· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.21.018

血清新型冠状病毒 IgM 抗体检测结果分析及临床价值探讨

谷 斌¹, 黄慧琴¹, 鲁 爽², 黄文学², 肖三平²

湖南省郴州市第二人民医院:1. 肝病中心;2. 检验科, 湖南郴州 423000

摘要:目的 分析新型冠状病毒(SARS-CoV-2) IgM 抗体的检测结果,初步探讨 SARS-CoV-2 IgM 抗体对新型冠状病毒肺炎(COVID-19)感染的临床价值。方法 选取 2020 年 2 月 12—18 日郴州市第二人民医院 175 例门诊和住院患者 SARS-CoV-2 IgM 抗体的检测结果,以 SARS-CoV-2 核酸检测为“金标准”,分析 IgM 抗体检测的阳性率、检测时间、灵敏度和特异度等。结果 175 例患者 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测中阳性患者 30 例,阳性检出率为 17.14%。30 例 SARS-CoV-2 IgM 抗体阳性患者中 15 例为 COVID-19 患者,而 145 例 SARS-CoV-2 IgM 抗体阴性患者中 8 例为 COVID-19 患者。SARS-CoV-2 IgM 抗体阳性者抗体检测时间距离起病时间 5~21 d,检测时间中位数为 12 d。SARS-CoV-2 IgM 抗体检测灵敏度为 65.22%(95%CI=58.16%~72.28%);特异度为 90.13%(95%CI=85.72%~94.54%)。结论 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测结果灵敏度不高,但特异度较高,可用于临床初筛 COVID-19 阴性患者;有必要对 SARS-CoV-2 IgM 抗体产生的规律性和检测的准确性进行深入研究,为 COVID-19 提供更多的临床数据。

关键词:新型冠状病毒; IgM 抗体; 灵敏度; 特异度

中图分类号:R446.61

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)21-3141-04

Analysis of serum SARS-CoV-2 IgM antibody and its clinical value

GU Bin¹, HUANG Huiqin¹, LU Shuang², HUANG Wenxue², XIAO Sanping²

1. Liver Disease Center; 2. Department of Clinical Laboratory, Chenzhou Second People's Hospital, Chenzhou, Hunan 423000, China

Abstract: Objective To analyze severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) IgM antibody test results, and preliminarily explore the clinical value of SARS-CoV-2 IgM antibody in the infection of corona virus disease 2019 (COVID-19). **Methods** The detection results of SARS-CoV-2 IgM antibody of totally 175 outpatients and inpatients in Chenzhou Second People's Hospital from February 12 to 18, 2020 were selected. The positive rate, detection time, sensitivity and specificity of IgM antibody detection were analyzed with the detection of SARS-CoV-2 nucleic acid as the "gold standard". **Results** In 175 cases of SARS-CoV-2 IgM antibody detection, 30 cases were positive, the positive detection rate was 17.14%. Among the 30 SARS-CoV-2 IgM positive patients, 15 were COVID-19 patients, and 8 of 145 SARS-CoV-2 IgM negative patients were COVID-19 patients. In patients with SARS-CoV-2 IgM antibody positive, the detection time was 5—21 days from the onset of the disease, the median detection time was 12 d. The sensitivity of IgM antibody against SARS-CoV-2 was 65.22% (95%CI = 58.16%—72.28%), specificity was 90.13% (95%CI = 85.72%—94.54%). **Conclusion** The sensitivity of SARS-CoV-2 IgM antibody detection results are not high, but the specificity is high, which can be used for clinical screening of COVID-19 negative patients. It is necessary to conduct in-depth study on the regularity of SARS-CoV-2 IgM antibody production and the accuracy of detection, so as to provide more clinical data for COVID-19.

Key words: SARS-CoV-2; IgM antibody; sensitivity; specificity

随着新型冠状病毒肺炎(COVID-19)疫情在全球蔓延,高效、快速、准确的实验室诊断技术是确保患者尽早收治、阻止疫情发展的关键环节。实时荧光定量 PCR(qPCR)检测核酸阳性一直是 COVID-19 临床确诊的最主要指标。随着人们对 qPCR 局限性认识的逐渐提高,确诊标准已经从最初单一的病原学证据转变为病原学结合血清学证据^[1-2]。研究者积极研发新

型冠状病毒(SARS-CoV-2)IgM 检测试剂盒,筛选潜在的病毒阳性感染者,尽快隔离感染人群,为阻断病毒传播发挥了极大的作用^[3-4]。2020 年 2 月 22 日国家卫生健康委员会发布的《新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南(第二版)》^[5]指出,SARS-CoV-2 抗体检测可作为 COVID-19 感染的辅助诊断。本研究采用胶体金免疫层析技术对 SARS-CoV-2 IgM 抗

