

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

徐万洲¹ 李娟¹ 何晓云¹ 张才庆¹ 梅四青¹ 李从荣¹ 李艳¹ 程少华² 张平安¹

¹武汉大学人民医院检验科, 武汉 430060; ²武汉大学人民医院质量和安全管理办公室, 武汉 430060

徐万洲和李娟对本文有同等贡献

通信作者: 张平安, Email: zhangpingan927@163.com; 程少华, Email: gkyscheng@126.com

【摘要】目的 探讨新型冠状病毒(2019-nCoV)免疫球蛋白 M(IgM)和免疫球蛋白 G(IgG)抗体检测在新型冠状病毒感染中的诊断价值。**方法** 本研究采用回顾性研究方法, 收集 2020 年 1 月 20 日至 2020 年 2 月 17 日在武汉大学人民医院就诊的门诊和住院患者 284 例, 其中 205 例为新型冠状病毒肺炎患者, 包括 2019-nCoV 核酸检测阳性的确诊患者 186 例, 以及 2019-nCoV 核酸检测阴性但临床症状和 CT 检测结果符合《新型冠状病毒肺炎防控方案(第五版)》患者 19 例, 作为病例组。排除新型冠状病毒肺炎的其他疾病患者 79 例, 作为对照组。采用全自动化学发光免疫分析技术对所有研究对象进行血清 2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体检测。采用 χ^2 检验对 2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体检测和核酸检测结果差异进行统计学分析。**结果** 血清 2019-nCoV IgM 和 2019-nCoV IgG 的临床敏感度分别为 70.24% (144/205) 和 96.10% (197/205), 临床特异度分别为 96.20% (76/79) 和 92.41% (73/79)。2019-nCoV 抗体检测的阳性预测值为 95.63% (197/206), 阴性预测值为 91.03% (71/78), 2019-nCoV 核酸检测的阳性预测值为 100% (186/186), 阴性预测值为 80.61% (79/98)。2019-nCoV 抗体检测和 2019-nCoV 核酸诊断 2019-nCoV 感染的总符合率为 88.03% (250/284)。**结论** 血清 2019-nCoV IgM 和 IgG 联合检测可作为新型冠状病毒感染的有效筛查和诊断指标, 是新型冠状病毒肺炎核酸检测假阴性的有效互补。

【关键词】 冠状病毒属; 肺炎, 病毒性; 免疫球蛋白 M; 免疫球蛋白 G; 冠状病毒感染; 血清学试验

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2020.03.007

The diagnostic value of joint detection of serum IgM and IgG antibodies to 2019-nCoV in 2019-nCoV infection

Xu Wanzhou¹, Li Juan¹, He Xiaoyun¹, Zhang Caiqing¹, Mei Siqing¹, Li Congrong¹, Li Yan¹, Cheng Shaohua², Zhang Ping'an¹

¹Department of Clinical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China; ²Department of Quality and Safety Management, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

Xu Wanzhou and Li Juan are contributed equally to the article

Corresponding author: Zhang Ping'an, Email: Pingan Zhang927@163.com; Cheng Shaohua, Email: gkyscheng@126.com

【Abstract】Objective To investigate the diagnostic value of immunoglobulin M (IgM) and immunoglobulin G (IgG) antibodies to 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) in 2019-nCoV infection. **Methods** This is a retrospective study. Serum samples were collected from 284 patients including outpatients and inpatients in the Renmin Hospital of Wuhan University from January 20 to February 17 in 2020. Among them 205 cases were 2019-nCoV infected patients, including 186 cases confirmed with nucleic acid test and 19 cases diagnosed by clinical symptoms and CT characteristics according to "the New Coronavirus Pneumonia Control Protocol (5th edition)". A total of 79 subjects with other diseases but

negative to 2019-nCoV infection were recruited as control group. Serum IgM and IgG antibodies to 2019-nCoV were measured with fully automated immunoassay technology for all subjects. Statistical significance between 2019-nCoV antibodies test and 2019-nCoV nucleic acid test was determined using the χ^2 tests. **Results** The sensitivity of serum IgM and IgG antibodies to 2019-nCoV were 70.24%(144/205) and 96.10%(197/205) respectively and the specificity were 96.20%(76/79) and 92.41%(73/79) respectively. The positive and negative predictive values of 2019-nCoV antibodies were 95.63%(197/206) and 91.03%(71/78) respectively, and the positive and negative predictive values of 2019-nCoV nucleic acid test were 100%(186/186) and 80.61%(79/98) respectively. The total coincidence rate of diagnosing 2019-nCoV infection between antibody tests and nucleic acid test for 2019-nCoV were 88.03%(250/284). **Conclusion** Joint detection of serum IgM and IgG antibodies to 2019-nCoV is an effective screening and diagnostic indicators for 2019-nCoV infection, and an effective complement to the false negative results to nucleic acid test.

