

外周血异型淋巴细胞比例联合 EB 病毒 DNA 载量 在小儿传染性单核细胞增多症诊断中的应用

沈肖明

作者单位: 364000 福建龙岩, 龙岩人民医院检验科

通信作者: 沈肖明, Email: shenxm1986@yeah.net

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2024.01.003

【摘要】 目的 研究外周血异型淋巴细胞比例(ALY)联合 EB 病毒 DNA 载量(EBV-DNA)在小儿传染性单核细胞增多症(IM)诊断中的应用。**方法** 选择 2020 年 3 月—2022 年 3 月龙岩人民医院收治的 62 例 IM 患儿作为 IM 组, 另外选择同期在龙岩人民医院进行健康体检的 62 例健康儿童作为健康对照组。采用显微镜检测两组患儿外周血 ALY、淋巴细胞计数(LYM)、淋巴细胞比例(LYM%); 采用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测两组 EBV-DNA; 采用 Pearson 相关系数分析 LYM、LYM%、外周血 ALY 与 EBV-DNA 的相关性; 绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)并计算 ROC 曲线下面积(AUC), 考察外周血 ALY 联合 EBV-DNA 检测对 IM 的诊断价值。**结果** IM 组患儿的外周血 ALY、LYM、LYM% 以及 EBV-DNA 水平均明显高于健康对照组〔外周血 ALY: $(25.62 \pm 8.31)\%$ 比 $(18.01 \pm 4.62)\%$; LYM ($\times 10^7/\text{mL}$): 8.35 ± 2.61 比 5.54 ± 0.34 ; LYM%: $(50.35 \pm 10.36)\%$ 比 $(37.69 \pm 6.31)\%$; EBV-DNA (拷贝 /mL): 7.85 ± 2.64 比 5.31 ± 1.10 ; 均 $P < 0.05$ 〕。Pearson 相关性分析结果显示, IM 组患儿的 LYM、LYM%、外周血 ALY 与 EBV-DNA 均呈正相关(r 值分别为 0.424、0.490、0.632, P 值分别为 0.016、0.010、0.008)。外周血 ALY 诊断小儿 IM 的 AUC 为 0.773, 95% 可信区间(95%CI)为 0.680 ~ 0.866, 敏感度为 48.00%, 特异度为 72.00%; EBV-DNA 诊断小儿 IM 的 AUC 为 0.810, 95%CI 为 0.718 ~ 0.902, 敏感度为 60.00%, 特异度为 96.00%; 外周血 ALY 与 EBV-DNA 联合检测诊断小儿 IM 的 AUC 最高, 为 0.904, 95%CI 为 0.843 ~ 0.964, 敏感度为 90.00%, 特异度为 92.00%。**结论** IM 患儿外周血 ALY 和 EBV-DNA 均显著增高, 二者联合检测能够辅助诊断 IM。

【关键词】 外周血异型淋巴细胞比例; 小儿传染性单核细胞增多症; EB 病毒 DNA 载量

Application of peripheral blood atypical lymphocyte ratio combined with EB virus DNA load in diagnosis of infectious mononucleosis in children

Shen Xiaoming. Department of Clinical Laboratory, Longyan People's Hospital, Longyan 364000, Fujian, China

Corresponding author: Shen Xiaoming, Email: shenxm1986@yeah.net

【Abstract】 Objective To study the application of peripheral blood atypical lymphocyte ratio (ALY) combined with EB virus (EBV) DNA load in the diagnosis of infectious mononucleosis (IM) in children. **Methods** A total of 62 children with IM and 62 healthy children undergoing physical examination in Longyan People's Hospital from March 2020 to March 2022 were enrolled in IM group and healthy control group, respectively. The levels of peripheral blood ALY, lymphocytes count (LYM) and lymphocyte ratio (LYM%) in two groups of children were detected by microscope, and the level of EBV-DNA load was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (PCR). The correlation between LYM, LYM%, peripheral blood ALY and EBV-DNA load was analyzed by Pearson correlation coefficient. The receiver operator characteristic (ROC) curve was drawn, the area under ROC curve (AUC) was calculated, and the diagnostic value of peripheral blood ALY combined with EBV-DNA load for IM was analyzed. **Results** The levels of peripheral blood ALY, LYM, LYM% and EBV-DNA load in IM group were significantly higher than those in healthy control group [peripheral blood ALY: $(25.62 \pm 8.31)\%$ vs. $(18.01 \pm 4.62)\%$; LYM ($\times 10^7/\text{mL}$): 8.35 ± 2.61 vs. 5.54 ± 0.34 ; LYM%: $(50.35 \pm 10.36)\%$ vs. $(37.69 \pm 6.31)\%$; EBV-DNA load (copies/mL): 7.85 ± 2.64 vs. 5.31 ± 1.10 ; all $P < 0.05$]. The results of Pearson correlation analysis showed that the levels of LYM, LYM% and peripheral blood ALY were significantly positively correlated with EBV-DNA load in IM group (r values were 0.424, 0.490 and 0.632, P values were 0.016, 0.010 and 0.008). The AUC of peripheral blood ALY for diagnosis of IM was 0.773, 95% confidence interval (95%CI) was 0.680–0.866, the sensitivity was 48.00%, and

