

· 论 著 ·

胶体金法与 ELISA 检测新型冠状病毒 IgM 和 IgG 抗体的临床诊断价值比较*

吴重阳, 敖科萍, 王远芳, 吴思颖, 王旻晋, 肖玉玲, 李冬冬[△], 谢 轶, 应斌武
四川大学华西医院实验医学科, 四川成都 610041

摘要:目的 通过胶体金法与酶联免疫吸附测定(ELISA)检测新型冠状病毒(SARS-CoV-2)特异性抗体免疫球蛋白(Ig)M 和 IgG, 评价 2 种方法在检测 SARS-CoV-2 特异性抗体中的诊断价值。方法 收集 2020 年 1—2 月在该院住院的患者 81 例, 根据相关标准分为新型冠状病毒肺炎(COVID-19)确诊患者组 38 例, 疑似患者组 43 例。采用胶体金法与 ELISA 检测所有研究对象的 SARS-CoV-2 IgM 和 IgG 抗体, 计算 2 种检测方法的灵敏度和特异度。采用 χ^2 检验对疑似患者检测结果进行比较, 分析 2 种检测方法的一致性。结果 ELISA 检测 SARS-CoV-2 IgM 和 IgG 抗体的灵敏度分别为 55.26%(21/38)、60.53%(23/38), 特异度均为 97.67%(42/43); 胶体金法检测 SARS-CoV-2 IgM 和 IgG 抗体的灵敏度分别为 63.16%(24/38)、76.32%(29/38), 特异度均为 93.02%(40/43)。SARS-CoV-2 特异性抗体 IgM、IgG 联合检测的阳性率均 >70%。2 种方法检测 IgM 和 IgG 抗体结果比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 在 COVID-19 患者血清抗体检测过程中, 胶体金法检测操作简便、快速、费用低, 且有较好的特异度, 特异性抗体 IgM 和 IgG 联合检测可作为核酸检测的补充手段。

关键词:新型冠状病毒; 特异性抗体; 胶体金法; 酶联免疫吸附测定

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.07.013

中图分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2021)07-0824-04

文献标志码:A

Comparison of clinical diagnostic value of colloidal gold and ELISA for detecting severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 IgM and IgG antibodies*

WU Chongyang, AO Keping, WANG Yuanfang, WU Siying, WANG Minjin,
XIAO Yuling, LI Dongdong[△], XIE Yi, YING Binwu

Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University,
Chengdu, Sichuan 610041, China

Abstract: Objective To detect immunoglobulin(Ig)M and IgG specific to the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2(SARS-CoV-2) by colloidal gold method and enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA), and evaluate the diagnostic value of two methods in the detection of SARS-CoV-2 specific antibodies. **Methods** A total of 81 patients who were hospitalized in this hospital from January to February 2020 were collected. According to relevant standards, they were divided into 38 confirmed patients of corona virus disease-19(COVID-19) and 43 suspected patients. The colloidal gold method and ELISA were used to detect SARS-CoV-2 IgM and IgG antibody in all subjects, and the sensitivity and specificity of the two detection methods were calculated. The χ^2 test was used to compare the differences in the detection results of suspected patients, and the consistency of the two detection methods was analyzed. **Results** The sensitivity of ELISA to detect SARS-CoV-2 IgM and IgG antibody were 55.26%(21/38), 60.53%(23/38), respectively, and the both specificity were 97.67%(42/43). The sensitivity of the colloidal gold method to detect SARS-CoV-2 IgM and IgG antibody were 63.16%(24/38), 76.32%(29/38), and the both specificity were 93.02%(40/43). The positive rate of combined detection of SARS-CoV-2 specific antibody IgM and IgG >70%. There was no statistically significant difference between the two methods for detecting IgM and IgG antibodies. **Conclusion** In the process of serum antibody detection in patients with COVID-19, the colloidal gold method is simple, fast, low-cost, and has good specificity. The combined de-

* 基金项目:四川大学华西医院新型冠状病毒肺炎疫情科技攻关项目(HX-2019-nCoV-050)。

作者简介:吴重阳,女,技师,主要从事微生物感染与免疫相关研究。 [△] 通信作者, E-mail:jiangxili1219@163.com。

本文引用格式:吴重阳,敖科萍,王远芳,等.胶体金法与 ELISA 检测新型冠状病毒 IgM 和 IgG 抗体的临床诊断价值比较[J].国际检验医学杂志,2021,42(7):824-827.

tection of specific antibodies IgM and IgG can be used as a supplementary method for nucleic acid detection.