【Key words】 Coronavirus;Pneumonia, viral;Immunoglobulin M;Immunoglobulin G;Coronavirus infections;Serologic tests

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2020.03.007

2020年2月21日国家卫生健康委发布的《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》^[1],指出应用新型冠状病毒(2019 novel coronavirus, 2019-nCoV)抗体检测可作为新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的辅助诊断。病毒感染机体后,免疫系统对病毒进行免疫防御并产生特异性抗体。其中特异性IgM抗体是机体感染后早期产生的抗体,可提示现行感染或新近感染。IgG抗体是再次免疫应答产生的主要抗体,提示病情进入恢复期或存在既往感染。因此,免疫球蛋白M(immunoglobulin M, IgM)和免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)抗体联合检测不仅可以对感染性疾病进行早期诊断,而且有助于对机体感染阶段的评估。本研究采用全自动化学发光免疫分析技术对血清2019-nCoV IgM和IgG抗体进行检测,并评估其在COVID-19中的实验室诊断价值。

对象与方法

一、对象

收集2020年1月20日至2020年2月17日在武汉大学人民医院就诊的门诊和住院患者284例,其中病例组205例,男88例,女117例,年龄23~87岁,均为COVID-19患者,包括2019-nCoV核酸检测阳性的确诊患者186例,以及2019-nCoV核酸检测阴性但临床症状和CT检测结果符合《新型冠状病毒肺炎防控方案(第五版)》患者19例。对照组79例,男38例,女41例,年龄24~101岁,系排除COVID-19的其他疾病患者。本研究遵守国际协调理事会临床试验规范和赫尔辛基宣言,经医院伦理

审查委员会审核通过(伦理号:WDRY2020-K30),并批准予以豁免患者知情同意。

二、方法

1. 试剂与仪器:2019-nCoV IgM和IgG抗体化学发光检测试剂盒来自深圳亚辉龙生物科技股份有限公司,磁微粒包被的抗原包括2019-nCoV 刺突蛋白S和核衣壳蛋白N抗原, iFlash3000全自动化学发光免疫分析仪来自深圳亚辉龙生物科技股份有限公司。磁珠法核酸提取试剂盒来自宁波海尔施基因科技公司, Labassist32自动核酸提取仪来自台湾圆点奈米技术开发有限公司。新型冠状病毒(2019-nCoV)ORF1ab/N基因双重核酸检测试剂盒(荧光PCR法)来自上海捷诺公司, QuantstudioDx及7500型荧光PCR仪购自美国Thermo Fisher公司。

2. 标本采集:所有研究对象均采集空腹静脉血5 ml,置于含分离胶的黄头真空采血管内,静置待血液凝固,2 500×g离心5 min,取血清备用。采集研究对象鼻咽拭子标本,进行2019-nCoV核酸的检测。

3. 血清学检测:血清2019-nCoV IgM和IgG抗体检测采用全自动化学发光免疫分析技术,检测步骤参照试剂盒说明书,测试结果以相对发光强度(relative light unit, RLU)表示。样本中的2019-nCoV IgM或IgG抗体的量和RLU之间成正相关,测定仪根据RLU及内置校准曲线自动计算出2019-nCoV IgM或IgG抗体浓度(AU/ml),以检测结果>10.0 AU/ml为有反应性(阳性)。

4. 2019-nCoV核酸检测:采用荧光RT-PCR技术,针对2019-nCoV基因组中开放读码框1ab(open reading frame 1ab, ORF1ab)和核壳蛋白(nucleocapsid protein, N)进行检测。2019-nCoV核

酸检测结果 CT 值判读以各厂家说明书建议为准,对可疑结果应通知临床重新采样复查。在实验室检测结果确诊为阳性,需满足同一份标本中 2019-nCoV 的 ORF1ab 及 N 基因至少 1 个靶标特异性 RT-PCR 检测结果为阳性。

5. 统计学分析:采用 SPSS 19.0 软件进行数据处理。调查数据为计数资料,选择百分比和行×列表统计学方法,2019-nCoV 核酸和抗体检测诊断 2019-nCoV 感染的敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值等指标的差异采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体检测临床特异度

