

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.23.023

## 两种新型冠状病毒抗体检测试剂的临床应用评价

宁乐平<sup>1</sup>, 刘晓春<sup>1△</sup>, 姜伟豪<sup>2</sup>, 吴荣才<sup>1</sup>, 黄日江<sup>2</sup>, 阳文辉<sup>1</sup>

1. 广西壮族自治区人民医院检验科, 广西南宁 530000; 2. 广西壮族自治区人民医院邕武院区检验科, 广西南宁 530000

**摘要:**目的 探讨两种新型冠状病毒(SARS-CoV-2)抗体检测试剂的临床应用价值。方法 选取 2020 年 1 月 16 日至 3 月 1 日在广西壮族自治区人民医院邕武院区经核酸检测阳性的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)确诊患者 69 例(确诊病例组)和同期在该院排除 SARS-CoV-2 感染的 38 例体检人员(阴性对照组)作为研究对象, 两组采用两种胶体金免疫层析技术(GICA)试剂检测血清 SARS-CoV-2 总抗体、IgM、IgG, 采用实时荧光定量聚合酶链反应法检测 SARS-CoV-2 核酸。结果 万孚总抗体和英诺特 IgG 联合 IgM(IgG 或 IgM 任一阳性确定为阳性)诊断 COVID-19 的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和约登指数分别为 98.55% 和 97.10%、100.00% 和 92.11%、100.00% 和 95.71%、97.44% 和 94.59%、0.986 和 0.892。两种试剂检测结果的一致性检验 kappa 值为 0.918( $P < 0.05$ ), 两种试剂的一致性良好。结论 该研究中的两种抗体检测试剂可以作为核酸检测的重要补充。

**关键词:**新型冠状病毒; 抗体; 胶体金免疫层析法; 诊断

中图分类号: R563.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)23-3473-04

### Clinical application evaluation of two SARS-CoV-2 antibody detection reagents

NING Leping<sup>1</sup>, LIU Xiaochun<sup>1△</sup>, JIANG Weihao<sup>2</sup>, WU Rongcai<sup>1</sup>, HUANG Rijiang<sup>2</sup>, YANG Wenhui<sup>1</sup>

1. Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, Guangxi 530000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Yongwu Branch of the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, Guangxi 530000, China

**Abstract: Objective** To explore the clinical application of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) antibody detection reagents. **Methods** From January 16 to March 1, 2020, 69 confirmed COVID-19 patients with positive nucleic acid test (confirmed case group) and 38 physical examiners excluded from SARS-CoV-2 infection (negative control group) in Yongwu Branch of the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region in the same period were taken as research objects. Total antibody, IgM and IgG of serum SARS-CoV-2 were detected by colloidal gold immunochromatography assay (GICA). The real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction was used to detect SARS-CoV-2 nucleic acid. **Results** The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, and Youden index of Wondfo total antibody and Innovita IgG combined with IgM (note: IgG or IgM was determined to be positive) in the diagnosis of COVID-19 were 98.55% and 97.10%, 100.00% and 92.11%, 100.00% and 95.71%, 97.44% and 94.59%, 0.986 and 0.892. The consistency check kappa value of the two reagents was 0.918 ( $P < 0.05$ ), indicating that the consistency of the two reagents was good. **Conclusion** The two antibody detection reagents in this study can be used as an important supplement to nucleic acid detection.

**Key words:** Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2; antibody; colloidal gold immunochromatography assay; diagnosis

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)传染性强,其核酸检测是目前诊断 SARS-CoV-2 引起的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的金标准,但核酸检测存在假阴性率高、操作繁琐、耗时长、测定结果易受多种因素影响等缺点,而且核酸单项检测不能满足疫情期间对疑似

病例快速筛查的要求。随着临床对 COVID-19 诊疗经验的积累,最新有研究指出, SARS-CoV-2 抗体+核酸联合检测能够弥补核酸检测准确性的不足,而且基于胶体金免疫层析技术(GICA)检测 SARS-CoV-2 抗体突破了现有检测技术对人员、场所、仪器的限制,

