

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 辅助诊断中的应用价值

乔元昊 唐阳芹

作者单位: 273300 山东临沂, 平邑县人民医院检验科

通信作者: 乔元昊, Email: fulljoe@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2023.03.010

【摘要】 目的 研究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价值。**方法** 收集 2022 年 1—12 月在平邑县人民医院就诊的 37 例传染性单核细胞增多症患儿的临床资料。所有患儿均进行异型淋巴细胞比例、EB 病毒抗体(VCA-IgM)和 EB 病毒核酸(EBV-DNA)检测,记录并分析患儿的诊断结果,计算不同检测方法单独与联合应用的诊断效能。**结果** 异型淋巴细胞比例为 $(16.22 \pm 3.47)\%$,阳性率为 62.16%, VCA-IgM 和 EBV-DNA 的阳性率分别为 83.78%、91.89%;异型淋巴细胞比例检测、VCA-IgM 检测和 EBV-DNA 检测联合应用的敏感度和准确度均高于各指标单独应用(敏感度:97.30% 比 43.24%、70.27%、83.78%,准确度:99.44% 比 84.44%、91.11%、95.00%,均 $P < 0.05$),特异度、阳性预测值与阴性预测值均明显高于异型淋巴细胞比例检测和 VCA-IgM 抗体检测(特异度:100.00% 比 95.10%、96.50%,阳性预测值:100.00% 比 69.57%、83.87%,阴性预测值:99.31% 比 86.62%、92.62%,均 $P < 0.05$)。**结论** 异型淋巴细胞比例、VCA-IgM 和 EBV-DNA 三项检测联合应用对于辅助诊断儿童传染性单核细胞增多症具有较高的价值。

【关键词】 儿童传染性单核细胞增多症; 异型淋巴细胞比例; EB 病毒抗体; 核酸检测; 诊断

Application value of atypical lymphocyte ratio combined with Epstein-Barr virus antibody and nucleic acid detection in auxiliary diagnosis of infectious mononucleosis in children

Qiao Yuanhao, Tang Yangqin. Department of Clinical Laboratory, Pingyi County People's Hospital, Linyi 273300, Shandong, China

Corresponding author: Qiao Yuanhao, Email: fulljoe@163.com

【Abstract】 Objective To study the application value of atypical lymphocyte ratio detection combined with Epstein-Barr (EB) virus antibody detection and nucleic acid detection in the auxiliary diagnosis of infectious mononucleosis in children. **Methods** The clinical data of 37 children with infectious mononucleosis who were treated in Pingyi County People's Hospital from January to December 2022 were collected. All the children underwent atypical lymphocyte ratio, EB viral capsid antigen immunoglobulin M (VCA-IgM) and EB virus-DNA (EBV-DNA) detection, the diagnostic results of the patients were recorded and analyzed, and the diagnostic efficacies of different detection methods for single and combined use were calculated. **Results** In 37 children, the atypical lymphocyte ratio was $(16.22 \pm 3.47)\%$, the positive rate was 62.16%, the positive rates of VCA-IgM and EBV-DNA were 83.78% and 91.89%, respectively. The sensitivity and accuracy of the combined application of atypical lymphocyte ratio detection, VCA-IgM detection and EBV-DNA detection were higher than those of each method used alone (sensitivity: 97.30% vs. 43.24%, 70.27%, 83.78%, accuracy: 99.44% vs. 84.44%, 91.11%, 95.00%, all $P < 0.05$), the specificity, positive predictive value and negative predictive value were significantly higher than that of atypical lymphocyte ratio and VCA-IgM antibody detection (specificity: 100.00% vs. 95.10%, 96.50%, positive predictive value: 100.00% vs. 69.57%, 83.87%, negative predictive value: 99.31% vs. 86.62%, 92.62%, all $P < 0.05$). **Conclusion** The combination of atypical lymphocyte ratio detection, VCA-IgM detection and EBV-DNA detection is of high value in the diagnosis of infectious mononucleosis in children.