体进行检测,以探讨 SARS-CoV-2 IgM 抗体对 COVID-19 感染的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2020 年 2 月 12—18 日本院门诊和住院患者共 175 例为研究对象,其中,COVID-19 确诊住院患者 23 例,非 COVID-19 住院患者 70 例,非 COVID-19 发热门诊就诊患者 82 例;男 109 例,女 66 例;年龄 2~85 岁,平均(43.4±15.5)岁。依据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第五版)》^[6],确诊病例具备 SARS-CoV-2 病原学证据。本研究纳入的所有病例均通过 qPCR 方法检测患者咽拭子标本中 SARS-CoV-2 核酸,COVID-19 病例 23 例,非 COVID-19 病例 152 例。本研究通过本院伦理委员会审批,批号:(2020)临伦审第(1)号,并批准予以豁免患者知情同意。

1.2 试剂与仪器 病毒 RNA 提取试剂盒、qPCR 试剂均为湖南圣湘生物科技股份有限公司提供(注册证编号:国械注准 20203400064),荧光定量扩增的基因为 SARS-CoV-2 ORF1ab 基因和 N 基因,采用上海宏石医疗科技公司提供的 SLAN-96P 荧光定量仪进行 qPCR 扩增。SARS-CoV-2 IgM 抗体检测试剂盒由北京热景生物技术股份有限公司提供(生产许可证编号:京食药监械生产许 20070010,生产日期 2020 年 02 月 02 日),包被的抗原为 SARS-CoV-2 真核抗原 S 蛋白,包括 S1 蛋白和 S-RBD 蛋白抗原。

1.3 标本来源 所有研究对象均采集空腹静脉血 5 mL,置于红头真空采血管内,静置待血液凝固,3 000 r/min 离心 5 min,所有患者取 1 份血清标本备用。采集研究对象咽拭子 2 份标本(间隔 1 d 以上),进行 SARS-CoV-2 核酸检测。

1.4 试验方法 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测采用胶体金免疫层析技术,SARS-CoV-2 核酸检测采用 PCR 荧光探针法,所有操作严格按照《新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南(第二版)》^[5]操作标准和试剂盒操作指南进行。依据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》^[1],以 SARS-CoV-2 核酸检测法作为“金标准”,对 IgM 抗体检测的结果进行统计,分析 IgM 抗体检测的阳性率、检测时间、灵敏度和特异度等。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 对数据进行统计分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布的计量资料以中位数表示。阳性率、灵敏度、特异度等为计数资料,以率(%)表示,组间比较采用 *t* 检验,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测结果与 SARS-CoV-2 核酸检测结果 175 例患者 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测阳性者 30 例,阴性者 145 例,阳性检出率为 17.14%。175 例患者中 COVID-19 患者 23 例。30 例 SARS-CoV-2 IgM 抗体阳性患者中,COVID-19 患

者 15 例,非 COVID-19 患者 15 例;145 例 SARS-CoV-2 IgM 抗体阴性患者中,COVID-19 患者 8 例,非 COVID-19 患者 137 例,见表 1。15 例 SARS-CoV-2 IgM 抗体阳性非 COVID-19 患者来自于发热门诊 9 例,慢性乙型肝炎 1 例,艾滋病 2 例,继发性肺结核 1 例,吸毒 1 例,尿毒症 1 例。

表 1 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测与 SARS-CoV-2 核酸检测结果比较(*n*)

IgM 抗体检测	核酸检测		合计
	阳性	阴性	
阳性	15	15	30
阴性	8	137	145
合计	23	152	175

2.2 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测的灵敏度、特异度 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测的灵敏度为 65.22% (95%CI=58.16%~72.28%),特异度为 90.13% (95%CI=85.72%~94.54%)。

2.3 23 例 COVID-19 患者 SARS-CoV-2 核酸检测距离起病时间 剔除 2 例无症状 COVID-19 患者,21 例 COVID-19 患者 SARS-CoV-2 核酸检测距离起病时间为 1~13 d,其中 1~5 d 8 例,>5~10 d 9 例,>10~13 d 4 例,检测时间中位数为 6 d。

