

• 论 著 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2022.16.010

孝感地区传染性单核细胞增多症患儿 EBV 抗体、DNA 检测结果及社区居民流行病学分析*

阳仕雄¹, 明亮², 刘瑞茜^{2△}

武汉科技大学附属孝感医院/孝感市中心医院:1. 中心实验室;2. 检验科, 湖北孝感 432000

摘要:目的 分析孝感地区传染性单核细胞增多症(IM)患儿 EB 病毒(EBV)抗体及 DNA 检测结果,并分析该地区社区居民 EBV 抗体携带的流行病学特点。**方法** 选取 2016 年 12 月至 2020 年 12 月在该院住院的 IM 患儿 120 例为病例组,选取同期于该院体检的儿童 124 例为对照组。从该院体检者中选取具备 EBV 抗体及 DNA 检测结果的 1 522 例孝感地区社区居民作为流行病学调查对象。用酶联免疫吸附试验检测 EBV 抗体,采用实时荧光定量 PCR 检测血浆及外周血单个核细胞(PBMC)中 EBV DNA 水平。**结果** 病例组 EBV DNA、衣壳抗原(VCA) IgA、VCA IgM、核抗原(NA) IgA、早期抗原(EA) IgA 阳性率均高于对照组,VCA IgG、NA IgG 阳性率均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。各年龄段社区居民 VCA IgA、NA IgA、EA IgA 阳性率均较低,NA IgG 和 VCA IgG 在 ≥ 1 岁居民中阳性率随着年龄增长有逐渐增高趋势,在 ≥ 60 岁居民中 NA IgG、VCA IgG 阳性率均达 100%。120 例 IM 患儿中,有 72 例患儿同时采集 PBMC 及血浆标本进行了 EBV DNA 检测,其中 PBMC 标本检出 EBV DNA 阳性 69 例,阳性率为 95.83%(69/72),血浆标本检出 EBV DNA 阳性 59 例,阳性率为 81.94%(59/72),PBMC 标本 EBV DNA 阳性率高于血浆标本,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 孝感地区 IM 患儿 EBV 的 VCA IgM、VCA IgA、NA IgA 和 EA IgA 阳性率较高,而 VCA IgG 和 NA IgG 阳性率降低。社区居民 EBV 既往感染普遍存在,且年龄越大,既往感染率越高。血浆标本检出的 EBV DNA 阳性率较低。

关键词: EB 病毒; 传染性单核细胞增多症; EB 病毒抗体; EB 病毒 DNA**中图分类号:** R446**文献标志码:** A**文章编号:** 1672-9455(2022)16-2199-04

EBV antibody and DNA test results of children with infectious mononucleosis in Xiaogan area and epidemiological analysis of community residents*

YANG Shixiong¹, MING Liang², LIU Ruihan^{2△}

1. Central Laboratory; 2. Department of Clinical Laboratory, Xiaogan Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology/Xiaogan Central Hospital, Xiaogan, Hubei 432000, China

Abstract: **Objective** To analyze the EB virus (EBV) antibody and DNA test results of infectious mononucleosis (IM) children in Xiaogan area, and analyze the epidemiological characteristics of EBV antibody carried by community residents in this area. **Methods** A total of 120 children with IM who were hospitalized in this hospital from December 2016 to December 2020 were selected as the case group, and 124 children who underwent physical examination in the hospital during the same period were selected as the control group. A total of 1 522 residents in Xiaogan area with EBV antibody and DNA test results who underwent physical examination in the hospital were selected as the epidemiological investigation objects. EBV antibodies were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and EBV DNA levels in plasma and peripheral blood mononuclear cell (PBMC) were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. **Results** The positive rates of EBV DNA, capsid antigen (VCA) IgA, VCA IgM, nuclear antigen (NA) IgA, and early antigen (EA) IgA in the case group were higher than those in the control group, while the positive rates of VCA IgG and NA IgG were lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The positive rates of VCA IgA, NA IgA and EA IgA in community residents of all age groups were all low. The positive

