

核酸阳性新型冠状病毒肺炎中 SARS-CoV-2 特异性 IgM/IgG 抗体的临床表达

武汉市第一医院 关军 程平 周英 张婷 程辉 邹亮*, 武汉 430022

摘要 目的:探讨 SARS-CoV-2 特异性 IgM/IgG 抗体在核酸阳性的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)患者中的表达特点及规律。方法:纳入 176 例核酸阳性的确诊 COVID-19 患者,以发病病程 <2、3、4 周、>5 周为时间点抽取患者外周血样本,应用胶体金法检测其 SARS-CoV-2 特异性 IgM/IgG 抗体表达,分析其表达情况与性别、年龄、临床分型、就医间隔、发病病程、核酸复测结果等之间的关系,并监测 19 例患者 SARS-CoV-2 特异性 IgM/IgG 抗体的动态变化。结果:不同病程和年龄的患者 SARS-CoV-2 特异性 IgG 的表达之间比较,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$),而不同性别、临床分型、就医间隔、核酸复测结果的患者 IgM、IgG 的表达之间比较,差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。发病病程在 2 周内、3 周、4 周、5 周及以上的患者,IgM 的阳性率分别为 55.6%、47.4%、60.5%、52.7% (均 $P > 0.05$);IgM 抗体的阳性率在第 4 周左右达到最高值,IgG 的阳性率分别为 77.8%、84.2%、97.4%、100%,不同时间点的抗体水平之间的差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。接受动态抗体监测的 19 例患者中,8 例患者在病情稳定或明显改善的情况下,其 IgM 表达转阴或减弱。结论:SARS-CoV-2 特异性 IgM/IgG 抗体在 COVID-19 患者体内的变化规律具有明显的个体差异,与年龄、发病病程相关。

关键词 2019-新型冠状病毒; 新型冠状病毒肺炎; 抗体; 胶体金法

中图分类号 R563.1⁺4

文献标识码 A

DOI 10.11768/nkjwzzzz20200504

Clinical expression of IgM/IgG antibody specific for SARS-CoV-2 in patients with COVID-19 GUAN Jun, CHENG Ping, ZHOU Ying, ZHANG Ting, CHENG Hui, ZOU Liang*. Wuhan First Hospital, Wuhan 430022, China

Abstract Objective: To investigate the clinical expression pattern and its dynamic changes of IgM/IgG antibody specific for SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. Methods: A total of 176 patients positive for the SARS-CoV-2 RNA test with PCR were enrolled in the study. The expression of IgM/IgG antibody was detected by the colloidal gold method at the time point of 2nd week or earlier, 3rd week, 4th week, 5th week or later. The correlation between the expression of IgM/IgG antibody and sex, age, clinical typing, course of the disease, course of medical interval, the result of the SARS-CoV-2 RNA test after therapy was analyzed. The changes of the expression of IgM/IgG antibody in 19 subjects were monitored. Results: The difference between the expression of IgM/IgG antibody and course of the disease or age was significant (all $P < 0.05$), and there was no significant difference between the expression of IgM/IgG antibody with other measures (all $P > 0.05$). The expression of IgM antibody increased to the highest at 4th week. The seroprevalence of IgM antibody was 55.6%, 47.4%, 60.5%, 52.7% (all $P > 0.05$), and that of IgG antibody was 77.8%, 84.2%, 97.4%, 100% at 2nd week or earlier, 3rd week, 4th week, 5th week or later respectively (all $P < 0.05$). Eight cases showed negative or weakened expression of IgM antibody when 19 patients were tested for IgM/IgG antibody weekly. Conclusion: Obvious individual differences in the expression of IgM/IgG antibody were observed. The expression of IgM/IgG antibody was correlated with the age and the course of the disease.

Key words 2019-nCoV; COVID-19; Antibody; Colloidal gold method

世界卫生组织(WHO)将 SARS-CoV-2 引发的疾病命名为 2019 冠状病毒(coronavirus disease 2019, COVID-19)^[1,2], 2019-nCoV 特异性抗体检测经证实具有较高的灵敏度和特异性,对于 COVID-19 的诊断具有重要价值,尤其是 IgM 抗体阳性对于核酸检测阴性的疑似 COVID-19 病例的确诊具有重要意义^[3~5]。中华人民共和国国家卫生健康委员会发

布的最新版《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(第 7 版)》已明确将 2019-nCoV 特异性抗体与核酸检测、病毒基因测序一起列为疑似病例确诊的病原学证据之一^[6]。本文探讨 SARS-CoV-2 特异性 IgM/IgG 抗体在确诊患者中的表达特点。