2.4 23 例 COVID-19 患者 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测距离起病时间 剔除 2 例无症状 COVID-19 患者,21 例 COVID-19 患者 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测距离起病时间为 3~21 d,其中 3~7 d 5 例,>7~14 d 8 例,>14~21 d 8 例,检测时间中位数为 12 d。13 例 SARS-CoV-2 IgM 抗体阳性者抗体检测距离起病时间为 5~21 d,其中 5~7 d 2 例,>7~14 d 6 例,>14~21 d 5 例,检测时间中位数为 13 d。8 例 SARS-CoV-2 IgM 抗体阴性者抗体检测距离起病时间为 3~19 d,其中 3~7 d 3 例,>7~14 d 2 例,>14~21 d 3 例,检测时间中位数为 10 d。

经 *t* 检验,21 例 COVID-19 患者 SARS-CoV-2 核酸检测与 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测距离起病时间比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。13 例 SARS-CoV-2 IgM 抗体阳性者与 8 例 SARS-CoV-2 IgM 抗体阴性者抗体检测距离起病时间比较,差异无统计学意义($P=0.576$)。

3 讨论

COVID-19 作为急性呼吸道传染病已纳入《中华人民共和国传染病防治法》规定的乙类传染病,按甲类传染病管理,严重威胁到人们的生活、生命健康^[7]。尽管 qPCR 核酸检测在临床诊断中发挥了重要作用,但限于技术和操作复杂等因素,检测时间一般需耗时 5~6 h,导致患者在医院就诊等待时间较长,增加了患者在医院交叉感染的风险,不适用于快速诊断,也不

能完全满足当前排查诊断的检测需要,并且由于大体积反应系统和非特异性扩增,可能会增加假阳性^[8]。另外,受到标本采集(时间、部位、类型)、标本运输和保存、检测试剂等方面的影响,可能造成检测结果假阴性。因此,探索更快、更便捷、更多的检测方法是疫情防控中的重要任务。人体感染 SARS-CoV-2 后,会激活人体免疫系统,产生针对性 IgM 抗体,《新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南(第二版)》^[5]提出采用血清标本进行抗体检测的要求。抗体检测是病毒感染的重要诊断方法,标本来源于外周血、血清或血浆标本,其采集和保存简单易行,可大大降低医护人员因采集咽拭子感染的风险。SARS-CoV-2 感染后,患者核酸转阴后抗体亦可继续存在,抗体检测对于 SARS-CoV-2 疫情的回顾性诊断和流行病学调查亦具有重要意义。因此,在临床上开展抗体检测势在必行。

本研究对胶体金免疫层析技术检测 SARS-CoV-2 IgM 抗体进行临床性能验证。该试剂盒包被的抗原为 SARS-CoV-2 真核抗原 S 蛋白,包括 S1 蛋白和 S-RBD 蛋白抗原。S 蛋白是 SARS-CoV-2 的主要蛋白之一,其编码基因可用于病毒分型,作为诊断抗原。免疫检测是目前常用冠状病毒检测和诊断的方法^[9],免疫层析法为早期诊断冠状病毒感染的方法之一^[10]。本实验应用捕获法检测血液标本中的 SARS-CoV-2 IgM 抗体,通过与胶体金固定的 S 蛋白特异结合,达到检测目的。该方法操作简单、快捷,成本低廉,无需特殊设备,易推广,在当前复工大潮筛查中可以发挥重要作用。

本组资料显示,SARS-CoV-2 IgM 抗体检测灵敏度为 65.22%,提示检出 COVID-19 感染的能力不足,需要结合其他检测手段和临床表现来判断;特异度为 90.13%,提示判断无 COVID-19 感染的能力较好,可用于临床初筛 COVID-19 感染,抗体阴性者患 COVID-19 疾病的可能性不大,结合临床表现和流行病学史可以初步排除 COVID-19,可以作为临床 COVID-19 筛查和诊断的必要补充。据文献报道,流感病毒抗原胶体金检测方法的灵敏度为 55.6%,特异度为 75.9%^[11]。另有文献报道,SRAS-CoV IgM 抗体检测的灵敏度为 52.80%,特异度为 99.40%,诊断符合率为 78.82%^[12]。因此,抗原-抗体检测方法灵敏度低、特异度强的特点较为显著,与本组研究观察一致。抗原-抗体检测灵敏度较低的原因可能与标本采集时间点和抗体产生的生理过程相关。其次,本试验 IgM 抗体检测采用捕获法,灵敏度偏低,当标本中抗体滴度较弱时,可能出现 IgM 试剂未能检出。故有必要对 SARS-CoV-2 IgM 抗体的灵敏度进行深入的研究,增加试剂包被片段,扩大检测位点,提高抗体检测对 COVID-19 的诊断率。