* 基金项目:湖北省卫生健康委员会科研项目(WJ2019F121);湖北省自然科学基金项目(2018CFB786)。

作者简介:阳仕雄,男,主管技师,主要从事分子诊断学研究。△ 通信作者, E-mail: yang115950@163.com。

rates of NA IgG and VCA IgG in residents aged ≥ 1 tended to increase with age, and the positive rates of NA IgG, VCA IgG among residents aged ≥ 60 were all up to 100%. Among the 120 children with IM, 72 children were simultaneously collected PBMC and plasma samples for EBV DNA detection. Among them, 69 cases were positive for EBV DNA in PBMC samples, with a positive rate of 95.83% (69/72), and 59 cases were detected in plasma samples with positive EBV DNA, with a positive rate of 81.94% (59/72), the positive rate of EBV DNA in PBMC samples was higher than that in plasma samples, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** In Xiaogan area, the positive rates of EBV VCA IgM, VCA IgA, NA IgA and EA IgA in children with IM increased, while the positive rates of VCA IgG and NA IgG decreased. EBV previous infection in community residents is prevalent, and the older the age, the higher the previous infection rate. The positive rate of EBV DNA detected in plasma samples is low.

Key words: EB virus; infectious mononucleosis; EB virus antibody; EB virus DNA

传染性单核细胞增多症(IM)是儿童较常见的以单核-巨噬细胞系统急性增生为特点的传染病,临床表现特异性不强,主要有发热、咽峡炎及扁桃体炎、颈部淋巴结肿大、肝脾大等^[1]。IM 多由 EB 病毒(EBV)感染所致,人类对 EBV 普遍易感,流行病学调查显示,多数人初次感染 EBV 是在儿童时期^[2-3]。EBV 是疱疹病毒科双链 DNA 病毒,主要通过唾液飞沫传播,也可通过血液传播^[4]。EBV 感染触发细胞免疫反应,但其往往不能被完全清除,机体免疫力低下时可出现复发感染^[5]。IM 临床表现多样且不典型,早期诊断相对困难,容易漏诊、误诊。因此,及时有效的实验室检测对临床诊断尤为重要。现阶段 EBV 的检测主要是检测 EBV 抗体及 DNA^[6]。由于 EBV 抗体的种类较多,不同抗体在 IM 患者中的阳性率不同。对于 EBV DNA,可用于检测的标本包括外周血总 DNA、血浆及外周血单个核细胞(PBMC),不同标本的检测结果也存在一定差异^[7]。

目前,国内少有关于不同标本 EBV DNA 检测结果差异的相关报道。本研究主要对湖北省孝感地区 IM 患儿 EBV 抗体及 DNA 的检测结果进行分析,并探讨血浆及 PBMC 中 EBV DNA 检测结果的差异,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性选取 2016 年 12 月至 2020 年 12 月在本院住院的 IM 患儿 120 例为病例组,中位年龄 4 岁;男 73 例,女 47 例。纳入的患儿均存在 IM 的临床症状;EBV DNA 阳性或 EBV 衣壳抗原(VCA)IgM 阳性。选取同期于本院体检的儿童 124 例为对照组,中位年龄 5 岁;男 70 例,女 54 例;均为临床诊断排除 IM 的儿童。从本院体检者中选取具备 EBV 抗体及 DNA 检测结果的 1 522 例孝感地区社区居民作为研究对象,入选标准:不存在 EBV 感染的临床症状;EBV DNA 及 VCA IgM 均为阴性。本研究

经医院伦理委员会批准通过。

1.2 仪器与试剂 主要试剂:EBV 系列酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒(北京贝尔生物工程股份有限公司)、EBV 核酸扩增荧光定量检测试剂(中山大学达安基因股份有限公司)。主要仪器:科华 ST-360 型酶标仪、ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪。

