

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.22.008

新型冠状病毒特异性抗体检测对 COVID-19 的诊断价值^{*}

郑晓丹¹, 胡玉海¹, 田佩孚¹, 姚成芳^{2△}

1. 湖北省武汉市汉口医院检验科, 湖北武汉 430010; 2. 山东省医学科学院基础医学研究所, 山东济南 250062

摘 要:目的 分析新型冠状病毒(SARS-CoV-2)血清特异性抗体免疫球蛋白 M(IgM)和免疫球蛋白 G(IgG)检测对新型冠状病毒肺炎(COVID-19)诊断的临床价值。方法 纳入 2020 年 1 月 26 日至 2020 年 3 月 6 日在武汉市汉口医院隔离治疗的 COVID-19 患者 70 例, 包括 SARS-CoV-2 核酸检测阳性患者 42 例, 以及核酸检测阴性但临床症状和 CT 表现符合《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)》的患者 28 例。采集研究对象的鼻咽拭子, 采用实时荧光定量 PCR(qPCR)检测病毒核酸; 采集研究对象的空腹静脉血, 采用胶体金法检测血清 SARS-CoV-2 IgM 和 SARS-CoV-2 IgG。结果 ≥60 岁的患者重症率高于<60 岁的患者(78.95% vs. 25.00%, $\chi^2=20.370$, $P<0.05$)。核酸检测阳性患者重症率高于核酸检测阴性患者(69.05% vs. 32.14%, $\chi^2=9.220$, $P<0.05$)。SARS-CoV-2 IgG 检测的灵敏度高于 SARS-CoV-2 IgM(91.43% vs. 71.43%, $\chi^2=9.258$, $P<0.05$)。SARS-CoV-2 IgM、IgG 联合检测的灵敏度高于 SARS-CoV-2 IgM(95.71% vs. 71.43%, $\chi^2=15.04$, $P<0.05$)。28 例核酸检测阴性 COVID-19 患者中 SARS-CoV-2 IgM、IgG 联合检测阳性者 26 例。结论 血清 SARS-CoV-2 特异性抗体检测可作为筛查及诊断 COVID-19 的有效方法, 可与 SARS-CoV-2 核酸检测形成优势互补。

关键词:新型冠状病毒; 特异性抗体检测; 胶体金免疫层析技术; 病毒核酸检测

中图分类号: R446.6

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)22-3253-04

The diagnostic value of SARS-CoV-2 specific antibodies detection for COVID-19^{*}

ZHENG Xiaodan¹, HU Yuhai¹, TIAN Peifu¹, YAO Chengfang^{2△}

1. Clinical Laboratory, Wuhan Hankou Hospital, Wuhan, Hubei 430010, China;

2. Institute of Basic Medicine, Shandong Academy of Medical Sciences, Ji'nan, Shandong 250062, China

Abstract: Objective To analyze the diagnostic value of SARS-CoV-2 specific antibodies immunoglobulin M (IgM) and immunoglobulin G (IgG) detection in the diagnosis of COVID-19. **Methods** Seventy COVID-19 patients hospitalized in Wuhan Hankou Hospital for isolation treatment from January 26, 2020 to March 6, 2020 were enrolled in the study, 42 cases confirmed with nucleic acid test and 28 cases diagnosed by clinical symptoms and CT characteristics according to "the New Coronavirus Pneumonia Control Protocol (5th edition)". The nasopharyngeal swabs of all the subjects were collected, and the viral nucleic acid was detected by real-time quantitative fluorescence PCR (qPCR). Fasting venous blood of all the subjects were collected for serum SARS-CoV-2 IgM and SARS-CoV-2 IgG detection. **Results** The patients more than 60 years old had higher severity rate compared to the patients less than 60 years old (78.95% vs. 25.00%, $\chi^2=20.370$, $P<0.05$). The severity rate of nucleic-acid positive patients was significantly higher than that of nucleic-acid negative patients (69.05% vs. 32.14%, $\chi^2=9.220$, $P<0.05$). The detection sensitivity of SARS-CoV-2 IgG was higher than that of SARS-CoV-2 IgM (91.43% vs. 71.43%, $\chi^2=9.258$, $P<0.05$). The sensitivity of SARS-CoV-2 IgM combined with IgG detection was higher than that of SARS-CoV-2 IgM (95.71% vs. 71.43%, $\chi^2=15.04$, $P<0.05$). Among the 28 cases of nucleic acid negative COVID-19 patients, 26 cases were positive in SARS-CoV-2 IgM combined with IgG detection. **Conclusion** Detection of SARS-CoV-2 specific antibodies is an effective screening and diagnostic method, and can be complementary with sars-cov-2 nucleic acid detection.