由于该检测体系采用了鼠抗人 IgM 单抗捕获人血中的 IgM 抗体,标志物的靶标为人 IgM,而不仅仅

是 SARS-CoV-2 IgM,存在一定的非特异性反应。主要影响因素有慢性乙型肝炎、慢性丙型肝炎、结核病、自身免疫性肝病、系统性红斑狼疮、类风湿疾病、严重感染或经过抗体药物治疗,以及有啮齿类动物接触史等,在这些患者中可能出现交叉反应,导致假阳性,因此,病史采集时需要特别关注这些信息。抗体检测假阳性可能与试剂盒本身检测差异有关,也可能与 SARS-CoV-2 的感染机制有关,有待进一步研究。

本组资料显示,SARS-CoV-2 IgM 抗体检测距离起病时间为 3~21 d,检测时间中位数为 12 d。剔除 2 例无症状核酸筛查阳性者,13 例 SARS-CoV-2 IgM 抗体阳性者抗体检测距离起病时间为 5~21 d,检测时间中位数为 13 d,其中 >7~14 d 8 例,>14~21 d 8 例。提示 SARS-CoV-2 IgM 抗体在发病 5 d 后可以检出,>7~21 d IgM 抗体检测的阳性率较高,推测 IgM 抗体检测的最优时间点为发病后第 8 天,而核酸检测的最佳时间为 3~5 d^[13],可见核酸检测时间更早。SRAS-CoV 感染发病后第 10~20 天的血液中检测特异性 IgM 抗体阳性率升高,与 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测时间相近。抗体产生可能与病毒感染机体的特殊致病机制、潜伏期等因素有关^[14],提示 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测是对核酸阴性的重要补充,可用于 COVID-19 感染的筛查和辅助诊断,并对病毒感染急性状态进行评估,但还需要进一步对血清特异性抗体消长和持续时间进行研究。

21 例 COVID-19 患者 SARS-CoV-2 核酸检测和 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测距离起病时间比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),与病毒核酸产生早和针对病毒的抗体产生时间不同、持续时间不一致有关,提示不同类型标本采集时间不同可能导致检测结果不一致。

综上所述,抗体血清学检测的标本来源于外周血、血清或血浆,其采集和保存简单易行,特异度较高,判断无 COVID-19 感染的能力较好,可用于临床初筛 COVID-19 感染。因此,SARS-CoV-2 IgM 抗体检测对核酸检测容易漏检的问题是很好的补充,将在 COVID-19 的诊断、治疗监测和病程转归等方面提供更多的临床数据。本研究仅为初步探索,纳入病例数较少,且标本连续性不足,不同类型标本采集时间不同可能导致检测结果不一致,有必要对 SARS-CoV-2 IgM 抗体产生的规律性和检测的准确性进行深入研究,为 COVID-19 提供更多的临床数据。

参考文献

- [1] 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(试行第六版)[EB/OL]. (2020-02-18) [2020-03-05]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.

慢性心力衰竭患者的血清钠水平,改善肾功能和心功能,明显降低神经内分泌因子水平。

参考文献

[1] 刘永政,张双,王楠,等.运动康复治疗对合并肾功能不全的慢性心力衰竭患者心功能及生活质量的影响[J].临床心血管病杂志,2017,33(1):54-57.

[2] 张丽,陈伟.托伐普坦与托拉塞米在慢性心力衰竭急性发作患者中的疗效比较[J].中国循证心血管医学杂志,2017,9(10):1182-1184.

[3] 王茜,杨小东,刘东霞,等.托伐普坦与托拉塞米治疗重症心力衰竭伴稀释性低钠血症的效果比较[J].河北医药,2018,40(23):3582-3585.

[4] 贺仙光.托伐普坦联合托拉塞米治疗老年难治性心力衰竭的疗效观察[J].中国社区医师,2017,33(24):39-41.

[5] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会.慢性心力衰竭诊断治疗指南[J].中华心血管病杂志,2007,35(12):1076-1095.

[6] CHIONCEL O,LAINSCAK M,SEFEROVIC P M,et al. Epidemiology and one-year outcomes in patients with chronic heart failure and preserved, mid-range and reduced ejection fraction:an analysis of the ESC heart failure long-term registry [J]. Eur J Heart Fail, 2017, 19(12):1574-1585.

[7] 萧丽军,洪梅,赵文雪,等.卡维地洛和美托洛尔治疗老年慢性心力衰竭的效果分析[J].检验医学与临床,2017,14(24):3588-3589.

