

# 311 例 SARS 患者康复后一年内血清 IgG 抗体变化分析

范保星 解立新 陈良安 陈唯军 文杰 刘又宁

**【摘要】** 目的 了解严重急性呼吸综合征(SARS)患者康复后一年内血清中 SARS 冠状病毒(SARS-CoV)特异性抗体 IgG 的产生水平及动态变化。方法 SARS 患者康复后,每隔2-4周抽取 IgG 抗体阳性的 SARS 康复期患者血液,经病毒灭活后分离血清,用酶联免疫吸附试验检测 SARS-CoV 特异性抗体 IgG;利用 Stata 7.0 统计学软件对各月份的检测结果进行分析。结果 各康复期患者的各次检测结果均为阳性,出院后约 35 天时抗体平均水平最高。一年内,IgG 抗体平均水平呈逐渐下降趋势,下降幅度约为 35.8%。结论 SARS 康复期患者康复后短期内具有较高水平的 IgG 抗体,但随着康复时间的推移,该抗体呈逐渐下降趋势。提示应对该抗体进行长期监测,直至该抗体消失。

**【关键词】** 冠状病毒,严重急性呼吸综合征;抗体,IgG

**Study on the dynamics of IgG antibody in 311 patients with severe acute respiratory syndrome** FAN Bao-xing\*, XIE Li-xin, CHEN Liang-an, CHEN Wei-jun, WEN Jie, LIU You-ning. \*Department of Respiratory Disease, Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100853, China

**【Abstract】 Objective** To detect the level and dynamic change of severe acute respiratory syndrome (SARS)-coronavirus-specific IgG antibody in convalescent SARS patients, and to provide information for prevention and vaccine development. **Methods** IgG antibody against coronavirus was detected by ELISA in the blood of 311 convalescent SARS patients for every 2-4 weeks. Stata 7.0 statistics software was used to analyse the results. **Results** IgG antibody was detected positive on each testing of all the convalescent patients and its peak appeared 35 days after recovery. IgG antibody level showed a 35.8% decrease within one year. **Conclusion** Data showed that all the SARS convalescent patients had generated high level of specific IgG antibody against coronavirus in the early stage of recovery, but the antibody level declined along with the progress of convalescence, suggesting that the detection of the IgG antibody should go on until it disappeared.

**【Key words】** Severe acute respiratory syndrome coronavirus; Immunoglobulins

2003 年我们对部分严重急性呼吸综合征(SARS)康复刚出院患者的血清冠状病毒(SARS-CoV)特异性抗体 IgG 进行了检测,发现大部分康复期患者都能产生 SARS-CoV 特异的 IgG 抗体,并维持在较高的水平<sup>[1]</sup>。目前,大部分 SARS 康复期患者出院约一年的时间,其体内的 IgG 抗体水平如何?变化规律又怎样?针对该问题,从 2003 年 5 月至 2004 年 5 月对 SARS 康复期患者血清特异性抗体 IgG 进行了一年左右的追踪检测,目的是为该病

的进一步预防、治疗和监测,特别是疫苗的研制提供线索。

## 材料与方法

1. 实验设计:随机选取北京地区不同医院出院的 SARS 康复期患者为实验组,在其康复出院后 2 周内对其血清 SARS-CoV IgG 抗体连续进行两次检测,对两次抗体检测均为阳性者列为追踪检测的对象,并于 2003 年 5 月至 2004 年 5 月每隔 2-4 周,电话召回上述康复者至解放军总医院 SARS 复诊室采集静脉血连续检测 IgG 抗体。然后按照发病后的月份对每月的 IgG 抗体检测结果进行统计分析。

2. 血清样品来源:912 份血清样品采自解放军总医院 SARS 复诊室,该血样全部来自有典型

基金项目:国家“863”科技攻关计划资助项目(2003AA208107); 欧盟 F6 课题基金资助项目(SARS SARSTRANS 511066)

作者单位:100853 北京,解放军总医院呼吸内科实验室(范保星、解立新、陈良安、刘又宁);北京华大吉比爱生物技术有限公司(陈唯军、文杰)

SARS 接触史、临床诊断明确且 IgG 抗体阳性的 SARS 康复者。随访的 SARS 康复者的总人数为 311 例,其中小汤山医院 258 例,武警总医院 21 例,民航总医院 9 例,解放军总医院 23 例。311 例康复者中男性 132 例,年龄 18~67 岁,平均 37 岁 $\pm$ 13 岁;女性 179 例,年龄 18~74 岁,平均 38 岁 $\pm$ 13 岁。发病最早的为 2003 年 3 月 12 日,最晚为 2003 年 5 月 20 日;出院最早的为 2003 年 4 月 3 日,最晚为 2003 年 6 月 20 日,其中 6 月 3-20 日出院的占随访人数的 91% (平均出院日约在 6 月 10 日左右)。所有 SARS 康复者的康复标准都符合卫生部 2003-04-15 颁布的 SARS 诊断和康复标准,以及 2003-05-03 新修订的补充标准(试行)等<sup>[2]</sup>。

