

住院儿童 EB 病毒感染临床分析

张 胜^{1,2}, 高 辉¹, 王 杨¹, 彭传梅¹, 陈婉婷¹, 郭紫轩¹, 卫 波¹

[摘要] **目的:**了解云南省昆明市住院患儿 EB 病毒(EBV)感染状况及相关疾病谱临床流行分布特征。**方法:**回顾性统计分析疑似 EBV 感染住院患儿经 PCR 荧光法检测全血中 EBV 核酸阳性病例的临床资料。**结果:**共送检住院患儿血样本 547 例, EBV 核酸检测阳性例数 97 例, 检出率 17.73%, 其中男 56 例(57.73%), 女 41 例(42.27%); 平均年龄(4.60 ± 2.84)岁, 学龄前儿童(0~6 岁)76 例, 占检出人数的 78.35%。儿童 EBV 感染临床症状多样, 常以发热、咳嗽、淋巴结肿大等上呼吸道感染症状首诊, 多以 EB 病毒感染、肺炎、支气管炎、传染性单核细胞增多症、咽炎等临床表现为主, 可伴有肝-脾等肿大、皮疹、肝脏和心肌损害等并发症; 同时检出合并其他病原体感染 71 例次, 其中肺炎支原体 19 例(19.59%), 伤寒或副伤寒杆菌 18 例(18.56%), 乙型脑炎病毒 17 例(17.53%), 副流感病毒 8 例(8.25%), 肠道病毒 2 例(2.06%), 其他病毒共 7 例(7.22%), 合并感染患儿 47 例(42.27%); 且各季节时段的检出率差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论:**EBV 感染是昆明地区住院患儿呼吸道感染的重要病原体之一, 各季节时段均可发病, 常呈现与其他病原体混合感染。

[关键词] EB 病毒; DNA 检测; 流行病学; 儿童

[中图分类号] R 725.6

[文献标志码] A

DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2017.11.007

Clinical analysis of the Epstein-Barr virus infection in hospitalized children

ZHANG Sheng^{1,2}, GAO Hui¹, WANG Yang¹, PENG Chuan-mei¹, CHEN Wan-ting¹, GUO Zi-xuan¹, WEI Bo¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Yan'an Hospital Affiliated to Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650051;

2. Clinical Test Center, The First Hospital Affiliated to Soochow University, Suzhou Jiangsu 215006, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the Epstein-Barr virus (EBV) infection condition in hospitalized children from Kunming city of Yunnan province, and related clinical popular distribution characteristics of disease spectrum. **Methods:** The clinical data of children suspected with EBV infection, the EBV nucleic acid positive cases identified using PCR fluorescence method, were retrospectively analyzed. **Results:** Among 547 blood samples, 97 cases with positive EBV nucleic acid were detected, the detection rate of which was 17.73%, which included 56 males (57.73%) and 41 females (42.27%). The mean age of all cases was (4.60 ± 2.84) years, and the pre-school children (0 to 6 years old) in 76 cases (78.35%) were found. The clinical symptoms of children infected with EBV was various. The upper respiratory tract infection symptoms (including fever, cough and lymph node enlargement) were the first symptoms of the EBV infection, and the pneumonia, bronchitis, infectious mononucleosis and pharyngitis were the clinical manifestations, which was accompanied by liver and spleen enlargement, rash, liver and heart muscle function damage. The combined pathogen infection in 71 cases were identified, which included mycoplasma pneumoniae infection in 19 cases (19.59%), typhoid and paratyphoid infection in 18 cases (18.56%), Japanese encephalitis virus infection in 17 cases (17.53%), parainfluenza infection in 8 cases (8.25%), intestinal virus infection in 2 cases (2.06%), other viruses in 7 cases (7.22%) and co-infection in 47 cases (42.27%). The difference of the detection rate in different seasons was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusions:** EBV infection is one of the most important pathogen of respiratory tract infection in hospitalized children in Kunming region, the disease can occur in each season, and the mixture infection with other pathogen is common.

