

· 论 著 ·

EB 病毒 IgM、IgG 及 DNA 检测在儿童呼吸道感染性疾病中的诊断价值分析

胡忠昌¹, 丁小霞², 梅诗胜¹

(1. 淮南东方医院集团总院检验科, 安徽淮南 232001; 2. 淮南东方医院集团肿瘤医院检验科, 安徽淮南 232001)

摘要:目的 分析 EB 病毒(EBV)IgM、IgG 及 EBV-DNA 在儿童呼吸道感染性疾病中的诊断价值。方法 选取 400 例呼吸道感染患儿作为观察组, 100 例非呼吸道感染住院患儿作为对照组, 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测患儿的 EBV-IgM 和 IgG, 荧光定量 PCR(FQ-PCR)检测病毒 DNA。比较观察组和对照组患儿的 EBV-IgM、IgG 及 EBV-DNA 阳性率, 评价不同指标的 diagnostic 价值。结果 观察组患儿 EBV-IgM 阳性率 51.00%, EBV-IgG 阳性率 58.50%, EBV-DNA 阳性率 56.25%; 对照组患儿 EBV-IgM 阳性率 4.00%, EBV-IgG 阳性率 11.00%, EBV-DNA 阳性率 5.00%, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。EBV-IgM 灵敏度 51.00%, 特异度 96.00%, 曲线下面积 0.617; EBV-IgG 灵敏度 58.50%, 特异度 89.00%, 曲线下面积 0.583; EBV-DNA 灵敏度 56.25%, 特异度 95.00%, 曲线下面积 0.642。结论 EBV-IgM、IgG 及 EBV-DNA 在儿童呼吸道感染中具有 diagnostic 价值。

关键词: EB 病毒; 呼吸道感染; diagnostic 价值

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.14.019 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)14-1955-03

The analysis of diagnostic value of EBV-IgM, IgG and EBV-DNA in children with respiratory tract infection

HU Zhongchang¹, DING Xiaoxia², MEI Shisheng¹

(1. Department of Clinical Laboratory, the General Hospital of Huainan Eastern Hospital Group, Huainan, Anhui 232001, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Tumor Hospital of Huainan Eastern Hospital, Huainan, Anhui 232001, China)

Abstract: **Objective** To analyze the diagnostic value of EBV-IgM, IgG and EBV-DNA in children with respiratory tract infection. **Methods** A total of 400 children with respiratory tract infection were chosen as study group, and 100 hospitalized children with no respiratory infection were chosen as control group. The EBV-IgM and IgG were analyzed by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the EBV-DNA were analyzed by fluorescent quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR). The positive rate of EBV-IgM, IgG and EBV-DNA were compared between two groups, the diagnostic value of these three indicators were analyzed. **Results** In study group, the positive rate of EBV-IgM, EBV-IgG and EBV-DNA was 51.00%, 58.50% and 56.25%, respectively. In control group, the positive rate of EBV-IgM, EBV-IgG and EBV-DNA was 4.00%, 11.00% and 5.00%, respectively. The differences of EBV-IgM, EBV-IgG and EBV-DNA between two groups had statistical significance ($P < 0.05$). The sensitivity of EBV-IgM was 51.00%, the specificity was 96.00% and the area under curve (AUC) was 0.617. In addition, the sensitivity of EBV-IgG was 58.50%, the specificity was 89.00% and the AUC was 0.583. The sensitivity of EBV-DNA was 56.25%, the specificity was 95.00% and the AUC was 0.642. **Conclusion** EBV-IgM, IgG and EBV-DNA have diagnostic value in the diagnosis of children with respiratory tract infection.

Key words: Epstein-Barr virus; respiratory tract infection; diagnostic value

EB 病毒(EBV)属于疱疹病毒科, 是小儿感染常见的病毒, 90% 以上的 3~5 岁儿童曾感染过 EBV^[1]。该病毒首先在口咽部上皮细胞内增殖, 继而进入呼吸道引起呼吸道感染, 并可长期潜伏在组织中并在机体免疫力降低时引起复发感染, 感染可累及多系统及器官, 其中呼吸道感染是最常见的疾病之一^[2]。目前, 临床上多采用 EBV 抗体定性测定和 EBV-DNA 定量测定检测 EBV 感染, 但由于方法学差异, 同一患者的上述指标并不完全一致, 且关于不同指标的 diagnostic 价值目前缺乏相关报道^[3]。本次研究旨在分析 EB 病毒 IgM、IgG 及 EBV-DNA 检测在儿童呼吸道感染性疾病中的 diagnostic 价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 1 月至 2015 年 6 月期间该院收治的 400 例患儿作为观察组, 所有患儿均符合中华人民共和国

