

荧光免疫层析法检测全血 2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体在新型冠状病毒肺炎诊断中的应用

陈泽衍¹, 马雯¹, 张立俊¹, 许玉成², 申红卫¹, 刘娇¹, 梁琪³, 陈晓静³, 贾兴旺¹

(1. 南方医科大学深圳医院检验科, 广东深圳 518110; 2. 深圳市福田区疾病预防控制中心, 广东深圳 518040; 3. 深圳大学总医院检验科, 广东深圳 518055)

摘要: 目的 探究荧光免疫层析法检测 IgM 和 IgG 抗体在诊断新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 患者中的应用价值。方法 选取 2020 年 1~2 月在隔离病区收治观察的 28 例留观患者作为观察组, 均是首次新型冠状病毒 (2019-nCoV) 咽拭子核酸检测阳性而第二次以后连续两次核酸检测为阴性的患者, 将同期发热门诊排除 COVID-19 的 30 例发热患者作为对照组, 采用荧光免疫层析法检测所有研究对象的 2019-nCoV 免疫球蛋白 M (IgM) 和免疫球蛋白 G (IgG) 抗体水平, 采用秩和检验对组间差异进行统计学分析; 比较两组患者 2019-nCoV IgM 和 IgG 的阳性检出率; 计算荧光免疫层析法检测 2019-nCoV IgM 和 IgG 水平诊断新型冠状病毒肺炎的灵敏度和特异度。结果 观察组 2019-nCoV IgM 和 IgG 水平差异有统计学意义 (均 $Z=-6.412$, $P<0.05$); 观察组 2019-nCoV IgM 和 IgG 的阳性检出率分别为 71.4% 和 75.0%, 联合检测阳性检出率为 96.4%。结论 荧光免疫层析法检测 IgM 和 IgG 抗体在新型冠状病毒肺炎诊断中具有较高的灵敏度和特异度, 可作为新型冠状病毒感染的有效筛查指标。

关键词: 荧光免疫层析法; 新型冠状病毒; 2019-nCoV; COVID-19; 免疫球蛋白 M; 免疫球蛋白 G

中图分类号: R373.1; R392.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2020) 03-084-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.03.021

Application of 2019-nCoV IgM and IgG Tests by Fluorescence Immunochromatography in the Diagnosis of 2019-nCoV Infections

CHEN Ze-yan¹, MA Wen¹, ZHANG Li-jun¹, XU Yu-cheng², SHEN Hong-wei¹, LIU Jiao¹, LIANG Qi³, CHEN Xiao-jing³, JIA Xing-wang¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Hospital of Southern Medical University, Guangdong Shenzhen 518110, China; 2. Futian District Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Shenzhen 518040, China; 3. Department of Clinical Laboratory, the General Hospital of Shenzhen University, Guangdong Shenzhen 518055, China)

Abstract: Objective To investigate the value of 2019-nCoV IgM and IgG tests by fluorescence immunochromatography in the diagnosis of 2019-nCoV infections. **Methods** From January 2020 to February 2020, 28 patients who were admitted and observed in the isolated area were selected as the observation group. They were the first novel coronavirus (2019-nCoV) nucleic acid test positive for throat swabs, and two times negative for second times after nucleic acid test. Other 30 patients who visited the fever clinic without 2019-nCoV infections during the same period were enrolled as controls. The 2019-nCoV IgM and IgG levels were detected using fluorescence immunochromatography for all the patients. The difference of antibody levels between the two groups was analyzed using Wilcoxon rank sum test. The sensitivity and specificity of IgM and IgG tests in diagnosis of 2019-nCoV infections were also analyzed. **Results** The IgM and IgG levels in the 2019-nCoV group was significantly higher than those in controls. The positive detection rate of 2019-nCoV IgM, IgG, and IgM+IgG in the observation cases was 71.4%, 75.0% and 96.4%, respectively. **Conclusion** Fluorescence immunochromatography for 2019-nCoV IgM and IgG has achieved high sensitivity and specificity in the diagnosis of 2019-nCoV infections. The combination of IgM and IgG improved the sensitivity and could be used as effective screening and diagnostic indicators.

