, 已经将新冠病毒的抗体检测纳入诊断标准^[8]; 在 2020 年 3 月 3 日最新公布的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第 7 版)》中也明确提出了血清学用于疑似病例的排除和确诊病例的诊断^[9]。本研究结果证实, 全血 SARS-CoV-2 特异性 IgM/IgG 临床诊断敏感度、特异度和诊断准确度分别为 92.1%、90.7%和 91.6%, 与 RT-PCR 方法相比, 诊断 COVID-19 的差异无统计学意义, 与临床确诊的结果具有非常好的一致性。

本研究显示, SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体阳性率与发病天数相关, 而与疾病的分型无关, 与体液免疫的规律相符。本研究结果与徐万洲等^[10]的研究结果在联合诊断效率上一致, 但在特异性抗体的分布上存在差异。本研究结果中 IgM 抗体的阳性率高于 IgG 抗体, 而徐万洲等的研究中结果相反。分析其原因在于患者的群体存在差异, 徐万洲等的研究中患者处于中期或者恢复期, 而本研究标本采集时间离发病时间 4~37 d, 中位数在 14 d 左右, 本研究的群体处于发病早期和中期的人数较多, 而 IgM 存在于患者发病的早期和中期。因此, 结合本研究结果与徐万洲等研究结果可以说明 IgM 和 IgG 联合检测对新型冠状病毒病的诊断、疗效及预后均具有价值, IgM 阳性提示疾病的存在; IgM 浓度的下降乃至消失, IgG 浓度的升高, 则预示患者逐渐痊愈, 并产生了对 SARS-CoV-2 的免疫力。

本研究使用的是全血与胶体金免疫层析法, 而徐万洲等^[10]研究使用的是化学发光法检测血清, 二者各有千秋。胶体金方法操作简便快速, 无需特殊设备, 室温下即可进行, 可以使用末梢血, 15 min 内判定结果, 对人员环境仪器的要求低, 可以有效辅助确认或排查疑似人群及密切接触人群中的 COVID-19 感染者, 对患者的管理及疫情防控尤为重要。

在本研究中, 有 2 例患者经过多次核酸检测才得以确诊, 1 例在入院当天的标本经过检测出现了 IgM 阳性, 在徐万洲等的研究中有 19 例核酸检测阴性, 但基于临床症状确诊的 COVID-19 患者中, 有 16 例

患者 2019-nCoV IgM 阳性, 说明抗体的检测可以在一定程度上弥补核酸检测漏检的风险. 抗原抗体血清学检测使用外周血、血清或血浆标本, 其采集和保存简单易行, 抗体在血液标本中的稳定性高, 且抗体的检测对于病原体存在机体的组织器官没有选择性, 避免了因取样而导致的假阴性结果.

COVID-19 为新发疾病, SARS-CoV-2 感染后 IgM 和 IgG 抗体产生的规律还没有任何报道. 根据以往经验, 抗体检查通常适用于筛查, 例如 HIV、丙肝等的筛查策略^[10-12]. COVID-19 潜伏期为 1~14 d, 多为 3~7 d, 但是本研究显示, 最早在发病 4 d 时可检测出现 IgM 阳性. 在发病后 8 d, 抗体 IgM 阳性率达到 100%, 其原因在于血清学抗体检测存在窗口期, 个体免疫应答差异等影响因素, 因此 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体对早期 COVID-19 的检测仍然存在假阴性的可能, 同时由于交叉反应, 也可能产生假阳性, 单独使用 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体在早期诊断与筛查上存在较大的漏诊和一定的误诊风险.

综上所述, SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体的重要意义在于可以与核酸检查联合检查, 提高 COVID-19 诊断的敏感度. 目前, 有必要通过进一步研究确定血清学实验的窗口期, 以及进行前瞻性研究, 确定 COVID-19 的诊断和筛查策略, 以达到更好更快地确定感染者的目的.

声明: 所有作者均不存在利益冲突.

