

• 短篇论著 •

异型淋巴细胞比例联合 EB 病毒抗体及核酸检测在 儿童传染性单核细胞增多症辅助诊断中的应用^{*}

陈新敏¹, 梁 华¹, 郭 燕¹, 何抒蔓², 叶鑫梅², 张跃川², 蒋 康^{2△}

1. 四川省妇幼保健院·成都医学院附属妇女儿童医院检验科, 四川成都 610045;
2. 四川省雅安市石棉县人民医院检验科, 四川雅安 625400

摘 要:目的 探讨异型淋巴细胞比例联合 EB 病毒(EBV)抗体、核酸检测在儿童传染性单核细胞增多症(IM)辅助诊断中的应用价值。**方法** 将 2019 年 4 月至 2020 年 3 月于四川省妇幼保健院·成都医学院附属妇女儿童医院就诊的儿童共 185 例纳入研究。其中试验组 85 例,为临床确诊的 IM 患儿;对照组 100 例,为同期于儿童保健科进行体检的健康儿童,对两组儿童异型淋巴细胞比例、EBV 抗体(VCA-IgM 抗体)及 EBV-DNA 的检测结果进行分析。**结果** 采用异型淋巴细胞比例、VCA-IgM、EBV-DNA 单项检测时,EBV-DNA 的灵敏度最高,为 85.88%,将三者联合检测,灵敏度可提高至 92.94%,与各项目单项检测的灵敏度相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 异型淋巴细胞比例、EBV 抗体及核酸检测 3 项联合用于儿童 IM 的诊断具有较高的灵敏度,是辅助临床诊断儿童 IM 较为理想的实验方法,值得推广应用。

关键词: 传染性单核细胞增多症; 异型淋巴细胞; EB 病毒; 抗体; DNA
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.04.027 **中图法分类号:**R446.6
文章编号:1673-4130(2021)04-0501-04 **文献标志码:**A

传染性单核细胞增多症(IM)是一种单核-巨噬细胞系统增生性疾病,EB 病毒(EBV)感染为其主要致病因素,儿童和青少年常见,临床常出现发热、皮疹、咽峡炎、淋巴结肿大等非特异性表现,多数预后良好,部分患者可出现持续高热、肝功受损等重症表现^[1]。由于 IM 发病隐匿,临床表现多样而复杂,临床误诊率和漏诊率较高^[2]。因此,寻找用于 IM 早期诊断的更为灵敏而有效的方法显得尤为重要。目前,异型淋巴细胞比例、EBV 抗体及 EBV 核酸检测等已在临床实验室开展。本研究旨在探讨异型淋巴细胞比例、EBV 抗体(VCA-IgM 抗体)、EBV 核酸(EBV-DNA)检测联合用于儿童 IM 诊断的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 4 月至 2020 年 3 月于四川省妇幼保健院·成都医学院附属妇女儿童医院就诊的儿童共 185 例。其中试验组 85 例,年龄 2~10 岁、平均(5.92±3.18)岁,男 48 例、女 37 例;试验组病例纳入标准:(1)根据《诸福棠实用儿科学》第 7 版^[3]关于儿童 IM 的诊断标准,确诊为 IM 的患儿;(2)无合并其他疾病;(3)无其他特殊用药史。排除标准:病例资料不全,影响结果分析者。对照组为同期

在该院进行体检的健康儿童,共 100 例,年龄 1~10 岁、平均(5.35±2.74)岁,男 61 例、女 39 例。本研究经该院伦理委员会批准,所有纳入研究者均知情同意。两组研究对象的性别构成、年龄、身高和体质量比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表 1。

表 1 两组间一般资料的比较

临床资料	试验组 (n=85)	对照组 (n=100)	t/χ ²	P
性别[n(%)]				
男	48(56.47)	61(61.00)	0.102	0.906
女	37(43.53)	39(39.00)		
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	5.92±3.18	5.35±2.74	0.148	0.745
身高($\bar{x}\pm s$,cm)	110.18±22.36	107.34±26.19	0.632	0.572
体质量($\bar{x}\pm s$,kg)	20.65±11.74	19.23±10.13	0.431	0.628