[8] PIESKE B, MAGGIONIA P, LAM C S P, et al. Ver-

iciguat in patients with worsening chronic heart failure and preserved ejection fraction:results of the soluble guanylate cyclase stimulator in heart failure patients with PRESERVED EF (SOCRATES-PRESERVED) study [J]. Eur Heart J, 2017, 38(15):1119-1127.

[9] 王智,张仲道,赵思鸿,等.地高辛与通心络胶囊联合治疗对慢性心力衰竭患者氧化应激,细胞因子及血管内皮功能的影响[J].海南医学院学报,2017,23(1):18-21.

[10] 张辉,周文平,刘刚琼,等.沙库巴曲缬沙坦与依那普利对缺血型心肌梗死患者血流介导的血管扩张功能及颈动脉内中膜厚度的影响[J].临床心血管病杂志,2018,34(5):42-44.

[11] 周红,黄思兵.沙库巴曲缬沙坦治疗慢性心功能不全的临床效果观察[J].中国当代医药,2018,25(19):51-53.

[12] 高鹏,寇广亚,武延海.托伐普坦治疗老年慢性充血性心力衰竭合并低钠血症及利尿剂抵抗的近期疗效[J].中国循证心血管医学杂志,2017,9(2):159-163.

[13] 王立立,耿彦平,杨倩,等.托伐普坦联合呋塞米治疗老年慢性心力衰竭利尿剂抵抗患者的疗效观察[J].中华老年心脑血管病杂志,2018,20(2):158-160.

[14] 王立立,韩爽,张至,等.不同剂量托伐普坦治疗老年慢性心力衰竭伴利尿剂抵抗患者的疗效与安全性观察[J].中华老年心脑血管病杂志,2019,21(4):375-378.

[15] 陈洁,杨冠蕊,苗状状,等.托伐普坦治疗难治性心力衰竭的临床疗效及安全性分析[J].中西医结合心脑血管病杂志,2017,15(23):3039-3041.

(收稿日期:2020-03-10 修回日期:2020-07-12)

(上接第 3143 页)

[2] 国家卫生健康委员会.新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)[EB/OL].(2020-03-03)[2020-03-05].<http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202003/46c9294a7df4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.

[3] 宁雅婷,侯欣,陆旻雅,等.新型冠状病毒血清特异性抗体检测技术应用探讨[J/OL].协和医学杂志:1-4[2020-03-06].<https://kns8.cnki.net/KCMS/detail/11.5882.R.20200305.1652.002.html>.

[4] 黄亚兰,孟君,孙颖,等.新型冠状病毒肺炎患者住院时间和病程的影响因素分析[J/OL].热带医学杂志:1-5[2020-04-03].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1503.r.20200403.1532.002.html>.

[5] 国家卫生健康委员会.新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南(第二版)[EB/OL].(2020-01-22)[2020-03-06].<http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202002/d4b895337e19445f8d>.

[6] 国家卫生健康委员会.关于印发新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)的通知(国卫办医函[2020]103号)[EB/OL].(2020-02-04)[2020-03-06].<http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202002/3b09b894ac9b4204a79db5b8912d4440.shtml>.

[7] VELAVAN T P, MEYER C G. The COVID-19 epidemic

[J]. Trop Med Int Health, 2020, 25(3):278-280.

[8] 吴衍恒,林金思,师舞阳,等.应用芯片式数字 PCR 检测人血清中登革病毒载量[J].公共卫生与预防医学,2019,30(3):16-20.

[9] 钱炳旭.猪德尔塔冠状病毒抗原及抗体检测方法的建立[D].扬州:扬州大学,2019.

[10] 台湾马偕纪念医院.一种用以检测严重急性呼吸道症候群冠状病毒之特异性胜抗原及其方法:TW092132064.20050516[P].2020-02-08.

[11] 李晓光,胥婕,杨雪松,等.应用流感病毒快速检测方法对流感样病例病原学诊断研究[J].北京医学,2009,31(5):280-283.

[12] 李穗芬,谭奕洲,唐漾波,等.ELISA 法检测 SARS 病毒特异性抗体[J].实用医技杂志,2005,11(6):1380-1382.

[13] 闫惠平,檀玉芬,庄辉,等.严重急性呼吸综合征患者冠状病毒总抗体及 N 和 S 蛋白抗体的随访研究[J].中华内科杂志,2006,45(11):896-899.

[14] 貌盼勇,朱雷等,王佑春,等.SARS-CoV 特异性抗体产生规律的初步研究[J].中华流行病学杂志,2004,25(10):856-858.

(收稿日期:2020-04-22 修回日期:2020-06-29)