Key words: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; specific antibody; colloidal gold method; enzyme-linked immunosorbent assay

新型冠状病毒肺炎(COVID-19)在全球范围内迅速蔓延^[1-3]。临床诊断基于流行病学史、实验室指标检测和肺部 CT 检查,COVID-19 确诊主要依赖于病毒核酸的测定。然而核酸检测操作复杂、费时长及存在假阴性等问题,可导致诊断延迟,因此需要其他方法弥补核酸检测的不足^[4]。《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[5]中明确指出新型冠状病毒(SARS-CoV-2)特异性抗体阳性为 COVID-19 的确诊标准之一,目前已有针对 SARS-CoV-2 的免疫球蛋白(Ig)M 和 IgG 抗体的酶联免疫吸附测定(ELISA)和胶体金检测试剂盒^[6],可对临床疑似患者进行筛查,以完善实验室检查项目。本研究以胶体金法与 ELISA 检测 SARS-CoV-2 IgM 和 IgG 抗体的临床诊断价值为研究点进行比较分析,了解 2 种试剂盒在检测不同病程 COVID-19 患者血清病毒抗体的灵敏度和特异度,并评价方法学的一致性和可靠性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者诊断参照国家卫生健康委员会制订的《关于新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》^[7]执行,根据 2 次以上核酸检测结果将 2020 年 1—2 月在本院住院的患者分为确诊患者组 38 例,有典型的临床症状和肺部影像学特征,2 次以上核酸结果阳性;疑似患者组 43 例,连续 2 次(间隔 24 h 以上)核酸检测结果阴性,合并其他呼吸道细菌或病毒感染。本研究已通过四川大学华西医院伦理审查,伦理批准文号 2020 年审(429)号。

1.2 仪器与试剂 SARS-CoV-2 特异性抗体 IgM 和 IgG 的 ELISA 检测试剂盒和胶体金法检测试剂盒均购自珠海丽珠试剂股份有限公司。IgM 抗体检测根据捕获法原理,以抗人 IgM- μ 链(包被二抗)包被微孔板,IgG 抗体检测根据间接法原理,以重组 SARS-CoV-2 抗原(包被抗原)包被微孔板,严格按照生物安全要求和试剂盒说明书进行操作和结果判断。

1.3 病毒抗体动态变化 选择 13 例患者的不同感染时间点的血清标本,研究时间是从患者入院后第一次采集的血清标本开始,病程计算是从患者有发热、

咳嗽等临床症状到检测血清抗体的时间,以核酸检测结果为参照,观察病毒抗体动态变化。核酸检测所用引物、试剂和方法参考文献^[8]。

1.4 统计学处理 应用 SPSS26.0 统计软件进行数据处理分析。灵敏度、特异度等指标的比较使用配对资料 χ^2 检验,采用 Kappa 值评价 2 种检测方法的一致性,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床特异度评价 43 例疑似患者中,胶体金法试剂盒检测 IgM、IgG 抗体均有 40 例阴性,3 例假阳性,临床特异度为 93.02%(40/43);ELISA 试剂盒检测 IgM、IgG 抗体均有 42 例阴性,1 例假阳性,临床特异度为 97.67%(42/43);其中 1 例患者有发热、咳嗽、咳痰等临床症状,呼吸道 13 种病毒筛查结果显示 SARS-CoV-2 核酸检测结果阳性,胶体金法和 ELISA 同时检测 2 种特异性抗体均为阳性;2 例胶体金法检测结果为弱阳性的患者无任何 COVID-19 临床表现,仅表现为普通病毒感冒症状,核酸检测结果均为阴性。结果表明这 2 种抗体检测试剂盒有较高的临床特异度,能够满足 COVID-19 的筛查和诊断要求。