1.3 方法

1.3.1 EBV 抗体检测 采集所有研究对象静脉血 2 mL,4℃静置 1 h,3 000 r/min 离心 8 min(离心半径 16 cm),取上清液,用 ELISA 检测 EBV 抗体。

1.3.2 EBV DNA 检测 检测血浆标本时,采集静脉血 2 mL,4℃静置 1 h,3 000 r/min 离心 8 min,取血浆,加入 DNA 提取液并于 100℃加热 10 min,12 000 r/min 离心 5 min,取上清液,用实时荧光定量 PCR 检测 EBV DNA 水平。检测 PBMC 标本时,取 2 mL 全血加 2 mL 生理盐水稀释,加淋巴细胞分离液后 2 000 r/min 离心 20 min。取中层细胞层,12 000 r/min 离心 5 min,取上清液,再加入 DNA 提取液并于 100℃加热 10 min,12 000 r/min 离心 5 min,取上清液,用实时荧光定量 PCR 检测 EBV DNA 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据分析。计数资料以例数或率表示,组间比较采用 Fisher 确切概率法或 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 EBV 抗体及 DNA 检测结果比较 病例组 EBV DNA、VCA IgA、VCA IgM、核抗原(NA) IgA、早期抗原(EA) IgA 阳性率均高于对照组,VCA IgG、NA IgG 阳性率均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 不同年龄段社区居民 EBV 抗体阳性率分布 体检时开展 EBV 抗体检测的社区居民 1 522 例主要分布在较低年龄段,其中未成年人(< 18 岁)1 208 例,

占 79.37%。根据人群年龄分布特点,本研究对社区居民进行了年龄分层,分为未成年人(<18 岁,并根据人数分布进行年龄段细分)、青年(18~<45)、中年(45~<60 岁)、老年(≥60 岁)。各年龄段 VCA IgA、NA IgA、EA IgA 阳性率均较低,NA IgG 和 VCA IgG 在 ≥1 岁居民中阳性率随着年龄增长有逐渐增高趋势,在 ≥60 岁居民中 NA IgG、VCA IgG 阳性率均达 100%。见表 2。

表 1 两组 EBV 抗体及 DNA 检测结果比较[% (n/n)]

组别	n	VCA IgM	VCA IgA	VCA IgG	NA IgA	NA IgG	EA IgA	EA IgG	EBV DNA
对照组	124	0.00(0/124)	2.42(3/124)	49.19(61/124)	1.11(1/90)	46.77(58/124)	0.00(0/90)	1.61(2/124)	0.00(0/124)
病例组	120	80.83(97/120)	24.17(29/120)	35.83(43/120)	26.73(27/101)	6.67(8/120)	11.88(12/101)	0.00(0/120)	92.50(111/120)
χ ²		—	4.451	22.967	49.714	23.439	—	—	—
P		<0.001	<0.001	0.035	<0.001	<0.001	<0.001	0.498	<0.001

注:—表示使用 Fisher 确切概率法进行统计分析,故无 χ² 值;NA IgA 与 EA IgA 仅部分患者进行了检测,因此总检测例数对照组为 90 例,病例组为 101 例。

表 2 不同年龄段社区居民 EBV 抗体阳性率分布[% (n/n)]

年龄(岁)	n	EA IgA	EA IgG	NA IgA	NA IgG	VCA IgA	VCA IgG
<1	187	0.00(0/116)	0.53(1/187)	0.00(0/116)	44.92(84/187)	0.00(0/187)	60.43(113/187)
1~<2	199	0.74(1/136)	1.01(2/199)	0.74(1/136)	10.05(20/199)	2.01(4/199)	14.57(29/199)
2~<3	153	0.00(0/115)	1.31(2/153)	1.74(2/115)	22.88(35/153)	0.00(0/153)	22.88(35/153)
3~<4	159	3.97(5/126)	5.66(9/159)	5.56(7/126)	38.36(61/159)	4.40(7/159)	38.36(61/159)
4~<6	190	0.79(1/127)	3.68(7/190)	5.51(7/127)	59.47(113/190)	7.89(15/190)	60.00(114/190)
6~<8	144	0.00(0/98)	5.56(8/144)	1.02(1/98)	77.78(112/144)	2.08(3/144)	78.47(113/144)
8~<11	114	1.22(1/82)	6.14(7/114)	1.22(1/82)	87.72(100/114)	1.75(2/114)	86.84(99/114)
11~<18	62	2.17(1/46)	4.84(3/62)	0.00(0/46)	85.48(53/62)	1.62(1/62)	85.48(53/62)
18~<45	138	0.00(0/102)	3.62(5/138)	1.96(2/102)	94.20(130/138)	4.35(6/138)	94.20(130/138)
45~<60	99	0.00(0/81)	3.03(3/99)	2.47(2/81)	98.99(98/99)	4.04(4/99)	97.98(97/99)
≥60	77	0.00(0/57)	7.79(6/77)	5.26(3/57)	100.00(77/77)	6.49(5/77)	100.00(77/77)