【Key words】 Infectious mononucleosis in child; Atypical lymphocyte ratio; Epstein-Barr virus antibody; Nucleic acid test; Diagnosis

传染性单核细胞增多症是一种由 EB 病毒感染引起的急性和自限性疾病,以不规则发热、咽痛、淋巴结肿大等为主要临床表现^[1-2]。该疾病在青少年或成人中较多发,主要传播途径为经口紧密接触传播。40%~70% 的 EB 病毒感染且症状发作患儿中能够检测到 EB 病毒核酸,在发病 2 周左右检测阳性率则高达 90% 及以上^[3]。传染性单核细胞增多症是儿童感染 EB 病毒后发生率较高的一类疾病,会严重影响患儿机体内各个系统,导致鼻咽癌、淋巴瘤等疾病的发生^[4]。传染性单核细胞增多症的患病人数在近年来持续增多,该疾病发病隐匿,且临床症状和体征复杂多样,检测指标的特异性在低龄儿童中较低,因此误诊风险较高,需要寻找高效、准确的诊断方法,使患儿尽早接受对症治疗。本研究对异型淋巴细胞比例、EB 病毒抗体与核酸检测在儿童传染性单核细胞增多症的诊断中获得的效果展开分析,旨在促进对该疾病诊断水平的提升,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 样本收集 研究样本为 2022 年 1—12 月本院接收的 180 例发热患儿中选出的确诊为传染性单核细胞增多症的 37 例患儿,其中男性 22 例(占比为 59.46%),女性 15 例(占比为 40.54%);年龄 2~11 岁,平均(5.9 ± 1.3)岁;身高 74~155 cm,平均(111.5 ± 20.6)cm;体质量 14~37 kg,平均(22.6 ± 4.0)kg。

1.1.1 纳入标准 ① 符合《诸福棠实用儿科学》第 8 版中有关诊断标准者^[5];② 初次发病者;③ 未合并其他疾病者;④ 重要器官功能正常者。

1.1.2 排除标准 ① 存在自身免疫功能障碍者;② 因细菌感染、支原体感染等导致的传染性单核细胞增多症患儿;③ 罹患严重血液疾病、癌症者;④ 存在先天畸形、发育迟缓等情况的患儿。

1.1.3 伦理学 本研究符合医学伦理学标准,并经本院医学伦理委员会审批(审批号:PYXLL-LW-2023-010),所有检测均获得过受检患儿监护人的知情同意。

1.2 研究方法

1.2.1 异型淋巴细胞检测 在患儿入院时采集外周静脉血 2 mL,采用乙二胺四乙酸二钾(ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium salt dihydrate, EDTA-K₂)抗凝,制作血涂片,再应用瑞氏-姬萨姆染液进行染色。血涂片自然干燥后,将其放置在油镜下观察。由具有血液细胞学检测资质的检验医师

负责阅片,对血细胞形态进行观察,对淋巴细胞进行计数,分类 100 个细胞,计算异型淋巴细胞比例。以 Downey 分类为参照,分为三种类型:Ⅰ型、Ⅱ型、Ⅲ型,分别对应浆细胞型、不规则型、幼稚细胞型。阳性判定标准为异型淋巴细胞比例>10%。

1.2.2 EB 病毒抗体(EB viral capsid antigen immunoglobulin M, VCA-IgM)检测 采集患儿未进行抗凝处理的静脉血 3 mL,待其自然凝固后,以 3 500 r/min(离心半径为 8 cm)离心 10 min。取上层清液,应用全自动化学发光仪以及配套试剂进行 VCA-IgM 检测。严格按照说明书的操作步骤进行各项操作。检测结果为<20 kU/L 时判定为阴性,20~40 kU/L 判定为可疑,>40 kU/L 判定为阳性。

1.2.3 EB 病毒核酸(EB virus-DNA, EBV-DNA)检测 采用实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)对 EDTA-K₂ 抗凝血 3 mL 展开检测,同时应用 EB 病毒核酸扩增荧光定量检测试剂盒,得到 EBV-DNA 检测值。结果判定标准:EBV-DNA 载量 $\geq 1 \times 10^3$ 个拷贝/mL 为阳性。

1.3 评价指标 统计并分析异型淋巴细胞比例检测、VCA-IgM 检测以及 EBV-DNA 检测的结果。计算并比较上述检测方法单独应用以及三种方法联合应用的诊断效能。

1.4 统计学处理 经 SPSS 25.0 软件进行数据分析。所涉及的计数资料和计量资料分别采用 χ^2 检验和 t 检验,表现形式分别为例(%)和均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)。差异有统计学意义,则 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 异型淋巴细胞比例、VCA-IgM 以及 EBV-DNA 检测结果 结果显示,37 例患儿中异型淋巴细胞比例为(16.22 ± 3.47)%,阳性率为 62.16%(23/37),VCA-IgM 抗体阳性率为 83.78%(31/37),EBV-DNA 阳性率为 91.89%(34/37)。

