- [10] 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.
- [11] 郭元元, 王昆, 张宇, 等. 6 种国产新型冠状病毒核酸检测试剂检测性能比较与分析[J/OL]. 重庆医学, 1-10(2020-02-28) [2020-07-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20200212.0900.006.html>.
- [12] 沈利华, 黄菲, 陈祥, 等. 三种国产严重急性呼吸综合征冠状病毒 2(SARS-CoV-2) 核酸检测试剂盒临床诊断效能评估[J]. 浙江大学学报(医学版), 2020, 49(2): 185-190.
- [13] ZHOU F, YU T, DU R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study[J]. Lancet, 2020, 395(10229): 1054-1062.
- [14] 李泉, 刘钉宾, 乔正荣, 等. SARS-CoV-2 IgM/IgG 抗体检测在新型冠状病毒肺炎诊断中的价值[J/OL]. 国际检验医学杂志, 1-10(2020-03-04) [2020-07-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20200304.1041.006.html>.
- 个案分析 •

收稿日期: 2020-03-21 修回日期: 2020-07-25

1 例临床表现不典型 COVID-19 患者新型冠状病毒特异性抗体检测的临床意义

蔡伟, 吴啸天, 薛建江[△]

(重庆医科大学附属大学城医院检验科, 重庆 410331)

关键词: 新型冠状病毒; 特异性抗体; 临床表现

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.20.033

文章编号: 1673-4130(2020)20-2554-03

中图法分类号: R446.6

文献标识码: C

新型冠状病毒肺炎(COVID-19)是由新型冠状病毒(SARS-CoV-2)引起的一种肺炎,该病毒属于 β 属冠状病毒,有包膜,颗粒呈圆形或椭圆形,常为多形性,直径60~40 nm,其基因特征与严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)和中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)有明显区别^[1]。基于目前的流行病学调查,该病潜伏期1~14 d,多为3~7 d, GUAN等^[2]研究显示,有个别病例潜伏期长达24 d。患者临床表现以发热、乏力、干咳为主,少数患者伴有鼻塞、流涕、咽痛和腹泻等症状。实时荧光 RT-PCR 检测 SARS-CoV-2 核酸阳性或病毒基因测序与已知的 SARS-CoV-2 高度同源作为确诊的依据^[3]。相对基因测序,实时荧光 RT-PCR 是较为简单且快速的检测方法。但核酸检测假阴性率较高,《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》^[4]也指出,对于疑似病例尤其是临床表现不典型的患者要尽可能采取快速抗原、抗体检测等多种方法以便对核酸检测起必要的补充作用。以下是本院对1例临床表现不典型的 COVID-19 患者进行 SARS-CoV-2 特异性抗体检测的诊治过程,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者为本院收治的第1例疑似 SARS-CoV-2 感染的患者,男,25岁,自由职业,未婚,

重庆市沙坪坝区土主镇人,于武汉务工,独居。患者自述2020年1月22日欲返渝,21日18:00与朋友共3人在家中聚餐,次日独自驾车返渝,此后一直在家并未外出,也无亲戚走访,其间未感明显不适。2月5日,了解到在武汉聚过餐的朋友确诊为 COVID-19,2月7日22:15至本院发热门诊就诊并主动要求隔离治疗。接诊后,本院按照《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第五版)》^[3]的标准,结合流行病学史及患者主诉,将患者收入本院隔离观察病房。

1.2 仪器与试剂 磁微粒化学发光法定性检测 SARS-CoV-2 IgM/IgG 抗体,试剂盒购自博奥赛斯(重庆)生物科技有限公司(国械注准:20203400182/400183;试剂批号:Z202002043/Z202002040);全自动博奥赛斯 Aceed260 化学发光分析仪用于抗体检测。SARS-CoV-2 ORF1ab/N 基因双重核酸检测试剂盒(PCR 荧光探针法/荧光 PCR 法)购自湖南圣湘生物科技有限公司(国械注准:20203400064;试剂批号:2020002)及上海捷诺生物科技有限公司(国械注准:20203400058;试剂批号:COV2020007);核酸提取试剂盒(沪浦械备:20160107号 PZ0190601)及 EX3600 全自动核酸提取仪购自上海之江生物科技股份有限公司;SLAN-96P 荧光定量 PCR 仪购自上海宏石医疗科技有限公司。

[△] 通信作者, E-mail: 529033882@qq.com.