1.2 方法

1.2.1 异型淋巴细胞检测 取适量血液制成涂片,瑞氏-吉姆萨染色,油镜下镜检,分类 100 个白细胞,计算异型淋巴细胞比例。异型淋巴细胞的形态按照《全国临床检验操作规程(第四版)》^[4]描述的形态进行分

^{*} 基金项目:国家重点研发计划(2017YFC0907304);四川省科技厅应用基础研究项目(2019YJ0578)。
[△] 通信作者,E-mail:703904439@qq.com。
本文引用格式:陈新敏,梁华,郭燕,等.异型淋巴细胞比例联合 EB 病毒抗体及核酸检测在儿童传染性单核细胞增多症辅助诊断中的应用[J].国际检验医学杂志,2021,42(4):501-504.

类,判断标准采用 Downey 分类方法,将异型淋巴细胞分为Ⅰ型(浆细胞型)、Ⅱ型(不规则型)和Ⅲ型(幼稚细胞型)。若异型淋巴细胞比例>10%,则判为阳性。

1.2.2 VCA-IgM 抗体检测 采用化学发光法进行检测。采集未抗凝静脉血 3 mL,自然凝固后,以 3 500 r/min,离心半径 10 cm,离心 10 min,分离血清用于 VCA-IgM 抗体检测。使用索林公司 Liaison XL 型全自动化学发光仪及其配套试剂,严格按说明书的操作步骤进行检测。本室参考范围:<20 U/mL 为阴性,20~40 U/mL 为可疑,>40 U/mL 为阳性。

1.2.3 EBV-DNA 检测 采用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)法进行检测。EDTA-K₂ 抗凝血 2 mL,采用 EBV 核酸扩增荧光定量检测试剂盒(广东中山大学达安基因股份有限公司),所有操作均严格按照试剂盒说明书进行。结果判定:测定值>1×10³ copy/mL 判定为阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件进行数据处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立

样本的 *t* 检验;计数资料以频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 异型淋巴细胞比例、VCA-IgM 抗体及 EBV-DNA 的检测 试验组儿童的异型淋巴细胞比例为(16.31±6.95)%,阳性例数 54 例,而对照组儿童的异型淋巴细胞比例为(2.17±0.83)%,阳性例数 6 例,两组间阳性率比较差异有统计学意义(*P*<0.05)。试验组 VCA-IgM 抗体和 EBV-DNA 检测阳性例数分别为 69 例和 73 例,与对照组相比较,阳性率差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

2.2 异型淋巴细胞比例、VCA-IgM 抗体及 EBV-DNA 单项和联合检测在儿童 IM 辅助诊断中的应用 异型淋巴细胞比例、VCA-IgM 抗体及 EBV-DNA 单项和联合检测结果显示,3 个项目联合检验的灵敏度为 92.94%,高于 3 个项目单独检验的灵敏度,但特异度低于 3 个项目单独检验,见表 3。

表 2 异型淋巴细胞比例、VCA-IgM 抗体、EBV-DNA 检测结果

分组	<i>n</i>	异型淋巴细胞比例(%)	异型淋巴细胞阳性例数	VCA-IgM 抗体阳性例数(<i>n</i>)	EBV-DNA 阳性例数(<i>n</i>)
试验组	85	16.31±6.95	54	69	73
对照组	100	2.17±0.83	6	11	9
<i>t</i> / χ^2		19.57	52.32	36.42	48.03
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 3 异型淋巴细胞比例、VCA-IgM 抗体、EBV-DNA 单项和联合检测结果(%)

