

变性梅毒重组抗原免疫印迹技术的建立及其在鉴别梅毒血清学假阳性实验的应用

彭振亚, 张银辉, 陈安宁, 肖桂初, 靳 晶, 邹 钢, 陆学东 (中山大学附属第八医院, 广东深圳 518033)

摘要: **目的** 为了评估临床梅毒抗体筛查中出现假阳性实验结果的真实性, 建立了变性梅毒重组抗原免疫印迹技术, 并应用于对临床非高危人群梅毒抗体筛查阳性血清进行验证确认, 分析出现假阳性的可能性。**方法** 采用梅毒 TP47, TP45, TP17 和 TP15 重组抗原, 将变性后的抗原与非变性的抗原配对包被在硝酸纤维素膜载体上, 建立梅毒免疫印迹抗体谱检测方法。收集临床经电化学发光免疫分析仪及配套试剂检测的梅毒螺旋体抗体假阳性的非性病高危人群门诊和住院患者血清样本 56 例、临床确诊梅毒患者血清样本 25 例和健康体检人员样本 30 例进行方法学验证。并用该方法对 1 例特殊的“梅毒患者”进行了鉴别。**结果** 根据建立的变性与非变性抗原配对梅毒免疫印迹抗体谱检测结果判定模式, 56 例临床梅毒螺旋体抗体筛查假阳性样本, 对四种变性重组抗原均不发生反应, 无阳性条带。但是对二种以上非变性抗原发生弱阳性反应, 出现阳性条带; 25 例梅毒患者对照样本, 对四种非变性和变性重组抗原均有反应, 出现强阳性条带; 30 例健康体检人员样本, 对四种非变性和变性重组抗原均无反应。梅毒螺旋体特异性抗体阳性特殊“梅毒患者”血清样本, 对四种变性重组抗原均为阴性反应, 但对四种非变性重组抗原出现阳性反应。患者样本经血清免疫固定电泳分析, 结合临床资料诊断为 IgG λ 型单克隆免疫球蛋白血症。**结论** 变性梅毒重组抗原免疫印迹抗体谱检测, 可有效鉴别临床梅毒抗体假阳性样本。但是, 对于梅毒患者的确认一定要将检验结果结合患者的流行病学史、临床表现等进行诊断。

关键词: 梅毒; 梅毒螺旋体; 重组抗原; 免疫印迹技术; 生物学假阳性

中图分类号: R759.1; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2023) 02-150-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.02.028

Build of Immunoblotting Technique Using Denatured Recombinant Antigen of *T. pallidum* and Application to Identify False Positive Serum Test Results of Syphilis

PENG Zhen-ya, ZHANG Yin-hui, CHEN An-ning, XIAO Gui-chu, JIN Jing, ZOU Gang, LU Xue-dong

(the Eighth Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangdong Shenzhen 518033, China)

Abstract: Objective To evaluate the correctness of the false-positive results of the clinical syphilis serum screening test, the denatured recombinant antigen of *T. pallidum* (TP) immunoblotting technique was established and it was applied to verify the positive results of the treponemal antibody screening test in the clinical non-highrisk population and analyze the likelihood of false positives. **Methods** The recombinant antigens TP47, TP45, TP17 and TP15 of *T. pallidum* were used, and the denatured antigens and non-denatured antigens were paired and coated on nitrocellulose membrane (NC). The immunoblotting antibody spectrum detection method for syphilis was established. 56 cases of false positive samples for *T. pallidum* antibody detected by electrochemiluminescence immunoassay and supporting reagents from outpatient and inpatient patients with clinical non-sexually transmitted diseases, 25 samples of confirmed syphilis patients and 30 samples of healthy physical examinees were collected for methodological verification. A special case of syphilis was identified by this method. **Results** According to the established judgment model of the detection results of denatured and non-denatured antigens paired with western blot antibody spectrum of syphilis, 56 clinical samples of *T. pallidum* antibody screening were false positive, but none of the four denatured recombinant antigens had any reaction and no positive band. However, there were weak positive reactions to more than two non-denatured antigens, and positive bands appeared. The control samples of 25 syphilis patients all reacted to four non-denatured and denatured recombinant antigens of *T. pallidum* and showed strong positive bands. The samples of 30 health check-ups showed no reaction to four non-denatured and denatured recombinant antigens. The serum samples of special “syphilis patients” with positive specific antibody against *Treponema* were negative for four denatured recombinant antigens, but positive for four non-denatured recombinant antigens. The patient was diagnosed as IgG λ monoclonal immunoglobulin by serum immunofixation