2.2 临床灵敏度评价 38 例确诊患者中,胶体金法试剂盒检测 IgM、IgG 抗体的灵敏度分别为 63.16%(24/38)、76.32%(29/38);IgM 和 IgG 抗体联合检测(IgM 和 IgG 抗体任一阳性即确定为阳性)阳性 30 例,联合检测的灵敏度为 78.95%(30/38);ELISA 试剂盒检测 IgM、IgG 抗体灵敏度分别为 55.26%(21/38)、60.53%(23/38);IgM 和 IgG 抗体联合检测阳性 27 例,联合检测的灵敏度为 71.05%(27/38)。结果表明,SARS-CoV-2 IgM 和 IgG 抗体联合检测在 COVID-19 患者中具有较高的检出率,是核酸检测漏检的良好补充。

2.3 2 种方法检测确诊患者不同病程血清 IgM 和 IgG 抗体结果比较 13 例不同感染时间点的确诊患者,其中男 7 例,女 6 例,年龄 19~81 岁。13 例确诊患者病程 < 3 d 时 IgM 抗体均为阴性,当病程 ≥ 7 d 时,胶体金法检测 IgM、IgG 抗体的阳性率均高于 ELISA。见表 1。

表 1 2 种方法检测确诊患者不同病程血清 IgM 和 IgG 抗体结果比较[n(%)]

病程(d)	核酸阳性例数(n)	胶体金法		ELISA	
		IgM 抗体阳性	IgG 抗体阳性	IgM 抗体阳性	IgG 抗体阳性
<3	2	0(0.0)	1(50.0)	0(0.0)	1(50.0)
3~<7	3	1(33.3)	1(33.3)	1(33.3)	1(33.3)
7~<11	4	2(50.0)	3(75.0)	1(33.3)	1(33.3)
11~<15	4	4(100.0)	4(100.0)	3(75.0)	3(50.0)
合计	13	7(53.9)	9(69.2)	5(38.5)	6(46.2)

2.4 胶体金法和 ELISA 检测结果比较 81 例研究对象 ELISA 和胶体金法检测特异性抗体 IgM 和 IgG 结果比较, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.745$ 、 0.805 , 均 $P > 0.05$)。疑似患者组中有 1 例患者血清的特异性抗体 IgG 为弱阳性, IgM 为阴性, 且呼吸道 13 种病毒检测中的 SARS-CoV-2 核酸阳性, 结合影像学 and 血细胞分析结果, 考虑不支持 COVID-19, 为假阳性。

3 讨 论

目前, SARS-CoV-2 核酸检测结果阳性虽是疑似患者确诊的“金标准”, 但其操作繁琐、耗时长, 检测结果易受标本质量、病毒感染部位及表达量等众多因素影响, 因而核酸单项检测不能满足疫情期间对疑似患者快速筛查的要求^[9]。一些符合临床表现和肺部 CT 检出结果的 COVID-19 疑似患者, 其不同标本类型(咽拭子、肺泡灌洗液、粪便等)多次核酸检测结果阴性, 因此这些患者进行抗体检测或可提高诊断效率^[10-11]。流行病学数据表明, 包括病毒特异性抗体(IgM 和 IgG)在内的血清学应答可以进行血清学诊断。通常 IgM 抗体在感染早期出现, 在 SARS-CoV-2 感染中最早可在第 3 天就检测到, 所以其结果可以作为早期诊断指标^[12-13]。核酸检测是确诊 SARS-CoV-2 感染的最重要方法, 但是该方法检测时间长, 操作步骤复杂且灵敏度不高, 因此, SARS-CoV-2 抗体检测方法逐渐被开发。目前已有研究开始探索 SARS-CoV-2 IgM、IgG 和总抗体检测的应用价值, LI 等^[14]对新研发的免疫层析法 IgM 和 IgG 抗体快速检测试剂盒的检测效果进行了评价, 结果显示其灵敏度和特异度分别为 88.66% 和 90.63%。本研究中采用的 ELISA 和胶体金法检测 COVID-19 确诊患者 IgM、IgG 抗体特异度较高, 进一步确认了 SARS-CoV-2 抗体检测可为核酸检测结果阴性患者的确诊提供辅助诊断。

