

疗过程中维持较高水平,期间出现过高峰,后期呈缓慢下降趋势,预示病情向好转归;其中死亡 1 例,D-二聚体水平一直维持在较高水平;有 5 例(26.3%)转为正常,由此可见,D-二聚体水平升高可判断感染的严重程度,对临床治疗有重要的指导性意义。收集 16 例危重患者尿液检测数据发现,有 50.0%患者出现尿蛋白阳性,68.8%患者出现隐血阳性,6 例(37.5%)患者同时出现尿隐血、尿蛋白阳性,持续阳性时间超过 30 d,结果表明新型冠状病毒可能引起肾功能损害^[8],如果论据成立,尿隐血、尿蛋白将是新冠肺炎患者的重要危险因素。对尿隐血、尿蛋白、肾功能等指标联合分析新型冠状病毒感染是否造成肾损伤笔者将另文探讨。

综上所述,在常规检测项目中,白细胞计数、淋巴细胞百分比、D-二聚体水平、尿蛋白和尿潜血等项目,是判断新冠肺炎患者病情发展的重要指标,动态观察这些指标对监测新冠肺炎患者的病情发展、转归,指导临床用药及预后判断等方面有重要的意义。

参考文献

[1] 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(试行第六版)[EB/OL]. [2020-03-26]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
 [2] 王云,赵长城,谷妍,等. 80 例新型冠状病毒感染肺炎患者相关血液检测指标分析[J]. 临床输血与检验,2020,22

(4):360-365.

[3] 刘霞霞,王强,张聪,等. 新型冠状病毒(2019-nCoV)感染患者肺部损伤相关性的临床及生化指标研究[J]. 中国科学(生命科学),2020,50(3):258-269.
 [4] 朱耐伟,赵萍. 2019 新型冠状病毒肺炎治疗研究现状[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2020,40(1):7-10.
 [5] 严杰,李明远,孙爱华,等. 2019 新型冠状病毒及其感染性肺炎[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2020,41(1):1-6.
 [6] 邹海,李慧洋,张有志,等. 新型冠状病毒感染与凝血功能关系的研究进展[J]. 医学导报,2020,39(4):448-451.
 [7] 任红梅,单锡崢. 中性粒细胞与淋巴细胞比值预测重症肺炎患者预后的价值[J]. 临床肺科杂志,2019,24(2):275-279.
 [8] 胡昭,王强. 新型冠状病毒感染相关性肾损伤[J]. 山东大学学报,2020,58(3):1-6.
 [9] 昌重勇,杨为斌,王强,等. 血清 hs-CRP、IL-6、PCT 对新型冠状病毒肺炎患者的诊断及预后评估的临床意义[J]. 现代药物与临床,2020,35(3):1-3.
 [10] 贺勇,干伟,张玫,等. 临床生化检验指标在 COVID-19 疾病进展及治疗中的应用评价[J]. 国际检验医学杂志,2020,41(8):906-909.
 [11] 魏微霄,贺小平,应斌武,等. 急性时相蛋白联合生化指标与 COVID-19 临床分型的相关性[J]. 国际检验医学杂志,2020,41(13):1602-1607.

(收稿日期:2020-04-09 修回日期:2020-11-05)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.01.029