3. 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测:由解放军总医院呼吸科进行实验的整体设计和实验实施监督,由经过专门防护训练的 SARS 复诊室和急诊科人员采集 SARS 康复者血液并置 4℃ 保存,血液采集 4 h 内进行检测,并由中国科学院北京基因组研究所采用盲法对血液中的 SARS-CoV IgG 进行检测(ELISA 法,国药试字 S20030004)。

IgG 抗体检测的具体方法为<sup>[1,3]</sup>:用纯化的 SARS-CoV 裂解液抗原包被微孔板。将待测血清 1:10 稀释加入微孔板,置 37℃,30 min。用漂洗液洗涤板孔 5 次。加入酶标抗人 IgG 工作液 100  $\mu$ l,置 37℃,20 min。再用洗板液反复洗涤 5 次。加入底物显色完毕后,加入终止液,置酶标仪 450 nm 波长下测定吸光度(A)值。阴、阳性对照血清和被检样本血清的 A 值减去空白对照 A 值即为计算值。若阴性对照 A 均值 $<$ 0.05 按 0.05 计算。临界值(cut off)的设定:cut off 值=0.11+阴性对照 A 均值。被检样本的 A 值大于临界值判为 SARS-CoV 抗体阳性,小于临界值为阴性反应。

4. 统计学分析:用 Stata 7.0 统计学软件对各月份检测的康复者 IgG 抗体 A 值进行统计,计量资料用  $\bar{x} \pm s$ 。

## 结 果

1. 随访结果:发病后各次随访的 SARS 康复者例数及检测的血清份数见表 1。在总共 311 例随访的 SARS 患者中,每例患者至少检测 2 次。其中 33 例康复者进行了 6 个月的连续检测,其他康复者分别进行了 2-4 个月的连续或非连续检测。

2. IgG 抗体检测结果:912 份 SARS 康复者血清 IgG 抗体全部为阳性(抗体 A 值范围为 0.197~1.849,均值为 0.968 $\pm$ 0.337)。利用 Stata 7.0 统计学软件对各次检测的 IgG 抗体滴度进行了统计。从表 1 可以看出,发病后约 90 天时抗体平均水平最高(如果以平均出院日 2003 年 6 月 10 日进行计算,SARS 康复者在出院后约 35 天时抗体水平最高),随后抗体水平开始下降。一年内,抗体水平从 1.2 下降至 0.7 左右,下降幅度约为 35.8%。

## 讨 论

311 例随访者中,仅有少数康复者进行了连续检测,主要原因为:①部分康复者来自外地,不能坚持每月一次来复诊;②部分康复者检测 2~4 次后,因发现康复状况较好或没有时间等原因而主动放弃连续检测。我们以后将对已经成功取得连续检测的人群保障至少每 2 个月进行一次复查,直至检测到大部分康复者体内该抗体消失为止。

从表 1 可以看出:①SARS 康复者康复后一年内 IgG 抗体平均水平呈逐渐下降趋势,下降幅度约为 35.8%。由此推测,两年后该抗体有可能开始消失,这意味着该类疫苗的最长保护期也可能只有 3 年。②实验开始后约 90 天时(按群体平均出院日 2003 年 6 月 10 日计,出院后约 35 天时)群体抗体平均水平最高;从连续检测的 33 例康复者的抗体变化中也可得出此结论(数据未列出)。说明出院后约 35 天时康复者的免疫功能得到了较好的恢复,这也解释了为什么约 1/2 的患者出院后 1~3 周内持续低

表 1 发病后不同天数 SARS 康复期患者血清抗体检测结果

项 目	发 病 时 间 (d)												
	28	58	89	120	150	181	211	242	273	301	332	362	393
检测例数*	28	68	173	153	124	33	78	33	56	11	21	13	11
血清份数	35	74	203	182	145	39	92	41	56	11	21	13	11
阳性份数	28	58	89	120	150	181	211	242	273	301	332	362	393
抗体滴度(A 值)	1.163	1.138	1.203	1.061	1.105	1.071	0.912	0.875	0.764	0.685	0.707	0.747	0.721

\* 部分康复者在 1 个月内取了 2 次血清

热(37.3℃~37.5℃),还有部分康复者伴有乏力、盗汗、X线胸片仍有可疑阴影等现象<sup>[4,5]</sup>。据此是否考虑应当延长康复者/或部分仍具有一定症状的康复者的隔离期?或增加1~2周的恢复期治疗方案?另外,该结果还提示,采用血清疗法时,在康复后约35天时采取血清可能其疗效最佳。

由本实验可以看出,长期随访检测康复人群抗体水平动态变化规律,不仅能加深对该病的进一步认识,且还为药物和疫苗的研发,以及今后该病的预防和控制提供有意义的线索和依据。

参 考 文 献

1 刘又宁,范保星,郝峰英,等.严重急性呼吸综合征康复者冠状病毒

毒特异性抗体定量检测与分析.解放军医学杂志,2003,28:783-784.

