

2019-nCoV 总抗体两种免疫学检测方法的应用评价

童伟, 陈登奕, 陈俊文, 彭莹, 李月红

(湖北医药学院附属襄阳市第一人民医院检验科, 湖北襄阳 441000)

摘要: 目的 通过胶体金法和化学发光法检测血清中的新型冠状病毒(2019-nCoV)特异性总抗体,对两种方法的敏感度和特异度等进行初步的比较和评价。方法 本研究采用回顾性研究方法,收集2020年2月5日~25日在襄阳市第一人民医院就诊的门诊和住院患者病例119例,根据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》标准分为确诊病例组28例,疑似病例组53例,健康对照组38例。采用胶体金试剂盒和全自动化学发光分析仪对所有研究对象进行2019-nCoV特异性总抗体检测,计算诊断特异度和敏感度。采用 χ^2 检验对疑似病例组检测结果差异进行统计学分析。结果 化学发光法的诊断特异度为100%(38/38),高于胶体金法的97.4%(37/38),两种方法敏感度都为100%(28/28);对疑似病例组的检测两种方法无显著性差异($\chi^2=0.78, P>0.05$),胶体金法弱阳性结果较多,值得探讨。结论 两种测定2019-nCoV特异性总抗体的方法敏感度和特异度都很高,对疑似病例的诊断无显著性差异,均可作为新型冠状病毒感染的有效筛查和诊断指标。

关键词: 新型冠状病毒;胶体金法;化学发光法;敏感度;特异度

中图分类号: R373.19; R446 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414(2020)02-080-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.02.023

Application Evaluation of Two Immunological Detection Methods of 2019-nCoV Specific Antibodies

TONG Wei, CHEN Deng-yi, CHEN Jun-wen, PENG Ying, LI Yue-hong

(Xiangyang NO.1 People's Hospital Affiliated to Hubei University of Medicine, Hubei Xiangyang 441000, China)

Abstract: **Objective** The sensitivity and specificity of the two methods were compared and evaluated by using the immune colloidal gold technique (GICT) and chemiluminescence method (CL) to detect total antibodies of 2019-nCoV in serum. **Methods** This was a retrospective study. Serum samples were collected from 119 patients including outpatients and inpatients in Xiangyang NO. 1 People's Hospital from February 5, 2020 to February 25, 2020. Among them 119 cases confirmed according to the New Coronavirus Pneumonia Control Protocol (6th edition). GICT and CL were used to detect 2019-nCoV antibodies in 119 samples, including 38 healthy people, 53 suspected cases and 28 confirmed cases. Statistical significance between GICT and CL was determined using the χ^2 tests. **Results** In 2019-nCoV antibody detection, the diagnostic specificity of CL (100%) was higher than GICT (97.4%), while the sensitivity of two methods was 100%. There was no obvious difference between CL and GICT in suspected cases ($\chi^2=0.78, P>0.05$). Compared with CL, GICT had more weak positive results. **Conclusion** The sensitivity and specificity of the two detection methods can meet the needs of clinical screening. Both methods are effective screening and diagnostic indicators for 2019-nCoV infection.

Keywords: 2019-nCoV; GICT; CL; Sensitivity; Specificity

2019年12月以来,湖北省武汉市部分医院陆续发现了多例有华南海鲜市场暴露史的不明原因肺炎病例^[1],并在随后的1个多月内迅速蔓延至全国。

“早发现、早隔离、早诊断、早治疗”是目前应对新型冠状病毒的最有效手段,临床对于新冠肺炎的诊断主要依据患者的临床表现、流行病学史、影像学检查和实验室检查^[2]。2020年3月3日国家卫健委发布了《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》,第一次将2019-nCoV特异性抗体检测纳入临床确诊标准,同时国家药监局也应急审批了广州

万孚(胶体金试纸条)、英诺特(唐山)、博奥塞斯(重庆)和厦门万泰(化学发光法)四家企业的注册申请,本研究选取了广州万孚的胶体金法和厦门万泰的化学发光法两种不同的2019-nCoV总抗体检测系统,从灵敏度、特异度等方面进行评价,并比较各种系统的优势和缺点,为临床选取合适的检测策略提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象 根据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》标准,选取2020年2月5日~

25日我院收治的新型冠状病毒肺炎确诊病例和疑似病例(含临床确诊病例)81例,同时选取38例体检人群作为健康对照组。根据两次以上2019-nCoV核酸检测结果,将病例分为确诊病例组28例,女性11例,男性17例,年龄28~81岁,平均年龄(53.4 ± 21.3)岁,两次以上核酸结果阳性,均为发病7日以上;疑似病例组53例,女性25例,男性28例,年龄35~67岁,平均年龄(55.6 ± 14.7)岁,有明确的流行病学接触史及典型的临床症状和肺部影像学特征,但两次核酸结果阴性,均为发病7日以上;健康对照组38例,无明确的流行病学接触史及典型的临床症状和肺部影像学特征,且核酸结果阴性。