本研究中 1 例患者经过多次核酸检测得以确诊, 其在住院过程中多次采集咽拭子、粪便及肺泡灌洗液进行核酸检测结果均为阴性, 笔者在对该患者血清抗体连续监测过程中发现, 胶体金法和 ELISA 检测结果显示 IgM 和 IgG 抗体阳性, 且病程 ≥ 5 d 后在血清中检测到 IgM/IgG 抗体。在该患者发病 7 d 之后, ELISA 检测 IgG 抗体滴度开始增加。还有 1 例患者为家族聚集性病例, 该患者显示家族中 4 名成员均有 COVID-19 的典型临床症状和明确的流行病学史, 该患者的儿子、丈夫、儿媳因核酸检测结果阳性确诊, 但该患者核酸检测结果持续阴性而血清特异性抗体 IgM/IgG 结果均为阳性, 同时该患者年龄大、基础疾病多(合并慢性阻塞性肺疾病、高血压等), 入院后多次采集肺泡灌洗液标本困难, 只能采集鼻咽拭子或粪

便标本, 核酸检测结果均为阴性。笔者采用胶体金法对该患者进行连续性血清特异性抗体检测, 显示在入院 3 d 后 IgM 抗体转为阳性, 10 d 后 IgG 抗体转为阳性。血清特异性抗体检测窗口期与 SARS-CoV-2 核酸检测类似, 而胶体金法对标本质量的要求不如核酸检测严格, 当在呼吸道标本中检测不到病毒核酸时, 但可以检测到特异性抗体的存在。因此以上 2 例患者得以通过临床症状和早期抗体检测结果确诊, 可避免核酸检测中因采样要求高、检测时间长和操作步骤繁琐等问题导致的假阴性结果出现, 同时表明血清抗体的检测可以在一定程度上弥补核酸检测漏检的风险^[15]。虽然病毒核酸可在 COVID-19 患者 1~5 d 上呼吸道咽拭子中检出, 但受病毒感染机制及采样部位影响, 仍然存在上呼吸道咽拭子核酸检测结果阴性, 临床症状及流行病史和实验室其他检查数据又高度怀疑 COVID-19 的情况。因此, 抗体联合核酸检测可有助于进一步提高 SARS-CoV-2 感染的检出率, 有助于弥补核酸检测的不足。

本研究中, 2 种方法检测 IgM 抗体的灵敏度均不高, 可能有以下原因: (1) 确诊患者数量有限, 对检测方法的应用评价还不全面, 无法更准确地反映试剂盒的诊断效能; (2) 观察时间点不统一, 需要对患者进行连续长时间追踪观察。通过分析 13 例住院患者病程及所有 COVID-19 确诊患者血清抗体检测结果发现 IgG 抗体的阳性率要高于 IgM 抗体, 这一研究结果与徐万洲等^[16]报道的数据一致。可能与患者所处的感染时期及 IgM 抗体是稀释后检测有关, 同时受到标本数量和试剂制备的影响。2 种方法检测抗体的特异度均 $\geq 90\%$, 可能是由于 COVID-19 为新发疾病, 目前人群普遍易感, 血清中特异性抗体水平总体较低。同时, 确诊患者中存在核酸检测结果阳性而抗体检测结果阴性的情况, 这可能与患者产生抗体的生理过程有关。由于抗体的产生都有窗口期, 当患者血清中的抗体还未产生或水平低于检测下限, 那么此时免疫学方法就无法对其进行有效检测。此外, 在本研究中疑似患者组胶体金的弱阳性例数较多, 其中 1 例患者呼吸道 SARS-CoV-2 核酸结果阳性, 而胶体金法检测 IgM 抗体结果阴性, IgG 抗体结果弱阳性。冠状病毒的核衣壳(N)蛋白相对保守, 来自冠状病毒 I 型抗原的多克隆抗体, 包括人冠状病毒 229E、猫传染性腹膜炎病毒和猪传染性胃肠炎病毒都与 SARS-CoV 感染的 Vero 细胞有关。表明 SARS-CoV 的 N 蛋白与抗原性 I 类动物冠状病毒的抗血清发生抗原性交叉反应^[17]。因此, 本研究所使用完整的 N 蛋白作为包被抗原进行血清学检测可能会影响灵敏度和特异度, 这也可能是本研究所使用的胶体金试剂盒检测 IgG 抗体的灵敏度高于 IgM 抗体的原因。因此若抗体检