2 中华医学会呼吸病分会.传染性非典型肺炎临床诊治标准专家共识.中华结核和呼吸杂志,2003,26:323-325.

3 刘红鹰,贾兴旺,宋淑珍,等.不同试剂盒检测 SARS-CoV 抗体的方法学评价.军医进修学院学报,2003,24:252-254.

4 解立新,刘又宁,郝凤英,等.258例严重急性呼吸综合征康复期患者肺功能与影像学动态随访与分析.中华结核和呼吸杂志,2004,27:147-150.

5 田庆,解立新,范保星,等.血清特异性抗体阳性与阴性临床诊断 SARS 患者的临床特征与随访结果的比较.中华医学杂志,2004,84:642-645.

(收稿日期:2004-06-17)

(本文编辑:张林东)

· 疾病控制 ·

395 例化脓性中耳炎的病原学研究

尚小颖 张玉妥 张艳芳

化脓性中耳炎是耳鼻喉科常见感染性疾病,不同地区病原菌的种类不同,对同种抗生素的敏感性也存在差异。为了解张家口地区不同年龄人群化脓性中耳炎的病原菌特征,我们对2001年1月至2003年12月间不同年龄组395例患者进行病原学分析,以便为临床治疗提供合理的抗生素选择。

1. 资料与方法:395例中耳炎患者中,儿童组(<14岁)142例,非儿童组(≥14岁)253例。以75%乙醇消毒外耳道口及其周围,用无菌棉拭子采集耳中耳脓性分泌物,病原菌的分离鉴定按照全国临床检验操作规程进行。分离菌株采用K-B法、按照NCCLS标准进行药物敏感试验。采用χ<sup>2</sup>检验对相关数据进行分析。

2. 结果:①病原菌分布:儿童组142例中,129例培养阳性,检出率为90.85%。其中单菌生长118例,两种菌混合生长者11例,共检出病原菌140株。非儿童组253例中,213例培养阳性,检出率为84.19%。其中单菌生长181例,两种菌混合生长32例,共检出病原菌245株。3年间引起儿童组人群感染的主要病原菌是流感嗜血杆菌、金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌,分别占总检出菌的24.29%、21.43%和17.88%。引起非儿童组人群感染的主要病原菌是表皮葡萄球菌、铜绿假单胞菌和白假丝酵母菌,分别占总检出菌的18.78%、17.55%和16.33%。②药敏试验:试验用抗生素为青霉素G、氨苄青霉素、阿莫西林、头孢唑啉、先锋必、头孢曲松、丁胺卡那、庆大霉素、氧氟沙星、环丙沙星、阿奇霉素。革兰阳性菌选用以上11种抗生素,阴性菌不选用青霉素G,白

假丝酵母菌不进行药敏试验而直接用抗真菌药物治疗。结果显示:儿童组140株病原菌除对氨苄青霉素有较低的敏感性(64.29%)外,对所测试的其他10种抗生素敏感性均在94%以上。非儿童组245株病原菌除对环丙沙星有较高的敏感性(90.73%)外,对其他抗生素都表现出了一定的耐药性,尤其对青霉素G、氨苄青霉素、庆大霉素敏感性仅为5.68%、0.98%、49.76%。将不同年龄组所分离病原菌对同种抗生素的敏感性进行比较,经χ<sup>2</sup>检验,两组人群对所测试的11种抗生素的敏感性均存在显著性差异,均P<0.005。

3. 讨论:通过3年调查研究显示,引起化脓性中耳炎的主要病原菌的种类及其对常用抗生素的敏感性在两组人群中明显不同。医生在治疗化脓性中耳炎时,往往只是根据疾病凭临床经验用药,很少考虑年龄因素,结果是不分年龄均采用最新最好的药物;或者凭经验用药,无效再换。前者给一些患者造成不必要的经济浪费,后者常导致病程迁延,甚至严重的不良后果。本文结果提示临床治疗选择药物时,必须考虑年龄因素。在儿童感染中由于对绝大多数抗生素敏感,治疗时可首选价格较低的药物如青霉素G。在治疗成人化脓性中耳炎时,不能盲从于经验用药,应该对耳分泌物做病原菌培养和药敏试验,根据结果合理选用药物,尤其对一些伴有慢性疾病如结核病、糖尿病等的患者更应如此。化脓性中耳炎也可由厌氧菌或者需氧菌和厌氧菌混合感染导致,建议医生根据治疗效果加用抗厌氧菌药物。引起化脓性中耳炎的病原体除了常见的细菌、真菌外,衣原体、支原体、病毒也不容忽视。

(收稿日期:2004-05-12)

(本文编辑:张林东)

作者单位:075000 张家口,河北北方学院附属第一医院耳鼻喉-头颈外科(尚小颖);河北北方学院微生物学教研室(张玉妥、张艳芳)