资料与方法

一般资料 选择武汉市第一医院 2020 年 2 月 12 日~3 月 14 日收治的 COVID-19 患者 176 例为

* 通信作者:邹亮, E-mail: zozou@qq.com

研究对象,诊断标准依据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案》第 7 版^[6],按照年龄、临床分型、性别、就医间隔、发病病程、复查核酸情况,对患者进行分型,包括轻型、普通型、重型和危重型。患者均为核酸阳性的确诊病例(不含临床诊断病例),SARS-CoV-2 核酸检测均由武汉市第一医院检验科(武汉市指定核酸检测机构之一)完成。排除标准包括:①既往有自身免疫性疾病如系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎等;②抗核抗体、类风湿抗体或类风湿因子阳性;③参与了其它新药临床试验。本研究经武汉市第一医院伦理委员会批准。

方法与观察指标

1. SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体的表达。以胶体金法作为抗体检测手段,检测核酸阳性的 176 例 COVID-19 患者血清 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体水平,并动态检测 19 例 COVID-19 患者血清 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体水平的变化。检测试剂由广州万孚生物技术股份有限公司提供。所需血液标本的采集保存处理和检测程序以及结果判定按照试剂说明书进行:取全血样本 15 μ L 加入检测孔,滴入样本稀释液 3 滴,室温下孵育 15 min,进行结果判定。出现质控线提示结果有效,出现检测线判定为阳性。使用颜色标尺进行结果判定,结果根据颜色深浅程度分为 5 级(0、1、2、3、4、5),其中,0 为阴性,1~2 为“+”,3~5 为“++”。对于检测结果显示为阴性的患者,对采集的样本重复进行 2 次抗体检测。基于试剂的原因,于 2020 年 3 月 4 日前入院的患者,于 2020 年 3 月 4 日后完成该抗体检测。

2. “发病病程”的判定。以患者出现“首发症状”的日期至检测 SARS-CoV-2 特异性 IgM 和 IgG 抗体的当日日期分别作为起止日期计算“发病病程”。“首发症状”包括:发热、腹泻、乏力、咳嗽、胸闷、呼吸困难等。

3. “就医间隔”的判定。以患者出现“首发症状”至住院治疗的时间,部分患者在隔离点接受医学观察的时间不计算在内。

统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计学软件,组间比较采用 χ^2 检验,相关性分析采用回归分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一般临床特点 176 例 COVID-19 患者(男 73,女 103),中位年龄 65 岁(12~93 岁)。治疗方案均

为阿比多尔联合中医药综合治疗,经评估合并感染的患者使用基于喹诺酮类或头孢类抗生素抗细菌治疗。合并脏器功能不全的患者接受相应的支持治疗,见表 1。

表 1 患者一般临床特点

临床指标	病例数
年龄	
≤55 岁	53
>55 岁	123
临床分型	
轻型	12
普通型	62
重型	87
危重型	15
性别	
女	103
男	73
就医间隔时间	
≤7d	67
>7d, ≤14d	56
>14d	53

影响 COVID-19 患者 IgM/IgG 抗体表达的相关因素分析 经过单因素分析,患者的发病病程、年龄与 IgG 的表达之间存在统计学关联,而性别、临床分型、就医间隔、核酸复测结果与 IgM、IgG 的表达之间无明显相关性(均 $P > 0.05$)。年龄与临床分型、发病病程之间存在统计学关联($P < 0.05$),见表 2、3。

表 2 SARS-CoV-2-IgM 抗体表达情况 (例)

临床指标	-	+	++
年龄			
≤55 岁	28	15	10
>55 岁	53	48	22
临床分型			
轻型	7	3	2
普通型	24	26	12
重型	41	30	16
危重型	9	4	2
性别			
女	47	38	18
男	34	25	14
就医间隔			
≤7 d	36	19	12
>7 d, ≤14 d	23	25	8
>14 d	22	19	12
核酸			
阴性	69	58	26
阳性	12	5	6
合计	81	63	32

表 3 SARS-CoV-2-IgG 抗体表达情况 (例)

临床指标	-	+	++
年龄*			
≤55 岁	5	4	44
>55 岁	1	6	116
临床分型			
轻型	2	1	9
普通型	2	2	58
重型	2	7	78
危重型	0	0	15
性别			
女	2	7	94
男	4	3	66
就医间隔			
≤7d	2	5	60
>7d, ≤14d	2	4	50
>14d	2	1	50
核酸			
阴性	5	10	138
阳性	1	0	22
合计	6	10	160