[Key words] Epstein-Barr virus; DNA detection; epidemiology; child

[收稿日期] 2016-07-26

[基金项目] 云南省应用基础研究基金资助项目(2014FB080); 云南省科技厅-昆明医科大学联合专项基金资助项目(2015FB086; 2015FB089); 昆明医科大学研究生创新基金资助项目(2016S43)

[作者单位] 1. 昆明医科大学附属延安医院 检验科, 云南昆明 650051; 2. 苏州大学附属第一医院 临床检测中心, 江苏苏州 215006

[作者简介] 张 胜(1990-), 男, 硕士研究生。

[通信作者] 高 辉, 硕士研究生导师, 主任医师, 教授。E-mail: wdgaohui@sina.com

EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 为人类疱疹病毒 IV 型, 类似其他疱疹病毒科的病毒, EBV 感染包括增殖性感染 (或称活动性感染) 和潜伏感染两种状态, EBV 感染人淋巴细胞和上皮细胞, 初次感染后病毒可长期在人上呼吸道上皮细胞或淋巴组织中潜伏, 潜伏感染和终生携带是 EBV 感染的重要特征^[1]。近些年, EBV 感染相关疾病谱不断引起临床的高度重视, 现将本地区住院儿童 EBV 感染情况作一回顾性分析。

1 资料与方法

1.1 研究对象 收集2014年12月至2016年2月云南省昆明医科大学附属延安医院因有发热、咳嗽等上呼吸道感染临床症状而常规抗感染治疗不佳疑似EBV感染的住院患儿547例。年龄 ≤ 18 岁,其中婴儿组 ≤ 1 岁,幼儿组1~3岁,学龄前组 $> 3 \sim 6$ 岁,学龄少年组 $> 6 \sim 18$ 岁,均为汉族且无先天性心脏病等先天遗传性基础疾病。

1.2 仪器与试剂 荧光定量基因扩增仪(型号:Stepone;美国ABI),全自动核酸提取仪(型号:NP968-C;西安天隆科技有限公司),台式高速离心机(型号:TG16-WS;湖南湘仪仪器厂),干式恒温器(型号:K30;杭州奥盛厂)等;EB病毒核酸定量检测试剂盒(艾康生物技术有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本的采集及保存 抽取受检者EDTA-K₂抗凝静脉全血3~5 mL,立即轻轻颠倒充分混匀后立即送检或48 h内2~8℃保存;避免反复冻融。

1.3.2 核酸提取 根据试剂盒的操作说明,吸取500 μ L抗凝血到1.5 mL离心管;加入1 000 μ L的1 \times 红细胞裂解液颠倒混匀后室温静置5 min;室温下离心,5 000 r/min离心5 min,弃上清液,保留沉淀;重复裂解步骤1次后向沉淀中加入50 μ L核酸提取液,混匀后2 000 r/min离心10 s,100℃加热10 min,12 000 r/min离心10 min,留取上清液供PCR扩增用。

1.3.3 PCR扩增及荧光检测 取待测样本DNA 4 μ L加入反应液管(EB反应混合液35.6 μ L和Taq酶0.4 μ L),设质控品同步处理,反应总体积为40 μ L,低速离心数秒后按一定顺序放入PCR仪上,扩增程序:95℃,3 min,1个循环;94℃,15 s;60℃,30 s;40个循环。

1.3.4 结果判断 阈值设定以阈值线刚超过阴性对照增长曲线的最高点(Ct值无数值)为主。检测样本中 5×10^2 copies/mL \leq EB DNA $\leq 1.0 \times 10^8$ copies/mL,增长呈S型曲线,结果有效可以报告;若EB DNA $> 1.0 \times 10^8$ copies/mL时做适当稀释使其落入有效范围内。质控标准为阴性对照;增长曲线不呈S型曲线或Ct值无数值;阳性对照:增长曲线呈S型曲线,其检测结果的Ct(值) ≤ 20 (强阳性)或 $20 < Ct(值) \leq 38$ (弱阳性)。

1.4 统计学方法 采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 一般临床资料 共送检住院患儿血样本547例,阳性例数97例,整体检出率17.73%。其中男56例(57.73%),女41例(42.27%);年龄0~18岁,平均年龄(4.60 \pm 2.84)岁;婴儿组10例(10.31%),幼儿组33例(34.02%),学龄前组33例(34.02%),学龄少年组21例(21.65%),整个学龄前儿童(0~6岁)76例,占总检出人数的78.35%。