作者简介: 彭振亚 (1991-), 女, 本科, 主管技师, 主要从事临床检验及感染性疾病研究, E-mail: 707292425@qq.com。

通讯作者: 张银辉 (1963-), 女, 大专, 主任技师, 主要从事临床检验及感染性疾病研究, E-mail: lanhuacao0255@163.com。

electrophoresis analysis and clinical data. **Conclusion** The detection of denatured recombinant antigen of *T. pallidum* immunoblotting antibody profile could effectively identify the false positive samples of clinical syphilis. However, for the confirmation of syphilis patients, the test results must be combined with the epidemiological history and clinical manifestations of the patients for diagnosis.

Keywords: syphilis; *T. pallidum*; recombinant antigen; immunoblotting technique; biological false-positive

梅毒是由苍白梅毒螺旋体 (*Treponema pallidum*, TP) 引起的, 是当今世界范围特别是高收入国家内的一个再现重要公共卫生问题^[1]。目前梅毒血清学试验 (包括非梅毒螺旋体抗原血清学试验和梅毒螺旋体抗体血清学试验) 仍然是诊断和管理梅毒的首选方法^[2]。然而非梅毒螺旋体抗原血清学试验 (甲苯胺红不加热血清试验, TRUST) 易出现生物学假阳性反应, 梅毒螺旋体抗体血清学试验 (梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验, TPPA) 虽然随着实验所用抗原技术的发展, 基因重组抗原已经代替了天然抗原, 并建立了诸多可自动化操作的检测技术, 实验的灵敏度也在不断提高, 方便了临床的规模化筛查。但是假阳性反应的报道也屡见不鲜^[3-6]。那么临床样本检测出现的这些假阳性情况是临床患者基础疾病的问题, 还是试验所用抗原制备的问题? 本文针对梅毒基因重组抗原用于抗体检测进行了研究, 通过重新改进重组抗原特性, 建立了免疫印迹检测方法, 用以验证既往的检测结果, 对出现的假阳性结果进行分析, 以期证明重组抗原的结构对抗体检测的影响。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集临床 2017 年 1 月 ~ 2019 年 12 月期间中山大学附属第八医院非性病高危人群门诊及住院患者, 采用罗氏 E801 全自动电化学发光免疫分析仪及配套试剂检测梅毒螺旋体抗体阳性, 而临床医师排除梅毒感染的假阳性样本 56 例, 其中, 临床确诊为多发性骨髓瘤患者 12 例 ($80 \geq \text{COI} \geq 1.00$, $1:320 \geq \text{TPPA} \geq 1:8$, $\text{TRUST} < 1:2$)、自身免疫性疾病患者 13 例 ($5 \geq \text{COI} \geq 1.00$, $1:16 \geq \text{TPPA} \geq 1:8$, $\text{TRUST} < 1:2$)、老年基础病患者 18 例 ($10 \geq \text{COI} \geq 1.00$, $1:32 \geq \text{TPPA} \geq 1:8$, $\text{TRUST} < 1:2$)、儿童疾病患者 5 例 ($5 \geq \text{COI} \geq 1.00$, $1:16 \geq \text{TPPA} \geq 1:8$, $\text{TRUST} < 1:2$)、其它疾病患者 8 例 ($5 \geq \text{COI} \geq 1.00$, $1:16 \geq \text{TPPA} \geq 1:8$, $\text{TRUST} < 1:2$)。同期实验室保存临床确认梅毒患者血清 25 份作为阳性对照 ($\text{COI} > 10$, $\text{TPPA} > 1:32$, $\text{TRUST} > 1:16$), 30 份健康体检样本作为阴性对照。