缩短检测时间,操作方便快捷,在基层医疗单位及现场检测中被广泛应用<sup>[1-6]</sup>。本文对广州万孚生物科技有限公司(简称万孚)和英诺特(唐山)生物科技有限公司(简称英诺特)生产的 GICA 试剂检测 SARS-CoV-2 总抗体、IgM、IgG 的能力进行评价。现将结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2020 年 1 月 16 日至 3 月 1 日在广西壮族自治区人民医院邕武院区经核酸检测阳性的 COVID-19 确诊患者 69 例作为确诊病例组,确诊患者均符合文献<sup>[2]</sup>诊断标准,其中男 16 例、女 53 例,平均年龄为(43.7±14.5)岁,从发病到采样时间最短为 10 d,最长为 46 d,平均(30.3±8.3)d。另选取同期在广西壮族自治区人民医院邕武院区排除 SARS-CoV-2 感染的 38 例体检人员作为阴性对照组,其中男 8 例、女 30 例,平均年龄为(40.2±7.4)岁。阴性对照组为无 COVID-19 相关临床症状且经过两次鼻咽拭子核酸检测阴性(两次检测时间间隔至少 1 周)。确诊病例组和阴性对照组在性别及年龄分布方面比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究遵守国际协调理事会临床试验规范和赫尔辛基宣言,经医院伦理审查委员会审核通过。

## 1.2 方法

**1.2.1 标本采集** 所有研究对象均采集空腹静脉血 3 mL,置于真空采血管内,静置待血液凝固,3 500 r/min 离心 10 min,取血清备用。采集研究对象鼻咽拭子进行 SARS-CoV-2 核酸的检测。

**1.2.2 SARS-CoV-2 抗体检测** 采用万孚生产的 GICA 试剂(批号:W19500206)检测血清 SARS-CoV-

2 总抗体(不能区分 IgG 和 IgM),检测针对棘突蛋白(S 蛋白)抗体。同时,采用英诺特生产 GICA 试剂(批号:20200205)检测血清 IgG 和 IgM,检测针对 S 蛋白和核衣壳蛋白(N 蛋白)抗体,该试剂可以区分 IgG 和 IgM。检测操作步骤参考试剂说明书。

**1.2.3 SARS-CoV-2 核酸检测** 实时荧光定量聚合酶链反应仪(ABI Prism 7500)购自美国 ABI 公司,核酸提取试剂盒购自湖南圣湘生物科技股份有限公司(批号:202003),使用湖南圣湘生物科技股份有限公司生产的 Natch S 全自动核酸提取系统进行核酸提取。扩增试剂盒购自湖南圣湘生物科技股份有限公司(批号:202007),针对 SARS-CoV-2 编码 ORF 1ab 及 N 蛋白基因的特异性保守序列为靶区域,进行了双靶标基因的设计。实时荧光定量聚合酶链反应检测体系包含有内源性的内标引物和探针,通过是否检出内标来判断标本是否合格,减少假阴性结果。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS23.0 软件进行数据处理。计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,符合正态分布的,使用  $t$  检验,不符合正态分布的,使用非参数检验。计数资料以百分率表示,采用  $\chi^2$  检验。 $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 万孚与英诺特试剂、核酸检测诊断效能比较** 万孚总抗体和英诺特 IgG 联合 IgM 的诊断效能比较见表 1。确诊病例组中万孚总抗体、英诺特 IgM、英诺特 IgG、英诺特 IgG 联合 IgM 阳性率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );阴性对照组中万孚总抗体、英诺特 IgM、英诺特 IgG、英诺特 IgG 联合 IgM 阳性率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

表 1 万孚与英诺特试剂、核酸检测诊断效能比较

试剂	确诊病例组阳性率 [%( <i>n/n</i> )]	阴性对照组阳性率 [%( <i>n/n</i> )]	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	约登指数
万孚总抗体	98.55(68/69)	0.00(0/38)	98.55	100.00	100.00	97.44	0.986
英诺特 IgM	21.74(15/69)	5.26(2/38)	21.74	94.74	88.24	40.00	0.165
英诺特 IgG	97.10(67/69)	2.63(1/38)	97.10	97.37	98.53	94.87	0.945
英诺特 IgG 联合 IgM	97.10(67/69)	7.89(3/38)	97.10	92.11	95.71	94.59	0.892