2.2 患儿EBV感染相关疾病谱分析 在97例实验室EBV检出的住院患儿中,各病例相关临床疾病表现见表1。

表1 EBV检出相关临床疾病分布

疾病种类	n	构成比/%
EBV感染	73	35.78
支气管肺炎	36	17.65
心肌炎	22	10.78
急性支气管肺炎	18	8.82
肺炎	14	6.86
咽炎	13	6.37
其他	13	6.37
伤寒	8	3.92
传染性单核细胞增多症	7	3.43

2.3 EBV感染流行季节分布特点 2014年12月至2016年2月期间,各时节的感染率差异均无统计学意义($P > 0.05$)(见表2)。

表2 各季节时段的感染情况

时节	n	阳性数	检出率/%
冬季1	76	22	28.95
春季	102	16	15.69
夏季	112	21	18.75
秋季	129	19	14.73
冬季2	128	19	14.84
χ^2	—	—	8.46
P	—	—	> 0.05

注:冬季1为2014年12月1日至2015年2月28日;冬季2为2015年12月至2016年2月29日

2.4 EBV感染患儿其他病原体检出情况 97例实验室EBV检出的住院患儿中检出肺炎支原体19例(19.59%),伤寒或副伤寒杆菌18例(18.56%),乙型脑炎病毒17例(17.53%),副流感病毒8例(8.25%),肠道病毒2例(2.06%),轮状病毒1例

(1.03%), 立克次体 1 例(1.03%), 军团菌 1 例(1.03%), 腺病毒 1 例(1.03%), 乙型肝炎病毒 2 例(2.06%), 戊型肝炎病毒 1 例(1.03%), 合并感染患儿 47 例(42.27%), 其中合并 2 种以上病原体患儿 18 例(18.56%), 以肺炎支原体合并伤寒或副伤寒与肺炎支原体合并乙型脑炎病毒为主, 分别为 14 例(14.43%) 和 11 例(11.34%)。

3 讨论

EBV 是疱疹病毒科 γ 亚科中唯一能引起人类感染的淋巴滤泡病毒, 是人类的一种特异性嗜淋巴细胞性疱疹病毒, 主要侵犯两种靶细胞, 即 B 淋巴细胞和表皮细胞, 且要求病毒糖蛋白和细胞蛋白的参与, 除了引起传染性单核细胞增多症外, 鼻咽癌、儿童 Burkitt 淋巴瘤亦与之关系密切, 还可引起噬血细胞综合征、慢性活动性 EBV 感染、川崎病、重症肺炎、坏死性淋巴结炎等, 该类疾病病情复杂、进展快、病情重, 延误诊治病死率高^[2-4]。EBV 在人群中具有广泛的感染率, 其中原发感染多发生于儿童时期且多为隐性感染, 近 50% 原发感染发生在 1~5 岁且常无特异性疾病, 是学龄前儿童感染性疾病比较常见的病原体, 且 EBV 感染存在年龄及地域差异, 人类感染 EBV 后可终生潜伏, 90% 以上的成人可检测出抗-EBV 阳性, 主要通过人类唾液传播, 也可经输血等途径传染^[2,5]。

儿童感染 EBV 后可导致呼吸道感染、传染性单核细胞增多症、颈部淋巴结炎及 EBV 相关性嗜血细胞综合征, 也可有其他系统受累, 包括呼吸系统、泌尿系统、血液系统、神经系统及网状内皮系统, 且致病机制不明^[6]。EBV 感染在临床上较为多见, 本研究显示, 共送检住院患儿血样本 547 例, 阳性例数 97 例, 整体检出率 17.73%, 其中男 56 例(57.73%), 女 41 例(42.27%); 平均年龄(4.60 ± 2.84) 岁, 整个学龄前儿童(0~6 岁) 76 例, 占整个检出率的 78.35%。临床症状复杂多样, 常以发热、咳嗽、淋巴结肿大等上呼吸道感染症状首诊, 多以 EBV 感染、肺炎、支气管炎、传染性单核细胞增多症、咽炎等临床表现为主, 可伴有肝、脾等肿大, 皮疹, 肝脏和心肌功能损害等并发症; 同时检出肺炎支原体 19 例(19.59%), 伤寒或副伤寒杆菌 18 例(18.56%), 乙型脑炎病毒 17 例(17.53%), 副流感病毒 8 例(8.25%), 肠道病毒 2 例(2.06%), 其他病毒共 7 例(7.22%), 合并感染患儿 47 例(42.27%)。值得注意的是肺炎支原体, 亦是儿童呼吸道感染最常见