56 °C 30 min 灭活对新型冠状病毒抗体和生化免疫检测结果的影响

郭旺源¹,汤敏¹,史文元¹,谭潭¹,鲁爽²,胡政¹,贺荣章¹,李佳¹,罗迪贤¹,彭旭红^{1△}

1. 湖南省郴州市第一人民医院,湖南郴州 423000;2. 湖南省郴州市第二人民医院,湖南郴州 423000

摘要:目的 探讨血清经 56 °C 30 min 灭活对新型冠状病毒(SARS-CoV-2)IgM 抗体和生化免疫检测项目结果的影响。方法 用密闭的真空采血管采集 54 例新型冠状病毒感染者或疑似感染者血液标本,离心后分别在 56 °C 30 min 灭活处理前后检测新型冠状病毒 IgM 抗体、术前八项(HCV-Ab、HIV-Ab、TP-Ab 和乙肝五项)和常规生化检测,比较未灭活处理和灭活处理后各项指标的差异。结果 含 20 例新型冠状病毒肺炎确诊病例的 54 例血清标本灭活前后的新型冠状病毒 IgM 抗体结果完全一致性达 94.4%。术前八项灭活前后结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。ALT、ALP、GGT、CK、CK-MB、LDH、Mb 等不耐热酶类项目水平灭活前后差异有统计学意义($P < 0.05$),其余常规生化检测项目血清灭活前后差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 除 ALT、ALP、GGT、CK、CK-MB、LDH、Mb 等不耐热酶类项目检测外,56 °C 30 min 病毒血清灭活法可用于新型冠状病毒感染者或疑似感染者血液标本的新型冠状病毒 IgM 抗体、免疫感染类抗原抗体检测和多数生化常规项目检测的前处理。

关键词:新型冠状病毒; 加热灭活; 抗体; 生化检测

中图法分类号:R446.1;R446.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)01-0097-04

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)传染力强,人群普遍易感,其引起的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)目

前尚无针对特异性治疗药物。国家卫生健康委员会将 COVID-19 纳入乙类传染病,并按甲类传染病进行

△ 通信作者, E-mail: pengxuhong.2008@163.com.

预防和控制。由于 COVID-19 患者血液标本有大的传染性,实验室检测人员存在职业暴露可能,给实验室检测人员带来极大的心理压力^[1]。《新型冠状病毒肺炎防控方案(第五版)》指出 SARS-CoV-2 在 56 °C 30 min 处理可被灭活^[2]。本研究将探讨 56 °C 30 min 灭活处理对 SARS-CoV-2 IgM 抗体和生化免疫检测结果的影响,为降低实验室传播风险和保护实验室检测人员安全提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2020 年 2 月 11—18 日在郴州市第一人民医院和郴州市第二人民医院住院的 SARS-CoV-2 感染者或疑似感染者血液标本 54 例,其中男 34 例、女 20 例,年龄 2~74 岁。纳入标准:COVID-19 诊断依据为《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》^[3],确诊病例具备 SARS-CoV-2 病原学证据。本项研究通过郴州市第一人民医院和郴州市第二人民医院医学伦理委员会批准,所有研究对象或家属均知情并签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测采用北京热景生物技术股份有限公司生产的胶体金快速检测专用试剂;术前八项检测使用苏州新波全自动时间分辨荧光免疫分析仪(检测仪器型号:EasyCuta MiNi)及厂家配套试剂,阴性和弱阳性质控使用北京康彻斯坦生产的第三方质控品;生化项目检测采用西门子 AVDIA 2400 全自动生化分析仪及配套试剂检测,高、中、低 3 个水平质控采用美国伯乐生产的第三方质控品;灭活采用江苏荣华仪器制造有限公司生产的可调式恒温水浴箱,型号为 HH-W420。核酸提取试剂(圣湘生物定制)、SARS-CoV-2 核酸检测试剂盒(圣湘生物)、ABI7500 荧光定量 PCR 仪(Thermofisher 公司)用于 SARS-CoV-2 感染者的确诊。

1.3 方法 使用力因精准医疗产品(上海)有限公司的负压真空分离胶采血管(黄帽管)同时采集血液标本两管,各 5 mL,室温静置 30 min,3 000 r/min 离心 10 min,其中一管按《新型冠状病毒感染的肺炎实验

室检测技术指南(第五版)》等相关防护规范要求要求进行未灭活前的相关指标检测^[2],另一管离心后不揭盖放置于 56 °C 恒温水浴箱温育 30 min 灭活处理,再进行相同指标检测。所有标本检测严格按仪器和试剂说明书进行操作,当日当批次室内质控在控。SARS-CoV-2 IgM 抗体按定性结果报告,术前八项[乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、乙型肝炎病毒表面抗体(HBsAb)、乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)、乙型肝炎病毒 e 抗体(HBeAb)、乙型肝炎病毒核心抗体(HBcAb)、丙型肝炎病毒抗体(HCV-Ab)、艾滋病病毒抗体(HIV-Ab)和梅毒抗体(TP-Ab)]、电解质、肝功能、肾功能、血糖、血脂和心肌酶结果按定量结果报告。结果分为未灭活组和灭活后组进行统计分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。不符合正态分布的计量资料采用 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,组间比较采用自身配对样本非参数检验(Wilcoxon 符号秩和检验)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 灭活处理前后血清 SARS-CoV-2 IgM 抗体结果 54 例患者中,经咽拭子核酸检测阳性并经临床确诊的病例有 20 例,对 54 例患者血液标本 56 °C 30 min 灭活处理前后的血清 SARS-CoV-2 IgM 抗体进行检测,结果显示 54 例患者血标本中,灭活前检出阳性 26 例,阴性 28 例,灭活后仅 3 例阳性标本转为了弱阳性,灭活前后血清 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测结果差异无统计学意义($P > 0.05$),血清 SARS-CoV-2 IgM 抗体检测结果完全一致性达 94.4%(51/54)。