注:英诺特 IgG 联合 IgM 阳性是指检测结果中 IgG 或 IgM 任一抗体阳性。

**2.2 万孚总抗体和英诺特 IgM 联合 IgG 诊断性能比较** 万孚总抗体和英诺特 IgM 联合 IgG 一致性检验 kappa 值为 0.918( $P<0.05$ ),说明万孚总抗体和英诺特 IgM 联合 IgG 两种结果间的一致性程度好。见表 2。

**2.3 阴性对照组中 3 例患者 SARS-CoV-2 抗体与核酸检测结果不一致** 本研究阴性对照组中 3 例患者 SARS-CoV-2 抗体与核酸检测结果不一致,2 例患者出现“两次核酸阴性+万孚总抗体阴性+英诺特 IgM

弱阳性+英诺特 IgG 阴性”的结果,1 例患者出现“两次核酸阴性+万孚总抗体阴性+英诺特 IgM 阴性+英诺特 IgG 弱阳性”的结果。此外,确诊病例组有 4 例患者出现 SARS-CoV-2 核酸检测复阳,这 4 例患者的万孚总抗体均为阳性,说明患者体内存在针对 S 蛋白的抗体。

**2.4 确诊病例组 SARS-CoV-2 抗体出现与消失的时间** 确诊病例组英诺特 IgG 抗体产生率 100%。确诊病例组中,英诺特 IgM 最早转阴的时间为 13 d,最

长持续时间大于 46 d,具体能持续多长时间有待后续随访跟踪。英诺特 IgG 最早小于 10 d 产生,最早 25 d 转阴。

表 2 万孚总抗体与英诺特 IgM 联合 IgG 诊断性能比较(n)

万孚总抗体	英诺特 IgM 联合 IgG		合计
	阳性	阴性	
阳性	67	1	68
阴性	3	36	39
合计	70	37	107

### 3 讨 论

GICA 试剂检测 SARS-CoV-2 抗体的方法,在流行病学调查的方面有其独特的优势。本研究使用万孚和英诺特生产的 GICA 试剂检测 SARS-CoV-2 抗体,灵敏度和特异度均较高,高于罗效梅等<sup>[7]</sup>采用的江苏美克医学技术有限公司生产 GICA 试剂检测 SARS-CoV-2 的 IgM 联合 IgG 的灵敏度(92.1%)、特异度(90.7%),以及梁颖等<sup>[8]</sup>、SHEN 等<sup>[9]</sup>报道的 IgG 联合 IgM 的灵敏度和特异度。可能与不同研究中的患者数量、人群不同有关。

抗体检测可以弥补核酸检测灵敏度的不足,但抗体检测也存在一定比例的“假阳性”。类风湿因子、补体、嗜异性抗体、溶菌酶、使用鼠抗体治疗等内源性因素,以及标本溶血、储存时间过长、凝固不全等分析前因素,都可以导致“假阳性”<sup>[6]</sup>。

阴性对照组中 3 例英诺特 IgG 和 IgM 与核酸检测结果不一致的可能原因如下:(1)2 例患者英诺特 IgM 弱阳性,存在“初次感染载量极低的 SARS-CoV-2 并处于感染早期,病毒载量低于核酸检测下限,机体产生少量 IgM,尚未产生 IgG”的可能性,但是 2 例患者均无任何 COVID-19 的症状、CT 无阳性表现、相隔 1 周的两次核酸检测阴性,综合考虑是英诺特 IgM 假阳性;(2)另外 1 例英诺特 IgG 弱阳性,可能存在“既往感染 SARS-CoV-2,但已恢复或体内病毒被清除,免疫应答产生的 IgG 维持时间长,仍存在于血液中而被检测到”的可能性,但是该患者无任何 COVID-19 的症状、CT 无阳性表现、相隔 1 周的两次核酸为阴性、万孚总抗体阴性,综合考虑是英诺特 IgG 假阳性。以上 3 例英诺特 IgM 或 IgG 假阳性,可能是检测 N 蛋白抗体的假阳性所致。英诺特试剂检测 S 蛋白和 N 蛋白的抗体,而万孚试剂检测 S 蛋白抗体。如果患者体内仅存在干扰 N 蛋白抗体的物质,就可导致万孚总抗体阴性而英诺特 IgM 或 IgG 阳性的结果。反之,如果患者只有针对 N 蛋白的抗体,万孚总抗体存在一定漏诊的风险。