1.2 仪器和试剂 梅毒螺旋体抗体检测试剂盒 (凝集法, TPPA, 日本富士瑞必欧株式会社); 梅毒甲苯胺红不加热血清试验 (TRUST) 诊断试剂 (上海荣盛生物药业有限公司生产); 梅毒螺旋体抗体

检测试剂盒 (电化学发光法, ECLIA) E801 全自动电化学发光免疫分析仪及配套试剂 (罗氏); 抗梅毒螺旋体抗体检测 (免疫印迹法, WB) 检测试剂盒 [欧蒙医学诊断 (中国) 有限公司]; 血清免疫固定电泳, CAPILLARYS 2 全自动毛细管电泳仪及配套试剂 (法国 SEBIA 公司)。TP47, TP45, TP17 和 TP15 梅毒重组抗原 (厦门英博迈生物科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 变性梅毒螺旋体重组抗原免疫印迹技术的建立

1.3.1.1 检测原理: 基因重组技术表达的抗原是蛋白质的一级结构 (即氨基酸序列), 一般认为, 6 ~ 7 个氨基酸序列可以形成一个抗原决定簇, 而且氨基酸序列形成的抗原决定簇是天然抗原结构, 天然抗原检测到的相关抗体是相对特异的。但是, 用于临床检测试剂的重组抗原均为复性纯化后的抗原, 由于复性条件的差异, 复性重组抗原二级结构或三级结构不一定是天然结构, 会出现错误折叠, 形成的差错空间抗原决定簇可能会造成针对差错空间抗原决定簇的假阳性反应。因此, 将抗原变性后形成一级结构的氨基酸序列抗原与原复性抗原对比配对检测可以鉴别假阳性反应。

1.3.1.2 配对抗体谱检测膜条的制备: 四种梅毒螺旋体基因重组抗原: TP47, TP45, TP1 和 TP15 -20°C 保存备用。上述四种重组抗原分别溶解于变性缓冲液中 [即浓度为 0.025mol/L pH 8.0 的 Tris-HCl 缓冲液中, 含 0.1% (v/v) β -巯基乙醇], 抗原的终浓度为 $0.5 \sim 1.0\text{mg/ml}$, 经过 100°C 水浴 $3 \sim 5\text{min}$ 、 $10\,000\text{r/min}$ 离心后取上清备用 (为变性后形成氨基酸序列的变性抗原, 既处理抗原); 将上述四种相同的重组抗原再分别溶解于 0.025mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.0) 中, 抗原的终浓度为 $0.5 \sim 1.0\text{mg/ml}$, $10\,000\text{r/min}$ 离心后取上清备用 (为非处理抗原); 将抗原按照相同种类以非处理抗原和处理抗原成对线性包被在硝酸纤维素膜 (NC) 载体上, 见图 1。将包被有抗原的 NC 膜用 1g/dl 脱脂奶粉封闭 1h, 裁成 2.5mm 宽检测条备用。

1.3.1.3 检测流程: 将膜条置于反应槽中, 每槽加 1ml 工作液, 再加入待测血清样本 $20\mu\text{l}$, 置于摇摆平台上, 室温孵育 60min 。洗涤 3 次, 再加入 1ml 即用酶标二抗 (抗人 IgG 酶标抗体), 再置于摇摆平台上室温孵育 30min 。洗涤 3 次后, 每槽加

入即用显色剂 1ml, 室温孵育 3 min 后观察结果。

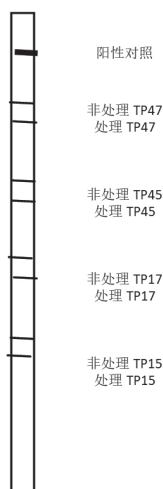
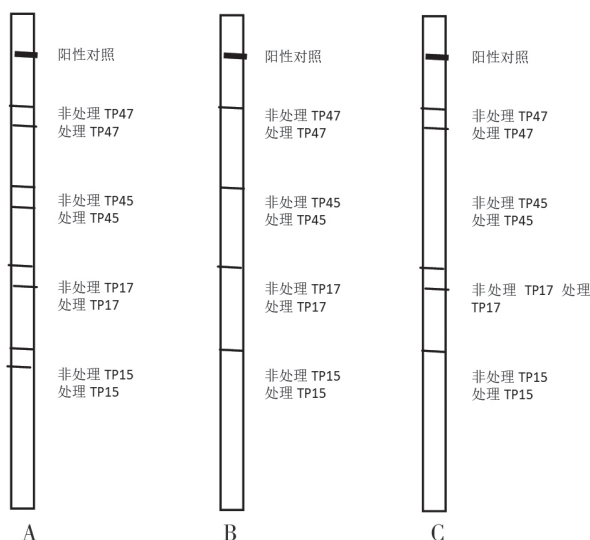