的病原之一, 近年来, 两种病原微生物的感染率有逐渐增加的趋势, 并常表现为混合性感染, 已受到临床医生越来越多的关注。肺炎支原体和 EBV 混合感染后肺炎的临床表现复杂多样, 较单纯肺炎支原体感染及单纯 EBV 感染肺炎引起的肺内及肺外损伤重, 并易导致诊断困难和漏诊, 临床上实验室检查成为混合感染诊断及鉴别诊断的主要手段^[7]。

年龄及地理地区有关儿童防御能力低下是 EBV 感染的重要原因, EBV 感染者年龄以婴幼儿和学龄前儿童较为多见, 集中于 7 岁以下^[8]。本次检出的阳性例数 97 例中整个学龄前儿童(0~6 岁) 76 例, 占 78.35%。各季节时段的检出率差异无统计学意义, 和相关报道^[6,9] 有所差异, 有可能和云南昆明地区自身独特环境、地域、时节差异性以及入选研究人群不同有关。

当前 EBV 的实验室检查主要集中在 EBV-DNA 载量的分子生物学和 EBV 相关抗体的血清学 2 个方面, 而且不同的检验项目和标本具有不同的临床意义和适用范围; 另外对 EBV 感染者的细胞免疫功能、恶性 EBV 感染性疾病易感基因检测以及 EBV 基因分型等新的手段也具有很好的临床应用前景^[1,10-11]。EBV 核酸载量检测可以帮助临床医生判断病人是否为活动性 EBV 感染和进行抗病毒疗效监测, 实时荧光定量 PCR 是目前最有价值的检测 EBV 核酸载量的方法, 且血浆/血清中 EBV-DNA 拷贝数水平与病情严重程度和预后有关^[7]。

儿童上呼吸道感染病原体分布主要是病毒, 少数为细菌或肺炎支原体, 有多种诱发因素, 如免疫功能不全或低下、营养状况不佳、居住环境潮湿闷热或者是天气突然变化及空气污染等环境因素影响, 常表现为发热、咳嗽、咽痛、头痛、鼻塞、流涕、食欲减退等, 有时也伴随急性腹泻等消化系统症状。

人通过接触口腔分泌物而感染 EBV, 病毒在口咽部细胞内复制, 几乎所有的血清学阳性病人唾液中均含有病毒。感染是导致恶性疾病进展的重要的主导因素, 血液病人由于细胞免疫功能的减低或缺失, 在预防病毒感染时更显得尤为重要。EBV 是第一个被证明可能导致人类癌症的病毒, 它会导致东南亚地区最常见肿瘤之一即鼻咽癌和淋巴瘤的发生, 噬血细胞性淋巴细胞组织增多症的发病也和 EBV 的感染有关, 而白血病及淋巴组织增殖性疾病的发病与 EBV 感染无关^[12-15]。另外目前已经证明 EBV 感染可致机体免疫紊乱, 并与自身免疫性疾病

- Chin J Cancer Res, 2012, 24(4):257.
- [6] TAKEBE N, WARREN RQ, IVY SP. Breast cancer growth and metastasis: interplay between cancer stem cells, embryonic signaling pathways and epithelial-to-mesenchymal transition[J]. Breast Cancer Res, 2011, 13(3):211.
- [7] HAQUE I, DE A, MAJUMDER M, *et al.* The matricellular protein CCN1/Cyr61 is a critical regulator of sonic hedgehog in pancreatic carcinogenesis [J]. J Biol Chem, 2012, 287(46):38569.
- [8] EIKHATIB M, KALNGTSKA A, PALAGANI V, *et al.* Inhibition of hedgehog signaling attenuates carcinogenesis *in vitro* and increases necrosis of cholangiocellular carcinoma [J]. Hepatology, 2013, 57(3):1035.
- [9] WIK E, RDER MB, KRAKSTAD C, *et al.* Lack of estrogen receptor- α is associated with epithelial-mesenchymal transition and PI3K alterations in endometrial carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(5):1094.
- [10] SHI M, CUI J, XIE K. Signaling of miRNAs-FOXMI in cancer and potential targeted therapy [J]. Curr Drug Targets, 2013, 14(10):1192.
- [11] YOO YA, KANG MH, LEE HJ, *et al.* Sonic hedgehog pathway promotes metastasis and lymphangiogenesis via activation of Akt, EMT, and MMP-9 pathway in gastric cancer [J]. Cancer Res, 2011, 71:7061.
- [12] CHIANG C, LITINGTUNG Y, LEE E, *et al.* Cyclopia and defective axial patterning in mice lacking sonic hedgehog gene function [J]. Nature, 1996, 383(6599):407.
- [13] 孙波, 张蕾, 李颖霞, 等. Smo 和 Gli1 蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的表达及临床意义 [J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(5):483.
- [14] OHTA M, TATEISHI K, KANAI F, *et al.* p53-Independent negative regulation of p21/cyclin-dependent kinase-interacting protein 1 by the Sonic hedgehog-glioma-associated oncogene 1 pathway in gastric carcinoma cells [J]. Cancer Res, 2005, 65(23):108229.
- [15] YANAI K, NAGAI S, WADA J, *et al.* Hedgehog signaling pathway is a possible therapeutic target for gastric cancer [J]. J Surg Oncol, 2007, 95(1):55.
- [16] YAN R, PENG X, YUAN X, *et al.* Suppression of growth and migration by blocking the Hedgehog signaling pathway in gastric cancer cells [J]. Cell Oncol (Dordr), 2015, 36(5):421.