对照组 79 例患者中,2019-nCoV IgM 抗体 76 例阴性,3 例假阳性,临床特异度为 96.20% (76/79),2019-nCoV IgG 抗体 73 例阴性,6 例假阳性,临床特异度为 92.41% (73/79),其中 3 例 2019-nCoV IgM 抗体假阳性中,1 例 2019-nCoV IgM 水平较高,为 68.28 AU/ml,系 1 例 93 岁老年失血性休克患者,其余 2 例呈现弱阳性,结果分别为 14.46 AU/ml 和 20.27 AU/ml,均为肿瘤患者。6 例 2019-nCoV IgG 抗体假阳性中,其中 1 例 2019-nCoV IgG 抗体水平为 30.07 AU/ml,系卵巢癌患者,其余均在 10.03 AU/ml 至 14.49 AU/ml 范围内,属弱阳性反应。2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体检测假阳性可能因为自身抗体、异嗜性抗体等因素引起。因此,2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体检测试剂具有较高的临床特异度,能够满足 COVID-19 的筛查和诊断要求。

二、2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体检测临床敏感度

205 例 COVID-19 患者中,2019-nCoV IgM 抗体阳性 144 例,阴性 61 例,2019-nCoV IgG 抗体阳性 197 例,阴性 8 例。2019-nCoV IgM 和 IgG 对 2019-nCoV 感染的临床敏感度分别为 70.24% (144/205) 和 96.10% (197/205)。结果表明,2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体联合检测在 COVID-19 患者中具有非常高的检出率,是核酸检测漏检的良好互补。

三、2019-nCoV 抗体与 2019-nCoV 核酸检测比较

将 284 例研究对象 2019-nCoV IgM 和 IgG 抗体检测结果和核酸检测结果进行比较,见表 1。

表 1 2019-nCoV 抗体检测和核酸检测结果比较 (例)

2019-nCoV 抗体检测	2019-nCoV 核酸检测		
	阳性	阴性	合计
阳性	179	27	206
阴性	7	71	78
合计	186	98	284

2019-nCoV 抗体检测的阳性预测值为 95.63% (197/206),阴性预测值为 91.03% (71/78),2019-nCoV 核酸检测的阳性预测值为 100% (186/186),阴性预测值为 80.61% (79/98)。2019-nCoV 抗体和 2019-nCoV 核酸诊断 2019-nCoV 感染的总符合率为 88.03% (250/284)。经 χ^2 检验,两种指标诊断 2019-nCoV 感染的差异有统计学意义 ($\chi^2=151.99$, $P < 0.05$)。对 19 例具有 COVID-19 临床症状及 CT 影像学特征但核酸检测阴性临床确诊患者血清学检测发现,2019-nCoV IgM 抗体呈阳性反应 16 例 (84.21%),2019-nCoV IgG 抗体呈阳性反应 18 例 (94.74%)。

讨 论

2019-nCoV 引发的肺炎疫情传播迅速,对人民群众生命安全和身体健康造成了严重威胁^[2-3]。2019-nCoV 属于冠状病毒 β 属,基因组为线性的单股正链 RNA,是已知可感染人类的第 7 种冠状病毒^[4]。目前,2019-nCoV 核酸检测是诊断 COVID-19 的常规检测方法和确诊依据。国家卫生健康委 2020 年 2 月 18 日最新公布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第六版)》中提出,确诊病例需具备核酸检测阳性或病毒基因测序与已知新型冠状病毒高度同源^[5]。然而,临床上并不是所有 2019-nCoV 感染者都能通过常规标本测出 2019-nCoV 核酸,目前多地多家临床机构已出现 2019-nCoV 核酸检测假阴性情况,从而导致核酸检测结果与临床症状、影像学检查不相符,给 2019-nCoV 感染诊断及疫情防控带来巨大的影响^[6-7]。在这种背景下,国家发布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)》^[8],指出对于核酸阴性但具有特异性临床症状的患者应确定为“临床确诊病例”,从而大大减少了疑似病例的病情恶化和对健康人的潜在感染风险。尤其是《新型冠状病毒肺炎防控方案(第五版)》附件 4《新型冠状病毒肺炎实验室检测技术指南》^[1],强调病原学检测阳性对 COVID-19 确诊的必要性,同时也指出核

酸检测结果阴性不能排除新型冠状病毒感染,提出了采用血清样本进行抗体检测的要求,应该会对《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第六版)》疑似病例的排除有指导作用。