图1 梅毒抗原线性包被模式图

1.3.1.4 检测结果判读：见图2。出现2种以上（包括2种）抗原的抗体条带为阳性反应，梅毒患者主要出现A反应模式，既非处理抗原和变性处理抗原的抗体均为阳性；假阳性样本主要出现B反应模式，既非处理抗原的抗体阳性，变性处理抗原的抗体为阴性；C反应模式较少出现，只要出现2种以上的非处理抗原和变性处理抗原的抗体同时阳性，判断为梅毒患者。正常人样本对非处理抗原和变性处理抗原均无反应条带。



A. 非处理抗原和处理抗原均阳性；B. 非处理抗原阳性，处理抗原阴性；C. 部分处理抗原阴性，或非处理抗原和处理抗原均阴性。

图2 梅毒抗体谱检测结果判读

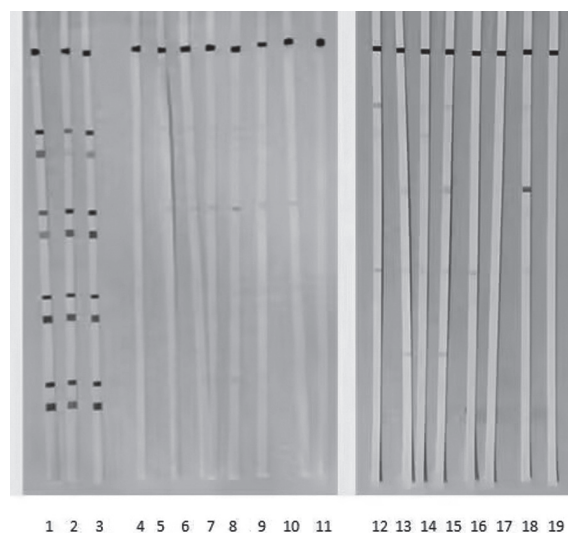
1.3.2 临床标本验证：用25份临床确认的梅毒患者血清样本和30份健康体检样本做变性梅毒重组抗原免疫印迹抗体谱验证，再对56例梅毒筛查假阳性样本进行确认。

1.3.3 专科门诊特殊病例验证分析：患者男性，56岁；皮肤科初诊，包皮硬币大小红斑糜烂、浮肿，

腹股沟淋巴结肿大；临床诊断：梅毒螺旋体感染？辅助检查：TPPA（1:320）；TRUST（-）；电化学发光法 TP-Ab 检测 COI: 0.16, 血清 1:400 稀释后复检, COI: >10。建议做抗梅毒螺旋体抗体免疫印迹法（欧盟 WB）验证，及加做血清免疫固定电泳分析。

2 结果

2.1 临床样本变性梅毒重组抗原免疫印迹抗体谱检测结果 25例确诊梅毒血清样本经变性梅毒重组抗原免疫印迹抗体谱检测，4对抗原的抗体均为阳性，既对非处理抗原和变性处理抗原的抗体检测均出现阳性反应；30例健康体检样本对非处理抗原和变性处理抗原均不发生反应。临床专科医生排除梅毒感染的抗体假阳性样本56例，经变性梅毒重组抗原免疫印迹抗体谱检测，均出现2种以上非处理抗原的抗体，对4种变性处理抗原的抗体检测为阴性反应，确认为假阳性样本；代表性实验图谱见图3。



注：1~3条为梅毒样本；4~11、15条为多发性骨髓瘤样本；12~13条为自身免疫性疾病样本；14条为儿童疾病样本；16~18条为老年性基础病样本；19条为其他疾病样本。