(本文编辑 刘璐)

(上接第 1455 页)

相关, 99% 的系统性红斑狼疮病人 EBV 抗体阳性, 另外几乎所有多发性硬化症病人 EBV 血清学检测都显示阳性, 提示 EBV 感染可能是多发性硬化病程发展的先决条件, 而类风湿关节炎病人的 EBV 载量比正常人高 10 倍^[6]。

总而言之, EBV 的感染在儿童的感染性疾病中占有一定致病比例, 而且临床症状复杂多变, 缺乏特异性, 需要提高对 EBV 感染及相关疾病谱的高度重视。

[参 考 文 献]

- [1] 马展, 张泓. 儿童 EB 病毒感染的实验室诊断 [J]. 中华检验杂志, 2015, 38(4):223.
- [2] 唐云章, 张银美. 儿童 EB 病毒感染相关重症疾病的临床分析 [J]. 重庆医学, 2015, 44(3):387.
- [3] CHESNOKOVA LS, HUTT-FLETCHER LM. Epstein-Barr virus infection mechanisms [J]. Chin J Cancer, 2014, 33(11):545.
- [4] TSAO SW, TSANG CM, PANG PS, *et al.* The biology of EBV infection in human epithelial cells [J]. Semin Cancer Biol, 2012, 22(2):137.
- [5] 熊首先, 王险峰, 刘志超, 等. 某医院 887 例就诊患儿 EB 病毒感染状况分析 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2015, 9(2):236.
- [6] 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.
- [7] 黄莉, 张新星, 顾文婧, 等. 肺炎支原体与 EB 病毒混合感染后肺炎的临床及实验室特征 [J]. 临床儿科杂志, 2015, 33(8):690.
- [8] 林涛, 陈翊, 连广璇, 等. 广州地区儿童患者 EB 病毒感染分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(15):2033.
- [9] 窦蕾, 张斌, 贾娜尔, 等. 乌鲁木齐地区住院呼吸道感染患儿 EB 病毒感染的调查 [J]. 临床儿科杂志, 2012, 30(8):757.
- [10] GERMI R, LUPO J, SEMENOVA T, *et al.* Comparison of commercial extraction systems and PCR assays for quantification of Epstein-Barr virus DNA load in whole blood [J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(4):1384.
- [11] DE PASCHALE M, CLERICI P. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: problems and solutions [J]. World J Virol, 2012, 1(1):31.
- [12] HAMMERSCHMIDT W, SUGDEN B. Replication of Epstein-Barr viral DNA [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2013, 5(1):a013029.
- [13] OH JK, WEIDERPASS E. Infection and cancer: global distribution and burden of diseases [J]. Ann Glob Health, 2014, 80(5):384.
- [14] RICKINSON AB. Co-infections, inflammation and oncogenesis: future directions for EBV research [J]. Semin Cancer Biol, 2014, 26:99.
- [15] 张慧, 张金业, 王健, 等. 158 例血液病患者外周血 EB 病毒 DNA 检测结果分析 [J]. 检验医学与临床, 2013, 10(14):1842.

(本文编辑 刘璐)