2.2 灭活处理前后术前八项结果 对患者血液标本 56 °C 30 min 灭活处理前后采用时间分辨免疫荧光法进行血清术前八项(HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb、HCV-Ab、HIV-Ab 和 TP-Ab)检测,发现术前八项检测结果在灭活处理前后差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 灭活处理前后术前八项结果比较 [$M(P_{25} \sim P_{75})$]

组别	HBsAg(IU/mL)	HBsAb(mIU/mL)	HBeAg(PEI U/mL)	HBeAb(PEI U/mL)
未灭活组	0.002(0.000~6.484)	1.332(0.041~39.033)	0.000(0.000~0.000)	0.236(0.145~1.224)
灭活后组	0.005(0.002~6.571)	0.816(0.000~37.987)	0.000(0.000~0.000)	0.214(0.738~1.069)
Z	-1.719	-0.409	-0.334	-1.353
P	0.086	0.682	0.739	0.176

组别	HBcAb(PEI U/mL)	HCV-Ab(S/CO)	HIV-Ab(S/CO)	TP-Ab(S/CO)
未灭活组	7.710(0.659~9.120)	0.232(0.225~0.246)	0.157(0.146~0.166)	0.064(0.052~0.069)
灭活后组	7.235(0.680~8.094)	0.237(0.226~0.252)	0.152(0.135~0.171)	0.060(0.054~0.066)
Z	-1.381	-1.008	-0.406	-0.049
P	0.167	0.313	0.685	0.961

2.3 灭活处理前后血清常规生化结果 对 54 例患者血液标本 56 °C 30 min 灭活处理前后的血清标本进行常规生化检测,发现灭活处理前后电解质、肝功能、肾功能、血糖、血脂和心肌酶检测结果中,肝功能中的丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、 γ -谷氨酰转移酶(GGT)项目结果在灭活处理前后差

异有统计学意义($P < 0.05$),心肌酶检测中的肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)和肌红蛋白(Mb)水平在灭活处理前后差异有统计学意义($P < 0.05$),其余项目未发现灭活处理前后差异有统计学意义($P > 0.05$)。见表 2~6。

表 2 灭活处理前后血清电解质检测结果比较[$M(P_{25} \sim P_{75})$]

组别	钾 (mmol/L)	钠 (mmol/L)	氯 (mmol/L)	钙 (mmol/L)
未灭活组	4.26(3.96~4.55)	138.60(135.20~142.30)	104.90(103.28~108.33)	2.26(2.11~2.37)
灭活后组	4.45(4.05~4.72)	139.70(137.20~142.18)	106.70(105.05~110.30)	2.24(2.07~2.29)
Z	-1.432	-1.838	-1.948	-1.621
P	0.152	0.066	0.051	0.105

表 3 灭活处理前后血清肝功能检测结果比较[$M(P_{25} \sim P_{75})$]

组别	总蛋白(g/L)	清蛋白(g/L)	总胆红素(μ mol/L)	直接胆红素(μ mol/L)	ALT(U/L)
未灭活组	62.30(56.40~68.60)	34.80(30.30~36.23)	10.65(7.13~19.10)	5.15(2.98~7.80)	29.95(10.63~38.63)
灭活后组	62.70(55.50~70.60)	35.80(30.78~38.00)	9.40(6.60~18.10)	4.55(2.78~6.80)	9.30(5.90~11.10)
Z	-0.194	-1.414	-0.808	-1.079	-5.317
P	0.846	0.157	0.419	0.281	<0.001