图3 梅毒变性重组抗原免疫印迹检测结果图谱

2.1 专科门诊特殊病例诊断结果 该患者样本经欧盟抗梅毒螺旋体抗体免疫印迹法验证，梅毒螺旋体特异性抗原抗体谱为阳性，但是患者经临床专科医生流行病学评估，没有梅毒感染病史。分析认为患者可能是免疫系统功能紊乱，进一步做血清免疫固定电泳分析，结果见图4。实验结果提示出现 IgG λ 型单克隆免疫球蛋白峰型。患者经住院进一步检查，最后临床诊断为意义未明的单克隆免疫球蛋白血症。变性梅毒重组抗原免疫印迹抗体谱检测结果见图3（第15条），结果显示，对梅毒重组非处理 TP47, TP45, TP17 和 TP15 抗原为阳性反应，对变性处理抗原为阴性反应，说明样本中有针对包被

抗原的差错空间抗原决定簇抗体存在,即出现梅毒 TP47, TP45, TP17 和 TP15 重组抗原的抗体假阳

性反应。

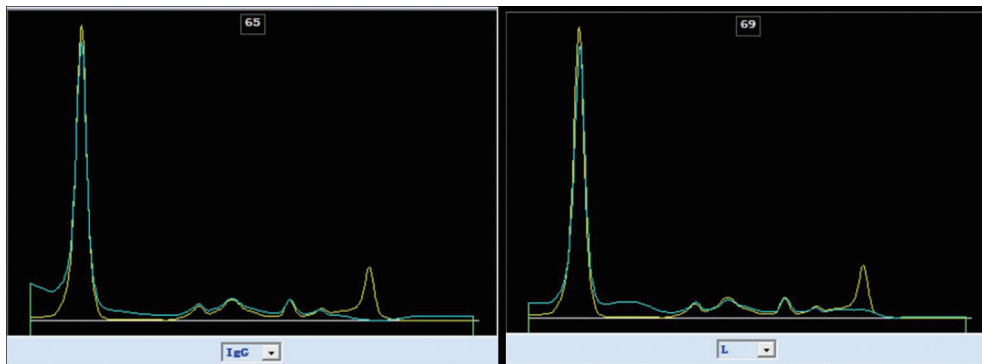


图4 血清免疫固定电泳结果

3 讨论

梅毒虽然是世界范围特别是在高收入国家内的一个再现重要公共卫生问题,也是一个重要的社会问题,尤其在我国的梅毒作为性传播性疾病,其结果直接影响着家庭的稳定,所以实验室检测结果的正确至关重要。目前,临床实行的疾病诊疗流程对于梅毒抗体筛查的需求在增加,但是随着高灵敏度实验技术以及基因工程抗原的临床使用,临床样本检测出现假阳性反应的问题在日益凸显,给临床医生的诊断造成了一定的困难。

在梅毒血清学检测中,目前公认的筛查流程有两类:既传统筛查流程和逆向筛查流程。传统筛查流程是先行非梅毒螺旋体血清学试验(RPR或TRUST等),阳性样本再行梅毒螺旋体抗体试验(TPPA或CLIA等);逆向筛查流程是先行梅毒螺旋体抗体试验(EIA, CLIA或ECLIA等),阳性样本再用另一种梅毒螺旋体抗体试验(TPPA或IB)验证,或再加上非梅毒螺旋体血清学定量试验。临床传统筛查方法是把非梅毒螺旋体血清学试验阳性和梅毒螺旋体血清学试验阴性结果认为是生物学假阳性试验结果(biological false-positive test results, BFPs),出现血清样本BFPs的原因十分复杂,其机理目前不是十分清楚,但是,大多数学者报道其与患者基础疾病密切相关。ISHIHARA等^[1]人回顾了近十年的梅毒检测患者的血清学检测结果,并描述了BFPs患者的临床特征。在94462例受试者中,有588例患者发生了生物学假阳性反应(0.62%),大多数BFPs发生在60岁以上老年人、有恶性肿瘤和有自身免疫性疾病病史的患者中,85%的患者的血浆RPR实验滴度较低($\leq 1:4$),但有2名患者的RPR滴度极高($\geq 1:256$),RPR滴度为1:4的患者中,BFPs更可能持续超过6个月。MATTHIAS等^[7-8]人也有类似的报道,诸如系统性红斑狼疮(SLE)、疟疾、其他密螺旋体感染、人