1.3 方法

1.3.1 标本采集 严格按相关要求采集并及时转运患者咽拭子及静脉血标本用于 SARS-CoV-2 及免疫球蛋白的测定。采用无抗凝剂真空采血管采集患者静脉血 5 mL, 室温静置 30 min, 1 500~2 000 r/min 离心 10 min, 分离血清备用。

1.3.2 核酸检测 采用实时荧光 RT-PCR 法, 针对 SARS-CoV-2 基因组中开放读码框 1ab(ORF1ab) 和核衣壳蛋白(N)基因进行检测。严格按照相关标准及厂家说明书设置实验条件及进行核酸检测结果 Ct 值的判读。SARS-CoV-2 检测阳性的标准: 需同时满足同一份标本中 SARS-CoV-2 的 ORF1ab 及 N 基因检测双阳性, 单一基因阳性需查找原因、重新采集标本复查。

1.3.3 血清抗体检测 采用全自动磁微粒化学发光法分析技术定性检测 SARS-CoV-2 IgM/IgG 抗体, 临界值(cut-off 值)定为 97.5%CI, 即为阳性对照发光均值 $\times 0.1$ +阴性对照发光均值。标本检测结果 S/CO=标本发光值/cut-off 值, 若标本 S/CO<1, 检测结果判定为阳性; 标本 S/CO ≥ 1 , 检测结果判定为阴性; 标本 S/CO 0.7~1 时为灰区, 建议 3~5 d 后重新抽血复查。

2 结 果

根据患者流行病学史及主诉, 患者偶有干咳, 无发热, 体温 36.7 °C, 脉搏 75 次/分钟, 心率 18 次/分钟, 血压 110/71 mm Hg。查体: 全身皮肤黏膜无苍白黄染, 无瘀斑瘀点; 睑结膜无苍白, 巩膜无黄染; 浅表淋巴结未扪及肿大; 口唇红润无发绀; 双肺呼吸音清, 双下肺未闻及湿啰音。血常规: 白细胞计数 $5.6 \times 10^9/L$, 淋巴细胞计数 $0.36 \times 10^9/L$, C 反应蛋白(CRP)5.2 mg/L, 9 项呼吸道病原体 IgM 抗体联合检测结果阴性; 肝功能、心肌酶谱及胸部 CT 片等未见明显异常。2020 年 2 月 8 日、10 日本院先后采集其咽拭子标本分别送重庆市疾病预防控制中心(以下简称“疾控中心”)及本院检验科进行 SARS-CoV-2 核酸检测(本院自 2 月 10 日起开展 SARS-CoV-2 核酸及抗体检测工作), 检测结果均为阴性; 但 2 月 10 日患者于本院送检血清检测 SARS-CoV-2 特异性抗体 IgM、IgG 为阳性, 见表 1。

表 1 患者 SARS-CoV-2 核酸及抗体检测结果

送检时间	送检地点	核酸检测结果		抗体检测结果	
		咽拭子	粪便	IgM	IgG
2020 年 2 月 8 日	疾控中心	-	/	/	/
2020 年 2 月 10 日	本院检验科	-	/	+	+
2020 年 2 月 10 日	疾控中心	-	/	/	/
2020 年 2 月 12 日	公卫中心	-	+	/	/
2020 年 2 月 14 日	公卫中心	-	+	+	+

注: + 为阳性; - 为阴性; / 为未检测。

2 月 12 日患者转至重庆市公共卫生救治中心(以下简称“公卫中心”)行一步观察及治疗。当日再次取样送至疾控中心检测(标本包括咽拭子、粪便标本), 次日结果显示咽拭子核酸检测结果阴性, 粪便标本核酸检测结果阳性。2 月 14 日再次取样复测, 结果同前。2 月 14 日加查抗体, 结果 IgM、IgG 仍阳性。

3 讨 论

本研究纳入的患者临床表现不典型, 两次核酸结果为阴性, 符合解除隔离及出院标准^[5], 若首诊未检测 SARS-CoV-2 特异性抗体, 此患者极有可能会被漏诊。反观该患者多次核酸检测的结果, 如果仅采集上呼吸道标本如咽拭子进行检测, 也会造成漏诊。由于 SARS-CoV-2 造成的肺炎为下呼吸道感染, 对于已有症状及肺部 CT 改变的患者来说, 下呼吸道标本(如深部咳痰、灌洗液等)为核酸检测的首选标本, 且呼吸道标本中的 SARS-CoV-2 核酸检出率由高到低依次为肺组织(金标准)>支气管肺泡灌洗液>抽吸痰或咳痰>鼻咽拭子或口咽拭子>鼻拭子。本例患者下呼吸道感染症状不明显, 临床并未送检。因本院采用的试剂盒说明书未提及血清标本的检测, 故未建议临床送检血清。

