

新型冠状病毒肺炎患者血清 SARS-CoV-2 抗体的检测分析

朱旭阳, 叶寒青, 陈文玄, 赵行, 翁吉仁, 张艳敏 (温州医科大学附属乐清医院检验科, 浙江乐清 325600)

摘要: **目的** 分析新型冠状病毒肺炎 (corona virus disease 2019, COVID-19) 患者血清新型冠状病毒 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) IgM 和 IgG 抗体的变化规律及临床应用。**方法** 收集 2020 年 1~2 月初温州医科大学附属乐清医院收治的 28 例 SARS-CoV-2 核酸检测阳性的 COVID-19 患者作为病例组, 排除 COVID-19 的 30 例其他疾病患者作为对照组。利用全自动化学发光免疫分析技术检测所有研究对象的血清 SARS-CoV-2 IgM 和 IgG, 分析 SARS-CoV-2 抗体的变化规律。**结果** SARS-CoV-2 IgM, 发病第 1~6 天均阴性, 发病第 7~10 天, 2 例患者阳性, 发病第 18 天后均转阳性, 一个月左右达峰值, 2 例患者分别在第 49 天和第 55 天出现 9.80AU/ml (阴性) 和 10.79AU/ml (弱阳性)。SARS-CoV-2 IgG, 发病第 1~6 天均阴性, 发病第 8 天后均阳性。**结论** 发病 10 天内 SARS-CoV-2 IgM 阴性的患者不能排除 SARS-CoV-2 感染, 发病超过一周或多次核酸检测阴性的疑似患者检测 SARS-CoV-2 IgM 和 IgG 具有重要意义。

关键词: 新型冠状病毒肺炎; 新型冠状病毒; 免疫球蛋白 M; 免疫球蛋白 G

中图分类号: R373.19; R446.62 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2020) 04-106-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.04.026

Preliminary Analysis of Serum Antibodies Against SARS-CoV-2 in Patient with Coronavirus Disease 2019

ZHU Xu-yang, YE Han-qing, CHEN Wen-hai, ZHAO Hang, WENG Ji-ren, ZHANG Yan-ming

(Department of Clinical Laboratory, Yueqing Hospital Affiliated to Wenzhou Medical University, Zhejiang Yueqing 325600, China)

Abstract: **Objective** To explore the dynamic characteristics of serum IgM and IgG antibodies against SARS-CoV-2 in COVID-19 patient and their clinical application. **Methods** A total of 28 patients with COVID-19 and 30 patients without COVID-19 were involved in this study from January to February 2020 in Yueqing Hospital Affiliated to Wenzhou Medical University. The levels of serum IgM and IgG were measured by automatic chemiluminescence immunoassay analyzer, and the dynamic characteristics of SARS-CoV-2 antibodies was analyzed. **Results** On the 1st-6th day, SARS-CoV-2 IgM were negative, on the 7th-10th day, two COVID-19 patients' IgM were positive, and IgM were positive after eighteen days later. SARS-CoV-2 IgM reached the peak in one month. On the 49th and 55th day, one COVID-19 patient's IgM was 9.80AU/ml (negative) and the other was 10.79AU/ml (weakly positive). On the 1st-6th day, SARS-CoV-2 IgG were negative, IgG turned positive in one week. **Conclusion** It is suggested that infection can't be excluded with negative IgM of SARS-CoV-2 within 10 days after initial onset of symptoms, and the IgM and IgG can be used for COVID-19 screening in suspected patients with negative nucleic acid detection for many times or the patients with symptom more than one week.

