

[13] ALIREZA S,BEHZAD K B,MAJID M. The effect of inhaled budesonide on the prevention of chronic lung disease in premature neonates with respiratory distress syndrome[J]. Int J Prev Med,2018,9(1):15.

[14] MAGAZINE R,RAO S,CHOGTU B, et al. Epidemiological profile of acute respiratory distress syndrome patients:a tertiary care experience[J]. Lung India,2017,34(1):38-42.

[15] HELWICH E,RUTKOWSKA M,BOKINIEC R, et al. Intraventricular hemorrhage in premature infants with Respiratory Distress Syndrome treated with surfactant: incidence and risk factors in the prospective cohort study [J]. Dev Period Med,2017,21(4):328-335.

(收稿日期:2020-04-10 修回日期:2020-08-28)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.02.029

胶体金法检测 SARS-CoV-2 总抗体的检测性能评价与探讨

陶 然^{1,2},莫南勋^{1,2},李 玲^{1,2},李慧源^{3,4},李根石^{3,4},邓小燕²,陈建波^{1,2,4},

何 君^{1,2,5},程雅婷^{1,2,5},周 妍^{6,7},谢 文^{6,8},张 玲^{1,2,6△}

1. 广州金域医学检验中心,广东广州,510005;2. 广州医科大学金域检验学院,广东广州 510006;
3. 武汉金域医学检验所,湖北武汉 430100;4. 国家呼吸系统疾病临床医学研究中心病毒诊断研究分中心,湖北武汉 430100;5. 国家呼吸系统疾病临床医学研究中心病毒诊断研究中心,广东广州 510005;
6. 武汉雷神山医院,湖北武汉 430200;7. 上海市第一人民医院,上海 200003;
8. 武汉大学中南医院,湖北武汉 430071

摘 要:目的 探讨胶体金法检测新型冠状病毒(SARS-CoV-2)总抗体在新型冠状病毒肺炎(COVID-19)诊断中的性能。**方法** 选取 COVID-19 患者 89 例,非 COVID-19 患者 88 例,检测所有 COVID-19 患者总抗体和病毒核酸。根据 COVID-19 患者的临床分型、发病时间分组,统计各组总抗体阳性率差异是否有统计学意义。**结果** 89 例 COVID-19 患者中,77 例总抗体检测结果阳性,12 例总抗体检测结果阴性。总抗体检测的灵敏度为 86.5%,特异度为 100.0%。不同临床分型的患者总抗体阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。不同发病时间的患者总抗体阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。核酸检测持续阴性组总抗体阳性率与其他组阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 对 COVID-19 患者总抗体进行检测不仅方便快捷,且有助于疑似人群中感染者的快速定位,有利于疫情的控制。

关键词:新型冠状病毒肺炎; 胶体金法; 抗体

中图法分类号:R563

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)02-0244-03

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染人体后可引起新型冠状病毒肺炎(COVID-19)^[1],该病毒传播途径多样,潜伏期长且人群普遍易感^[2]。国家卫生健康委员会发布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[3],首次将抗体检测结果作为血清学证据,纳入 COVID-19 确诊指标;同时,联合两次核酸检测结果可作为疑似病例的排除标准。目前,检测抗体的方法主要有胶体金法和化学发光法,检测物质有总抗体(包括 IgM、IgG、IgA 等 SARS-CoV-2 的特异性抗体)、IgM、IgG。诊疗方案中提出可通过 IgM 和 IgG 的阴阳性或检测值的变化进行诊断。由于胶体金法可快速检测总抗体,缩短诊断窗口期,联合核酸检测,还能提升 SARS-CoV-2 检出率,防止漏检;同时,具有方便、快捷的优势,在部分场合下可快速定位疑似人群、迅速隔离、防止传播^[4]。通过发病 7 d 后抗

体血清学检测结果,联合两次核酸检测结果,提高排除疑似病例的准确性,合理节约医疗资源。本文通过对 COVID-19 人群、其他病原体感染人群的总抗体进行检测,评估其临床性能,为后续应用提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2020 年 2—3 月在武汉雷神山 COVID-19 隔离观察病房住院的患者血清标本共计 89 例(COVID-19 组),其中,男 53 例、女 36 例,年龄 24~89 岁、中位年龄 67 岁,40 岁以上患者 83 例(93.2%)。非 COVID-19 患者 88 例(非 COVID-19 组),其中男 48 例、女 40 例,年龄 28~95 岁、中位年龄 65 岁。非 COVID-19 组来自广州金域医学检验中心,SARS-CoV-2 检测结果均为阴性,其中肺炎衣原体 IgM 阳性 4 例、肺炎支原体 IgM 阳性 14 例、乙型流感病毒 IgM 阳性 8 例、副流感病毒 IgM 阳性 6 例、

△ 通信作者,E-mail:labzling@kingmed.com.cn.