参考文献:

- [1] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版) [EB/OL]. (2020-02-19) [2020-02-20]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [2] 王成彬. 核酸检测用于确诊新型冠状病毒肺炎阳性率低的原因分析 [J/OL]. 中华医学杂志, (2020-02-20) [2020-02-20]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1182332.htm>. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112137-20200213-00280.
- [3] 里进, 叶光明, 陈良君, 等. 新型冠状病毒(2019-nCoV)核酸检测假阴性结果原因分析及对策 [J/OL]. 中华检验医学杂志, (2020-02-14) [2020-02-16]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1181137.htm>. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1009-9158. 2010. 0006.
- [4] 莫茜, 秦炜, 傅启华, 等. 正确认识新冠病毒核酸检测的影响因素 [J/OL]. 中华检验医学杂志, (2020-02-08) [2020-02-16]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1180120.htm>.
- [5] 廖晓阳, 金成勇. 如何在诊断性试验研究中正确应用有关测量指标 [J]. 华西医学, 2000, 15(2): 146-147.
- [6] 中华医学会呼吸病学分会. 中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南(2016年版) [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(4): 253-279.
- [7] 国家卫生健康委员会. 国家卫生健康委办公厅关于印发新型冠状病毒肺炎防控方案第 5 版的通知(国卫办疾控函〔2020〕156号) [EB/OL]. (2020-02-21) [2020-02-21]. <http://www.nhc.gov.cn/jkj/s3577/202002/a5d6f7b8c48c451c87dba14889b30147.shtml>.
- [8] 军队前方专家组. 军队支援湖北医疗队新型冠状病毒感染疾病诊疗方案(试行第 1 版) [J/OL]. 中华结核和呼吸杂志, (2020-02-25) [2020-02-27]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1182686.htm>. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112147-20200224-00172.
- [9] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第 7 版) [EB/OL]. (2020-3-4) [2020-3-5]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [10] 徐万洲, 李娟, 何晓云, 等. 血清 2019 新型冠状病毒 IgM 和 IgG 抗体联合检测在新型冠状病毒感染中的诊断价值 [J/OL]. 中华检验医学杂志, (2020-02-27) [2020-02-27]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1182736.htm>. DOI: 10. 3760/cma. j. cn114452-20200223-00109.
- [11] 国家卫生健康委员会. 艾滋病和艾滋病病毒感染诊断 [EB/OL]. (2019-01-02) [2019-01-05]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/s9491/201905/6430aa653728439c901a7340796e4723.shtml>.
- [12] 国家卫生健康委员会. 丙型肝炎诊断 [EB/OL]. (2018-03-06) [2018-3-10]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/s9491/201803/29997c16d2f24e639ab6c6f55105a9d0.shtml>.

Detection of Specific SARS-CoV-2 IgM and IgG Antibodies in COVID-19 and Its Clinical Application

LUO Xiao-mei¹, WANG Jing¹, ZHANG Ya¹,
XUE Cheng-jun¹, YANG Kun¹, XIANG Li-xiang¹,
LI Hai-jun¹, HAN Mei², LI Mei², DENG Ren-ni²,
LUO Fu-long², HU Chang-hua⁴, CHEN Yao-kai^{2,3,4}

1. Medical Laboratory Science (MLS) Department, Chongqing Public Health Medical Center, Chongqing 400036, China;

2. Laboratory Centre, Chongqing Public Health Medical Center, Chongqing 400036, China;

3. Infectious Disease Department, Chongqing Public Health Medical Center, Chongqing 400036, China;

4. Medical Institute, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: To investigate the diagnostic value of immunoglobulin M (IgM) and immunoglobulin G (IgG) antibodies to SARS-CoV-2 in the coronavirus disease 2019 (COVID-19), a retrospective study was made, in which blood samples were collected from patients of Chongqing Public Health Medical Center from February 4, 2020 to February 24, 2020, of whom 101 were cases of COVID-19, and 54 were non-COVID-19 patients with lung diseases or fever, who were used as the control. GICA (gold immunochromatography assay) was made to detect the specific IgM and IgG antibodies, with the results of RT-PCR detection as the gold standard. The sensitivity, specificity and diagnostic accuracy were calculated in different subpopulations and were used to evaluate the diagnostic value. The relationship between disease progress and disease classification was analyzed and χ^2 test was made for statistical analysis. The sensitivity, specificity and diagnostic accuracy of IgM and IgG antibodies of SARS-CoV-2 were found to be 92.1%, 90.7% and 91.6%, respectively. Analysis of the relationship between the positivity of SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies and the course of the disease showed that there was a significant difference among different disease stages, and there was no statistically significant difference in positivity of SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies among different clinical types of disease. In conclusion, detection of blood SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies is an effective diagnostic tool for the diagnosis of COVID-19. However, there is a risk of false negativity in the early stage of disease.

Key words: novel coronavirus; immunoglobulin M; immunoglobulin G; COVID-19; serologic test

责任编辑 王新娟