类免疫缺陷病毒(HIV)感染和丙型肝炎感染,都与BFPs的增加有关。随着全自动免疫发光技术设备的使用,在我国大城市医疗机构以及欧洲等发达国家多采用逆向筛查流程,把梅毒螺旋体抗体血清学试验作为临床大规模筛查手段,诸如全自动CLIA, ECLIA和CMIA等方法,阳性样本用另一种梅毒螺旋体抗体血清学试验验证,若验证实验为阴性既判断为假阳性反应。这种检测流程对梅毒的筛查效果要高于传统的流程^[9-11]。TONG等^[9]比较了三种梅毒筛查流程:即传统流程、逆向流程和欧洲疾病预防控制中心筛查流程(ECDC),队列研究中有2749例患者被诊断为梅毒。传统筛查流程的漏诊率为24.2%,敏感度仅为75.81%。然而,逆向流程和ECDC的诊断效果都高于传统流程,其敏感度、特异度和准确度分别为99.38%~99.85%, 99.98%~100.00%和99.93%~99.96%,逆向流程与ECDC流程的总体一致性和 κ 值分别为99.9%和0.996。其实,ECDC筛查流程理论上属于逆向筛查流程的范畴。但是,值得注意的是采用逆向流程大规模筛查梅毒抗体,对于高水平抗体含量的样本是否会出现假阴性结果,这在发表的文献中没有提及过,这点非常重要,本文的专科门诊特殊病例就是典型的范例。

对于临床医生而言,传统筛查流程中,非梅毒螺旋体血清学试验阳性及梅毒螺旋体血清学试验阴性的生物学假阳性试验结果,临床易于接受,但是对于逆向筛查流程中,梅毒螺旋体血清学试验阳性及另一种梅毒螺旋体血清学试验验证也阳性、非梅毒螺旋体血清学试验为低滴度($<1:8$)的假阳性反应结果,临床难于接受,需要实验室做出进一步的解释。我们在前期的研究中就发现约5.88%(4/68)的多发性骨髓瘤患者就会出现这种假阳性反应结果^[6]。值得关注的是,基于此类分析,还可以通过确认的假阳性反应结果来发现多发性骨髓瘤患者。

那么出现这种现象的原因何在呢?至于与检测方法本身是否相关,相关报道甚少。由于现行的病原体检测方法中使用的抗原基本上已经被基因重组抗原所取代,那么重组抗原是否可以影响检测的真实性呢?本文设计构建的鉴别临床样本假阳性反应的方法,即变性重组抗原免疫印迹技术,将变性后的抗原与非变性抗原对比配对检测可以鉴别梅毒血清学试验假阳性反应。本文所收集的56例梅毒假阳性反应结果患者,都是经过临床专科医生诊断确认的非梅毒患者,变性梅毒重组抗原免疫印迹抗体谱检测结果均对非变性抗原无反应,对相应的变性抗原无反应,说明检测到的抗体为针对重组抗原的非特异性抗体。

综上所述,对于临床梅毒合理的筛查方案,不仅要降低假阳性反应结果的发生,更重要的是要防止假阴性结果的出现,目前看来,变性梅毒重组抗原免疫印迹抗体谱检测是鉴别梅毒血清学试验假阳性反应结果的理想方法。但是,临床梅毒的确诊一定要将检验结果结合患者的流行病学史、临床表现进行诊断。

参考文献:

- [1] ISHIHARA Y, OKAMOTO K, SHIMOSAKA H, et al. Prevalence and clinical characteristics of patients with biologically false-positive reactions with serological syphilis testing in contemporary practice: 10-year experience at a tertiary academic hospital[J]. *Infectious Sexually Transmitted*, 2021, 97(6): 397-401.
- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. WS273-2018: 梅毒诊断 (WS 273-2018): [S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
National Health Commission of the People's Republic of China. WS273-2018: Syphilis diagnosis[S]. Beijing: China Standard Press, 2018.
- [3] LIU Fan, LIU Lili, GUO Xiaojing, et al. Characterization of the classical biological false-positive reaction in the serological test for syphilis in the modern era[J]. *International Immunopharmacology*, 2014, 20(2): 331-336.
- [4] 张微, 郭楠, 李宝萍, 等. 化学发光微粒子免疫检测梅毒抗体假阳性分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(10): 1180-1182.
ZHANG Wei, GUO Nan, LI Baoping, et al. An analysis of false-positive results of chemiluminescence microparticle immunoassay in detecting *Treponema pallidum* antibodies [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2021, 31(10): 1180-1182.
- [5] 郑淑华, 黄瑞玉, 卢春敏, 等. 化学发光法和 TPPA 试验检测妇幼人群梅毒螺旋体抗体假阳性对比分析 [J]. 中国皮肤性病杂志, 2021, 35(3): 349-352.
ZHENG Shuhua, HUANG Ruiyu, LU Chunmin, et al. Comparative analysis of chemoluminescence and TPPA test for false-positive of *Treponema pallidum* antibody in women and children[J]. *The Chinese Journal of Dermatovenereology*, 2021, 35(3): 349-352.
- [6] 何涛君, 莫凡, 肖晓友, 等. 多发性骨髓瘤 M 蛋白与梅毒血清学假阳性的关系 [J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(2): 478-481.
HE Taojun, MO Fan, XIAO Xiaoyou, et al. Relationship between M-protein of multiple myeloma and false positive syphilis serological results[J]. *Journal of Experimental Hematology*, 2016, 24(2): 478-481.
- [7] MATTHIAS J, KLINGLER E J, SCHILLINGER J A, et al. Frequency and characteristics of biological False-Positive test results for syphilis reported in Florida and New York city, USA, 2013 to 2017[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2019, 57(11): e00898-19.
- [8] TUDDENHAM S, KATZ S S, GHANEM K G. Syphilis laboratory guidelines: performance characteristics of nontreponemal antibody tests[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2020, 71(Suppl 1): S21-S42.
- [9] TONG Manli, LIN Lirong, LIU Lili, et al. Analysis of 3 algorithms for syphilis serodiagnosis and implications for clinical management[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2014, 58(8): 1116-1124.
- [10] 徐萌, 绳波, 陈浩南, 等. 44 558 例患者梅毒螺旋体抗体检测及假阳性分析 [J]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2021, 15(2): 105-110.
XU Meng, SHENG Bo, CHEN Hao-nan, et al. Analysis of antibody detection of *Treponema pallidum* and the false positive results of 44558 patients[J]. *Chinese Journal of Experimental and Clinical Infectious Diseases(Electronic Edition)*, 2021, 15(2): 105-110.
- [11] 王欣俞, 赵晋文, 张延海, 等. 四种梅毒血清学检测方法在梅毒抗体不确定样本的分析及评价 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(3): 109-111, 114.
WANG Xinyu, ZHAO Jinwen, ZHANG Yanhai, et al. Analysis and evaluation of four syphilis detection methods in uncertain samples of syphilis antibody[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2019, 34(3): 109-111, 114.

收稿日期: 2022-08-05

修回日期: 2022-11-28

(上接第139页)

- XU Qing, YU Xinfa. Application of detection of plasma Epstein-Barr virus DNA in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Hainan Medical Journal*, 2020, 31(1): 114-117.
- [16] 吴克复, 郑国光, 马小彤, 等. EB 病毒感染的多样性及其意义 [J]. 中国肿瘤临床, 2021, 48(7): 330-335.
WU Kefu, ZHENG Guoguang, MA Xiaotong, et al. Diversity in Epstein-Barr virus infections and its significance [J]. *Chinese Journal of Clinical Oncology*, 2021, 48(7): 330-335.

- [17] 韩响, 洪嘉蕴, 马钰, 等. 儿童浆细胞瘤并发 EBV 感染病例的临床病理学特征和相关分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2022, 37(2): 28-32.
HAN Xiang, HONG Jiayun, MA Yu, et al. Clinicopathological analysis of children plasmacytoma complicated with EBV infection [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2022, 37(2): 28-32.

收稿日期: 2022-07-17

修回日期: 2022-11-21