Keywords: fluorescence immunochromatography; New Coronavirus; 2019-nCoV; COVID-19; IgM; IgG

自 2019 年 12 月至今, 2019-nCoV 已造成全国八万多人感染, 三千多人死亡。2020 年 1 月 20 日我国将新型冠状病毒感染的肺炎纳入法定乙类传

染病, 并采取甲类传染病的预防、控制措施^[1]。COVID-19 潜伏期长、进展迅速、死亡率高, 严重影响人民的身体健康, 因此, 建立早期、快速、简便、

作者简介: 陈泽衍 (1986-), 男, 本科, 主管检验师, 研究方向: 生化及免疫, E-mail: chenzyan8@163.com。

通讯作者: 贾兴旺, 副主任技师, E-mail: jiaxingw301@163.com。

准确的诊断体系,及时隔离疑似病例,是切断这种烈性传染病传播最重要的手段。

机体感染 2019-nCoV 后,免疫系统会针对该病毒发生免疫反应,产生特异性抗体。IgM 抗体是机体受感染后免疫系统最早产生的抗体,可作为早期感染的指标;IgG 抗体的产生通常晚于 IgM,是既往感染的指标。特异性抗体 IgM 和 IgG 广泛应用于各种疾病的临床诊断,国家卫生健康委员会发布的《新型冠状病毒肺炎防控方案(第七版)》^[2]已把新型冠状病毒抗体检测列为疑似病例确诊的病原学证据之一。本研究通过检测全血 IgM 和 IgG 抗体来评估荧光免疫层析法检测 2019-nCoV IgM 和 IgG 的应用价值,从而更好地指导临床对 COVID-19 患者的分类管理。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2019 年 1~2 月期间首次 2019-nCoV 核酸阳性而以后连续两次核酸检测均阴性的患者作为观察组,将本院同期发热门诊排除 COVID-19 的其他发热患者作为对照组。观察组 28 例,男性 15 例,女性 13 例,年龄 15~62 岁,平均年龄 38.82 ± 12.23 岁;对照组 30 例,男性 19 例,女性 11 例,年龄 7~82 岁,平均年龄 36.43 ± 17.74 岁。两组患者上述资料对比无明显差异 ($P>0.05$)。该回顾性研究经我院伦理委员会批准(伦理号: NYSZYEC20200009),所有患者数据都是匿名的,故予以豁免患者知情同意。纳入标准:①符合《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[2]中的诊断标准;②均属于首次发病;③首次核酸检测阳性而第二次以后连续两次核酸检测均阴性者;④临床资料完整者。排除标准:①存在自身免疫性疾病患者;②有免疫缺陷疾病患者;③患有恶性肿瘤患者。

1.2 试剂与仪器 检测试剂用北京丹大生物技术有限公司生产的新型冠状病毒抗体测定试剂盒(荧光免疫层析法),用配套的干式荧光免疫分析仪(KHF01)检测 2019-nCoV IgM 和 IgG 水平。根据试剂盒说明书,所有阳性值以大于正常范围为判断标准。

1.3 方法 抽取患者 EDTA 抗凝全血 2~3ml,检测 2019-nCoV IgM 和 IgG 水平,比较两组患者全血 2019-nCoV IgM 和 IgG 检测值及阳性检出率,阳性检出率 = 阳性检出例数 / 研究组例数 $\times 100\%$ 。比较全血 2019-nCoV IgM 和 IgG 检测及联合检测诊断新型冠状病毒肺炎的灵敏度和特异度。

1.4 统计学分析 采用 Excel 2013 建立数据库,采用 SPSS 20.0 进行统计学分析,其中:抗体水平采用中位数和四分位间距描述,计数资料采用百分比

描述;率的比较用 χ^2 检验(Fisher 精确检验),对总体不符合正态分布或方差不齐的两组连续变量的比较采用 Wilcoxon 秩和检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 两组患者全血 2019-nCoV IgM 和 IgG 检测值比较 见表 1。进行秩和检验分析观察组的抗体水平显著高于对照组,差异具有统计学意义。

