

• 论 著 •

急性下呼吸道人博卡病毒感染患儿血清特异性抗体表达水平研究*

张允奇¹, 王 琼², 张银辉², 陆学东², 何涛君²

(1. 广东医学院附属深圳市福田区福田医院香蜜湖分院检验科, 广东深圳 518033;

2. 广东医学院附属深圳市福田区福田医院检验医学部, 广东深圳 518033)

摘要:目的 探讨急性下呼吸道人博卡病毒(HBoV)感染患儿检测血清特异性抗体表达水平的临床价值。方法 选取 2011 年 3 月至 2014 年 7 月该院收治的 904 例急性下呼吸道感染患儿作为研究对象,以血清、痰液(咽拭子)、肺泡灌洗液 HBoV DNA 阳性作为确诊急性下呼吸道 HBoV 感染的金标准,将血清 HBoV 抗体阳性急性下呼吸道 HBoV 感染患儿定义为观察组,将血清 HBoV 抗体阴性急性下呼吸道 HBoV 感染患儿定义为对照组,分析血清 HBoV 抗体与急性下呼吸道 HBoV 感染患儿临床特征的相关性。**结果** 血清 HBoV 抗体诊断急性下呼吸道 HBoV 感染的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、诊断准确度分别为 60.32%、90.25%、31.67%、96.81%、88.16%。在一般资料方面,观察组与对照组之间性别、年龄、住院时间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。在临床表现方面,观察组与对照组之间咳嗽、鼻塞与流涕、发热、呕吐与腹泻、气促、呼吸困难发生率比较差异无统计学意义($P>0.05$),观察组喘息发生率明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组与对照组之间临床诊断比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 血清 HBoV 抗体有利于急性下呼吸道 HBoV 感染的排除诊断,且血清 HBoV 抗体阳性与急性下呼吸道 HBoV 感染患儿喘息症状有一定的关系。

关键词:急性下呼吸道感染; 人博卡病毒; 特异性抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.009

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)12-1660-03

Study of expression level of acute lower respiratory tract Boka virus infected children with serum specific antibody*

Zhang Yunqi¹, Wang Qiong², Zhang Yinwei², Lu Xuedong², He Taojun²

(1. Department of Clinical Laboratory, Futian Hospital Xiangmi Lake Branch Affiliated to Guangdong Medical College,

Shenzhen, Guangdong 518033, China; 2. Department of Medical Laboratory, Shenzhen Futian Hospital

Affiliated to Guangdong Medical College, Shenzhen, Guangdong 518033, China)

Abstract: Objective To discuss the clinical value of the expression level of acute lower respiratory tract Boka virus (HBoV) infected children whose detection serum specific antibody. **Methods** 904 cases of children with acute lower respiratory tract Boka virus infection hospitalized from March 2011 to July 2014 who were selected as study objects, serum, sputum, bronchoalveolar lavage fluid HBoV DNA positive were as the gold standard for diagnosis of acute lower respiratory tract infection in HBoV, the positive serum HBoV antibody of HBoV in children with acute lower respiratory tract infection was defined as the observation group, serum HBoV antibody negative acute lower respiratory tract infection in children with HBoV was defined as the control group, the correlation between serum HBoV antibody and acute lower respiratory tract HBoV infection children whose clinical characteristics were analyzed. **Results** Serum HBoV antibody in the diagnosis of acute lower respiratory tract infection of HBoV whose sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value, accuracy of diagnosis were separately 60.32%, 90.25%, 31.67%, 96.81%, 88.16%. In the general data, between the observation group and the control group in gender, age, hospitalization time, there were no significant differences ($P>0.05$). In the clinical manifestations, nasal congestion and runny nose, cough, fever, vomiting and diarrhea, shortness of breath, breathing difficulties whose occur rates had no significant differences between the observation group and the control group ($P>0.05$), the incidence of wheezing of the observation group was significantly higher than that of the control group, the difference had statistical significance ($P<0.05$). The comparison of clinical diagnosis between the observation group and the control group had no significant difference ($P>0.05$). **Conclusion** Serum HBoV antibody is in favor of acute lower respiratory tract infection of HBoV in the diagnosis of exclusion, and the serum HBoV antibody positive and acute lower respiratory tract infection of HBoV have a certain relationship in children with wheezing symptoms.