测阳性时应该动态检测抗体滴度,结合临床和核酸检测结果进行鉴别诊断,以排除其他冠状病毒感染的可能性。类风湿因子、嗜异性抗体、补体及外源性干扰等因素也可能造成试验结果的假阳性。研究表明当患者体内存在高类风湿因子抗体时,假阳性率可高达 60%^[18]。

综上所述,2 种方法对确诊和疑似患者的诊断无明显差异,在应用价值上各有优缺点。胶体金检测试剂盒不需要复杂设备,具有操作简单、快速等优点,适用于医院急诊、门诊、重症监护室、传染科等临床科室快速筛查^[19]。对疑似患者血清标本进行特异性抗体检查,增加了 COVID-19 检测手段,有早期预报、回顾性诊断和流行病学研究的意义,对深入认识疫情的发生发展具有重要价值^[20]。

参考文献

- [1] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J]. *Nature*, 2020, 579(7798): 270-273.
- [2] SHE J, JIANG J, YE L, et al. 2019 novel coronavirus of pneumonia in Wuhan, China: emerging attack and management strategies[J]. *Clin Transl Med*, 2020, 9(1): 19.
- [3] 中国疾病预防控制中心新型冠状病毒肺炎应急响应机制流行病学组. 新型冠状病毒肺炎流行病学特征分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2020, 41(2): 145-151.
- [4] TANG Y W, SCHMITZ J E, PERSING D H, et al. Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges[J]. *J Clin Microbiol*, 2020, 58(6): 512-20.
- [5] 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)[2020-04-06]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [6] JIN Y, WANG M C, ZUO Z B, et al. Diagnostic value and dynamic variance of serum antibody in coronavirus disease 2019[J]. *Int J Infect Dis*, 2020, 94(1): 49-52.
- [7] 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(试行第六版)的通知(国卫办医函[2020]103号)[EB/OL]. (2020-02-18)[2020-02-19]. http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-02/19/content_5480948.htm.
- [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.
- [9] ZHANG W, DU R H, LI B, et al. Molecular and serological investigation of SARS-CoV-2 infected patients: implication of multiple shedding routes[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9(1): 386-389.
- [10] SHEN K, YANG Y, WANG T, et al. Diagnosis, treatment, and prevention of 2019 novel coronavirus infection in children: experts' consensus statement[J]. *World J Pediatr*, 2020, 16(3): 223-231.
- [11] 张瑞, 李金明. 如何减少新型冠状病毒核酸检测的假阴性[J]. *中华医学杂志*, 2020, 100(11): 801-804.
- [12] 石玉玲, 李林海, 万卓越, 等. 传染性非典型肺炎患者血清特异性抗体的变化规律[J]. *中华检验医学杂志*, 2004, 27(12): 827-829.
- [13] 唐漾波, 谭奕洲, 唐小平, 等. 严重急性呼吸综合征相关性冠状病毒抗体检测及分析[J]. *中华传染病杂志*, 2003, 21(3): 172-175.
- [14] 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.
- [15] 韩悦, 韦栋, 张东华, 等. 人冠状病毒实验室检测方法概述[J]. *中华传染病杂志*, 2020, 38(5): 306-310.
- [16] 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.
- [17] SUN Z F, MENG X J. Antigenic cross-reactivity between the nucleocapsid protein of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus and polyclonal antisera of antigenic group I animal coronaviruses: implication for SARS diagnosis[J]. *J Clin Microbiol*, 2004, 42(5): 2351-2352.
- [18] 王远芳, 邓杰伦, 敖科萍, 等. 三种 SARS-CoV-2 抗体胶体金试剂诊断效能评价及假阳性控制策略探讨[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2020, 19(3): 12-16.
- [19] VÁSÁRHELYI B, KRISTÓF K, OSTORHÁZI E, et al. The diagnostic value of rapid anti IgM and IgG detecting tests in the identification of patients with SARS CoV-2 virus infection[J]. *Orv Hetil*, 2020, 161(20): 807-812.
- [20] RASTAWICKI W, ROKOSZ-CHUDZIAK N. Characteristics and assessment of the usefulness of serological tests in the diagnostic of infections caused by coronavirus SARS-CoV-2 on the basis of available manufacturer's data and literature review[J]. *Przegl Epidemiol*, 2020, 74(1): 49-68.

(收稿日期: 2020-08-23 修回日期: 2020-12-26)