SARS-CoV-2 暴发于上呼吸道感染流行季节, hCoV-NL63, hCoV-OC43, hCoV-229E, hCoV-HKU1

感染引起的上呼吸道感染患者可影响 SARS-CoV-2 抗体的检测结果<sup>[10-15]</sup>。被 SARS-CoV-2 感染过的患者体内是否存在与 N 蛋白或 S 蛋白有交叉反应的抗体,是抗体检测中面临的重要问题。S 蛋白是介导病毒进入细胞内的关键蛋白<sup>[13]</sup>。ZHENG 等<sup>[14]</sup>通过生物信息学技术推测 S 蛋白可能是未来治疗性抗体和疫苗的潜在靶点。

本研究出现 4 例 SARS-CoV-2 核酸检测复阳的患者,万孚总抗体均为阳性,说明患者体内存在针对 S 蛋白的抗体。体内存在针对 S 蛋白的保护性抗体,还出现核酸检测复阳,考虑可能原因如下:(1)针对 S 蛋白的抗体不一定是保护性抗体;(2)针对 S 蛋白的抗体是保护性抗体,但是针对某一特定氨基酸序列的,而被万孚试剂检测出的 S 蛋白抗体不是针对这一特定的氨基酸序列。总之,抗体的“假阳性”问题,是限制抗体用于 COVID-19 确诊的关键因素。目前,抗体检测主要用于疑似病例的确诊或排除<sup>[4]</sup>。对于不满足疑似病例标准的病例,抗体不作为诊断和排除依据。

本研究受多种条件限制,存在许多不足之处。例如标本数量有限,可能对分析结果的准确性产生影响;其次,收集的病例多为确诊 10 d 以上的病例;另外,对于阴性对照组的假阳性病例追踪时间不够久,可能准确性不足。因此需要通过多中心、大规模的临床验证,进一步明确抗体检测在 SARS-CoV-2 感染诊断中的价值。

### 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]. (2020-02-05)[2020-04-14]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202002/3b09b894ac9b2404a79db5b8912d4440.shtml>.
- [2] 中华人民共和国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(第六版)的通知(国卫办疾控函[2020]204 号)[EB/OL]. (2020-03-07)[2020-04-14]. <http://www.nhc.gov.cn/jkj/s3577/202003/4856d5b0458141fa9f376853224d41d7.shtml>.
- [3] 李萍,李志勇,赵四林,等. 血清 2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体用于诊断新型冠状病毒肺炎的初探[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(4): 352-357.
- [4] 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]. (2020-03-04)[2020-04-14]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [5] 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: 1-9(2020-03-06)[2020-04-14]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5882.R.20200305.1652.002.html>.
- [6] 张瑞,李金明. 2019 新型冠状病毒特异(下转第 3478 页)



伤,提高了手术的精确度<sup>[11]</sup>。(2)与根尖切面角度有关。常规治疗组斜切面与牙根长轴呈 45°,易增加感染风险而不利于斜切口的愈合,而显微治疗组术中通过采用超声工作尖,沿着牙根长轴近乎垂直的角度进行根尖切除,最大程度地使根尖微渗漏降到最小<sup>[12]</sup>。有研究表明,3~4 mm 是垂直牙根长轴切除根尖的最佳长度,过长、过短都不能完整去除根尖侧枝<sup>[13]</sup>。(3)与根尖倒充填材料有关。本研究显微治疗组中使用的银汞合金是临床常用的填充材料,密闭性较好。另外,有研究表明新型材料三氧化矿物凝聚体在潮湿环境下仍保持显著的抑菌效果,其生物相容性和密闭性较好,不易被组织吸收且操作方便,可以快速促进损伤的修复和愈合,减轻患者肿痛<sup>[14-15]</sup>。

综上所述,显微根尖术相比于常规根尖术治疗难治性慢性根尖周炎效果较好,患者根尖周评价良好,建议临床推广。

参考文献

[1] 史芳萍,叶何珍,戴巧群,等.三种不同根管充填糊剂治疗慢性根尖周炎的随机对照研究[J].中国生化药物杂志,2016,20(7):161-162.  
 [2] 邹进,汪小彤,刘卫红,等.144例显微根尖外科手术疗效观察及分析[J].口腔医学,2016,36(5):445-448.  
 [3] 林永华.探讨口腔影像技术锥形束 CT 在口腔疾病中的诊断价值[J/CD].全科口腔医学电子杂志,2018,5(21):51-53.  
 [4] 张勇哲,张宇,王多诚,等.两种不同糊剂治疗慢性根尖周炎的疗效对比[J].重庆医学,2018,47(6):791-793.  
 [5] 刘策,詹福良.锥形束 CT 用于诊断复杂根尖周病价值研