the specificity was 72.00%. The AUC of EBV-DNA load for diagnosis of IM was 0.810, 95%CI was 0.718–0.902, the sensitivity was 60.00%, and the specificity was 96.00%, respectively. The AUC of combined detection of peripheral blood ALY and EBV-DNA load was the highest, which was 0.904, 95%CI was 0.843–0.964, the sensitivity was 90.00%, and the specificity was 92.00%, respectively. **Conclusion** The peripheral blood ALY and EBV-DNA load are significantly increased in children with IM, which could be applied in the auxiliary diagnosis of IM.

【Key words】 Peripheral blood atypical lymphocyte ratio; Infectious mononucleosis in child; EB virus DNA load

小儿传染性单核细胞增多症(infectious mononucleosis, IM)在临床上以发热、咽颊炎、淋巴结和肝脾肿大等为主要症状,该疾病的病原体以侵犯淋巴系统为主,儿童属于该病的高发群体^[1]。引起小儿 IM 的主要原因是 EB 病毒,小儿 IM 患者的临床表现多样,此时患儿血液中可检测出大量异常淋巴细胞,且血清中可检测出 EB 病毒抗体^[2]。但是目前临床上相当多的患儿感染 EB 病毒常可无症状或症状轻微,容易被忽视,因此造成许多患儿不能得到及时的诊断和治疗^[3-4]。目前在临床上对 IM 并无特效治疗方法,多数治疗仅以对症及支持治疗为主,因此该疾病对患儿的生命造成严重威胁^[5]。有效的检查方法对小儿 IM 诊断具有较高价值^[6]。本研究探讨外周血异型淋巴细胞比例(atypical lymphocyte ratio, ALY)与 EB 病毒 DNA 载量(EB virus DNA load, EBV-DNA)联合检测在小儿 IM 诊断中的应用价值,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择 2020 年 3 月—2022 年 3 月龙岩人民医院收治的 62 例小儿 IM 患儿纳入 IM 组,另外选择同期在本院进行体检的 62 例健康儿童纳入健康对照组。

1.1.1 纳入标准 ① 本研究中的所有受检儿童均采集外周血进行 ALY 和 EBV-DNA 检测;② IM 组和健康对照组患儿家属均知晓本研究内容,并签署知情同意书。

1.1.2 排除标准 ① 患有先天性疾病的儿童;② 患有严重器官疾病的儿童。

1.1.3 伦理学 本研究符合医学伦理学标准,已提交龙岩人民医院伦理审批并获得通过(审批号:20230831)。本研究中 IM 组和健康对照组患儿家属均对外周血细胞形态学、EBV-DNA 等检查知晓,并签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 采用吉姆萨染液进行染色,使用 Olympus-CX31 显微镜(购自日本奥林巴斯公司)对

外周血细胞形态学进行观察;采用 ABI 7500 实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)分析仪(购自赛默飞生物有限公司)以及 EB 病毒核酸定量检测试剂盒(购自艾康生物技术有限公司)进行 EBV-DNA 定量分析。

1.3 研究方法

1.3.1 外周血细胞形态学检查 采集 IM 组和健康对照组患儿 1 mL 静脉血样本,放在抗凝管内充分摇匀混合,制备血涂片 3 张,可观察到血细胞头体尾分明,厚度均匀,进行吉姆萨染色,染色持续时间约为 10 min,冲洗血涂片并晾干,采用显微镜油镜观察外周血细胞形态,记录外周血淋巴细胞计数(lymphocytes count, LYM)、计算淋巴细胞比例(lymphocytes ratio, LYM%)和外周血 ALY。

