

对比分析 EB 病毒实验室检测方法的应用价值

何丽苇¹ 王顺¹ 黄平平²

[摘要] **目的:**对比分析 EB 病毒(EBV)多抗体联合检测 EBV-DNA 定量分析及外周血白细胞检测的应用价值。**方法:**回顾性分析 2017-06—2018-12 收治的 749 例疑似患者实验室检查结果,根据 EBV-DNA 含量的不同将标本分成 A~E 5 组进行比较分析:495 例 EBV-DNA 含量 $<5 \times 10^2$ IU/ml 的血清标本为 A 组;57 例 EBV-DNA 含量 5×10^2 IU/ml~ 5×10^3 IU/ml 的血清标本为 B 组;127 例 EBV-DNA 含量 5×10^3 IU/ml~ 5×10^4 IU/ml 的血清标本为 C 组;48 例 EBV-DNA 含量 5×10^4 IU/ml~ 5×10^5 IU/ml 的血清标本为 D 组;22 例 EBV-DNA 含量 $>5 \times 10^5$ IU/ml 的血清标本为 E 组。用化学发光法检测血清中 EBV 早期抗原 IgG 抗体(EA-IgG)、EBV 衣壳抗原 IgM 抗体(VCA-IgM)、EBV 衣壳抗原 IgG 抗体(VCA-IgG)、EBV 核抗原 IgG 抗体(NA-IgG);用荧光定量 PCR 法检测外周血 EBV-DNA;全血细胞仪进行血常规检测。**结果:**①A 组中 EA-IgG、VCA-IgM、VCA-IgG、NA-IgG 的阳性率分别为 9.70%、21.82%、33.94%、38.59%;白细胞计数(WBC)、淋巴细胞绝对值(LYM)、中性粒细胞绝对值、单核细胞绝对值(MONO)的阳性率分别为 21.01%、46.26%、15.76%、58.18%,经 *t* 检验比较,VCA-IgG 和 NA-IgG 的检出率明显高于 EA-IgG 和 VCA-IgM($P < 0.05$),LYM 和 MONO 的阳性率明显高于 WBC 和中性粒细胞绝对值($P < 0.05$);②B、C、D、E 组中 EA-IgG、VCA-IgM、VCA-IgG、NA-IgG 的阳性率分别依次为 31.58%、43.31%、64.58%、59.09%;21.05%、35.43%、58.33%、81.82%;89.47%、98.43%、91.67%、86.36%;85.96%、87.40%、75.00%、45.45%。WBC、LYM、中性粒细胞绝对值、MONO 的阳性率分别依次为 12.28%、26.77%、33.33%、54.55%;31.58%、41.73%、56.25%、81.82%;12.28%、15.75%、8.33%、9.09%;42.11%、60.63%、66.67%、72.73%;VCA-IgM、WBC、LYM 及 MONO 的阳性率随着 EBV-DNA 含量的增加而增大($P < 0.05$);③A、B 及 C 组中均以 EA-IgG(-)、VCA-IgM(-)、VCA-IgG(+),NA-IgG(+)最多见,D 组中以 4 种抗体均为阳性最多见,E 组中以 EA-IgG(+),VCA-IgM(+),VCA-IgG(+),NA-IgG(-)最多见。**结论:**联合检测 EBV 抗体、血液分析及 EBV-DNA 有助于提高 EBV 感染的诊断和防治。

[关键词] EB 病毒抗体;血液分析;EBV-DNA

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2020.06.011

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Comparative analysis of application value of EB virus laboratory detection method

HE Liwei¹ WANG Shun¹ HUANG Pingping²

(¹Department of Blood Transfusion, Wuhan NO. 1. Hospital, Wuhan, 430022, China; ²Laboratory of Enshi Hualong General Hospital)

Corresponding author: WANG Shun, E-mail: wang_shun6688@sina.com

Abstract Objective: To compare and analyze the application value of combined detection of Epstein-Barr virus multi-antibody, EBV-DNA quantitative analysis and peripheral blood leukocyte detection. **Method:** The results of laboratory examinations of 749 patients admitted to our hospital from June 2017 to December 2018 were retrospec-

¹武汉市第一医院输血科(武汉,430022)

²恩施华龙总医院检验科

通信作者:王顺, E-mail: wang_shun6688@sina.com

为保障临床安全用血,常规进行 RhD 阴性患者的 Rh 表型检测和不规则抗体筛选,部分采供血机构也已经建立了自己的稀有血型库,对 RhD 阴性献血者进行 Rh 血清学表型和不规则抗体检测,并采用甘油低温储存方法保存阴性血液,以满足临床用血需求。近年来,由于低温保存血液所需要的甘油购买困难,导致部分采供血机构 RhD 阴性血液库存不足,这种情况下对于择期手术的阴性患者,医院可以通过血站:提前联系与患者 Rh 表型一致的献血员献血或调入其他血液相对充足血站的血液,以此保证 RhD 阴性患者的用血安全。