注: * $P < 0.05$

患者 SARS-CoV-2 特异性 IgM/IgG 抗体的动态变化 患者体内检测到特异性 IgM 抗体的发病病程的中位时间为 34 d (10 ~ 84 d)。发病病程在 2 周内、3 周、4 周、5 周及以上的患者, IgM 抗体的阳性率分别为 55.6%、47.4%、60.5%、52.7%, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。IgG 的阳性率分别为 77.8%、84.2%、97.4%、100%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。病程 >4 周的患者 IgG 阳性率显著增高, 见表 4。

19 例进行动态 SARS-CoV-2 特异性 IgM/IgG 抗体水平监测的患者中, 8 例患者在病情稳定或明显改善的情况下, 其 IgM 表达转阴或减弱; 1 例患者在检测到 IgM 水平表达减弱的同时, 病情继续加重; 1 例患者病情稳定, 但 IgM 表达持续阳性 3 周。19 例患者在随访终末期均获得 IgG 抗体, 1 例患者病程第

5 周开始呈现 IgG 抗体阳性, 1 例患者在第 9 周 IgG 抗体水平开始呈现下降趋势, 由强阳性转为弱表达。

讨 论

由于湖北地区 COVID-19 的高发病率, COVID-19 诊疗指南中曾经增加了临床诊断病例, 特异性抗体检测在辅助临床诊断病例的确诊中发挥了一定作用^[2~5,7,8]。机体在感染免疫应答过程中, IgM 是产生最早的抗体, 浓度低、维持时间短, 是急性期感染的指标; 而 IgG 产生晚, 浓度高、维持时间长, 阳性提示感染中、后期或既往感染。罗效梅等^[4]的数据显示, 最早在 COVID-19 患者发病 4 d 时可检测出 IgM 阳性, 在发病后 8 d, 抗体 IgM 阳性率可达 100%。随着病程的进展, 28 d 后 IgM 开始消失, IgG 抗体阳性率开始提高。

本研究检测到 IgM 抗体的中位发病病程时间为 34 d (10 ~ 84 d)。患者最早于发病第 10 天时可检测到 IgM 抗体, 1 例于发病后第 84 天仍可检测到 IgM 抗体弱表达。老年患者的发病病程偏长, 这可能与老年患者的 COVID-19 病情更容易迁延有关。而数据也表明, 即使是老年患者, 其依然能够产生 IgG 抗体, 但产生的时间可能会有所延迟。

大部分患者潜伏期一般为 (4.8 ± 2.6) d, 不超过 14 d^[9]。故从“发病病程 + 潜伏期”的概念能够初步预估患者从被感染到产生抗体的时间间隔。

本研究显示, SARS-CoV-2 特异性 IgM、IgG 抗体在机体内的变化规律存在一定的个体差异。IgG 抗体阳性率与患者的年龄有关, 患者接受抗病毒等综合治疗 (以阿比多尔和中医药为基础的联合治疗)^[10] 的早晚并不影响 SARS-CoV-2 特异性 IgM、IgG 抗体的表达。老年患者对外界的应答能力减弱, IgG 水平似乎应该处于下降状态, 病例中的个案也支持了这一观点。本研究中, 有 1 例行抗体检测前 2 周核酸阳性的 76 岁患者, 其连续 2 次特异性抗体检测均为阴性。本研究还发现, 部分年龄较大的

表 4 血 SARS-CoV-2 抗体与发病病程的关系

发病病程	SARS-CoV-2-IgG			SARS-CoV-2-IgM		
	-	+	++	-	+	++
<2 周	2	0	7	4	2	3
3 周	3	2	14	10	5	4
4 周	1	3	34	15	15	8
>5 周	0	5	105	52	41	17
合计	6	10	160	81	63	32

(下转第 379 页)

参考文献

- 1 刘月红,潘宝忠,相葵,等. 194 例煤工尘肺患者肺功能检测结果分析[J]. 中国工业医学杂志,2014,15(1):65-65.
- 2 吴海洪,李冀,吴海弟,等. 经支气管镜肺减容术微创治疗慢性阻塞性肺疾病及其相关并发症的现状与展望[J]. 内科急危重症杂志,2019,25(4):338-341.
- 3 王传海,李承红,孔彬. N-乙酰半胱氨酸辅治特发性肺纤维化的临床疗效观察[J]. 疑难病杂志,2015,14(2):129-131.
- 4 张建芳. 尘肺病综合治疗指南[M]. 煤炭工业出版社,2013:64-66.
- 5 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志,2013,36(4):255-264.
- 6 任芳萍,蒋延文. 雾化吸入 N-乙酰半胱氨酸在老年慢性阻塞性肺

疾病急性加重患者治疗中的应用[J]. 吉林大学学报(医学版), 2019,45(5):1141-1145.