Keywords: COVID-19; SARS-CoV-2; IgM; IgG

新型冠状病毒 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 属于套式病毒目、冠状病毒科、 β 冠状病毒属^[1-2]。引起的新型冠状病毒肺炎 (corona virus disease 2019, COVID-19) 是一种急性呼吸道传染病^[3], 轻、中症患者早期临床表现缺乏特异性, 以上呼吸道症状 (发热、干咳、乏力) 为主^[4], 重型、危重型患者可快速进展为急性呼吸窘迫综合征等^[5]。该病传染性强, 治疗难度大, 对人类健康和世界公共卫生安全构成重大威胁^[6]。为加强对该病的早诊早治, 控制疫情, 《新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第七版)》明确将抗体检测结果纳入确诊病例的诊断标准, 以及疑似病例的

排除标准^[5]。由于 COVID-19 是一种全新的传染病, SARS-CoV-2 抗体的动力学特点尚未明确, 难以对抗体的检测结果做出正确解读, 为此本研究收集了发病第 1~55 天的 28 例 COVID-19 患者的 33 份血清, 拟对 SARS-CoV-2 IgM, IgG 抗体的变化规律做初步分析, 为临床标本采样时机的选择、诊断及疗效评估提供更多依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2020 年 1 月 21 日到 2 月 9 日温州医科大学附属乐清医院收治的 28 例 SARS-CoV-2 核酸检测阳性的确诊 COVID-19 患者为病例组, 其中男性 15 例, 女性 13 例, 年龄 21~82 岁。

排除 COVID-19 的 30 例其他疾病患者为对照组，其中男性 12 例，女性 18 例，年龄 27~84 岁。患者相关资料均从电子病历获得。所有研究对象均空腹采集静脉血 5ml，置于含分离胶的红头真空采血管内，静置待血液凝固后，3000 × g 离心 5min，取血清 -20℃ 保存，统一于检测前室温融解。把病例组 28 例确诊患者的 33 份血清分成四小组：发病第 1~6 天采集的 13 份血清为病例组 1，发病第 7~10 天采集的 5 份血清为病例组 2，发病第 18~55 天采集的 13 份血清为病例组 3，2 例患者没有临床症状，因为有流行病学史，自行到医院排查，CT 结果显示肺部感染，咽拭子核酸阳性，他们的血清作为病例组 4。

1.2 仪器与试剂 iFlash 3000-B 化学发光测定仪（深圳亚辉龙生物科技股份有限公司），SARS-CoV-2 IgM, IgG 抗体检测试剂盒（深圳亚辉龙生物科技股份有限公司）。

1.3 方法 采用 SARS-CoV-2 抗原（重组蛋白）包被的磁微粒，全自动化学发光免疫分析技术，按试

表 1 33 份 COVID-19 患者血清在不同病程 SARS-CoV-2 抗体的诊断敏感度 [n (%)]

病例组	发病天数	n	年龄 (岁)	IgM	IgG	IgM 和 / 或 IgG
1	1 ~ 6	13	26 ~ 82	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
2	7 ~ 10	5	21 ~ 57	2 (40.0)	4 (80.0)	4 (80.0)
3	18 ~ 55	13	43 ~ 76	12 (92.3)	13 (100.0)	13 (100.0)
4	/	2	50 ~ 51	1 (50.0)	2 (100.0)	2 (100.0)

注：/ 表示无发病。

2.3 SARS-CoV-2 抗体出现和消失的时间 SARS-CoV-2 IgM, 病例组 1 均阴性；病例组 2 的 2 例患者分别在第 7 天和第 8 天出现 25.21 AU/ml 和 18.62 AU/ml 阳性，1 例患者第 10 天仍阴性；病例组 3 的 2 例患者分别在第 49 天和第 55 天出现 9.80 AU/ml（阴性）和 10.79 AU/ml（弱阳性）。SARS-CoV-2 IgG, 病例组 1 均阴性，病例组 2 的 1 例患者第 8

表 2 3 例 COVID-19 患者 SARS-CoV-2 IgM, IgG 的动态变化

病例编号	发病时间	采样时间	发病天数	IgM (AU/ml)	IgG (AU/ml)
1	1月21日	3月10日	49	87.82	84.42
		3月15日	54	64.01	74.80
2	2月7日	3月7日	30	22.71	142.40
		3月8日	31	36.31	118.20
3	2月7日	3月7日	30	25.46	110.90
		3月11日	34	21.91	112.90
		3月16日	39	17.36	105.40
		4月1日	55	10.79	96.84