Key words: acute lower respiratory; Boka virus; specific antibody

人博卡病毒(HBoV)是近 10 年来发现的一种新型病毒,它有 4 种基因型,包括 HBoV1、HBoV2、HBoV3、HBoV4 等,其中引起呼吸道感染的主要为 HBoV1,而其他 3 种基因型多

见于粪便中^[1-2]。临床观察表明,HBoV 感染可以导致患儿出现一系列急性呼吸道感染的临床症状及体征,并且在患儿血清中出现特异性抗体,有关血清特异性抗体的研究成为当前

* 基金项目:2013 年深圳市医疗卫生类科技计划项目(201303158);2013 年福田区卫生公益科研项目(FTWS 201310)。 作者简介:张允奇,女,主管技师,主要从事临床检验、风湿免疫检验研究。

HBoV 研究的方向之一^[3]。本研究旨在探讨急性下呼吸道 HBoV 感染患儿检测血清特异性抗体表达水平的临床价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 3 月至 2014 年 7 月本院收治的 904 例患者作为研究对象。纳入标准:(1)符合急性下呼吸道感染的诊断标准^[4];(2)年龄小于或等于 14 岁。排除标准:(1)合并自身免疫性疾病的患儿;(2)合并体液免疫缺陷的患儿;(3)就诊本院前已接受治疗的患儿。根据血清、痰液(咽拭子)、肺泡灌洗液 HBoV DNA 检查结果将上述研究对象分为病例组与非病例组,病例组患儿 63 例,男性 37 例、女性 26 例,年龄 3 个月至 12.7 岁、平均(2.5±3.1)岁;非病例组患儿 841 例,男性 501 例、女性 342 例,年龄 1 个月至 13.5 岁,平均(2.7±3.3)岁。病例组与非病例组患儿性别、年龄等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 血清 HBoV 抗体诊断急性下呼吸道 HBoV 感染的临床价值分析 以血清、痰液(咽拭子)、肺泡灌洗液 HBoV DNA 阳性作为确诊急性下呼吸道 HBoV 感染的金标准,将 904 例急性下呼吸道感染患儿分为病例组与非病例组,同时应用 ELISA 方法检测所有研究对象的血清 HBoV 抗体。血清 HBoV 抗体诊断急性下呼吸道 HBoV 感染的灵敏度=病例组血清 HBoV 抗体阳性例数/病例组例数×100%;特异度=非病例组血清 HBoV 抗体阴性例数/非病例组例数×100%;阳性预测值=病例组血清 HBoV 抗体阳性例数/研究对象血清 HBoV 抗体阳性例数×100%;阴性预测值=非病例组血清 HBoV 抗体阴性例数/研究对象血清 HBoV 抗体阴性例数×100%;诊断准确度=(病例组血清 HBoV 抗体阳性例数+非病例组血清 HBoV 抗体阴性例数)/研究对象例数×100%。

1.2.2 实时荧光定量 PCR 法检测 HBoV DNA 提取 DNA:血清标本 50 μL+DNA 裂解液 50 μL→震荡混匀→4℃静置 5 min→12 000 r/min 离心 5 min→弃上清→95℃裂解 10 min→4℃静置 24 h→12 000 r/min 离心 5 min→取上清液检测。痰液(咽拭子)或肺泡灌洗液 200 μL+DNA 裂解液 200 μL→95℃裂解 10 min→12 000 r/min 离心 5 min→取上清液检测。PCR 反应:在 PCR 反应管中加入反应液 A17 μL、反应液 B3 μL,加入待测标本(阳性质控品、阴性质控品)5 μL,离心后加入实时荧光定量 PCR 自动循环仪。50℃2 min→95℃15 min→94℃15 s→55℃45 s,40 个循环。上述试剂均购自中山大学达安基因股份有限公司。结果判读:阳性判断标准为扩增曲线在 FAM 检测通道均有对数期,FAM 检测通道 Ct 值小于或等于 36。

1.2.3 ELISA 法检测血清 HBoV 抗体 采用 ELISA 法对所有研究对象血清 HBoV IgM、IgG 进行检测,其检测模式分别为捕获法、间接法,试剂盒购自上海沪宇生物科技有限公司,严格按照试剂盒说明书操作。阳性判断标准为双份血清 IgG 抗体滴度升高大于或等于 4 倍,或者 IgM 阳性。

1.2.4 血清 HBoV 抗体与急性下呼吸道 HBoV 感染患儿临床特征的相关性分析 根据血清 HBoV 抗体检测结果将 63 病例组患儿分为 38 例观察组与 25 例对照组,前者血清 HBoV 抗体阳性,后者血清 HBoV 抗体阴性,对比分析两组患儿的一般资料、临床表现、临床诊断等指标。