- 7 张洪文. 大容量肺灌洗治疗尘肺并发慢性阻塞性肺疾病的效果[J]. 中华劳动卫生职业病杂志,2013,31(7):536-537.
- 8 李书锐. 高敏 C 反应蛋白与白介素-6 水平变化在慢性阻塞性肺疾病急性加重早期诊断中的价值[J]. 内科急危重症杂志,2019,25(5):401-403.
- 9 黄德珍,曾玉兰. N-乙酰半胱氨酸对老年慢性阻塞性肺疾病患者免疫功能及细胞因子的影响[J]. 实用医学杂志,2015,31(7):1186-1188.
- 10 涂晶,苗润丰,邹晓东,等. N-乙酰半胱氨酸对慢性阻塞性肺疾病合并肺气肿患者血清炎症因子及肺功能的影响分析[J]. 疑难病杂志,2017,16(12):1221-1224.

(2018-10-15 收稿 2020-01-20 修回)

(上接第 371 页)

患者,其 IgG 抗体强表达的阳性率也可能会更高,表现出明显的个体差异。本文推测,这可能与如下因素有关:①SARS-CoV-2 可能具有高应答能力,即使体液免疫功能减退的患者,也能诱发一定水平的免疫反应;②年龄偏大的患者病程更易迁延。

1 例患者经过治疗后达到连续 2 次核酸阴性,其病程已超过 4 周,肺部 CT 部分好转,伴有部分实变及纤维化,其 IgM/IgG 抗体仍连续阳性,后反复复查咽拭子核酸检测显示阳性,经过继续抗病毒及中医药支持治疗 10 d 余,复查肺泡灌洗液核酸阴性,CT 显著好转,IgM 阴性,IgG 阳性。这提示,对于 COVID-19 肺炎患者,咽拭子核酸阳性与否不能作为评估疾病活动与否的主要标准,加查 IgM/IgG 不失为一种可行的选择。对于连续核酸阴性、CT 部分好转的患者,若 IgM/IgG 持续阳性,提示该患者可能仍然处于病毒活动期,不排除疾病会继续进展。由于病例数量有限,支气管镜下肺泡灌洗液核酸检测的结果与抗体表达之间的关系还无法明确,需要进一步研究。

目前,COVID-19 仍然是一种发病机制不甚明确的疾病,其血清学特点有助于临床诊断与治疗,有助于出院标准的再拟定再优化,这也决定了迫切需要进一步开发可靠的抗体定量检测技术来应用于临床。

参考文献

- 1 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.

- 2 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], 2020, 27[Online ahead of print].
- 3 梁颖,曾斯敏,刘玉亭,等. 病毒特异性抗体检测在新型冠状病毒肺炎诊断中的应用价值[J]. 武汉大学学报(医学版). 2020. DOI: 10.14188/j.16718852.2020.0167.
- 4 罗效梅,王静,张娅,等. 全血 SARS-CoV-2 特异性抗体检测对 2019-冠状病毒病的临床应用价值分析[J/OL]. 西南大学学报(自然科学版), 2020, 42(3):30-34.
- 5 唐鹏,赵自武,刘颖娟,等. 化学发光和胶体金法检测新型冠状病毒特异性抗体比较及其临床意义[J]. 武汉大学学报(医学版), 2020, 41(4):517-520.
- 6 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]. (2020-03-04). <http://www.nhc.gov.cn/yzygi/s7653p/202003/46c9294a7dfe4ce80dc7f5912eb1989.shtml>.
- 7 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]. (2020-02-19). <http://www.nhc.gov.cn/yzygi/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2>.
- 8 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] 国际检验医学杂志. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.r.20200304.1041.006.html>.
- 9 Liu T, Hu J, Kang M, et al. Transmission dynamics of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). 2020; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.01.25.91978>.
- 10 武汉同济医院新型冠状病毒肺炎救治协作组. 重症新型冠状病毒感染肺炎诊疗与管理共识[J]. 内科急危重症杂志, 2020, 26(1):1-5.

(2020-04-17 收稿 2020-07-16 修回)