表 1 观察组与对照组 IgM 和 IgG 抗体比较 [M(P₂₅~P₇₅)]

项目	观察组	对照组	Z	P
IgM(U/L)	1.09 (0.87, 1.73)	0.18(0.12,0.28)	-6.412	<0.001
IgG(U/L)	1.37 (0.98, 13.60)	0.38(0.17,0.51)	-6.412	<0.001

2.2 两组患者 2019-nCoV IgM 和 IgG 的阳性检出率比较 见表 2。观察组 IgM 和 IgG 的阳性检出率分别为 71.4% 和 75.0%, IgM 和 IgG 联合检测阳性检出率为 96.4%, 高于 IgM 或 IgG 单项检测, 对照组 IgM 或 IgG 的阳性检出率为 0%。

表 2 两组患者 2019-nCoV IgM 和 IgG 的阳性检出率比较 (%)

类别	观察组 (n=28)	对照组 (n=30)
IgM+,IgG-	21.4	0
IgM+,IgG+	50	0
IgM-,IgG+	25	0
IgM-,IgG-	3.6	100

2.3 2019-nCoV IgM 和 IgG 检测的灵敏度和特异度比较 2019-nCoV IgM 和 IgG 检测的灵敏度分别为 71.4% 和 75.0%, 特异性均为 100%, 两者联合检测的灵敏度为 96.4%。

3 讨论

荧光 RT-PCR 是检测 2019-nCoV 核酸最成熟、应用最广的实验室确诊方法,但此方法敏感度较低,且对实验条件、设施、人员要求高,检测时间长而且影响因素多,单纯使用咽拭子筛查有可能出现假阴性^[3]。最新的研究显示,咽拭子在新型冠状病毒核酸检测中存在较高的漏检率^[4],此外,样本的采集、运输、储存和核酸检测试剂盒质量等问题均可影响检测结果^[5-9]。

有研究者针对 98 例 SARS 患者的研究发现一般在感染 7 天后可以发现 IgM 阳性,并在发病 3 周后阳性最高,15 天左右出现 IgG 阳性,60 天左右阳性最高,且持续时间较长^[10]。ZHANG 等^[11]连续监测 15 例 COVID-19 患者 IgG 和 IgM 的滴度变化,发现采样第 5 天 IgG 的阳性率(81%~100%)和 IgM 的阳性率(50%~81%)都大幅增加。我们的研究结果显示,观察组 2019-nCoV IgM 和 IgG 的抗体水平显著高于对照组,差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。2019-nCoV IgM 和 IgG 的阳性检出率

分别为71.4% (20/28) 和75.0% (21/28), 而联合检测阳性检出率高达96.4% (27/28), 由此可见, 2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体检测试剂具有较高的灵敏度, 2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体的检测有望弥补核酸检测漏检的风险。对照组中30例全血标本2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体均为阴性, 说明该试剂盒对 COVID-19 的诊断具有较高的特异度, 可以作为 COVID-19 的筛查和诊断。

观察组中 IgM 单阳性患者占21.4% (6/28), 提示该部分患者初次感染载量较低的2019-nCoV 并处于感染早期, 机体免疫应答产生少量的 IgM 抗体而尚未产生 IgG, 应关注这部分患者病情的变化。IgM 和 IgG 均阳性患者占50% (14/28), 说明该观察组的大部分患者处于感染中期或恢复期, IgM 尚未减低至检测下限, 持久性抗体 IgG 已产生, 机体已经对2019-nCoV 产生了一定的免疫能力; 或核酸检测结果假阴性, 患者处于感染活跃期。IgG 单阳患者占25% (7/28), 这部分患者随着 IgM 浓度的下降直至消失和 IgG 浓度的升高, 预示患者逐渐痊愈并获得对2019-nCoV 的免疫力, 如恢复期 IgG 抗体仍持续升高, 较急性期增加4倍及以上时, 应提防复发感染的可能。IgM 和 IgG 均阴性患者占3.6% (1/28), 通过分析该患者的临床症状和流行病学史, 虽然该患者连续两次核酸检测和抗体检测均阴性, 但临床症状和影像学检查符合疑似病例诊断, 且抗体水平较对照组的平均水平偏高, 患者可能处于2019-nCoV 感染“窗口期”, 需进一步监测抗体滴度的变化。