参考文献

- [1] 徐姿,李树中,卞洁,等. 红细胞血型抗原的研究进展[J]. 临床血液学杂志,2016,29(4):345-350.
- [2] Ye SH, Wu DZ, Wang MN, et al. A comprehensive investigation of RHD polymorphisms in the Chinese Han population in Xian[J]. Blood Transfus, 2014, 12: 1-9.
- [3] 张慧贤,赵倩,王艳彬,等. 石家庄地区献血者 Rh 阴性血清学表型分布及不规则抗体检出情况[J]. 临床血液学杂志,2017,30(10):800-801.

(收稿日期:2019-09-17)

tively analyze. These patients were divided into groups A, B, C, D and E according to the difference of EBV-DNA content for comparative analysis: 495 serum samples with EBV-DNA content $< 5 \times 10^2$ IU/ml were group A; 57 serum samples with EBV-DNA content of $5 \times 10^2 - 5 \times 10^3$ were group B; 127 serum samples with EBV-DNA content of $5 \times 10^3 - 5 \times 10^4$ were group C; 48 cases of EBV-DNA content serum samples of $5 \times 10^4 - 5 \times 10^5$ were group D; and 22 serum samples with EBV-DNA content $> 5 \times 10^5$ were group E. EB V early antigen IgG antibody (EA-IgG), EBV capsid antigen IgM (VCA-IgM), EBV capsid antigen IgG (VCA-IgG) and EBV nuclear antigen IgG (NA-IgG) were detected by chemiluminescence method; peripheral blood EBV-DNA was detected by real-time PCR; blood routine detection was performed by whole blood analyzer. **Result:** ① In group A, the positive rates of EA-IgG, VCA-IgM, VCA-IgG and NA-IgG were 9.70%, 21.82%, 33.94% and 38.59%, respectively; The positive rates of white blood cell count (WBC), absolute lymphocyte count (LYM), neutral granulocyte absolute value and absolute value of monocyte (MONO) were 21.01%, 46.26%, 15.76%, and 58.18%, respectively. The detection rates of VCA-IgG and NA-IgG were significantly higher than those of EA-IgG and VCA-IgM ($P < 0.05$), the positive rates of LYM and MONO were significantly higher than those of WBC and absolute neutrophil count ($P < 0.05$); ② In group B, C, D and E, the positive rates of EA-IgG, VCA-IgM, VCA-IgG and NA-IgG were 31.58%, 43.31%, 64.58% and 59.09%; 21.05%, 35.43%, 58.33% and 81.82%; 89.47%, 98.43%, 91.67% and 86.36%; 85.96%, 87.40%, 75.00% and 45.45%, respectively. The positive rates of WBC, LYM, absolute neutrophil count and MONO were 12.28%, 26.77%, 33.33% and 54.55%; 31.58%, 41.73%, 56.25% and 81.82%; 12.28%, 15.75%, 8.33% and 9.09%; 42.11%, 60.63%, 66.67% and 72.73%, respectively; The positive probability of VCA-IgM, WBC, LYM and MONO increased with the increase of EBV-DNA content ($P < 0.05$); ③ In groups A, B and C, EA-IgG(-), VCA-IgM(-), VCA-IgG(+) and NA-IgG(+) were the most common. In group D, the positive combination pattern of all four antibodies was the most common. In group E, EA-IgG(+), VCA-IgM(+), VCA-IgG(+) and NA-IgG(-) were most common. **Conclusion:** Combined detection of EBV antibody, blood analysis and EBV-DNA could help improving the diagnosis and prevention of EBV infection.

Key words Epstein-Barr virus antibody; blood analysis; EBV-DNA

EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 为一种嗜 B 淋巴细胞的双链 DNA 病毒^[1], 广泛存在于自然界, 主要传播途径为经口传播, 也可经血液、体液等途径传播感染^[2]。患者感染 EBV 后, 先在口咽部位上皮细胞内增殖, 之后对局部黏膜 B 细胞进行感染, 进入血循环后可造成全身多个系统疾病, 如呼吸系统感染、传染性单核细胞增多症和血液系统肿瘤等^[3-5]。因其易感染性及临床症状复杂多样化, 使临床诊断易出现误诊及漏诊^[6]。本文旨在通过回顾性对比分析我院收治的 749 例疑似 EBV 患者实验室检查结果, 探讨 EBV 多抗体联合检测 EBV-DNA 定量分析及外周血白细胞检测的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 资料