卫生部指定的呼吸道感染诊断标准^[4]。其中男 244 例, 女 156 例, 患儿年龄 3 月到 12 岁, 平均年龄(5.14±3.41)岁; 选取同一时期无呼吸道感染的 100 例住院患儿作为对照组, 其中男 119 例, 女 81 例, 患儿年龄 4 个月到 12 岁, 平均年龄(5.22±3.56)岁。两组患儿的性别构成、年龄的差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 标本采集 所有患儿在未用药之前于清晨用无菌咽拭子采集咽喉分泌物, 快速送检(不便取咽拭子者留取全血样本); 同时抽取 3 mL 抗凝血, 离心后分离血清, 标记后保存于-80℃冰箱中, 批量送检。

1.3 观察指标及检测方法 标本荧光强度曲线达到阈值时所需循环数(Ct 值)≤39 为阳性。根据患儿年龄进行分层研究: <1 岁, 1~<3 岁, 3~<8 岁, ≥8 岁, 比较不同年龄段患儿

EB 病毒 IgM、IgG 及 EBV-DNA 检测的阳性率。

1.3.1 IgM 和 IgG 检测 EB 病毒 (EBV) IgM 和 IgG 的检测采用酶联免疫吸附法 (ELISA), 试剂盒由上海基免实业有限公司提供, 操作严格按照说明书进行。样本的吸光度值: 标准品的吸光度值 ≥ 1.1 为阳性。

1.3.2 EBV-DNA 的检测 EBV-DNA 的检测采用荧光定量 PCR, 引物由上海生工生物工程股份有限公司合成, ABI Prism7300 荧光定量 PCR 仪购自上海迪普生物技术有限公司。将咽拭子或全血标本按照说明书进行处理和 DNA 提取并加入 26 μ L 的 DNA 检测体系中, 将反应管放入样品槽中进行扩增及检测: 循环包括 50 $^{\circ}$ C 预反应 2 min, 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 每个循环包括 94 $^{\circ}$ C 10 s, 60 $^{\circ}$ C 40 s, 共进行 50 个循环。

表 1 两组患儿的 EBV 检测结果比较

组别	<i>n</i>	EBV-IgG		EBV-IgM		EBV-DNA	
		样本/标准品 ($\bar{x} \pm s$)	阳性率 (%)	样本/标准品 ($\bar{x} \pm s$)	阳性率 (%)	样本/标准品 ($\bar{x} \pm s$)	阳性率 (%)
观察组	400	1.32 $\pm$ 0.14	58.50	1.38 $\pm$ 0.11	51.00	34.12 $\pm$ 4.87	56.25
对照组	100	1.02 $\pm$ 0.05	11.00	1.01 $\pm$ 0.06	4.00	43.74 $\pm$ 11.60	5.00
<i>t</i> / χ^2		3.912	9.917	3.469	11.894	4.082	10.487
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.2 不同年龄组患儿 EBV-IgG、IgM 和 EBV-DNA 的阳性率比较 不同年龄患儿的 EBV-IgG 和 IgM 的阳性率差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 而不同年龄组 EBV-DNA 的阳性率的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 不同年龄段患儿 EBV 检测阳性情况比较 [<i>n</i> (%)]				
年龄 (岁)	<i>n</i>	EBV-IgG	EBV-IgM	EBV-DNA
<1	37	17 (45.95)	13 (35.14)	20 (54.05)
1~<3	89	45 (50.56)	42 (47.19)	51 (57.30)
3~<8	146	81 (55.48)	79 (54.11)	82 (54.16)
≥ 8	128	91 (71.09)	70 (54.69)	72 (54.25)
χ^2		7.921	5.643	1.164
<i>P</i>		<0.05	<0.05	>0.05

2.3 EBV-IgG、IgM 和 EBV-DNA 诊断价值评价 EBV-IgG、IgM 和 EBV-DNA 诊断儿童呼吸道感染的诊断价值不同, EBV-DNA 高于 EBV-IgG 和 IgM。见表 3。

表 3 EBV-IgG、IgM 和 EBV-DNA 的诊断价值				
	灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数	AUC
EBV-IgG	58.50	89.00	0.4750	0.583
EBV-IgM	51.00	96.00	0.4700	0.617
EBV-DNA	56.25	95.00	0.5125	0.642

3 讨 论

EB 病毒是一种嗜淋巴细胞的 DNA 病毒, 属于疱疹病毒科的 γ 亚科, 感染后终生潜伏不被免疫系统彻底清除^[2]。EBV 病毒通过空气-飞沫途径在人群中传播, 感染者以儿童多见, 患者症状较为多样, 其中以呼吸道感染为主^[5]。