组别	天门冬氨酸氨基转移酶(U/L)	胆汁酸(μ mol/L)	ALP(U/L)	GGT(U/L)
未灭活组	29.30(20.98~43.65)	3.00(1.80~11.90)	80.80(61.65~99.60)	66.45(35.80~181.50)
灭活后组	23.60(19.68~36.83)	2.70(1.60~12.40)	0.05(0.00~1.47)	37.90(15.30~77.80)
Z	-1.813	-0.194	-6.321	-3.308
P	0.07	0.846	<0.001	0.001

表 4 灭活处理前后血清肾功能检测结果比较[$M(P_{25} \sim P_{75})$]

组别	尿素 (mmol/L)	肌酐(μ mol/L)	尿酸(μ mol/L)
未灭活组	6.90(4.47~11.87)	84.05(54.00~121.50)	252.50(148.70~400.70)
灭活后组	7.05(4.82~12.21)	83.30(53.20~125.50)	259.30(157.33~412.80)
Z	-0.701	0	-0.848
P	0.483	1	0.396

表 5 灭活处理前后血清血糖和血脂检测结果比较[$M(P_{25} \sim P_{75})$]

组别	血糖 (mmol/L)	总胆固醇 (mmol/L)	三酰甘油 (mmol/L)	高密度脂蛋白胆固醇 (mmol/L)	低密度脂蛋白胆固醇 (mmol/L)
未灭活组	7.00(5.08~8.32)	4.99(4.99~5.15)	4.13(3.60~5.95)	1.25(1.04~1.83)	1.08(1.01~1.30)
灭活后组	7.44(5.26~9.60)	5.07(4.99~5.26)	5.32(3.66~5.77)	1.26(0.96~1.93)	1.06(0.92~1.28)
Z	-1.235	-1.664	-0.012	-0.099	-1.886
P	0.217	0.096	0.99	0.921	0.059

表 6 灭活处理前后血清常规心肌酶检测结果比较[$M(P_{25} \sim P_{75})$]

组别	CK(U/L)	CK-MB(U/L)	LDH(U/L)	Mb (ng/mL)
未灭活组	190.60(56.60~426.50)	17.60(8.90~23.10)	261.90(190.80~368.70)	150.10(45.60~190.20)
灭活后组	0.50(0.00~1.50)	2.60(0.40~3.60)	136.20(109.40~290.70)	85.30(30.70~134.20)
Z	-8.979	-8.972	-4.601	-2.202
P	<0.001	<0.001	<0.001	0.028

3 讨 论

对 COVID-19 最有效的防控手段就是早发现,早诊断,早隔离,早治疗^[4-5]。《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》(以下简称方案)指出经呼吸道飞沫和密切接触传播是该病毒主要的传播途径。在相对封闭的环境中长时间暴露于高浓度气溶胶情况下存在经气溶胶传播的可能^[3]。《新型冠状病毒感染的肺炎实验室检测技术指南(第四版)》要求,未经培养的感染性材料在采用可靠的方法灭活前进行的病毒抗原检测、血清学检测、核酸检测、生化分析等操作,应在生物安全二级实验室操作,但个人防护装备参照生物安全三级实验室的防护要求^[2]。目前所见传染源主要是 SARS-CoV-2 感染的患者,无症状感染者也可能成为传染源。所以临床实验室人员在未经检测前无法预知该标本是否具有潜在传染性,检测过程势必造成严重的心理压力^[1,6]。

同时方案中指出:“对冠状病毒理化特性的认识多来自对 SARS-CoV 和 MERS-CoV 的研究。病毒对紫外线和热敏感,56 °C 30 min、乙醚、75%乙醇、含氯消毒剂、过氧乙酸和氯仿等脂溶剂均可有效灭活病毒,氯己定不能有效灭活病毒。”可见 SARS-CoV-2 对各种脂溶剂类消毒剂敏感,但因乙醚、75%乙醇、含氯消毒剂、过氧乙酸和氯仿等脂溶剂消毒剂对各种检验项目的检测均有一定的影响而很少被采用^[7];紫外线常用于空气和物体表面的消毒,对容器内的血液标本因穿透性和消毒效果有限,也限制了其使用^[8]。本研究结合该病毒的理化特性和对临床实验室存在的潜在传染风险情况,对血液标本在常规检测前先将其离心分离后在未开盖情况下放置 56 °C 环境温育 30 min 进行病毒灭活处理,达到降低生物安全风险目的,比较灭活处理前后常见项目的检测结果。