指标	异型淋巴细胞比例	VCA-IgM 抗体	EBV-DNA	3 项联合	χ^2	<i>P</i>
灵敏度	63.53	81.18	85.88	92.94	13.38	0.005
特异度	94.00	89.00	91.00	79.52	18.26	<0.001

3 讨 论

EBV 是一种嗜淋巴细胞的双链 DNA 病毒,属于疱疹病毒科,主要经唾液传播,人群中感染率超过 95%。EBV 感染后可在口腔咽部上皮细胞内增殖,引起呼吸道感染,并可长期潜伏在淋巴组织中,因此,其感染具有增殖性和潜伏性的特点^[5]。EBV 不仅是引起 IM 的重要病原体,而且与某些淋巴系统相关的肿瘤,如伯基特淋巴瘤、鼻咽癌、霍奇金淋巴瘤、T/NK 细胞淋巴瘤等的发生密切相关^[6-7]。EBV 感染后症状不典型,与其他呼吸道感染性疾病症状相似,临床漏诊率和误诊率均较高。

健康人体内 B 淋巴细胞表面存在 EBV 受体,当人体感染 EBV, B 淋巴细胞表面的 EBV 受体

(CD21),最先受攻击,随后激活 T 淋巴细胞,使细胞毒性 T 淋巴细胞演变成异型淋巴细胞^[8]。因此,异型淋巴细胞比例是临床辅助诊断 IM 常用的检测指标之一,约 80%的 IM 患者血清中可见异型淋巴细胞比例增高^[9]。EBV 感染后,异型淋巴细胞比例随病程发展而变化,一般在发病初 3~5 d 出现,第 7~10 天达高峰后逐渐下降,持续 2~8 周。另外,因异型淋巴细胞由 T 淋巴细胞活化而来,在某种程度上反映了机体与病毒的相互作用,是临床评价 IM 病情严重程度的指标之一。本研究结果显示,IM 患儿血清中异型淋巴细胞比例升高,为(16.31±6.95)%,阳性率为 63.53%,与对照组患儿相比差异有统计学意义(*P*<0.05),这也与国内学者的研究结果相似^[10]。因而,异

型淋巴细胞比例可作为 EBV 感染所致的 IM 的辅助诊断指标之一,其具有简单易行,低廉快捷,适用于基层医院,但由于异型淋巴细胞的形态识别具有主观性,检测者辨识能力的差异等因素,导致异型淋巴细胞比例的检测结果重复性、可比性较差。随着免疫学、分子生物学等检测技术的广泛应用,现已引入了 EBV 抗体及核酸检测等方法用于临床辅助诊断 EBV 感染所致的 IM。

EBV 感染机体后,B 淋巴细胞可诱导机体发生体液免疫反应,产生一系列 EBV 抗体。原发性 EBV 感染时,机体首先产生对抗衣壳蛋白(CA)的 IgM、IgG 抗体,即 VCA-IgM、VCA-IgG 抗体,其中 VCA-IgM 抗体最早出现,是急性感染期的可靠指标,其在体内持续 1~2 个月后逐渐消除,VCA-IgG 抗体出现晚于 VCA-IgM,急性感染晚期机体会出现抗早期抗原(EA)的抗体,恢复期会出现晚期抗核抗原(NA)的抗体,VCA-IgG、病毒中和抗体(VNA-IgG)在体内会持续存在^[11]。鉴于 EBV 潜伏感染的特点及机体抗体产生的规律,临床上多以 VCA-IgM 阳性作为 EBV 感染所致 IM 辅助诊断的依据。本研究采用血清 VCA-IgM 抗体检测,研究结果也发现,69 例已确诊为 IM 的患儿 VCA-IgM 抗体检测为阳性,有 16 例^[18.82% (16/85)]的患儿抗体检测为阴性,这与儿童免疫系统尚未完全发育或处于病毒感染初期,机体感染病毒后,无法产生抗体或抗体量太低,导致血清学检测出现假阴性结果^[12]。