自从2020年2月下旬以来,国内一些试剂厂家陆续研发出2019-nCoV IgM和IgG抗体免疫检测试剂盒。抗体检测对于2019-nCoV来说是一个全新的检测方法,非常有必要对COVID-19血清学实验室诊断的临床特异度和临床敏感度进行充分验证,特别是研究抗原抗体血清学检测能否对核酸漏检问题起到明显的互补作用。研究表明,2019-nCoV IgM和IgG免疫检测试剂具有很高的临床特异度,分别达到96.20%和92.41%,可以充分满足临床检验的需要。COVID-19病例中,2019-nCoV IgM检测临床敏感度达到70.24%,而其IgG检测的临床敏感度高达96.10%,可以作为新型冠状病毒的有效筛查和诊断方法。

本研究发现,所有2019-nCoV IgM阳性病例,其IgG也全部阳性。一般情况下,病原微生物刺激机体产生免疫应答的规律通常是感染后IgM先升高,然后很快下降直到消失。而IgG通常在IgM之后出现,并且一直上升且长时间在体内保持很高的水平。由于COVID-19为全新传染病,免疫学检测试剂也是才刚刚研制出来,目前对2019-nCoV感染后IgM和IgG抗体产生的规律还没有任何报道。从本研究结果看,2019-nCoV感染者2019-nCoV IgM阳性率明显低于2019-nCoV IgG,是因为研究对象处于感染中期或恢复期,而在核酸阳性的COVID-19患者中,绝大多数2019-nCoV IgG阳性。在2019-nCoV IgG单阳性患者中,出现发热、乏力等症状的时间为8~47 d,中位天数为24 d,按照目前2019-nCoV感染中位潜伏期7 d计算,这部分患者感染时间中位数约为31 d,存在2019-nCoV IgM阴性的可能。鉴于以上推断,2019-nCoV IgM和IgG联合检测对提高COVID-19早期检测的临床敏感度具有重大价值。在治疗监测及病程转归方面,2019-nCoV IgM浓度的下降乃至消失和2019-nCoV IgG浓度的升高,则预示患者逐渐痊愈,并产生了对致病性2019-nCoV的免疫力。

随着核酸检测漏检问题的发现,临床迫切需要可以弥补核酸漏检的其他检测方法。本研究发现,在19例核酸检测阴性但基于临床症状确诊的COVID-19患者中,有16例患者2019-nCoV IgM阳

性,其阳性率达到84.21%,有18例患者2019-nCoV IgG阳性,其阳性率达到94.74%。目前2019-nCoV核酸检测结果假阴性有多种原因,包括标本质量差,比如口咽等部位的呼吸道样标本,标本收集过早或过晚,没有正确的保存、运输和处理标本,技术本身存在的原因如病毒变异等^[1]。而抗原抗体血清学检测的标本来源于外周血,血清或血浆标本,其采集和保存简单易行,且抗体在血清标本中的稳定性也很好,从而提高了检测的临床敏感度。因此,2019-nCoV IgM和IgG抗体检测对核酸检测容易漏检的问题是很好的互补,将在COVID-19的诊断、治疗监测和病程转归等方面提供更多的临床数据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 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(试行第五版)的通知(国卫办医函〔2020〕103号)[EB/OL]. (2020-02-05). <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/3b09b894ac9b4204a79db5b8912d4440.shtml>.
- [2] Phelan AL, Katz R, Gostin LO. The Novel Coronavirus Originating in Wuhan, China: Challenges for Global Health Governance[J]. JAMA, 2020. DOI: 10.1001/jama.2020.1097. [Epub ahead of print].
- [3] Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. Lancet, 2020,395(10223):497-506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- [4] Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019[J]. N Engl J Med, 2020,382(8):727-733. DOI: 10.1056/NEJMoa2001017.
- [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感染的肺炎诊疗方案(试行第六版)的通知(国卫办医函〔2020〕145号)[EB/OL]. (2020-02-19). <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [6] 里进,叶光明,陈良君,等. 新型冠状病毒(2019-nCoV)核酸检测假阴性结果原因分析及对策[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(3): 221-225. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2010.03.005.
- [7] 莫茜,秦炜,傅启华,等. 正确认识新冠病毒核酸检测的影响因素[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(3): 213-216. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2020.03.003.
- [8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 国家卫生健康委办公厅关于印发新型冠状病毒肺炎防控方案(第五版)的通知(国卫办疾控函〔2020〕156号)[EB/OL]. (2020-02-21). <http://www.nhc.gov.cn/jkj/s3577/202002/a5d6f7b8c48c451c87dba14889b30147.shtml>.

(收稿日期:2020-02-23)

(本文编辑:武昱)