1.3 统计学处理 采用 SPSS15.0 统计软件,计量资料用 $\bar{x}±s$ 表示。组间计量资料比较采用成组设计 t 检验,组间计数资料百分率比较采用四格表 χ^2 检验或四格表校正 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 HBoV 抗体诊断急性下呼吸道 HBoV 感染的临床价值 血清 HBoV 抗体诊断急性下呼吸道 HBoV 感染的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、诊断准确度分别为 60.32%、90.25%、31.67%、96.81%、88.16%。见表 1。

表 1 血清 HBoV 抗体诊断急性下呼吸道 HBoV 感染的临床价值(n)

血清 HBoV 抗体	HBoV DNA		合计
	病例组	非病例组	
阳性	38	82	120
阴性	25	759	784
合计	63	841	904

2.2 观察组与对照组患者之间临床特征的比较 在一般资料方面,观察组与对照组之间性别、年龄、住院时间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。在临床表现方面,观察组与对照组之间咳嗽、鼻塞与流涕、发热、呕吐与腹泻、气促、呼吸困难发生率比较差异无统计学意义($P>0.05$),观察组喘息发生率显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2~4。

表 2 观察组与对照组患者之间一般资料的比较

组别	性别(n,男/女)	年龄($\bar{x}±s$,月)	住院时间($\bar{x}±s$,d)
观察组	23/15	13.5±4.2	7.3±2.9
对照组	17/8	14.7±4.9	7.0±2.5
$t(\chi^2)$	0.363 4	1.038 2	0.423 7
P	>0.05	>0.05	>0.05

表 3 观察组与对照组患者之间临床表现阳性率的比较[n(%)]

组别	咳嗽	鼻塞与流涕	发热	呕吐与腹泻	气促	呼吸困难	喘息
观察组	38(100.00)	15(39.47)	13(34.21)	10(26.32)	8(21.05)	2(5.26)	34(89.47)
对照组	25(100.00)	16(64.00)	14(56.00)	9(36.00)	3(12.00)	1(4.00)	11(44.00)
χ^2	—	3.629 3	2.923 4	0.671 4	0.344 4	0.140 1	9.314 1
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

—:无数据。

表 4 观察组与对照组患者之间临床诊断的比较[n(%)]

组别	支气管肺炎	大叶性肺炎	重症肺炎	急性上呼吸道感染	急性毛细支气管炎
观察组	31(81.58)	4(10.53)	2(5.26)	0(0.00)	1(2.63)
对照组	22(88.00)	2(8.00)	0(0.00)	1(4.00)	0(0.00)
χ^2	0.108 9	0.010 9	1.358 9	1.544 5	0.668 5
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

3 讨论

HBoV 由瑞典科学家于 2005 年首次发现,他结合生物学方法以及随机 PCR 扩增测序法对下呼吸道感染患儿呼吸道分泌物标本进行分析,从而发现这一细小病毒科细小病毒亚科病毒。目前研究认为 HBoV 是诱发儿童急性呼吸道感染尤其是急性下呼吸道感染的常见病原体之一,仅次于呼吸道合胞病毒、鼻病毒而居第 3 位。本研究中急性下呼吸道感染患儿 HBoV 阳性检出率为 6.97%,与国内其他地区报道大致相近^[5-6]。

目前临床上诊断 HBoV 急性下呼吸道感染的主要方法是应用 PCR 法检测 HBoV DNA,其标本类型可以采用血清、痰液(咽拭子)、肺泡灌洗液等。值得注意的是,这 3 种标本类型单独检测时均存在不足之处,如 HBoV 在患者体内可以持续代谢,并且常常合并其他感染,因此单凭血清或痰液(咽拭子)HBoV DNA 检测结果作为 HBoV 急性下呼吸道感染的诊断依据尚值得商榷^[7];肺泡灌洗液 HBoV DNA 又存在取材困难、患儿家庭经济负担沉重等问题。在此背景下,作为 HBoV 感染血清学依据的血清 HBoV 抗体是否可以弥补上述指标的不足尚值得研究^[8-9]。