研究中选取的 54 例研究对象中,经咽拭子核酸检测阳性并经临床确诊的病例有 20 例,对 54 例患者的血液标本经 56 °C 30 min 灭活处理前后的血清 SARS-CoV-2 IgM 抗体进行检测,结果 54 例患者血标本中,灭活前检出阳性 26 例,阴性 28 例,灭活后仅 3 例阳性标本转为了弱阳性,灭活前后血清 SARS-CoV-2 IgM 结果完全一致性达 94.4%(51/54)。术前八项检测在灭活前后结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。在灭活处理前后电解质、肝功能、肾功能、血糖、血脂和心肌酶等生化结果的比较中发现,ALT、ALP、GGT、CK、CK-MB、LDH 和 Mb 在血清病毒灭活后的检验结果明显低于灭活前,灭活处理前后差异有统计学意义($P < 0.05$),这可能是 ALT、ALP、GGT、CK、CK-MB、LDH、Mb 属于不耐热酶类,在加热至 56 °C、30 min 灭活处理过程中使其部分失去了酶活性而致检测结果明显降低^[9-11]。故 ALT、ALP、

GGT、CK、CK-MB、LDH、Mb 等不耐热酶类的项目检验不适用于检测前血清 56 °C 30 min 灭活处理。

综上所述,对 SARS-CoV-2 感染者或疑似感染者血液标本在常规检测前可先将离心分离后的标本在未开盖情况下放置 56 °C 环境 30 min 进行病毒灭活处理,对 SARS-CoV-2 IgM 抗体、术前八项等免疫感染类抗原抗体和多数生化常规检测结果不会有太大影响,但该方法不能用于 ALT、ALP、GGT、CK、CK-MB、LDH、Mb 等不耐热酶类项目的检测前处理。56 °C 30 min 病毒灭活法不需要昂贵的设备,使用实验室常见的可调式恒温水浴箱,操作简单、易行,可考虑作为 COVID-19 疫情期间临床实验室工作人员预防职业暴露的一种切实可行的标本前处理方法,从而可有效降低医源性感染 SARS-CoV-2 风险和实验室工作人员的心理压力及恐惧感。此研究为降低实验室传播风险和保护实验室检测人员安全提供数据参考。

参考文献

- [1] 梅俊华,张琦,龚雪,等. 医护人员感染新型冠状病毒肺炎后心理及睡眠状态分析[J]. 医药导报,2020,39(3):345-349.
- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎防控方案(第五版)[EB/OL]. [2020-03-21]. <http://www.nhc.gov.cn/jkj/s3577/202002/a5d6f7b8c48c451c87dba14889b30147.shtml>.
- [3] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第六版)[EB/OL]. [2020-04-01]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [4] 金荣华. 新型冠状病毒肺炎[J]. 首都医科大学学报,2020,41(2):149-154.
- [5] 伊赫亚,李川,王芃,等. 全球新型冠状病毒肺炎疫情与早期防控对策[J]. 预防医学,2020,32(4):325-329.
- [6] 魏华,李廷玉. 新型冠状病毒肺炎疫情对不同人群心理的影响及心理干预的建议[J]. 儿科药理学杂志,2020,26(4):6-7.
- [7] 刘忠伦,刘波,刘继来. 84 消毒液对酶联免疫法检测结果的影响[J]. 现代检验医学杂志,2004,19(3):27-28.
- [8] 赖晓华. 空气消毒器对血液成分制备室的消毒效果研究[J]. 基层医学论坛,2018,22(18):2580.
- [9] 张耀辉. 血清加热灭能对抗 HIV 和相关生化项目检测结果的影响[J]. 检验医学与临床,2009,6(15):1278-1279.
- [10] 张耀辉,刘志锋,韦厚瑜. 两种血清加热灭活法对 HIV 抗体和生化检测结果影响对比[J]. 右江民族医学院学报,2009,31(5):772-773.
- [11] 李晓东,廖昊,刘妍,等. 60 °C 加热 1 小时灭活病毒方法对常规临床检测指标的影响研究[J]. 传染病信息,2016,29(3):160-163.