3 讨论

SARS-CoV-2 核酸阳性是 COVID-19 确诊病例

剂说明书进行检测。阳性判断标准参考试剂说明书，样本浓度 < 10.00 AU/ml 时，视为阴性；样本浓度 ≥ 10.00 AU/ml 时，视为阳性。病例组 2 的 SARS-CoV-2 IgM 浓度处于临界状态，病例组 3 的两例 SARS-CoV-2 IgM 浓度处于临界状态，这 7 份血清进行两次检测（重复性良好），取均值分析。

2 结果

2.1 SARS-CoV-2 IgM, IgG 抗体诊断特异度 对照组 30 例患者中，SARS-CoV-2 IgM, IgG 抗体诊断特异度分别为 100.0% (30/30) 和 96.7% (29/30)。其中 IgG 抗体 1 例假阳性系脑梗死、高血压患者，结果为 14.99AU/ml，属弱阳性反应。

2.2 COVID-19 患者不同病程 IgM, IgG 抗体诊断敏感度 见表 1。SARS-CoV-2 IgM, IgG 抗体诊断敏感度，病例组 1 分别为 0.0% (0/13) 和 0.0% (0/13)，病例组 2 分别为 40.0% (2/5) 和 80.0% (4/5)，病例组 3 分别为 92.3% (12/13) 和 100.0% (13/13)，病例组 4 分别为 50.0% (1/2) 和 100.0% (2/2)。

天阴性，其余患者均阳性，病例组 3 和病例组 4 均阳性。

2.4 3 例 COVID-19 患者的 SARS-CoV-2 IgM, IgG 动态变化 见表 2。病例组 3 的 3 例患者的 IgM, IgG 结果提示 SARS-CoV-2 IgM 浓度在一个月左右达峰值，随后逐渐下降。

的诊断标准。但是实际应用中核酸检测难以保证结果的及时和准确^[7-8]，主要受病程、采样、保存、

RNA提取、试剂盒质量、结果判读等因素的影响^[9]。为进一步做好 COVID-19 诊断和医疗救治工作,国家卫生健康委员会把抗体检测作为 COVID-19 诊治的补充检测手段。SARS-CoV-2 抗体检测是一种新的检测方法,需要验证试剂的可靠性和明确 SARS-CoV-2 抗体产生的时间规律,使 SARS-CoV-2 抗体检测结果更科学和准确地应用于临床。

研究表明, SARS-CoV-2 IgM, IgG 抗体检测具有较高的诊断特异度和诊断敏感度,能够满足临床诊断的要求。根据研究中 SARS-CoV-2 抗体出现和消失的时间,提示多数患者 SARS-CoV-2 IgM 在发病第 7 天出现阳性,一个月左右达峰值,随后逐渐下降,持续 50 天左右。其中一例患者发病第 10 天阴性。故建议发病 10 天内 SARS-CoV-2 IgM 阴性的患者不能排除 SARS-CoV-2 感染,需要动态监测。鉴于 SARS-CoV-2 是一种新的毒株^[10-11],传染性强,目前没有疫苗和特效药,人体内没有针对 SARS-CoV-2 的特异性抗体,而且随着病程的延长,大部分患者的病毒载量逐渐下降,当降低到核酸检测的最低检测限,就难以检出,而抗体的诊断敏感度随着病程的延长逐渐增加,所以抗体检测是核酸检测重要的补充实验,尤其对发病超过一周或多次核酸检测阴性疑似患者。本组研究样本量偏少,未能收集到每个病例组内更多的样本,因此对 SARS-CoV-2 抗体变化规律仅做初步分析,结论有一定的局限性。