2.2 不同检测方法的诊断结果与确诊结果比较 联合检测共检出真阳性例数为 36 例,异型淋巴细胞比例、VCA-IgM 抗体、EBV-DNA 单项检测的真阳性检出例数分别为 23 例、31 例、34 例。具体诊断结果见表 1。

2.3 不同检测方法单独与联合应用的诊断效能 联合检测的敏感度和准确度均比明显高于各检测方法单独应用(均 $P < 0.05$),特异度、阳性预测值与阴性预测值均明显高于异型淋巴细胞比例检测和 VCA-IgM 检测(均 $P < 0.05$)。见表 2。

表 1 不同检测方法所得结果与确诊结果比较

确诊结果	异型淋巴细胞比例(例)		VCA-IgM 抗体(例)	
	阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	16	21	26	11
阴性	7	136	5	138
合计	23	157	31	149

确诊结果	EBV-DNA(例)		联合检测(例)		合计(例)
	阳性	阴性	阳性	阴性	
阳性	31	6	36	1	37
阴性	3	140	0	143	143
合计	34	146	36	144	180

注: VCA-IgM 为 EB 病毒抗体, EBV-DNA 为 EB 病毒核酸

表 2 不同检测方法对传染性单核细胞增多症的诊断效能

检测方法	敏感度(%)	特异度(%)	准确度(%)
异型淋巴细胞比例	43.24 ^a	95.10 ^a	84.44 ^a
VCA-IgM	70.27 ^a	96.50 ^a	91.11 ^a
EBV-DNA	83.78 ^a	97.90	95.00 ^a
联合检测	97.30	100.00	99.44

检测方法	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
异型淋巴细胞比例	69.57 ^a	86.62 ^a
VCA-IgM 抗体	83.87 ^a	92.62 ^a
EBV-DNA	91.18	95.89
联合检测	100.00	99.31

注: VCA-IgM 为 EB 病毒抗体, EBV-DNA 为 EB 病毒核酸; 与联合检测比较, ^a $P < 0.05$

3 讨论

发热是儿科多种疾病的首发临床症状, 多种因素均会导致发热症状的出现, 其中以感染最常见, 如细菌、病毒感染等, 而 EB 病毒感染的发生率较高, 患儿全身多个系统受累, 病情严重程度存在差异, 以典型的传染性单核细胞增多症为主要表现, 部分患儿还会出现隐性感染^[6-7]。单核细胞为血液内最大的血细胞, 主要来自于骨髓中的造血干细胞, 能够参与免疫反应, 在吞噬抗原后将所携带的抗原决定簇转交给淋巴细胞, 诱导淋巴细胞产生特异性免疫反应^[8]。原发性 EB 病毒感染一般以隐性感染的形式存在于 0~3 岁儿童中, 无明显的临床表现, 在学龄期及以下的儿童中则主要表现为传染性单核细胞增多症^[9-10]。当 EB 病毒进入儿童的口咽部后, 会侵犯具有 CD21 受体的细胞。另外 B 淋巴细胞被 EB 病毒感染后会破坏原有表面抗原, 导致 T 淋巴细胞出现强烈的免疫应答, 使其向细胞毒性 T 细胞转变。细胞毒性 T 细胞会引起免疫性病理损伤, 将被感染的 B 细胞杀死, 并对多种组织器官造成损伤^[11-12]。临床上一般根据流行病学、典型临床表现、实验室检查结果等对传染性单核细胞增多症进行诊断。

健康人群体内的 B 淋巴细胞表面存在 EB 病毒受体, 当被 EB 病毒感染后, B 淋巴表面的 EB 病毒受体被攻击后会激活 T 淋巴细胞, 逐渐向异型淋巴细胞转变。异型淋巴细胞比例与病程进展有关, 多在发病初的 3~5 d 出现, 在第 7~10 天达到高峰并开始下降, 持续时间在 2~8 周^[13]。异型淋巴细胞可在一定程度上反映机体与病毒的相互作用强弱, 从而对传染性单核细胞增多症的严重程度进行评价。本研究数据显示, 37 例患儿血清中的异型淋巴细胞比例与阳性率分别为 $(16.22 \pm 3.47)\%$ 、62.16%, 与临床相关研究中的数据相近^[14]。异型淋巴细胞比例超过 10%, 表明检测结果呈阳性, 80% 左右的传染性单核细胞增多症患儿存在异型淋巴细胞比例增高的情况, 因此可将此细胞比例的变化用于辅助诊断该疾病。但对异型淋巴细胞的形态识别存在主观性, 当检测者的辨别能力较差时, 会出现检测结果重复, 不利于与正常淋巴细胞进行比较^[15]。同时异型淋巴细胞比例升高还会出现在其他疾病患儿中, 只是与其他病原体感染比较, 传染性单核细胞增多症引起的异型淋巴细胞比例增高更明显, 因此需要与其他指标进行联合检测, 以促进诊断准确性的提升。近年来随着临床检测技术的不断发展与进步, EB 病毒抗体与核酸检测等方法也开始在该疾病诊断中得到应用。