随着对 SARS-CoV-2 核酸检测技术的深入研究, 有专家共识也提出可用患者的血清、粪便等标本进行病毒核酸的检测^[5], 表明了 SARS-CoV-2 感染后可能会影响机体多个系统, 标本类型应多样化。尽管如此, 核酸检测阳性仍是 COVID-19 确诊的标准, 但由于受到标本采集的规范性问题、标本类型及质量问题、操作人员技术问题等因素的影响, 目前假阴性率仍较高。作为一项病毒核酸检测技术, 其结果影响因素也涵盖了检测前、检测中、检测后各个方面。可能由于最初主要采集鼻咽拭子进行检测, 同时 COVID-19 患者又少有深部咳痰等下呼吸道标本, 因此, 检测前因素对核酸检测结果的影响比较大。而已有的文献报道, COVID-19 患者发热第 7 天后, 采用荧光定量 RT-PCR 法在血液、粪便、尿液标本中均未检测出 SARS-CoV-2, 意味着核酸检测用于诊断发病 7 d 以后的 COVID-19 患者可能出现漏诊^[6]。为了更进一步明确 SARS-CoV-2 感染患者的诊断, 《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》^[4]指出对于疑似病例要尽可能采取快速抗原及抗体检测等多种方法, 目前实验室已开展 SARS-CoV-2 IgM 及 IgG 抗体检测, 更为灵敏的核酸检测方法如数字 PCR 也有一定的应用, 有望在 SARS-CoV-2 的实验室检测中发挥重要的作用。

从临床诊断方面来看, 由于 SARS-CoV-2 传染性强, 患者病情进展较快, 部分患者临床表现轻微, 不容易引起重视。一旦发展为重症病例则可突然恶化, 引

起患者死亡。如果能及时准确发现病毒感染并给予救治,将会极大降低肺炎患者的病死率。因此,在核酸检测存在一定假阴性风险的同时,抗体检测对 COVID-19 的诊断显得尤为重要,且用于抗体血清学检测的标本来源于外周血清或血浆标本,其采集和保存简单易行,抗体在血清标本中的稳定性也较好,从而提高了检测的灵敏度^[7]。《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[8]已将血清 SARS-CoV-2 特异性 IgM 及 IgG 抗体阳性及血清 SARS-CoV-2 特异性 IgG 抗体由阴性转为阳性或恢复期较急性期升高 4 倍及以上纳入了疑似病例确诊标准。

在人体接触抗原时,IgM 是最早产生的抗体,IgG 抗体晚于 IgM 抗体出现,IgG 抗体在体内存在时间较长,可作为流行病学调查检测指标。《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[8]还指出 SARS-CoV-2 特异性 IgM 抗体多在发病 3~5 d 后开始出现阳性,IgG 抗体滴度恢复期较急性期增高 4 倍及以上。但即使检测出 SARS-CoV-2 特异性 IgM、IgG 抗体阳性仍需结合临床及核酸检测等综合诊断。因为核酸检测的是病毒 RNA,是病毒存在的直接证据;抗体检测是检测患者血液中被刺激产生的抗体,是间接证据。间接证据可以对临床有所提示,但仍需直接证据进行确诊。

综上所述,通过本例患者表明 SARS-CoV-2 特异性 IgM、IgG 抗体的检测可作为核酸检测的一种有效补充,其检测结果对 COVID-19 肺炎患者尤其是临床表现不典型患者的诊断具有重要的临床意义。有文献^[7]报道,特异性抗体检测是认识 SARS-CoV-2 感染发生、发展、预后及转归的重要手段,本课题组将通过大量临床数据进行后续研究。

参考文献

[1] ZHU N,ZHANG D,WANG W,et al. A novel coronavirus • 个案分析 •

us from patients with pneumonia in China, 2019 [J]. N Engl J Med, 2020, 382(18):727-733.

- [2] GUAN W J, NI Z Y, HU Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China [J]. N Engl J Med, 2020, 382(18):1708-1720.
- [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(试行第五版)的通知(国卫办医函〔2020〕103 号) [EB/OL]. (2020-02-04) [2020-06-29]. http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-02/05/content_5474791.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) [2020-06-29]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [5] 中华医学会检验医学分会. 新型冠状病毒肺炎病毒核酸检测专家共识 [J]. 中华医学杂志, 2020, 100(00):E003.
- [6] 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.
- [7] 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) [2020-06-29]. <http://rs.yiigle.com/yufabiao/1182736.htm>.
- [8] 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) [2020-06-29]. http://www.cac.gov.cn/2020-03/04/c_1584872634644633.htm.

(收稿日期:2020-03-04 修回日期:2020-06-30)

2 例危重型新型冠状病毒肺炎患者实验室检查结果分析

王长征¹, 邓蓉蓉², 付忠晓¹, 丁 宵¹, 李承彬^{1△}

(荆州市中心医院:1. 医学检验部;2. 儿科医疗中心, 湖北荆州 434020)

关键词:新型冠状病毒肺炎; 中性粒细胞/淋巴细胞比值; C 反应蛋白; 胸部 CT

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.20.034

中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2020)20-2556-05

文献标识码:C

《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》中

关于实验室检查提示,发病早期外周血白细胞计数

△ 通信作者, E-mail: jzlc002@163.com。