选取我院 2017-06—2018-12 收治的门诊及住院部疑似 EBV 患者 749 例, 其中男 426 例, 女 323 例; 年龄为 1 个月~89 岁。所有患者均同时做 EBV 早期抗原 IgG 抗体 (EA-IgG)、EBV 衣壳抗原 IgM (VCA-IgM)、EBV 衣壳抗原 IgG (VCA-IgG)、EBV 核抗原 IgG (NA-IgG) 联合检测, EBV-DNA 定量分析及血常规检测。

1.2 仪器与试剂

血常规检测应用 SYSMEX SP-5000 全自动血液分析仪及原装试剂; EBV-DNA 检测用 AB Applied Biosystems-7500 实时荧光定量 PCR 仪, 试

剂购自中山大学达安基因股份有限公司; EBV 抗体检测应用索灵牌全自动化学发光免疫分析仪及原装试剂。

1.3 方法

1.3.1 标本要求及检测方法 抗体检测标本为血清, EBV-DNA 及血常规检测均为 EDTA 抗凝血, 所有检测都严格按照试剂说明书进行。

1.3.2 标本分组 将标本分成 5 组进行比较分析: 495 例 EBV-DNA 含量 $< 5 \times 10^2$ IU/ml 的血清标本为 A 组; 57 例 EBV-DNA 含量 5×10^2 IU/ml $\sim 5 \times 10^3$ IU/ml 的血清标本为 B 组; 127 例 EBV-DNA 含量 5×10^3 IU/ml $\sim 5 \times 10^4$ IU/ml 的血清标本为 C 组; 48 例 EBV-DNA 含量 5×10^4 IU/ml $\sim 5.00 \times 10^5$ IU/ml 的血清标本为 D 组; 22 例 EBV-DNA 含量 $> 5 \times 10^5$ IU/ml 的血清标本为 E 组。

1.3.3 检测结果归纳分析 EA-IgG 正常值为 < 10 U/ml, 10 U/ml ~ 40 U/ml 为可疑; VCA-IgM 正常值为 < 20 U/ml, 20 U/ml ~ 40 U/ml 为可疑; VCA-IgG 正常值为 < 20 U/ml; NA-IgG 正常值为 < 5 U/ml, 5 U/ml ~ 20 U/ml 为可疑。EBV 抗体可疑结果均归纳为阳性, 根据抗体检测结果将 EBV 感染分成 4 个阶段^[7-8]: ①无感染: 所有抗体均为阴性; ②原发感染: EA-IgG 与 VCA-IgM 一项以上阳性、NA-IgG 阴性; ③既往感染: EA-IgG 与 VCA-IgM 阴性、VCA-IgG 与 NA-IgG 一项以上阳

性;④复发感染:EA-IgG 与 VCA-IgM 一项以上阳性、NA-IgG 阳性。

1.4 统计学处理

将实验数据输入 Excel 表中,采用 SPSS 18.0 软件进行统计学处理,阳性率的差异比较采用四表格进行 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EBV 抗体检测结果

可以分为 12 种模式,每一组中各模式比例又有所不同,在 A 组、B 组及 C 组中均以模式 7 最多,D 组中以模式 12 最多,E 组中以模式 5 最多,见表 1。

表 1 EBV 抗体检测结果模式分析

| 分类 | 无感染 | | | 原发感染初期 | | 原发感染急性期 | | 既往感染 | | | 复发感染 | |
|---------|-----|----|---|--------|----|---------|----|------|----|----|------|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| EA-IgG | - | - | - | + | + | - | - | - | + | - | - | + |
| VCA-IgM | - | + | + | - | + | - | - | - | - | + | + | + |
| VCA-IgG | - | - | + | + | + | + | + | - | + | - | + | + |
| NA-IgG | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + |
| 组别 | | | | | | | | | | | | |
| A 组 | 242 | 59 | 2 | 0 | 0 | 1 | 91 | 17 | 36 | 9 | 26 | 12 |
| B 组 | 4 | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 | 28 | 1 | 10 | 0 | 5 | 5 |
| C 组 | 1 | 1 | 0 | 0 | 12 | 2 | 55 | 0 | 24 | 0 | 13 | 19 |
| D 组 | 1 | 3 | 1 | 0 | 7 | 0 | 10 | 0 | 9 | 0 | 3 | 14 |
| E 组 | 0 | 3 | 1 | 0 | 8 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 | 4 | 2 |