1.2 试剂和仪器

1.2.1 试剂:新型冠状病毒(2019-nCoV)抗体(IgG+IgM)检测试剂盒(广州万孚),样本缓冲液(广州万孚),2019-nCoV总抗体(IgG+IgM)检测试剂盒(厦门万泰)。

1.2.2 仪器:低速离心机(安徽中佳),生物安全柜(山东新华),Caris200全自动化学发光分析仪(北京万泰)。

1.3 试验方法

1.3.1 样本收集与处理:采集所有研究对象静脉血5ml,置于含分离胶的黄头真空采血管内,静置20min,于生物安全柜内2500g离心10min,静置30min,取血清备用。

1.3.2 胶体金法测定:采用新冠病毒抗体(IgG+IgM)检测试剂盒按操作说明书进行操作,该方法采用免疫层析技术原理,应用捕获法检测人血清抗体。

1.3.3 化学发光法测定:使用Caris200全自动化学发光分析仪采用新冠病毒总抗体(IgG+IgM)检测试剂盒进行检测,检测前已做好校准,该方法采用双抗体夹心法,运用吖啶酯化学发光原理检测。测定仪根据RLU及内置校准曲线自动计算出S/CO值。样本S/CO值<1.0时为阴性, ≥ 1.0 时视为抗体有反应性。

1.4 统计学分析 采用SPSS15.0进行统计学分析,疑似病例组数据使用配对资料 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 诊断特异度评价 分别用胶体金法和化学发光法检测38例阴性对照组血清中2019-nCoV总抗体,胶体金法37例为阴性,1例弱阳性,诊断特异度为97.4%;化学发光法38例都为阴性,诊断特异度为100%。胶体金为弱阳性的一例患者无任何新冠病毒感染的临床表现,进而对该病例行影像学检查,

CT显示两肺清晰可见。询问既往史得知其患有类风湿,加查类风湿因子为阳性,考虑可能由于类风湿因子升高导致胶体金法检测“假阳性”或“弱阳性”。

2.2 诊断敏感度评价 分别用胶体金法和化学发光法检测28例确诊病例组血清中2019-nCoV总抗体,两种检测方法全部阳性,即诊断敏感度为100%。

2.3 两种方法在疑似病例诊断中的比较 分别用胶体金法和化学发光法检测53例疑似病例组血清中2019-nCoV总抗体,结果详见表1。化学发光法和胶体金法在检测疑似病例时两种方法差异无统计学意义($\chi^2=0.78$, $P>0.05$)。疑似病例组有两例患者血清中2019-nCoV总抗体用胶体金法检测为弱阳性,而化学发光法均显示阴性,经医院专家组会诊讨论,结合影像学 and 血细胞分析结果,不支持新型冠状病毒肺炎,考虑两例为“假阳性”。胶体金法作为经典的免疫学定性检测方法,通过肉眼观察颜色来判断阴阳性,为了保证较高的敏感度,弥补核酸检测的假阴性率高的问题,有可能调低了检测限的临界值(cut-off值),或者因为某些原因检测到其它无活性的病毒分子片段产生交叉反应,从而造成“假阳性”或“弱阳性”的结果。

表1 两种方法在疑似病例组中2019-nCoV抗体检测结果比较

项 目		胶体金法		合计
		阳性例数	阴性例数	
化学发光法	阳性例数	9	0	9
	阴性例数	2	42	44
	合计	11	42	53

3 讨论

2019-nCoV引发的肺炎疫情已经被世界卫生组织定性为世界大流行。目前2019-nCoV病原学检测方法主要包括病毒核酸检测和血清抗体检测,核酸检测主要采用实时荧光RT-PCR方法^[3]检测鼻咽拭子、痰液、肺泡灌洗液等呼吸道中的病毒RNA。血清抗体检测通常检测患者血清或血浆样本中的IgM, IgG抗体或特异性的总抗体^[4]。一般情况下, IgM是初次免疫应答最早出现的抗体,但持续时间不长,是近期感染的标志物。IgG是再次免疫应答产生的主要抗体,出现较晚,但持续时间长,且IgG滴度升高4倍以上可以作为再次感染的标志。本研究采用的特异性总抗体包括了IgM和IgG在内的全部新冠病毒特异性抗体,既具有IgM抗体检测早期诊断新型冠状病毒感染的优势,又具有检测IgG抗体既往感染(包括处于恢复期IgM下降的患者)的特点。