本文引用格式:陶然,莫南勋,李玲,等.胶体金法检测 SARS-CoV-2 总抗体的检测性能评价与探讨[J].检验医学与临床,2021,18(2):244-

Q 热立克次体 IgM 阳性 5 例、嗜肺军团菌 IgM 阳性 1 例、呼吸道腺病毒 IgM 阳性 1 例、呼吸道合胞病毒 IgM 阳性 11 例。COVID-19 患者排除及纳入均依据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》^[4],普通型、重型、危重型均按该方案分类,病程 9~43 d,中位数 26 d。

1.2 仪器与试剂 核酸提取及检测试剂盒购自长沙圣湘生物科技股份有限公司;ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;总抗体检测试剂盒购自广州万孚生物技术股份有限公司。

1.3 方法 检测 COVID-19 患者、非 COVID-19 人群总抗体,COVID-19 患者入院时、抗体检测时进行核酸检测,非 COVID-19 人群检测总抗体时行核酸检测。经培训合格的采样人员采集所有研究对象鼻咽拭子,采集完成后冷藏送至武汉金域医学检验所病毒诊断研究分中心实验室,采用磁珠法提取核酸,实时荧光 RT-PCR 检测核衣壳基因(N 基因)和开放读码框 1ab 基因(ORF1ab 基因),按厂家说明报告结果。总抗体检测:待测标本、试剂平衡至室温后,向测试卡的加样孔加入 10 μ L 血清标本,再向测试卡的稀释液加样孔加入 2~3 滴标本稀释液,15 min 后判读结果:检测区和质控各出现一条红线为阳性,仅在质控出现一条红线为阴性,质控区无红色线出现,检测无效。

1.4 评价指标 分析两组患者的抗体结果。依据 COVID-19 患者临床分型、发病时间进行分组,比较各组间抗体阳性率。根据入院核酸检测结果和抗体检测时同期核酸检测结果分组,统计各组总抗体检测结果的阳性率差异。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行统计分析。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验;影响因素的分析使用非条件 Logistic 回归分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 COVID-19 患者核酸检测结果 89 例 COVID-19 患者入院核酸检测阳性 35 例(39.3%),其中 28 例患者住院期间核酸检测结果转阴,7 例患者住院期间核酸检测结果持续阳性。

2.2 两组患者总抗体检测情况 89 例 COVID-19 患者中,77 例总抗体检测结果阳性,12 例抗体检测结果阴性;88 例非 COVID-19 患者总抗体检测结果均为阴性。8 例 COVID-19 患者总抗体、核酸检测均为阳性。12 例总抗体检测结果为阴性的 COVID-19 患者年龄 24~85 岁,中位年龄 65 岁,入院时采集核酸时以及采集总抗体时,核酸检测均为阴性。男性患者总抗体阳性率为 84.9%(45/53),女性患者总抗体阳性率为 88.9%(32/36),不同性别间总抗体阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。未见 8 种呼吸道病原体与 SARS-CoV-2 总抗体的交叉反应。综合以上检测结果,总抗体检测的灵敏度为 86.5%(95%CI:0.793~

0.938),特异度为 100.0%,阳性预测值为 100%,阴性预测值为 80.0%(95%CI:0.696~0.904),约登指数为 0.865。COVID-19 患者和非 COVID-19 患者的总抗体阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 不同临床分型的 COVID-19 患者总抗体阳性率的比较 COVID-19 患者中普通型、重型和危重型患者分别有 64 例(71.9%)、19 例(21.3%)、6 例(6.8%),总抗体检测阳性的患者分别有 57 例(89.1%)、15 例(78.9%)、5 例(83.3%),不同临床分型的患者总抗体阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。发病时间为 ≤ 14 d、 $>14\sim 28$ d、 >28 d 的患者分别有 10 例(11.2%)、45 例(50.6%)、34 例(38.2%)。不同发病时间的患者总抗体阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。12 例总抗体检测阴性的 COVID-19 患者中普通型 7 例、重型 4 例、危重型 1 例。见表 1。

表 1 不同发病时间的普通型、重型、危重型患者总抗体阳性情况[n/n(%)]

发病时间	普通型	重型	危重型
≤ 14 d	9/10(90.0)	0/0(0.0)	0/0(0.0)
$>14\sim 28$ d	28/31(90.3)	7/10(70.0)	3/4(75.0)
>28 d	20/23(86.9)	8/9(88.9)	2/2(100.0)

2.4 不同核酸检测情况患者总抗体阳性情况 根据入院时和入院后核酸检测结果,分为持续阳性组(入院时核酸检测阳性,入院后核酸检测阳性)、阴转阳性组(入院时核酸检测阴性,入院后核酸检测阳性)、阳转阴性组(入院时核酸检测阳性,入院后核酸检测阴性)、持续阴性组(入院时核酸检测阴性,入院后核酸检测阴性)。4 组的总抗体阳性率分别为 100.0%(7/7)、100.0%(28/28)、100.0%(1/1)、77.4%(41/53)。持续阴性组总抗体阳性率与其他组总抗体阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》发布之前,COVID-19 及其疑似人群的确诊和排除多采用 RT-PCR 检测核酸或进行病毒基因测序,且把连续两次核酸检测阴性(至少间隔 1 d)作为解除隔离和出院标准。由于病毒在采样、送检、试剂等方面的因素可能导致结果假阴性^[5-6],本文 89 例患者入院核酸检测结果阳性率仅为 60.7%。