注:-表示阴性;+表示阳性。

2.2 A 组检测结果比较分析

EA-IgG、VCA-IgM、VCA-IgG、NA-IgG 的阳性率分别为 9.70%、21.82%、33.94%、38.59%,VCA-IgG 和 NA-IgG 的检出率明显高于 EA-IgG 和 VCA-IgM;白细胞计数、淋巴细胞绝对值、中性粒细胞绝对值、单核细胞绝对值的阳性率分别为 21.01%、46.26%、15.76%、58.18%,淋巴细胞绝对值和单核细胞绝对值的阳性率明显高于白细胞计数和中性粒细胞绝对值的阳性率($P < 0.05$),见表 2。

2.3 B、C、D、E 组检测结果比较分析

VCA-IgM、白细胞计数、淋巴细胞绝对值及单核细胞绝对值的阳性率随着 EBV-DNA 含量的增

加而增大($P < 0.05$),见表 3。

表 2 A 组检测结果

| 检测项目 | 总数 | 阴性 | 阳性 | 阳性率/% |
|----------|-----|-----|-----|-------|
| EA-IgG | 495 | 447 | 48 | 9.70 |
| VCA-IgM | 495 | 387 | 108 | 21.82 |
| VCA-IgG | 495 | 327 | 168 | 33.94 |
| NA-IgG | 495 | 304 | 191 | 38.59 |
| 白细胞 | 495 | 391 | 104 | 21.01 |
| 淋巴细胞绝对值 | 495 | 266 | 229 | 46.26 |
| 中性粒细胞绝对值 | 495 | 417 | 78 | 15.76 |
| 单核细胞绝对值 | 495 | 207 | 288 | 58.18 |

表 3 B、C、D、E 组检测结果

| 组别 | EA-IgG | VCA-IgM | VCA-IgG | NA-IgG | 白细胞 | 淋巴细胞绝对值 | 中性粒细胞绝对值 | 单核细胞绝对值 |
|------------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| B 组(n=57) | 18(31.58) | 12(21.05) | 51(89.47) | 49(85.96) | 7(12.28) | 18(31.58) | 7(12.28) | 24(42.11) |
| C 组(n=127) | 55(43.31) | 45(35.43) | 125(98.43) | 111(87.4) | 34(26.77) | 53(41.73) | 20(15.75) | 77(60.63) |
| D 组(n=48) | 31(64.58) | 28(58.33) | 44(91.67) | 36(75.0) | 16(33.33) | 27(56.25) | 4(8.33) | 32(66.67) |
| E 组(n=22) | 13(59.09) | 18(81.82) | 19(86.36) | 10(45.45) | 12(54.55) | 18(81.82) | 2(9.09) | 16(72.73) |

3 讨论

EBV 又称人类疱疹病毒 4 型,基本结构为核样物、衣壳和囊膜 3 部分,为双链 DNA 病毒^[9]。EBV 感染宿主的方式常见 2 种形式:细胞溶解性感染和潜伏性感染^[10]。细胞溶解性感染患者因

EBV 以线性分子形式插入宿主细胞 DNA,在细胞内大量复制后导致宿主细胞裂解并释放病毒,呈现一系列如发热、咽痛等临床症状。潜伏性感染患者 EBV 游离于宿主细胞 DNA 外,在 B 细胞中未发生复制,随细胞分裂持续存在于细胞中,逃避机体免

疫监视,形成长期潜伏感染^[11]。在机体免疫功能受损时,病毒基因被激活,EBV 大量复制,损伤机体免疫系统和上皮组织,导致造血系统疾病,肿瘤等。

患者感染 EBV 之后,B 细胞参与免疫应答产生抗体,特定时间可出现特定抗体,感染初期可在患者血清中检测出衣壳蛋白抗体(VCA-IgM),维持 2~3 个月后消失;几乎同时出现的 VCA-IgG 在感染 2~4 个月达峰值后逐渐下降,可终生存在于体内^[12];大部分患者感染早期短时间内可出现 EA-IgG,在感染数周或数月后 B 细胞产生核壳抗体(NA-IgG)并持续终生。本文根据抗体被检测出时间不同的特点将 EBV 感染分成无感染、原发感染、既往感染、复发感染 4 个阶段。

因荧光定量 PCR 法的特异性及敏感性,目前实验室常用来检测外周血 EBV-DNA 含量^[13],本文根据 EBV-DNA 含量不同将标本分成 5 组进行比较分析。本研究统计表 1 显示,在既往感染和复发感染时很大可能检出 EBV-DNA 阳性(B、C、D、E 组),而在原发感染期,尤其在感染初期时 EBV-DNA 可能为阴性(A 组),单独检测 EBV-DNA 可出现漏检。此情况可能因为本院实验室 PCR 检测 EBV-DNA 标本为血浆,在病毒感染初期,B 细胞内病毒未释放或者只有少量释放至血浆,致使 EBV 含量未达到检测系统灵敏度 5×10^2 IU/ml 而造成漏检。