1.3.3 三种指标的诊断价值 分别绘制 EB 病毒 IgM、IgG 及 EBV-DNA 检测儿童呼吸道 EB 病毒感染的 ROC 曲线, 比较曲线下面积 (AUC); 比较上述指标在 EB 病毒检测中的灵敏度、特异度和约登指数评价上述指标的诊断价值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件对数据进行分析, 计数资料组间比较采用 χ^2 检验; 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患儿的 EBV-IgG、IgM 和 EBV-DNA 比较 观察组和对照组患儿的 EBV-IgG、IgM 和 EBV-DNA 检测值和阳性率比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

目前, 临床上最常用的 EBV 检测方法是血清学抗体检测, 具有简便、快捷的优点, 其中 EBV-IgM 是在 EB 病毒感染的感染后早期即可表现为阳性, 一般持续 4~8 周, 是急性感染的可靠指标, EBV-IgG 是另一常见的检测指标^[6]。荧光定量 PCR 检测 EBV-DNA 是近年来发展的技术, 可以定量反映体内的 EBV-DNA 水平, 并准确反映 EB 病毒感染和病毒的复制情况。EBV-DNA 的载量与器官损害程度及疾病种类、疾病的严重程度及病死率呈正相关, 临床上可以根据 EB-DNA 拷贝数大小来判断病情严重程度, 从而进行更好的用药量的控制, 达到理想的治疗效果^[7-8]。但目前, 临床上对 EBV-IgG、EBV-IgM 和 EBV-DNA 这三种指标的诊断价值尚无相关报道。

本次研究选取 400 例 EB 病毒感染的患儿作为观察组, 对患者进行上述三种指标的检测, 与对照组相比, EBV-IgG 和 EBV-IgM 的阳性率和检测值明显增高; Ct 值明显降低, 阳性率增加, 说明上述指标均可以用于检测 EB 病毒的感染。对呼吸道感染患儿进行分层研究, 不同年龄段的患儿的 EBV-DNA 感染的阳性率无统计学差异。

结果显示不同年龄的患儿的 EBV-IgG 和 EBV-IgM 的阳性不同, 3 岁以下患儿的阳性率明显低于 3 岁及以上患儿; 3~<8 岁患儿的数量最多, ≥ 8 岁以后大龄患儿由于免疫系统逐渐发育完善, 患儿数量呈下降趋势。不同年龄患儿的免疫系统发育处于不同阶段: 1 岁以下及 1~<3 岁患儿的 EBV-IgG 和 EBV-IgM 较低, 其主要原因可能是患儿的免疫系统发育不完善, EB 病毒感染后患儿免疫系统不能及时产生抗体, 导致假阴性出现; 3~<8 岁及 8 岁以上患儿 IgM 阳性率无明显差异, 患儿的免疫系统发育趋于完善^[9]。8 岁以上患儿的 IgG 阳性率高于其他年龄段患儿, 说明 IgG 持续时间较长, 可以提示既往的 EBV 感染, 可能出现假阳性。

对上述指标的诊断价值进行分析: EBV-IgG 的灵敏度较

高,但特异度低于其他两项指标,其原因可能是 EBV-IgG 的持续时间较长,既往感染患儿可能存在抗体,造成假阳性;同时,IgG 是唯一可以通过胎盘的抗体,可能从母体获得,造成假阳性^[10]。IgM 是 EBV 急性感染的早期指标,但持续时间较短,导致患儿窗口期出现和诊断结果假阴性,且小儿免疫系统尚未完善,病毒不能刺激机体产生相应的能够达到检测下限的病毒抗体^[9]。不同年龄段 EBV-DNA 的阳性率均明显高于 IgM,咽拭子标本的 EBV-DNA 检测的阳性率较高,部分 EBV 为条件感染,可以寄生在咽喉部位,而不进入血液系统及引起免疫反应^[11]。EBV-DNA 和 EBV-IgM 的 ROC 曲线较为一致,曲线下面积较为接近;EBV-DNA 和 EBV-IgM 的诊断价值高于 EBV-IgG^[12]。

综上所述,EB 病毒 IgM、IgG 及 EBV-DNA 的检测在儿童呼吸系统感染中具有诊断价值。

参考文献

[1] 任伟,龙晓玲,刘玉玲,等. 中山市儿童 EB 病毒感染情况分析[J]. 临床儿科杂志,2015,33(2):164-166.

[2] 段巧艳. EB 病毒感染临床应用研究进展[J]. 检验医学与临床,2012,9(10):1232-1233.

[3] 严小梦,叶剑荣,杨芳慧,等. EB 病毒 IgG、IgA、IgM 抗体和 EB-DNA 检测在儿童呼吸道感染性疾病中的诊断价值[J]. 实用预防医学,2015,22(5):541-543.

[4] 吕华. 浙江某儿童医院 2003~2012 年医院感染流行特征与趋势分析[D]. 杭州:浙江大学,2014.