Key words: SARS-CoV-2; specific antibody detection; colloid gold-immuno- chromatography assay; viral nucleic acid detection

在新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染早期, 由于 体内病毒载量较低、标本采样的手法差异以及病毒核

* 基金项目: 湖北省武汉市新冠肺炎应急科研攻关项目(EX20E12)。

作者简介: 郑晓丹, 女, 主管技师, 主要从事免疫学检验方面研究。 △ 通信作者, E-mail: yaocf9941@163.com。

酸检测过程中的操作差异等原因,病毒核酸检测的阳性率并不高,湖北省曾将核酸检测阴性但临床症状和 CT 表现符合《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)》的患者,纳入“临床诊断”分类^[1]。2020 年 3 月 4 日国家卫生健康委员会颁布的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》将 SARS-CoV-2 特异性抗体血清学检测纳入诊断标准^[2]。抗体是机体感染病毒后,由浆细胞所产生并可与相应抗原发生特异性结合的免疫球蛋白。通常在感染早期出现免疫球蛋白 M(IgM),在感染中晚期出现免疫球蛋白 G(IgG),并可在血液循环中存在较长时间^[3-4]。因此,检测病毒特异抗体可以用来辅助诊断患者是否近期或既往感染过 SARS-CoV-2,有助于核酸检测阴性但临床上疑似者的诊断。本研究对 70 例新型冠状病毒肺炎(COVID-19)患者的血清 SARS-CoV-2 IgM、IgG 采用胶体金免疫层析技术进行了检测,旨在探讨血清 SARS-CoV-2 特异性抗体检测对 COVID-19 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2020 年 1 月 26 日至 2020 年 3 月 6 日在武汉市汉口医院进行隔离治疗的 COVID-19 患者 70 例纳入研究,包括 SARS-CoV-2 核酸检测阳性患者 42 例和核酸检测阴性但临床症状和 CT 表现符合《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(第五版)》的患者 28 例。男 39 例、女 31 例,男女比例为 1.26 : 1,年龄 28~88 岁、中位年龄 60 岁。COVID-19 的诊断参照《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第 4 版)》和《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第 5 版)》中的标准。

1.2 仪器与试剂 病毒 RNA 提取试剂盒由辉瑞制药有限公司提供,实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)试剂、引物及荧光探针由湖南圣湘生物科技股份有限公司提供。采用美国赛默飞世尔公司 ABI 7500 型 qPCR 仪进行扩增。根据《新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南(第三版)》^[5]推荐的引物探针,进行病毒基因开放读码框(ORF)1ab 及核壳蛋白(N)的检测。血清 SARS-CoV-2 IgM、IgG 检测试剂盒由珠海丽珠试剂股份有限公司提供。

1.3 方法 所有纳入研究者均在入院后治疗前采集外周空腹静脉血 5 mL,装入无抗凝剂分离胶管中,静置待自然凝固后 3 500 r/min 离心 5 min,分离血清。分别取 10 μL 血清标本加入到 SARS-CoV-2 IgM 检测卡的加样孔中,垂直滴加 100 μL 标本稀释液,加样后 1~15 min 内观察结果,根据试剂盒说明判定结果。SARS-CoV-2 IgG 检测方法同 IgM。采集所有患者的鼻咽拭子标本,采用核酸提取试剂盒从 200 μL 的鼻咽拭子标本中获得 50 μL 总 RNA 溶液,提取的 RNA 保存于一 20 ℃ 备用。按照试剂说明书配制反应体系溶液和设置反应条件,放置荧光定量 PCR 仪进

行检测,按照试剂说明书判定结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件对数据进行统计分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者年龄、性别与重症率的关系 本研究共纳入 70 例 COVID-19 患者。男性患者 39 例,其中 ≥ 50 岁的患者 31 例(79.49%), ≥ 60 岁的患者 21 例(53.85%), ≥ 70 岁的患者 12 例(30.77%);女性患者 31 例,其中 ≥ 50 岁患者 24 例(77.42%), ≥ 60 岁患者 17 例(54.84%), ≥ 70 岁患者 8 例(25.81%)。重症患者 38 例,其中 ≥ 50 岁患者 36 例(94.74%), ≥ 60 岁患者 30 例(78.95%), ≥ 70 岁患者 15 例(39.47%)。 ≥ 60 岁的患者重症率高于 <60 岁的患者($P<0.05$);男女性患者重症率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 不同年龄段、不同性别患者重症率的比较