本研究发现 SARS-CoV-2 IgG 血清转阳时间早于 IgM 的患者比例更高,与一般传染病的 IgG 类抗体出现较晚不一致。分析其原因可能与以下因素有关:① SARS-CoV-2 抗体动力学变化的特殊性所导致,需要大样本的临床数据和可靠试剂来验证;② 大量研究提示,不同种冠状病毒 N 蛋白或 S 蛋白存在免疫交叉反应^[12-16]。SARS-CoV-2 抗体检测可受其他种类冠状病毒的影响,可能具有一定的假阳性率,还需在临床检测中进一步证实。尤其是上感流行季节,大量的 hCoV-229E, hCoV-OC43, hCoV-NL63 和 hCoV-HU1 病毒感染引起的上感患者可影响 SARS-CoV-2 抗体的检测结果;③ 应急开发的试剂缺乏样本多样性验证和临床验证,检测结果的准确性还需大样本临床数据的验证。

研究中我们还发现一例重症患者转上级医院治疗后,咽拭子 SARS-CoV-2 核酸 2 次阴性,大便 SARS-CoV-2 核酸 5 次阴性,影像学检查明显改善,体温正常超过 3 天,予以出院。出院后随访期间,咽拭子 SARS-CoV-2 核酸复查阳性,有别于文献^[17]研究中 20 例重症患者中没有出现复阳现象。值得注意的是该患者核酸复阳期间, SARS-CoV-2 IgM 阳性, SARS-CoV-2 IgG 110.91 AU/ml, 阳性。意味

着 COVID-19 患者 IgG 处于高值时,不能排除传染性。复阳患者是否具有传染性还需确定脱落的是否是活病毒,产生的 IgG 抗体是否具有保护性还需病毒中和试验进一步验证。该例患者再次入院后,病情稳定,与文献^[17]研究大部分复阳患者在再次入院后没有出现明显的恶化一致^[17]。

综上所述,本研究建议发病 10 天内 SARS-CoV-2 IgM 阴性的患者需要动态多次监测,不排除 SARS-CoV-2 感染; SARS-CoV-2 IgM, IgG 联合检测适用于发病超过一周或多次核酸检测阴性疑似患者,可以减少潜在传染源的漏检。

参考文献:

- [1] PHELAN A L, KATZ R, GOSTIN L O. The novel coronavirus originating in Wuhan, China: challenges for global health governance[J]. *the Journal of the American Medical Association*, 2020, 323(8): 709-710.
- [2] FORNI D, CAGLIANI R, CLERICI M, et al. Molecular evolution of human coronavirus genomes[J]. *Trends in Microbiology*, 2017, 25(1): 35-48.
- [3] LU Hongzhou, STRATTON C W, TANG Yiwei. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle[J]. *Journal of Medical Virology*, 2020, 92(4): 401-402.
- [4] CHEN Nanshan, ZHOU Min, DONG Xuan, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study[J]. *Lancet*, 2020, 395(1223): 507-513.
- [5] 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. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)[EB/OL]. (2020-03-04). [2020-03-05]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengewj/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
General Office of National Health Commission of the People's Republic of China, Office of National Administration of Traditional Chinese Medicine. Diagnosis and treatment of corona virus disease-19 (7th trial edition) [EB/OL]. (2020-03-04). [2020-03-05]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengewj/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [6] HUANG Chaolin, WANG Yeming, LI Xingwang, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. *Lancet*, 2020, 395(1223): 497-506.
- [7] 国家卫生健康委员会办公厅. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第五版修订版)[EB/OL]. (2020-02-08) [2020-02-23]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengewj/202002/d4b895337e19445f8d728fcalf1e3e13a/files/ab6bec7f93e64e7f998d802991203cd6.pdf>.
General Office for National Health Commission. The guideline of diagnosis and treatment of COVID-19 (Pilot Release 5 Revision) [EB/OL]. (2020-02-08) [2020-02-23]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengewj/202002/d4b895337e19445f8d728fcalf1e3e13a/files/ab6bec7f93e64e7f998d802991203cd6.pdf>.

(下转 164 页)