1.3.2 EBV-DNA 定量分析 采集所有受检儿童静脉血样本 4 mL,置于枸橼酸钠抗凝管中,采用 PCR 分析仪检测 IM 组和健康对照组儿童外周血 EBV-DNA 载量。

1.4 观察指标 ① 比较 IM 组和健康对照组儿童外周血 ALY、LYM、LYM%、EBV-DNA 水平;② 采用 Pearson 相关性分析方法,对外周血 ALY、LYM、LYM% 与 EBV-DNA 的相关性进行分析;③ 采用受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic curve, ROC 曲线)分析外周血 ALY 与 EBV-DNA 联合检测对 IM 的诊断价值。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 22.0 统计软件对数据进行分析。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验。采用 Pearson 相关性分析方法对 IM 组患儿 LYM、LYM%、ALY 与 EBV-DNA 载量的相关性进行分析;绘制 ROC 曲线并计算 ROC 曲线下面积(area under ROC curve, AUC),分析 ALY 和 EBV-DNA 载量对 IM 的诊断价值。当 $P < 0.05$ 提示有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 IM 组和健康对照组的性别、年龄

等一般资料比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$), 具有可比性。见表 1。

表 1 IM 组和健康对照组的一般资料比较

组别	例数 (例)	性别(例)		年龄(岁)	
		男性	女性	范围	均数($\bar{x} \pm s$)
IM 组	62	35	27	3 ~ 10	7.69 $\pm$ 1.31
健康对照组	62	33	29	4 ~ 11	7.56 $\pm$ 1.24
χ^2/t 值		0.130			0.567
P 值		0.718			0.571

注: IM 为传染性单核细胞增多症

2.2 IM 组和健康对照组患儿的外周血 ALY、LYM、LYM% 以及 EBV-DNA 水平比较 IM 组患儿的外周血 ALY、LYM、LYM% 以及 EBV-DNA 水平均明显高于健康对照组, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 2。

表 2 IM 组和健康对照组患儿的外周血 ALY、LYM%、LYM 以及 EBV-DNA 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (例)	外周血 ALY (%)	LYM% (%)	LYM ($\times 10^7/\text{mL}$)	EBV-DNA (拷贝/mL)
IM 组	62	25.62 $\pm$ 8.31	50.35 $\pm$ 10.36	8.35 $\pm$ 2.61	7.85 $\pm$ 2.64
健康对照组	62	18.01 $\pm$ 4.62	37.69 $\pm$ 6.31	5.54 $\pm$ 0.34	5.31 $\pm$ 1.10
t 值		6.302	8.217	8.406	6.993
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注: IM 为传染性单核细胞增多症, ALY 为异型淋巴细胞比例, LYM% 为淋巴细胞比例, LYM 为淋巴细胞计数, EBV-DNA 为 EB 病毒 DNA 载量

2.3 IM 组患儿 LYM、LYM%、外周血 ALY 与 EBV-DNA 的相关性分析 Pearson 相关性分析结果显示, IM 组患儿的 LYM、LYM%、ALY 与 EBV-DNA 均呈显著正相关(r 值分别为 0.424、0.490、0.632, P 值分别为 0.016、0.010、0.008)。

2.4 外周血 ALY 与 EBV-DNA 单独与联合检测对小兒 IM 的诊断价值 外周血 ALY 诊断小兒 IM 的 AUC 为 0.773, 95% 可信区间(95% confidence interval, 95%CI) 为 0.680 ~ 0.866, 敏感度为 48.00%, 特异度为 72.00%。EBV-DNA 检测诊断小兒 IM 的 AUC 为 0.810, 95%CI 为 0.718 ~ 0.902, 敏感度为 60.00%, 特异度为 96.00%。外周血 ALY 与 EBV-DNA 联合检测诊断小兒 IM 的 AUC 为 0.904(95%CI 为 0.843 ~ 0.964), 明显高于外周血 ALY 和 EBV-DNA 单独应用(均 $P < 0.05$), 敏感度为 90.00%, 特异度为 92.00%。见表 3, 图 1。