项目	重症 (n)	非重症 (n)	合计 (n)	重症率 (%)	χ^2	P
年龄					20.376	<0.001
<60 岁	8	24	32	25.00		
≥ 60 岁	30	8	38	78.95		
性别					0.007	0.934
男	21	18	39	53.85		
女	17	14	31	54.84		

2.2 核酸及抗体检测结果与重症率的关系 核酸检测阳性患者重症率明显高于核酸检测阴性患者($P<0.05$);IgM 阳性和阴性患者、IgG 阳性和阴性患者重症率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 不同核酸、抗体检测结果的重症率比较

项目	重症 (n)	非重症 (n)	合计 (n)	重症率 (%)	χ^2	P
核酸检测					9.220	0.002
阳性	29	13	42	69.05		
阴性	9	19	28	32.14		
IgM 检测					0.973	0.324
阳性	29	21	50	58.00		
阴性	9	11	20	45.00		
IgG 检测					1.161	0.281
阳性	36	28	64	56.25		
阴性	2	4	6	33.33		

2.3 血清 SARS-CoV-2 IgM 和 IgG 检测结果的评价 SARS-CoV-2 IgG 检测的灵敏度高于 SARS-CoV-2 IgM($\chi^2=9.258, P=0.002$);SARS-CoV-2 IgM、IgG 联合检测的灵敏度高于 SARS-CoV-2 IgM($\chi^2=15.04, P<0.05$);SARS-CoV-2 IgM、IgG 联合检测的灵敏度与 SARS-CoV-2 IgG 比较,差异无统计学意

义($\chi^2 = 1.069, P = 0.301$), 见表 3。SARS-CoV-2 IgM 和 SARS-CoV-2 IgG 检测对 COVID-19 都具有较高的检出率, 二者联合检测效果更佳。

表 3 SARS-CoV-2 IgM、IgG 的检测灵敏度

项目	阳性(n)	阴性(n)	合计(n)	灵敏度(%)
IgM	50	20	70	71.43
IgG	64	6	70	91.43*
IgM、IgG 联合检测	67	3	70	95.71*

注: 与 IgM 的灵敏度比较, * $P < 0.05$ 。

2.4 血清 SARS-CoV-2 抗体检测对核酸检测阴性病例的价值 在 70 例 COVID-19 患者中, 核酸检测阳性有 42 例, 其中男 25 例、女 17 例, 阳性率为 60.00%。核酸检测阴性患者 28 例, 其中男 14 例、女 14 例。在 28 例核酸检测阴性 COVID-19 患者中, SARS-CoV-2 IgM 单项阳性 17 例, SARS-CoV-2 IgG 单项阳性 26 例, SARS-CoV-2 IgM、IgG 联合检测阳性 26 例, 表明 SARS-CoV-2 抗体检测有助于核酸检测阴性患者的诊断。

3 讨论

及时、快速诊断是疫情防控工作的重要环节^[6]。SARS-CoV-2 核酸检测被认为是 COVID-19 确诊的“金标准”, 然而在实际工作中, 病毒核酸检测的阳性率并不高, 尽管有的患者已表现出较重的临床症状, 且 CT 也显示肺部有 COVID-19 的特征性影像学表现, 但核酸检测结果仍为阴性。核酸检测结果的影响因素有采集标本的规范化程度、实验室检测手段、试剂盒质量、病毒核酸载量等^[7-8]。就标本取材这一环节而言, 在呼吸道标本中, 肺泡灌洗液检测的灵敏度高于痰液, 痰液又高于咽部拭子^[9]。但是肺泡灌洗液的检测仅适用于极少数患者, 多数轻症患者并没有痰液, 因此对大部分患者的检测, 一般是采集咽拭子。本研究的 70 例 COVID-19 患者中, 病毒核酸检测阳性患者仅 42 例(60.00%)。病毒核酸检测的低阳性率给患者确诊带来困难, 轻症患者得不到及时确诊、收治入院就极有可能发展为重症。为此, 在《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(第五版)》中, CT 影像学的特征被纳入诊断标准, 这让一些核酸检测呈假阴性但影像学有典型表现的患者能够及早得到救治, 这一方案在特殊时期对于疫情严重的湖北地区控制疫情曾起到重要作用。