人体口咽上皮细胞和 B 淋巴细胞为 EBV 的主要宿主细胞,EBV 与上皮细胞表面受体直接融合而进入细胞内^[14]。EBV 通过病毒膜表面高度糖基化包膜糖蛋白与 B 细胞表面受体结合,从而感染 B 淋巴细胞。同时诱导 T 淋巴细胞及 NK 细胞发生免疫反应,释放大量细胞因子,刺激淋巴细胞发生细胞毒作用,导致机体外周血淋巴细胞、异型淋巴细胞升高^[15-16]。本研究结果显示,淋巴细胞和单核细胞阳性率明显高于白细胞计数和中性粒细胞阳性率,与目前报道研究相似。VCA-IgM、白细胞计数、淋巴细胞绝对值及单核细胞绝对值的检出率与 EBV-DNA 含量呈正相关。

综上所述,联合检测 EBV 抗体,EBV-DNA 及血常规可有效避免漏检及误诊,对提高临床诊断、治疗及愈后评估具有重大应用价值。

参考文献

[1] 马闪珊,邵丽佳,孙冬梅,等. EB 病毒抗体检测对诊断儿童传染性单核细胞增多症的临床价值[J]. 中国卫生检验杂志,2017,27(8):1131-1132.
[2] 许大兵,孙余婕,沈佐君,等. 某三甲医院 EB 病毒感染的临床回顾性分析[J]. 中华疾病控制杂志,2018,

22(2):191-194.
[3] 潘婷,周培培,颜学兵,等. EB 病毒感染者 162 例临床分析[J]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2018,12(4):348-353.
[4] 张丽中,王瑞雪,周永年,等. 山西地区 EB 病毒感染状况分析[J]. 中国药物与临床,2018,18(11):1882-1884.
[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临床意义[J]. 中国医药导报,2019,16(8):72-75.
[6] 黎荣艳,魏鲜,段贞,等. EB 病毒多抗体联合检测在儿童 EB 病毒感染诊断中的应用研究[J]. 中华医院感染学杂志,2018,28(13):2030-2032.
[7] 胡荣盛,徐亚丽,俞晓春,等. 血浆 EB 病毒 DNA 载量检测在儿童 EB 病毒感染中的应用价值[J]. 中华医院感染学杂志,2014,24(11):2855-2857.
[8] Smatti MK, Al-Sadeq DW, Ali NH, et al. Epstein-Barr virus epidemiology, serology, and genetic variability of LMP-1 oncogene among healthy population: An update[J]. Front Oncol, 2018, 8:211.
[9] 蔡勉珊,方炳雄,黄丽旋,等. 儿童外周血单个核细胞 EB 病毒 DNA 载量检测在病情评估中的临床意义[J]. 中国医药科学,2018,8(14):7-11.
[10] 赵倩,雷延龄,张森,等. 儿童感染非典型 EB 病毒流行特征调查[J]. 中国病原生物学杂志,2019,14,(8):943-966.
[11] 刘璐瑶,孙金岭,王晓川,等. EB 病毒感染的免疫机制研究进展[J]. 中国循证儿科杂志,2017,6(12):219-232.
[12] Mansouri S, Pan Q, Blencowe BJ, et al. Epstein-Barr virus EBNA1 protein regulates viral latency through effects on let-7 micro RNA and dicer[J]. J Virol, 2014, 88:11166-11177.
[13] Ito Y, Suzuki M, Kawada J, et al. Diagnostic values for the viral load in peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic active Epstein-Barr virus disease[J]. J Infect Chemother, 2016, 22:268-271.
[14] Weiss ER, Alter G, Ogembo JG, et al. High Epstein-Barr Virus Load and Genomic Diversity Are Associated with Generation of gp350-Specific Neutralizing Antibodies following Acute Infectious Mononucleosis[J]. J Virol, 2016, 91:e01562-16.
[15] 张彦青,张小芳,董志玲,等. EB 病毒感染儿童 195 例实验室检查分析[J]. 山西医药杂志,2018,47(10):1138-1141.
[16] 林应标,李琦,陈虹亮,等. 患儿呼吸道感染 EB 病毒外周血淋巴细胞及异型淋巴细胞比值变化的临床研究[J]. 中华医院感染学杂志,2017,27(3):667-670.

(收稿日期:2019-09-29)