究[J].中国实用口腔杂志,2016,9(1):46-48.  
 [6] 孙红玲.根管治疗根尖周炎感染患者的效果观察[J/CD].全科口腔医学电子杂志,2019,6(30):52-55.  
 [7] 黄希,葛自立,刘健,等.慢性根尖周炎感染根管的病原学分析及影响因素研究[J].中华医院感染学杂志,2018,28(1):114-117.  
 [8] 闫虹,董囡囡.非手术根管再治疗与根尖手术联合治疗难治性根尖周炎临床疗效观察[J].临床军医杂志,2019,47(2):159-160.  
 [9] 郭灵芝.根尖刮治术与根尖倒充填术治疗难治性根尖周炎 30 例疗效观察[J/CD].全科口腔医学电子杂志,2016,3(13):24-26.  
 [10] 唐丽,岳梨华.非手术根管再治疗-根尖手术联合治疗难治性根尖周炎临床疗效及预后分析[J/CD].全科口腔医学电子杂志,2017,4(8):19-20.  
 [11] 叶红飞.显微外科治疗慢性根尖周炎患者的临床研究[J/CD].全科口腔医学电子杂志,2019,6(20):64-71.  
 [12] 阮德成,马敏.MTA 应用于显微根尖手术治疗慢性根尖周炎的效果观察[J].口腔疾病防治,2017,26(3):180-182.  
 [13] 戴辛鹏,周立波,王晗,等.显微根尖手术与传统根尖手术治疗慢性根尖周炎的疗效对照研究[J].医学理论与实践,2019,32(19):3131-3132.  
 [14] 孙涛,卢丽艳.显微超声对钙化根管患者的临床疗效及对根管疏通情况的影响[J].空军医学杂志,2019,35(1):77-79.  
 [15] 王洪伟,王浩,王欣,等.三氧化矿物凝聚体在显微根尖术治疗难治性慢性根尖周炎中的应用研究[J].口腔材料器械杂志,2018,27(4):205-209.

(收稿日期:2019-11-05 修回日期:2020-06-23)

(上接第 3475 页)

抗体检测“假阳性”原因分析及对策[J].中华检验医学杂志,2020,43(5):507-510.  
 [7] 罗效梅,王静,张娅,等.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[J].西南大学学报(自然科学版),2020,42(3):30-34.  
 [8] 梁颖,曾斯敏,刘璋,等.病毒特异性抗体检测在新型冠状病毒肺炎诊断中的应用价值[J].武汉大学学报(医学版),2020,41(5):693-696.  
 [9] SHEN B,ZHENG Y F,ZHANG X Y,et al.Clinical evaluation of a rapid colloidal gold immunochromatography assay for SARS-CoV-2 IgM/IgG[J].Am J Transl Res,2020,12(4):1348-1354.  
 [10] 唐鹏,赵自武,刘颖娟,等.化学发光和胶体金法检测新型冠状病毒特异性抗体比较及其临床意义[J].武汉大学学报(医学版),2020,41(4):517-520.  
 [11] 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].中华检验医学杂志,2020,43(3):230-233.  
 [12] 邹明园,吴国球.抗原交叉反应对新型冠状病毒血清特异性抗体检测的影响[J].临床检验杂志,2020,38(3):161-163.  
 [13] WALLS A C,PARK Y J,TORTORICI M A,et al.Structure,function,and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein[J].Cell,2020,181(2):281-292.  
 [14] ZHENG M,SONG L.Novel antibody epitopes dominate the antigenicity of spike glycoprotein in SARS-CoV-2 compared to SARS-CoV[J].Cell Mol Immunol,2020,17(5):536-538.  
 [15] 靳伟东,张东云,谢凤欣,等.新型冠状病毒的研究现状与实验室诊断[J].国际检验医学杂志,2020,41(10):1230-1236.

(收稿日期:2020-04-14 修回日期:2020-08-26)