注:各年龄段社区居民中仅部分进一步检测了 NA IgA 与 EA IgA,因此相应的总检测例数少于该组总例数。

2.3 不同标本 EBV DNA 的检测结果 120 例 IM 患儿中,86 例患儿采集 PBMC 标本进行了 EBV DNA 检测,阳性率为 94.19%(81/86),104 例患儿采集血浆标本进行了 EBV DNA 检测,阳性率为 82.69%(86/104)。有 72 例患儿同时采集 PBMC 及血浆标本进行了 EBV DNA 检测,其中 PBMC 标本检出 EBV DNA 阳性 69 例,阳性率为 95.83%(69/72),血浆标本检出 EBV DNA 阳性 59 例,阳性率为 81.94%(59/72),PBMC 标本 EBV DNA 阳性率高于血浆标本,差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

目前实验室检测 EBV DNA、EBV 抗体及外周血异形淋巴细胞等是诊断 IM 的主要依据^[8]。EBV 原发感染时,VCA IgM 最先出现并持续存在约 1 个月,EA IgG 出现较晚;VCA IgG 更晚出现且长期存在,并在再发感染时其水平再次升高;NA IgG 出现最晚且同样长期存在^[9]。本研究病例组 VCA IgM 阳性率

为 80.83%,表明 VCA IgM 在 IM 患儿中有较高的阳性率,可以作为诊断 IM 的重要辅助指标之一。病例组 VCA IgA、NA IgA、EA IgA 阳性率明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),提示在 IM 患儿中上述抗体有较高的阳性率,可与 VCA IgM 联合用于 IM 的诊断。

VCA IgG 与 NA IgG 阳性提示既往感染 EBV,该阳性结果可长期存在^[9]。相关报道显示,IM 患儿 VCA IgG 阳性率高于健康对照者^[10],但本研究显示,病例组 VCA IgG 与 NA IgG 阳性率明显低于对照组($P<0.05$),与上述研究结果存在差异,考虑这可能与本地区 IM 患儿 EBV 感染的流行病学特点有关,本研究纳入的多数 IM 患儿既往未感染过 EBV,因此对 EBV 易感,而对照组中既往感染者较多,可能对再发感染形成了一定免疫力。本研究结果显示,孝感地区社区居民中 VCA IgG 与 NA IgG 阳性率较高,且在 ≥1 岁居民中随着年龄增长,其阳性率有增高趋势,

表明在社区居民中既往感染 EBV 极为常见,且年龄越大的人群既往感染率越高。研究显示,社区儿童 EBV 感染较为常见,且大部分既往感染无明显症状^[11]。VCA IgG 与 NA IgG 阳性率在<1 岁儿童中较高,而在 1~<2 岁儿童中骤然降低。婴儿期 VCA IgG 与 NA IgG 阳性率较高可能与机体免疫系统发育尚不完善,产生的抗体无法持续存在有关^[12];此外,<1 岁儿童可能存在异嗜性抗体,造成较多的假阳性结果^[13]。因此对<1 岁儿童进行 EBV 抗体检测时,必须注意排除假阳性的情况。

不同标本的 EBV DNA 检测结果存在差异。本研究中,86 例 IM 患儿的 PBMC 标本 EBV DNA 阳性率达 94.19%,而 104 例 IM 患儿血浆标本 EBV DNA 阳性率仅为 82.69%;此外,有 72 例患儿同时采集 PBMC 及血浆标本进行了 EBV DNA 检测,PBMC 标本 EBV DNA 阳性率也高于血浆标本($P<0.05$)。既往研究报道,EBV 感染后的恢复期,血浆中的 EBV DNA 可较快转阴,而 PBMC 中的 EBV DNA 阳性则持续较长时间^[14]。队列研究发现,EBV 感染时,血浆 EBV DNA 检测诊断 EBV 感染的特异度高于检测 PBMC 中的 EBV DNA^[15]。在本研究中,血浆 EBV DNA 较低的阳性率可能提示部分患者 EBV DNA 已转阴,但此时 PBMC 的 EBV DNA 检测结果仍为阳性,提示血浆的检测结果可以更好地明确 EBV 感染的实际状态。