3 讨论

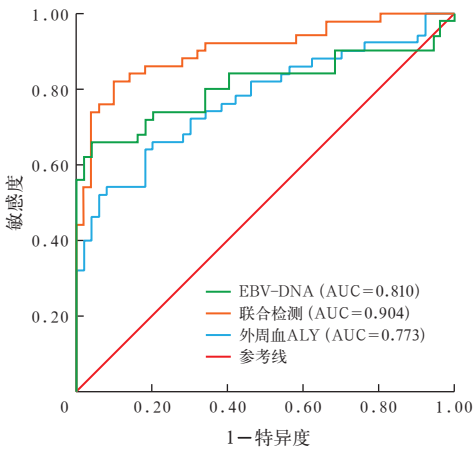
IM 属于亚急性或急性淋巴细胞良性增殖传染

表 3 外周血 ALY 和 EBV-DNA 单独与联合检测诊断 IM 的效能参数

变量	AUC	s_e	95%CI
EBV-DNA	0.810	0.047	0.718 ~ 0.902
外周血 ALY	0.773	0.047	0.680 ~ 0.866
联合检测	0.904	0.031	0.843 ~ 0.964

变量	敏感度(%)	特异度(%)	截断值	P 值
EBV-DNA	60.00	96.00	7.345	< 0.001
外周血 ALY	48.00	72.00	21.805	< 0.001
联合检测	90.00	92.00	0.577	< 0.001

注: ALY 为异型淋巴细胞比例, EBV-DNA 为 EB 病毒 DNA 载量, IM 为传染性单核细胞增多症, AUC 为受试者工作特征曲线下面积, 95%CI 为 95% 可信区间



注: ALY 为异型淋巴细胞比例, EBV-DNA 为 EB 病毒 DNA 载量, IM 为传染性单核细胞增多症, ROC 为受试者工作特征曲线, AUC 为 ROC 曲线下面积

图 1 外周血 ALY 和 EBV-DNA 单独与联合检测诊断 IM 的 ROC 曲线

性疾病, 为儿科常见疾病^[7], 其临床表现复杂, 无典型特征, 因此误诊率较高, 个别病例甚至会进展为与 EBV 病毒相关的嗜血细胞综合征, 可能造成自发性肝破裂, 危害患儿生命安全。因此为让患儿获得及时合理的诊断, 更精确地对 IM 作出诊断是关键问题^[8-9]。IM 是一种以机体单核 - 巨噬细胞系统增生为主要表现的急性感染性疾病, 病程多为 2 ~ 3 周, 少数患者可延至数月, 该疾病临床上常见症状有不规则发热、淋巴结肿大等症状, 生化检测可见异常淋巴细胞增多^[10]。EB 病毒是感染 IM 的主要病原体, 主要靠经口亲密接触传播^[11-12]。

IM 在世界各国均有发生, 多为散发性病例, 亦可引起流行, 全年均可发病, 以晚秋和初春季节发病较多^[13-14]。该疾病潜伏期不定, 儿童多为 4 ~ 15 d, 多数患儿有不同程度的发热症状, 体温一般波动于约 39 ℃, 偶有 40 ℃者^[12], 发热持续时间约 1 周, 但中毒症状较轻, 淋巴结肿大是本病特征之一。IM 是

儿科发病率较高的疾病,不仅发病机制复杂,而且缺乏典型的特征^[15-16]。

在本研究中,我们分析了 IM 患儿与健康体检儿童 ALY、LYM、LYM% 与 EBV-DNA 载量的水平差异,并采用 ROC 曲线统计方法探讨了 ALY 和 EBV-DNA 单独与联合检测对 IM 的诊断价值。

本研究结果显示,IM 组的外周血 ALY、LYM、LYM%、EBV-DNA 水平均明显高于健康对照组。既往研究结果显示,外周血 ALY 联合 EBV-DNA 载量检测可通过对患儿的外周血 ALY、LYM、LYM% 以及 EBV-DNA 加以明确,从而早期诊断小儿 IM,提高小儿 IM 诊断的准确性,有助于临床采取早期治疗措施^[17-18]。本研究结果与上述研究结果类似,进一步表明 IM 患儿的外周血 ALY 和 EBV-DNA 水平均显著增高,可作为 IM 患儿的辅助诊断指标。