EB 病毒感染后, B 淋巴细胞会促使机体出现体液免疫反应, 导致一系列 EB 病毒抗体的出现, 如对抗衣壳蛋白(capsid protein, CA)的 IgG、IgM, 主要为 VCA-IgG、VCA-IgM。VCA-IgM 的出现时间最早, 可用于判断急性感染期, 在体内的存在持续时间为 1~2 个月, VCA-IgG 的出现则稍晚。在 EB 病毒感染急性期和恢复期分别会出现抗早期抗原(early antigen, EA)的抗体、晚期抗核抗原(nuclear antigen, NA)的抗体^[16]。VCA-IgG 及病毒中和抗体(virus neutralization antibody-IgG, VNA-IgG)会持续存在于患儿体内。由于 EB 病毒存在潜伏感染的特点, 可将患儿 VCA-IgM 指标用于传染性单核细胞增多症的辅助诊断中。本研究结果表明, 37 例患儿中的 VCA-IgM 阳性率较高, 为 83.78%, 分析原因可能由于儿童的免疫系统正处于发育阶段, 尚未成熟, 或者是处于病毒感染初期, 机体感染病毒出现的抗体量较少, 因此容易出现假阴性结果。

近年来荧光定量 PCR 检测技术越发成熟, 已成为诊断多种疾病的有效手段。荧光定量 PCR 通过

有效扩增,能实时监测每一个循环中的 PCR 产物,准确检测病毒的拷贝数,反映 EB 病毒感染情况^[17]。荧光定量 PCR 通过对患儿的血清 EBV-DNA 展开检测,有助于了解患儿体内病毒感染与复制情况,并与 VCA-IgM 指标比较,该方法不会受到体液免疫功能的影响,具有操作更加简便快速、准确性更高的优势,还能减少误诊、漏诊等情况的出现^[18-19]。另外 EBV-DNA 的定量检测为 EB 病毒感染的一项敏感的分子生物学标志物,有助于临床医师根据病毒核酸量客观判断抗病毒治疗效果;且荧光定量 PCR 在病原体感染的血液筛查中能够检出抗原和抗体还未出现时的“窗口期”内感染,有助于预防因输血所致的感染性疾病^[20-21]。在急性发热患儿中,应用荧光定量 PCR 技术能够判断此类患儿是否出现 EB 病毒感染,并观察其疗效。本研究结果显示,患儿的 EBV-DNA 阳性率在 90% 以上,表明该项检测方式是一种较好的辅助诊断方法。另外本研究还表明,上述三项指标联合检测的诊断效能优于单一指标检测,这是由于儿童传染性单核细胞增多症存在隐性感染的情况,且发热等症状相似于其他急性呼吸道感染性疾病,因此联合三种指标进行检测能够减少假阳性和假阴性结果的出现,为后续治疗的展开提供更可靠的参考依据^[22]。