在本研究中,研究者以血清、痰液(咽拭子)、肺泡灌洗液 HBoV DNA 阳性作为确诊急性下呼吸道感染 HBoV 感染的金标准,其具体操作是所有研究对象均接受血清以及痰液(咽拭子)HBoV DNA 检测,而对接受电子支气管镜下肺泡灌洗术的患儿再取肺泡灌洗液行 HBoV DNA 检测,上述 3 种标本类型只要有 1 种为阳性即将患儿定义为病例组,3 种标本类型全为阴性即将患儿定义为非病例组。本研究结果显示血清 HBoV 抗体诊断儿童急性下呼吸道感染 HBoV 感染的灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值、诊断准确度分别为 60.32%、90.25%、31.67%、96.81%、88.16%。由这个结果可知,血清 HBoV 抗体诊断儿童急性下呼吸道感染 HBoV 感染的灵敏度、阳性预测值较低,特异性与阴性预测值较高,这说明尽管血清 HBoV 抗体

难以确诊急性下呼吸道 HBoV 感染,但是它的排除诊断性能却不容忽视,因此在临床应用过程中,可以先对急性下呼吸道感染患儿进行血清 HBoV 抗体检测,阳性结果可以进行 HBoV DNA 检测确诊,而阴性结果则可以初步排除急性下呼吸道 HBoV 感染。

在进一步研究过程中,将血清 HBoV 抗体阳性病例组患者定义为观察组,将血清 HBoV 抗体阴性病例组患者定义为对照组,对两组患者的一般资料、临床表现、临床诊断进行对比分析,结果显示观察组喘息发生率明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。分析其原因,可能是由于血清 HBoV 抗体阳性提示患儿为 HBoV 高病毒载量感染、阴性则提示患儿为 HBoV 低病毒载量感染,而 HBoV 高病毒载量感染具有单独致病性,低病毒载量感染则更容易与其他病原体混合感染,因此导致两者在临床表现方面有一定的区别^[10],但是其具体机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] 付建光,蒋翠莲,秦园方,等. 2010~2011 年苏州地区腹泻婴幼儿感染人博卡病毒的分子特征研究[J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(12):1216-1218.
- [2] 许会卿,张新钢,朱利华. 下呼吸道感染住院患儿人博卡病毒感染的临床特征[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(3):585-587.
- [3] 李玲,王美娟,严永东,等. 血清特异性抗体检测在儿童急性下呼吸道感染人博卡病毒感染诊断中的应用[J]. 中华儿科杂志, 2014, 52(5):378-382.
- [4] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社, 2002:1171-1215.
- [5] 王琼,林广裕,曾凡胜,等. 广东地区急性呼吸道感染儿童人类博卡病毒的流行状况[J]. 中华传染病杂志, 2010, 28(2):89-93.
- [6] 陈倩,曹新,胡正,等. 南京地区急性呼吸道感染患儿人博卡病毒的检出与分析[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(5):437-442.
- [7] 黄弋,貌盼勇,王汉中. 人博卡病毒感染的流行病学和诊断研究[J]. 传染病信息, 2009, 22(1):58-61.
- [8] 赵智慧,薛鹏浩,魏建民,等. 人博卡病毒 VP2 蛋白单克隆抗体的制备[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2012, 26(1):63-65.
- [9] 蒿叶霞,高基民,金玉人,等. 博卡病毒 VP2 蛋白的原核表达及血清学检测方法的建立[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2012, 26(1):18-21.
- [10] 尹芳,周卫芳,王美娟,等. 人类博卡病毒载量与儿童呼吸道感染临床特征的相关性[J]. 中华传染病杂志, 2014, 32(6):343-348.

(收稿日期:2015-02-28)

(上接第 1659 页)

- [6] 钟海英,周贞学,王旭明,等. 132 株 MRSA 的临床分布情况和耐药性分析[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(6):1079-1082.
- [7] 王华,苏宝凤,苍金荣,等. 239 株金黄色葡萄球菌的分布及耐药性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(5):9-10.
- [8] 孙自镛,徐金莲,朱旭慧,等. 2005 年武汉同济医院细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2007, 7(4):238-243.
- [9] 朱德妹. 2005 年中国 CHINET 葡萄球菌属耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2007, 7(4):269-273.
- [10] Fiebelkorn KR, Crawford SA, McElmeel ML, et al. Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci

[J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(10):4740-4744.

- [11] Monecke S, Coombs G, Shore AC, et al. A field guide to pandemic, epidemic and sporadic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. PLoS One, 2011, 6(4):17936.
- [12] 莫晓能,李建国,唐英春,等. 主动外排系统在耐甲氧西林金黄色葡萄球菌多重耐药中的作用[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30(1):40-43.
- [13] 梁蓓蓓,王瑾,白楠,等. 利奈唑胺与万古霉素对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌抗生素后效效应的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2013, 29(1):31-33.

(收稿日期:2015-01-08)