随着分子生物学检测技术的发展,临床现已引入了荧光定量 PCR 检测 EBV-DNA,通过定量检测患儿血清 EBV-DNA 水平反映体内病毒感染和复制情况^[13]。该检测项目对 IM 的辅助诊断和疗效评估都具有重要意义。本研究结果显示,EBV-DNA 检测的阳性率为 85.88%,高于异型淋巴细胞比例和血清学抗体检测阳性率,这与 CAO 等^[14]的研究结果相似。

由于 IM 起病隐匿,且与其他急性呼吸道传染性疾病的症状相似,临床易出现漏诊和误诊,因此有必要寻求针对儿童 IM 及时而有效的辅助诊断方法。目前,临床常用异型淋巴细胞比例、EBV 抗体及核酸检测这 3 种检测方法来辅助诊断 IM。本研究结果显示,3 种方法联合检测诊断 IM 的灵敏度为 92.94%,高于 3 种方法单独检测结果,与国内学者的研究结果较一致^[15]。

因此,有条件的实验室,应将异型淋巴细胞比例、VCA-IgM 抗体检测及 EBV-DNA 检测 3 个项目均开展,并进行联合检测,以提高辅助诊断 IM 的灵敏度,

弥补单项试验的不足,降低漏诊率和误诊率。

参考文献

- [1] BOLIS V, KARADEDOS C, CHIOTIS I, et al. Atypical manifestations of Epstein-Barr virus in children: a diagnostic challenge[J]. J Pediatr, 2016, 92(2): 113-121.
- [2] 梁栋, 王全楚. 传染性单核细胞增多症临床特点及误诊分析[J]. 临床误诊误治, 2020, 33(2): 1-3.
- [3] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 821-825.
- [4] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 22.
- [5] ABUSALAH M A H, GAN S H, AL-HATAMLEH M A I, et al. Recent advances in diagnostic approaches for Epstein-Barr virus[J]. Pathogens, 2020, 9(3): 226.
- [6] ZHANG J, JIA L, TSANG C M, et al. EBV infection and glucose metabolism in nasopharyngeal carcinoma[J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 1018: 75-90.
- [7] KIMURA H. EBV in T-/NK-cell tumorigenesis[J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1045: 459-475.
- [8] KERR J R. Epstein-Barr virus (EBV) reactivation and therapeutic inhibitors[J]. Lin Pathol, 2019, 72(10): 651-658.
- [9] HU L, YANG J, CUI T, et al. Diagnosis of infectious mononucleosis by combined detection of atypical lymphocytes and transaminase[J]. Huazhong Univ Sci Technol Med Sci, 2006, 26(3): 384-385.
- [10] 陈丽娜. 传染性单核细胞增多症患儿异型淋巴细胞与血清 ADA 的相关分析[J]. 系统医学, 2019, 4(3): 25-27.
- [11] HUANG Y, WEI C, ZHENG K, et al. The impact of serological features in chinese children with primary or past Epstein-Barr virus infections [J]. Virol J, 2013, 10: 55.
- [12] SALGADO C, GARCIA A M, RUBIO C, et al. Infectious mononucleosis and cholestatic hepatitis: a rare association [J]. Acta Med Port, 2017, 30(12): 886-888.
- [13] JIANG S Y, YANG J W, SHAO J B, et al. Real-time polymerase chain reaction for diagnosing infectious mononucleosis in pediatric patients: a systematic review and meta-analysis[J]. J Med Virol, 2016, 88(5): 871-876.
- [14] CAO P, ZHANG M, WANG W, et al. Fluorescence in situ hybridization is superior for monitoring Epstein Barr viral load in infectious mononucleosis patients[J]. BMC Infect Dis, 2017, 17(1): 323.
- [15] 陈静, 史利欢, 谢昕. 血清抗体联合 DNA 检测在儿童 EB 病毒感染中的诊断效能分析[J]. 中国民康医学, 2019, 31(9): 116-118.