综上所述,与健康儿童比较,IM 患儿的外周血 ALY 和 EBV-DNA 水平均显著增高,上述指标可作为辅助诊断 IM 的标志物。

利益冲突 作者声明不存在利益冲突

参考文献

- 王璇,姚燕娜.更昔洛韦联合丙种球蛋白治疗小儿传染性单核细胞增多症的效果分析[J].当代医药论丛,2022,20(1):105-107. DOI: 10.3969/j.issn.2095-7629.2022.01.034.
- ISHII T, SASAKI Y, MAEDA T, et al. Clinical differentiation of infectious mononucleosis that is caused by Epstein-Barr virus or cytomegalovirus: a single-center case-control study in Japan [J]. J Infect Chemother, 2019, 25 (6): 431-436. DOI: 10.1016/j.jiac.2019.01.012.
- 孙毅凡,程洋,龚芳,等. EB 病毒感染中 DNA 识别通路的研究进展[J].中华微生物学和免疫学杂志,2023,43(2):164-172. DOI: 10.3760/cma.j.cn112309-20220907-00287.
- 袁焘,余波.阿昔洛韦治疗儿童传染性单核细胞增多症的疗效及 EBV-DNA 定量、异型淋巴细胞计数的变化[J].川北医学院学报,2023,38(2):225-228. DOI: 10.3969/j.issn.1005-3697.2023.02.019.
- 杜秋燕,张永娇.更昔洛韦与干扰素治疗小儿传染性单核细胞增多症的有效性和安全性比较[J].临床医学研究与实践,2023,8(9):54-57. DOI: 10.19347/j.cnki.2096-1413.202309016.
- 林珊,郭三平,江心怡,等.异型淋巴细胞、EB 病毒及 TLR7 联合检测在儿童传染性单核细胞增多症中的诊断价值[J].检验医学与临床,2023,20(1):32-35,40. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2023.01.008.
- 崔佳丽,张巨平,崔翠,等.清瘟败毒饮加减联合阿昔洛韦注射液治疗小儿 EB 病毒感染传染性单核细胞增多症的疗效观察及对患儿免疫功能的影响[J].河北中医,2022,44(10):1665-1669,1711.
- 祁鑫.阿糖腺苷对 EB 病毒相关性传染性单核细胞增多症患儿 T 淋巴细胞亚群的影响[J/CD].现代医学与健康研究(电子版),2023,7(5):42-44. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3718.2023.05.014.
- 尤亚辉,孙弯弯,李雅明.外周血异型淋巴细胞联合 EB 病毒抗体检测在小儿传染性单核细胞增多症临床诊断中的应用价值[J].四川生理科学杂志,2023,45(1):89-91.
- LOOSEN S H, DOEGE C, MEUTH S G, et al. Infectious mononucleosis is associated with an increased incidence of multiple sclerosis: results from a cohort study of 32116 outpatients in Germany [J]. Front Immunol, 2022, 13: 937583. DOI: 10.3389/fimmu.2022.937583.
- 任敬怡,曹黎明.儿童非肿瘤性 EB 病毒感染相关疾病诊治进展[J].国际儿科学杂志,2023,50(2):125-128. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2023.02.013.
- 祁卫卫,杨宁,路娟,等.重组人干扰素 α 1b 通过调控 Foxp3 对儿童传染性单核细胞增多症免疫功能的影响[J].中国感染控制杂志,2022,21(4):346-352. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.2022.2115.
- 郭红仙,胡玉杰,尹凤蕊,等.传染性单核细胞增多症 270 例临床和实验室检查分析[J].中华实用儿科临床杂志,2022,37(19):1478-1481. DOI: 10.3760/cma.j.cn101070-20211101-01291.
- 张格格,李莲,张有为.外周血淋巴细胞百分率与 LDH、HBDH 联合检测对传染性单核细胞增多症早期筛检价值的探讨[J].湖北医药学院学报,2022,41(5):499-501,548. DOI: 10.13819/j.issn.2096-708X.2022.05.013.
- 何美玲,卢景熙.温病理论指导治疗传染性单核细胞增多症的体会[J].中国中西医结合急救杂志,2002,9(6):346-346. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.2002.06.024.
- 胡玉玲,王栋梅,马文玲,等.人免疫球蛋白结合利巴韦林注射液治疗小儿传染性单核细胞增多症的效果及对心肌酶谱的影响[J].临床医学研究与实践,2022,7(27):107-110.
- TAN L P, TAN G W, SIVANESAN V M, et al. Systematic comparison of plasma EBV DNA, anti-EBV antibodies and miRNA levels for early detection and prognosis of nasopharyngeal carcinoma [J]. Int J Cancer, 2020, 146(8):2336-2347. DOI: 10.1002/ijc.32656.
- 梁少霞.外周血异型淋巴细胞比值联合 EBV-DNA 载量在小儿传染性单核细胞增多症诊断中的应用研究[J].系统医学,2022,7(10):142-144,155. DOI: 10.19368/j.cnki.2096-1782.2022.10.142.

(收稿日期:2023-09-04)

(本文编辑:邵文)