在《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》中, SARS-CoV-2 特异性抗体血清学检测被纳入诊断标准。COVID-19 患者多数为中老年人, 在本研究中, 老年患者占半数以上(54.29%), 该类患者免疫器官功能衰退, 免疫功能下降, 更易发展为重症, 但老年人往往具有较高比例的记忆性淋巴细胞, 遍布各个器官或黏膜组织, 在病毒侵袭时, 即可迅速活化, 发生一系列免疫反应, 产生抗体, 可为诊断提供准确的信

息^[10-11]。本研究中, 核酸阳性患者重症率显著高于核酸阴性患者, 这与核酸阳性患者体内有较高的病毒载量有关。而抗体阳性患者重症率与抗体阴性患者比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 还需更多的数据积累来进一步探讨。抗体是机体体液免疫应答的产物, 由于感染 SARS-CoV-2 后可呈现较长的潜伏期, 机体在初次接受病毒抗原刺激后, 有足够的时间刺激 B 细胞增殖并分化为浆细胞, 产生病毒特异性抗体。在感染的早期, 主要产生 IgM 类抗体, 随后其水平会逐渐降低直至消失, 在感染的中后期, 由于 B 细胞在生发中心发生抗体类别转换而产生 IgG 类抗体, 其水平在体内会有一个指数式增长的过程, 之后水平会趋于稳定, 并在血液循环中存在较长时间^[12-13]。因此, 检测 SARS-CoV-2 的特异性抗体可用来判断患者是否近期感染或者既往感染过 SARS-CoV-2。

本研究中, SARS-CoV-2 IgM 和 IgG 检测均具有较高的灵敏度, 可满足临床的诊断和筛查需要, 但 SARS-CoV-2 IgM 的灵敏度低于 SARS-CoV-2 IgG, 这可能是由于 COVID-19 的潜伏期较长, 且部分患者往往在出现症状后一段时间才会就医, 此时可能处于感染中后期, 其外周血 SARS-CoV-2 IgM 水平处于降低或消失阶段, 但 SARS-CoV-2 IgM 和 IgG 二者联合检测有助于提高检出率, 且可根据检测结果对患者所处感染阶段进行大致推断。此外, 在 28 例核酸检测阴性 COVID-19 患者中, 有 26 例检测出 SARS-CoV-2 IgM 或 IgG 阳性, 表明 SARS-CoV-2 抗体检测可与核酸检测结果互补。

笔者还注意到有 1 例患者病毒核酸检测为阳性, 而 SARS-CoV-2 IgM 和 IgG 检测均为阴性。该患者是在出现咳嗽、乏力等症状后第 3 天采集鼻咽拭子和静脉血分别做病毒核酸和抗体检测, 按照目前 SARS-CoV-2 感染潜伏期多为 3~7 d 计算, 该患者感染约为 6~10 d, 推测此时病毒虽已在体内进行复制, 但病程较短, 病毒诱发的机体抗病毒体液免疫反应尚处于早期, 产生的抗体滴度处于较低水平, 尚不能在外周血中检测到。这也提示, 在病毒感染初期, SARS-CoV-2 抗体检测具有一定局限性。

综上所述, 血清 SARS-CoV-2 IgM 和 IgG 抗体检测灵敏度高, 可有效降低核酸漏检的风险, 且血清抗体检测操作简便、快速, 可与病毒核酸检测形成互补。由于本研究收集的数据有限, 仅为一个初步的探讨, 要获得更确定的结论还需进一步进行研究。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第五版)[EB/OL]. (2020-02-05) [2020-03-02]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/3b09b894ac9b4204a79db5b8912d4440.shtml>.
- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. (下转第 3259 页)

关性分析显示血清 HO-1 水平与 aEEG 评分呈负相关;表明血清 HO-1 水平和 aEEG 评分可反映早产儿早期脑损伤程度。

本研究发现,aEEG 评分、血清 HO-1 水平及两者联合用于早产儿脑损伤早期预测的灵敏度、特异度均较高;但两者联用的灵敏度及 AUC 均高于单用 aEEG 评分、血清 HO-1 水平。

综上所述,aEEG 评分、血清 HO-1 水平均可作为预测早产儿早期脑损伤的灵敏、特异指标,但两者联用较单用 aEEG 评分或血清 HO-1 水平能更好地发现早产儿早期脑损伤。

参考文献

- [1] 郑军,张婉娟. 早产儿围生期脑损伤的危险因素及其防治策略[J]. 中华实用儿科临床杂志,2015,30(14):1057-1059.
- [2] 中国医师协会新生儿专业委员会. 早产儿脑损伤诊断与防治专家共识[J]. 中国当代儿科杂志,2012,14(12):883-884.
- [3] BURDJALOV V F,BAUMGART S,SPITZER A R. Cerebral function monitoring:a new scoring system for the evaluation of brain maturation in neonates[J]. Pediatrics,2003,112(4):855-861.
- [4] 金越,陆继红,鲍星星,等. 尿 S-100B 蛋白动态变化对早产儿脑损伤的诊断价值[J]. 临床儿科杂志,2015,33(1):44-47.