研究表明,胶体金法和化学发光法在检测 2019-nCoV 总抗体时灵敏度和特异度都能够达到临床要求,对疑似病例的诊断无显著差异,在应用价值上各有优缺点。胶体金法检测不需要设备,方便快捷,适合于基层医疗机构和社区进行筛查试验,但是结果无法定量,对于弱阳性的结果靠肉眼判断比较困难,易受类风湿因子、异嗜性抗体、补体等干扰物质干扰,容易产生“假阳性”结果。因此遇到“弱阳性”结果需要更换检测方法复查。化学发光法检测 2019-nCoV 抗体可以采用接收机工作特征(Receiver Operating characteristic,ROC)曲线确定阳性判断值^[5],做到相对定量,而且使用大型自动化仪器进行检测,操作安全,高通量,结果可靠性强,因此更适合综合性医疗机构进行大批量检测或体检机构进行大规模筛查。但对单个样本检测时间一般大于 30min,不适合特殊场合的快检需求。

由于本研究病例数量有限,可能对两种方法的应用评价还不全面,需要进一步收集更多相关病例资料。同时对比的两种方法均为免疫学检测方法检测患者血清中抗体的水平,而抗体的产生都有窗口期,此时免疫学方法就无法对其进行有效检测。因此抗体检测对核酸检测容易漏检的问题是很好的补充,将在新型冠状病毒肺炎的诊断、治疗监测和病程转归等方面提供更多的临床数据^[6]。

参考文献:

- [1] BENVENUTO D, GIOVANNETTI M, CICCIOZZI A, et al. The 2019-new coronavirus epidemic:evidence for virus evolution[J]. Journal of Medical Virology, 2020, 92(4): 455-459.
- [2] HUANG Chaolin, WANG Yeming, LI Xingweng, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan,China[J]. Lancet, 2020, 395(10223): 497-506.
- [3] CHU D K W, PAN Yang, CHENG S M S, et al. Molecular diagnosis of a novel coronavirus(2019-nCoV)causing an outbreak of pneumonia.[J].Clin Chem,2020. pii: hvaa029. doi: 10.1093/clinchem/hvaa029. [Epub ahead of print].
- [4] ZHANG Naru, WANG Lili, DENG Xiaoqian, et al. Recent advances in the detection of respiratory virus infection in humans[J]. Journal of Medical Virology, 2020, 92(4): 408-417.
- [5] 任党丽, 李卓禹, 高云婷, 等. 利用 ROC 曲线分析 TK1 和 DNA 倍体分析时急性髓系白血病的诊断价值 [J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32 (3): 30-33.
REN Dangli, LI Zhuoyu, GAO Yunting, et al. Diagnosis value of ROC curve analysis on TK1 and DNA ploidy for patients with acute myeloid leukemia[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(3): 30-33.
- [6] 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 (2020-02-27). <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1182736.htm>.
XU Wanzhou, LI Juan, HE Xiaoyun, et al. The diagnostic value of joint detection of serum IgM and IgG antibodies to 2019-nCoV in 2019-nCoV infection [J]. Chin J Lab Med, 2020, 43 (2020-02-27). <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1182736.htm>.

收稿日期: 2020-03-12
修回日期: 2020-03-17

(上接 67 页)

- [9] 徐岩. 瞬时受体电位锚蛋白 1 和 P 物质在急性胃黏膜损伤中的作用及机制研究 [D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2018.
XU Yan. The potential mechanism of TRPA 1 and substance P in acute gastric mucosal lesions [D]. Shanghai: Naval Medical University of the People's Liberation Army, 2018.
- [10] 王奕润. P 物质在糖尿病大鼠胰腺内的变化及其对胰岛细胞物质分泌的影响 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2018.
WANG Yirun. Changes in the expression of substance P in diabetic rats and its effects on islet [D]. Shenyang: Chinese Medical Sciences University, 2018.
- [11] 王静. 血清 Hcy, Cys C 联合尿 β 2-MG 水平检测对

糖尿病肾病的诊断价值观察 [J]. 实用糖尿病杂志, 2019, 15 (4): 66-67.

WANG Jing. Observation on the diagnostic value of serum Hcy, Cys C combined with urine β 2-mg level in diabetic nephropathy [J]. Journal of Practical Diabetes, 2019, 15 (4): 66-67.

- [12] 周颖. 精细护理模式对高龄糖尿病肾病血液透析患者影响评价 [J]. 实用糖尿病杂志, 2019, 15 (4): 14-15.

ZHOU Ying. Evaluation of the effect of fine nursing mode on the elderly patients with diabetic nephropathy undergoing hemodialysis [J]. Journal of Practical Diabetes, 2019, 15 (4): 14-15.

收稿日期: 2019-09-02
修回日期: 2019-10-26