本研究存在一定的不足之处,为单中心、回顾性研究,未能对研究对象进行随访,因此无法对 EBV 抗体与 DNA 的变化进行动态监测,后续将开展多中心、前瞻性的临床研究,为 EBV 抗体及 DNA 检测结果的意义判读及临床应用提供更多的理论依据。

参考文献

- [1] 郑岚,程娟,潘秋辉,等. 抗 EB 病毒衣壳抗原 IgG 抗体亲和力和诊断儿童传染性单核细胞增多症的价值及患儿免疫状态的变化[J]. 检验医学,2019,34(5):408-414.
- [2] NAUGHTON P, HEALY M, ENRIGHT F, et al. Infectious mononucleosis: diagnosis and clinical interpretation [J]. Br J Biomed Sci, 2021, 78(3):107-116.
- [3] 陈琼,丁周志,刘娜娜,等. 不同年龄阶段 EB 病毒感染住院患儿临床症状及实验室检查特点分析[J]. 中华全科医学,2021,19(2):241-244.
- [4] 叶倩,李筱莉,陈岩松,等. 联合检测 EB 病毒不同抗体及 EB 病毒 DNA 在鼻咽癌血清学诊断中的价值[J]. 现代肿瘤医学,2016,24(19):3045-3048.
- [5] 刘雪凯,王迎时,辛勤,等. EB 病毒感染患儿免疫细胞功能变化及其临床意义[J]. 中国医药导报,2019,16(8):72-75.
- [6] 黄璐. EBV-DNA 载量在传染性单核细胞增多症患儿中的变化情况及诊断价值[J]. 检验医学与临床,2020,17(24):3574-3577.
- [7] 付瑞,吴江尧,夏莱荣,等. 儿童 EBV 感染相关疾病在不同标本类型中 EBV-DNA 检测的比较[J]. 世界最新医学信息文摘,2021,21(11):251-252.
- [8] SHI T, HUANG L, LUO L, et al. Diagnostic value of serological and molecular biological tests for infectious mononucleosis by EBV in different age stages and course of the disease[J]. J Med Virol, 2021, 93(6):3824-3834.
- [9] 全国儿童 EB 病毒感染协作组,中华实验和临床病毒学杂志编辑委员会. EB 病毒感染实验室诊断及临床应用专家共识[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2018,32(1):2-8.
- [10] 张敏杰,高玉芳,杨飞飞,等. 中国人群传染性单核细胞增多症患者抗 EB 病毒抗体阳性检出率的 Meta 分析[J]. 检验医学,2020,35(3):214-223.
- [11] 王博,齐莹,阮强. 儿童 EB 病毒感染的流行病学调查及血清学特征分析[J]. 中华实用儿科临床杂志,2020,35(18):1403-1406.
- [12] 王德莉. 幼儿感染 EB 病毒后的免疫功能变化情况[J]. 医学理论与实践,2017,30(6):888-890.
- [13] MARSHALL-ANDON T, HEINZ P. How to use the Mono-spot and other heterophile antibody tests [J]. Arch Dis Child Educ Pract Ed, 2017, 102(4):188-193.
- [14] WANG K, XU D, LV Z, et al. The rational specimen for the quantitative detection of Epstein-Barr virus DNA load [J]. Clin Chem Lab Med, 2019, 57(5):759-765.
- [15] KANAKRY J A, HEGDE A M, DURAND C M, et al. The clinical significance of EBV DNA in the plasma and peripheral blood mononuclear cells of patients with or without EBV diseases [J]. Blood, 2016, 127(16):2007-2017.

(收稿日期:2021-11-11 修回日期:2022-03-22)