2020年2月21日国家卫生健康委员会发布的《新型冠状病毒肺炎防控方案(第五版)》中附件4《新型冠状病毒肺炎实验室检测技术指南》^[12], 指出应用新型冠状病毒抗体检测可作为新型冠状病毒肺炎的辅助诊断; 2020年3月3日国家卫生健康委员会发布的《新型冠状病毒肺炎防控方案(第七版)》在原有基础上增加了“血清学检测”作为依据^[2], 把新型冠状病毒抗体检测列为疑似病例确诊的病原学证据之一, 随着检验手段的不断提升, 防控方案的不断更新, 抗体检测在 COVID-19 的诊断中起着重要的作用。本研究采用外周血样本进行2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体检测, 样本采集和保存简单易行可控, 避免多次采集鼻咽拭子标本所冒被传染的风险, 检测方法不需要特别的操作人员, 基层医院均可开展, 实验条件要求低, 操作简便快捷, 15min 即可出结果。

综上所述, 采用荧光免疫层析法检测2019-nCoV IgM 和 IgG 诊断 COVID-19 患者具有灵敏度高、特异度好的特点。该方法操作简单、适合中等

批量样本筛查, 是对核酸检测的良好补充。利用该方法监测患者抗体浓度变化可动态监测患者康复过程, 本文的样本例数有限, 2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体的临床价值有待后续工作继续研究。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会公告. 新型冠状病毒感染的肺炎纳入法定传染病管理 [EB/OL]. (2020-01-20) [2020-02-05]. <http://www.nhc.gov.cn/jkj/s7916/202001/44a3b8245e8049d2837a4f27529cd386.shtml>.
- [2] 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(试行第七版) [EB/OL]. (2020-03-03) [2020-03-09]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2/files/b218cfeb1bc54639af227f922bf6b817.pdf>.
- [3] XU Xintian, CHEN Ping, WANG Jingfang, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission [J]. Science China (Life Sciences), 2020, 63(3): 457-460.
- [4] 陈炜, 张春阳, 朱颖, 等. 4例新型冠状病毒感染病例咽拭子与痰标本病毒核酸检测的比较 [J]. 中国人兽共患病学报, 2020, 36(5): 354-358.
CHEN Wei, ZHANG Chunyang, ZHU Ying, et al. Comparison of throat swab and sputum specimens for viral nucleic acid detection in four cases of 2019-nCoV infection [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2020, 36(5): 354-358.
- [5] 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): 641-643, 647.
GAO Weiyin, ZHANG Hong, LUO Yang. Preventing false negative results in detecting new coronavirus nucleic acid [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2020, 41(6): 641-643, 647.
- [6] 邱峰, 王慧君, 张子康, 等. 新型冠状病毒 SARS-CoV-2 的实验室检测技术 [J]. 南方医科大学学报, 2020, 40(2): 164-167.
QIU Feng, WANG Huijun, ZHANG Zikang, et al. Laboratory testing techniques for SARS-CoV-2 [J]. Journal of Southern Medical University, 2020, 40(2): 164-167.
- [7] 施绍瑞, 聂滨, 郭渝, 等. 新型冠状病毒肺炎病例多种生物样本的病毒核酸检测结果 [J]. 华西医学, 2020, 35(2): 132-136.
SHI Shaorui, NIE Bin, GUO Yu, et al. Detection of 2019 novel coronavirus in various biological specimens of novel coronavirus pneumonia [J]. West China Medical Journal, 2020, 35(2): 132-136.
- [8] 钟慧钰, 赵珍珍, 宋兴勃, 等. 新型冠状病毒核酸临床检测要点及经验 [J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(5): 523-526.
ZHONG Huiyu, ZHAO Zhenzhen, SONG Xingbo, et al. Clinical points and experience in nucleic acid testing of SARS-CoV-2 [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2020, 41(5): 523-526.

(下转 93 页)