目前经国家批准的用于检测 SARS-CoV-2 抗体的方法主要有胶体金法和化学发光法。胶体金法相比于化学发光法检测更为方便、快捷,不受检测通量和采样限制。

本研究纳入的 COVID-19 患者临床分型均为普通型及以上,发病到抗体检测时间中位数为 26 d,根据相关研究报道,COVID-19 患者感染 7 d 后产生针

对病毒的 IgM 抗体,约 14 d 产生 IgG 抗体^[7-8],故本文 COVID-19 组患者体内应以 IgG 为主。同时,本研究结果显示,抗体检测的总灵敏度和特异度与厂家声明几乎一致(厂家灵敏度为 86.43%,95%CI:82.51%~89.58%;特异度为 99.57%,95%CI:97.63%~99.92%)。

由于胶体金法受抗体结合位点、判读方式所限,灵敏度不及化学发光法,李萍等^[9]研究结果显示,化学发光法检测 IgG 和 IgM 的灵敏度分别为 90.5%、75.9%,检测 IgG 的灵敏度高于胶体金法。但本研究检测的总抗体采用包含抗 μ 链抗体和抗人 IgG 抗体的二抗,其联合检测灵敏度高于单独抗体检测,可使处于不同潜伏期的患者以及体内存在不同抗体成分的人群得以检出;另一方面,LI 等^[10]研究显示,IgM 抗体在生成 2 周左右开始衰减,若仅测定 IgM 抗体,有可能在低于检测限后出现假阴性结果,这时 IgG 抗体大量分泌,通过抗体联合检测可有效降低假阴性率。另外,所有非 COVID-19 患者均未检测出总抗体,特异性表现良好。基于以上特点,胶体金法测定 SARS-CoV-2 总抗体联合核酸检测可适用于社区诊所、公司、学校、机场、海关等地快速定位疑似人群。

89 例 COVID-19 患者中 12 例患者总抗体为阴性,且均存在持续阴性组中,持续阴性组抗体阳性率与其他组阳性率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),其他 3 组抗体阳性率均为 100.0%。结合临床资料,推测原因可能如下:(1)由于临床治疗及病程偏长,SARS-CoV-2 的 IgG 抗体存在不同程度的降解并低于试剂检出限;(2)12 例患者中 9 例(75%)为 65 岁以上,免疫功能相对较低,或接受免疫抑制剂治疗,抗体产生不足或抗体产生所需时间更长,低于试剂检出限;(3)存在病毒其他分型或基因变异,导致抗体与试剂重组抗原的结合受到影响,以至两个血清学检测试剂及基因检测试剂均未能检出;(5)核酸检测的假阴性。另外,本研究结果显示,不同临床分型和发病时间的患者其总抗体阳性率差异均无统计学意义($P > 0.05$),表明总抗体检测结果与临床分型和发病时间均无明显相关性,提示治疗过程中宜基于不同目的分别进行 IgG 和 IgM 的检测。最后,基于抗原检测特点,不同品牌试剂重组抗原选择的蛋白靶点和片段、抗原表达及纯化效果、整体工艺的差异可能会导致极少部分 COVID-19 患者结果的差异。另外,对多次核酸阴性、临床症状明显且总抗体阴性的患者,建议使用化学发光法检测总抗体。

SARS-CoV-2 总抗体检测虽然也存在局限,但结合核酸检测,有利于疫情的控制。文本的局限性在于

COVID-19 组均为普通型及以上,若增加轻型、SARS-CoV-2 无症状感染者的评估,总抗体的检测效能评估将会趋于完善。综上所述,对 COVID-19 患者总抗体检测方便快捷,且有助于疑似人群中感染者的快速定位,有利于疫情的控制。

参考文献

- [1] ZHU N,ZHANG D,WANG W,et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019[J]. N Engl J Med, 2020, 382(8): 727-733.
- [2] LU H, STRATTON C W, TANG Y W. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan China: the mystery and the miracle[J]. J Med Virol, 2020, 92(4): 401-402.
- [3] 中华人民共和国国家卫生健康委员会办公厅, 国家中医药管理局办公室. 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]145 号[EB/OL]. (2020-03-04)[2020-04-15]. http://www.cac.gov.cn/2020-03/04/c_1584872634644633.htm.
- [4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会办公厅, 国家中医药管理局办公室. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)的通知: 国卫办医函[2020]145 号[EB/OL]. (2020-02-19)[2020-04-15]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [5] 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, 43(2020-02-27)[2020-04-15]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1182736.htm>.
- [6] 里进, 叶光明, 陈良君, 等. 新型冠状病毒核酸检测假阴性结果原因分析及对策[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(3): 221-225.
- [7] 莫茜, 秦伟, 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, 43(2020-02-08)[2020-04-15]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1180120.htm>.
- [8] HUANG C, WANG Y, LI X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. Lancet, 2020, 395(10223): 497-506.
- [9] 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步探讨[J/OL]. 中华医学检验杂志, 2020, 43(2020-03-08)[2020-04-15]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1184360.htm>.
- [10] 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]. J Med Virol, 2020, 92(9): 1518-1524.