- [5] 钟鑫琪,崔其亮,虞康惠. 围产期炎症与早产儿脑损伤的关系[J]. 中华围产医学杂志,2015,18(6):467-469.
- [6] 吴东平,林振浪. 116 例早产儿脑损伤的临床特点及危险因素分析[J]. 中国妇幼保健,2018,33(17):3922-3924.
- [7] 刘俐. 早产儿脑损伤及脑发育评估[J]. 中国实用儿科杂志,2017,32(11):833-837.
- [8] 毛健. 早产儿脑白质损伤磁共振成像诊断基础与评价[J]. 临床儿科杂志,2015,33(3):205-210.
- [9] 查琳,张丙宏. 颅脑超声在诊断早产儿脑白质软化中的诊断效能研究[J]. 中国妇幼保健,2015,30(20):3512-3514.
- [10] 徐文慧,刘娜娜,彭斯聪,等. 振幅整合脑电图评分系统在胎龄≤32 周早产儿脑发育评估中的应用及评价[J]. 南昌大学学报(医学版),2018,58(5):40-46.
- [11] LIU B,HU B,SHAO S,et al. CD163/Hemoglobin oxygenase-1 pathway regulate inflammation in hematoma surrounding tissues after intracerebral hemorrhage[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis,2015,24(12):2800-2809.
- [12] MERCHANT N M,AZZOPARDI D V,EDWARDS A D. Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy: current and future treatment options[J]. Expert Opin Orphan Drugs,2015,3(4):357-377.
- [13] YU J B,DONG S A,LUO X Q,et al. Role of HO-1 in protective effect of electro-acupuncture against endotoxin shock induced acute lung injury in rabbits[J]. Exp Biol Med,2013,238(6):705-712.

(收稿日期:2020-03-06 修回日期:2020-08-15)

(上接第 3255 页)

- 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)[EB/OL]. (2020-03-04)[2020-03-30]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [3] VALENTINE K M,DAVINI D,LAWRENCE T J,et al. CD8 follicular T cells promote B cell antibody class switch in autoimmune disease[J]. J Immunol,2018,201(1):31-40.
- [4] DIAZ-MUNOZ MD,BELL SE,FAIRFAX K,et al. The RNA-binding protein HuR is essential for the B cell antibody response[J]. Nat Immunol,2015,16(4):415-425.
- [5] 中华人民共和国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 3 版)[EB/OL]. (2020-01-28)[2020-03-30]<http://www.nhc.gov.cn/jkj/s7923/202001/470b128513fe46f086d79667db9f76a5.shtml>.
- [6] TRILLA A. One world,one health:The novel coronavirus COVID-19 epidemic[J]. Med Clin,2020,154(5):175-177.
- [7] 高维寅,张洪,罗阳. 新型冠状病毒肺炎核酸检测中的假阴性分析及对策[J]. 国际检验医学杂志,2020,41(6):

641-647.

- [8] 王达,董梁,卿松,等. 新型冠状病毒核酸检测中的思维误区[J]. 中华医院感染学杂志,2020,30(8):1153-1156.
- [9] 曾江,刘辉,罗一钧,等. 新型冠状病毒肺炎患者治疗后咽拭子与诱导痰标本病毒核酸检测的比较[J]. 赣南医学院学报,2020,40(2):116-118.
- [10] COLONNA-ROMANO G,MATTEO B,AQUINO A,et al. A double-negative (IgD⁻ CD27⁻) B cell population is increased in the peripheral blood of elderly People[J]. Mech Ageing Dev,2009,130(10):681-690.
- [11] CHARLES D S,JONATHAN S. Homeostasis of naive and memory T cells[J]. Immunity,2008,29(6):848-862.
- [12] DELIGNE C,GROS L. Anti-tumor monoclonal antibodies:new insights to elicit a long-term immune response[J]. Med Sci,2019,35(12):982-989.
- [13] KIM N,LANNAN K L,THATCHER T H,et al. Lipoxin B4 enhances human memory B cell antibody production via upregulating cyclooxygenase-2 expression[J]. J Immunol,2018,201(11):3343-3351.

(收稿日期:2020-03-06 修回日期:2020-08-04)