[5] 雷宏涛,王杰民,王晓娟,等. EB 病毒 IgM 与 DNA 检测在小儿 EB 病毒相关疾病诊断中的价值研究[J]. 陕西医学杂志,2013(12):1597-1598,1601.

[6] 陈佳红,万言珍. 480 例住院患儿 EB 病毒相关抗体检测及结果分析[J]. 中国妇幼保健,2015,30(14):2214-2215.

[7] 孙志惠,刘鹏. EB 病毒血清学及 DNA 联合检测在婴幼儿传染性单核细胞增多症临床应用研究[J]. 中国实验诊断学,2015,19(10):1696-1698.

[8] 朱婵虹,郑锦利,刘先鸿,等. 335 例外周血 EB 病毒 DNA 检测的结果分析及临床意义[J]. 实验与检验医学,2015,33(6):749-750.

[9] 陈刚,张薇,胡冬,等. EB 病毒衣壳抗原抗体 IgM 阳性儿童的免疫功能评估研究[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(15):2152-2153,2155.

[10] 刘妮妮,赵权,刘婧,等. 578 例患者 EB 病毒抗体检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(24):3429-3430.

[11] 容开,龙兴江,刘刚毅,等. EB-VCA-IgM 和 EB-DNA 检测在小儿呼吸道感染中的临床诊疗意义[J]. 中国民族民间医药,2013,22(13):45-46.

[12] 柳文菊,杜昆,刘学政,等. 儿童呼吸道 EB 病毒感染 IgM 抗体与病毒 DNA 的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(3):283-284.

(收稿日期:2016-02-05 修回日期:2016-04-13)

(上接第 1954 页)

关^[6]。另外,胆汁淤积时间越长,胆汁酸浓度越高,有体外试验证明高浓度的胆汁酸有浓度依赖性血管收缩作用,从而使胎儿急性缺氧,这可能是 ICP 时胎儿预后不良和突发性宫内死亡的诱因^[10]。本研究也发现暴露于长时间高胆汁酸水平下的 ICP 孕妇,其胎儿窘迫的发生率越高,因此发病孕周也可作为判断胎儿窘迫的一个指标。

研究的 336 例两组不同胎儿结局的 ICP 患者,其剖宫产率和早产率比较并无差异,说明尽管给予了 ICP 患者治疗但在临床对该疾病的处理上仍偏向于尽早施行剖宫产终止妊娠来避免出现如难以预料的胎儿宫内死亡等更严重的妊娠不良结局。而本研究旨在提供一种可靠的预测 ICP 患者胎儿窘迫的方法,来避免产前对其处理上的盲目性,有利于制定合理的治疗计划。

综上所述,本研究采用 Logistic 回归模型发现通过发病孕周、血清 TBA 及 CG 水平可预测 ICP 患者可能发生胎儿窘迫的危险,为临床对 ICP 的处理提供思路。

参考文献

[1] Fisk NM,Storey GN. Fetal outcome in obstetric cholestasis[J]. Br J Obstet Gynaecol,1988,95(11):1137-1143.

[2] Norwitz ER,Belfort MA,Saade GR,et al. Cholestasis of Pregnancy[J]. J Gastroenterol Hepatol,1999,14(6):515-518.

[3] Glantz A,Marschall HU,Mattsson LA. Intrahepatic cholestasis of pregnancy:relationship between bile acids lev-

els and fetal complication rates[J]. Hepatology,2004,40(2):467-474.

[4] Howard PJ,Murphy GM. Bile acid stress in the mother and baby unit[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol,2003,15(3):317-321.

[5] Castano G,Lucangioli S,Sookoian S,et al. Bile acid profiles by capillary electrophoresis in Intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Clin Sci (Lond),2006,110(4):459-465.

[6] Sentilhes L,Verspyck E,Pia P,et al. Fetal death in a patient with Intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Obstet Gynecol,2006,107(2):458-460.

[7] 赵常志,魏红璐,谢建渝. 妊娠期肝内胆汁淤积生物检测指标的作用及临床意义[J]. 检验医学与临床,2009,6(7):518-519.

[8] 胡晓玲,王卫光,吴畏. 孕妇血清胆汁酸与甘胆酸测定的临床意义[J]. 放射免疫学杂志,2004,17(4):294-295.

[9] 于坤,张振东,阳双健. 应用 ROC 曲线分析肝内胆汁淤积症孕妇血甘胆酸预测胎儿窘迫的最佳临界值[J]. 中国现代医学杂志,2015,1(1):78-80.

[10] Shaw D,Frohlich J,Wittmann BA,et al. A prospective study of 18 patients with cholestasis of pregnancy[J]. Am J Obstet Gynecol,1982,142(6 Pt 1):621-625.

(收稿日期:2016-02-17 修回日期:2016-04-25)