综上所述,异型淋巴细胞比例、VCA-IgM 抗体、EBV-DNA 三项指标联合检测可促进儿童传染性单核细胞增多症辅助诊断效能的提升,但本研究存在一定局限性,三种指标联合检测的费用昂贵,且对实验条件的要求较高,因此建议有条件的实验室实施联合检测。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 刘文田,唐芳华,刘玉花,等.血清 TNF- α 、SAA、ADA 对儿童 EBV 相关传染性单核细胞增多症的诊断价值研究[J].河北医科大学学报,2021,42(4):470-473,486. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3205.2021.04.021.
- 葛洁,关月,崔佳,等.儿童传染性单核细胞增多症不同抗病毒治疗策略的比较研究[J].中国药物应用与监测,2021,18(5):294-296,307. DOI: 10.3969/j.issn.1672-8157.2021.05.003.
- 朱正玉,徐红艳.儿童传染性单核细胞增多症的异常淋巴细胞检测时机及早期抗病毒治疗价值探讨[J].实用临床医药杂志,2021,25(7):85-88. DOI: 10.7619/jemp.20201628.
- 郭宏敏,全晓会,浮纪玲,等.儿童传染性单核细胞增多症临床特征及合并肝脏损害的危险因素分析[J].传染病信息,2022,35(6):517-521. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2022.06.008.
- 江载芳,申昆玲,沈颖.诸福棠实用儿科学(第8版)[J].中国临床医生杂志,2015,43(7):47.
- 谭艳芳,黄小平,姜涛,等.传染性单核细胞增多症患者外周血 B 淋巴细胞中免疫抑制因子的表达及意义[J].实用检验医师杂志,2019,11(4):234-237. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.04.013.
- 刘瑞清,孙钊宁,唐甜甜,等.儿童传染性单核细胞增多症的临床特点及误诊原因分析[J].中国医师进修杂志,2022,45(9):777-782. DOI: 10.3760/cma.j.cn115455-20220408-00273.
- 陈国昇,文大林,种慧敏,等.外周血单核细胞亚群及 CD64 表达水平对脓毒症诊断和预后评估的价值[J].中华危重病急救医学,2022,34(9):921-926. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20220711-00647.
- 付敏,刘灿.外周血细胞参数对儿童传染性单核细胞增多症的诊断价值[J].实用检验医师杂志,2022,14(3):292-294. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2022.03.017.
- 林胜元.儿童传染性单核细胞增多症的三种检测方法对比分析[J].黑龙江医药,2018,31(2):407-409. DOI: 10.14035/j.cnki.hljyy.2018.02.089.
- 包丽丽,计晨琳,吴萍,等.儿童传染性单核细胞增多症临床特征分析[J].中国中西医结合儿科学,2021,13(3):240-242. DOI: 10.3969/j.issn.1674-3865.2021.03.015.
- 吴莹莹.134 例儿童 EB 病毒相关性传染性单核细胞增多症的临床特征[J].中国医学创新,2022,19(8):173-176. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4985.2022.08.042.
- 刘丽莎,张峰,殷丝雨. EB 病毒核酸和血清学检测在儿童传染性单核细胞增多症中的应用[J].华南国防医学杂志,2021,35(3):185-187. DOI: 10.13730/j.issn.1009-2595.2021.03.007.
- 吴菲,刘森. EBV-CA IgM、EBV DNA 和异型淋巴细胞在儿童传染性单核细胞增多症中的诊断价值[J].中华全科医学,2020,18(8):1341-1343,1383. DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.001502.
- 陆丹,郝英娣.异型淋巴细胞、VCS 和 SAA 检测在传染性单核细胞增多症并发肝功能损害中的早期诊断价值[J].国际检验医学杂志,2020,41(8):967-970. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.08.018.
- 彭惠轩,麦彩喜,陈广道. EB 病毒 DNA 检测对儿童传染性单核细胞增多症的诊断价值及其影响因素[J].国际医药卫生导报,2018,24(4):491-493. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-1245.2018.04.010.
- 蒋楠楠,邱伟东,刘集鸿.外周血异型淋巴细胞检查与 EBV DNA 定量检测在 IM 的早期诊断价值[J].浙江临床医学,2018,20(7):1281-1283.
- 解焕弟,陈景,刘莎莎,等.儿童传染性单核细胞增多症常见实验室检查及临床症状的分析[J].广州医药,2021,52(1):116-119. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8535.2021.01.024.
- 刘晓宇,吕凤秀,郭淑芳,等.儿童 EB 病毒所致传染性单核细胞增多症 90 例临床特征分析[J].人民军医,2021,64(6):552-554. DOI: 10.3969/j.issn.1000-9736.2021.06.019.
- 刘秀静,陈华乐,余坚,等.新型 EB 病毒全自动核酸定量检测系统在儿童传染性单核细胞增多症快速诊断中的价值[J].中华全科医学,2021,19(7):1191-1195. DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.002018.
- 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):501-503. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.04.027.
- 钟田花,罗有文,柴慧颖,等.异型淋巴细胞与 EBV-DNA 检测在儿童传染性单核细胞增多症中的相关分析[J].热带医学杂志,2021,21(7):853-856. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3619.2021.07.010.

(收稿日期:2023-05-05)

(本文编辑:邵文)