

婴幼儿人巨细胞病毒感染 154 例 PCR 与 ELISA 检测比较

缪美华,邵雪君,朱宏,徐俊,丁云芳

(苏州大学附属儿童医院,苏州 215003)

[摘要] 目的:探讨采用不同的定量方法及不同的标本检测婴幼儿人巨细胞病毒(HCMV)感染阳性率。方法:采用荧光定量 PCR 法和 ELISA 定量法分别对 154 例疑感染 HCMV 住院患儿进行 HCMV DNA 和 HCMV IgM 抗体的定量检测,其中对 73 例患儿的血及尿标本同时进行 HCMV DNA 的检测。结果:血和尿 HCMV DNA 同时检测,尿检出率明显高于血;血和尿 HCMV DNA 检出率明显高于血清 HCMV IgM;两种方法的联合检测进一步提高阳性率。结论:两种方法同时检测可提高 HCMV 的检出率;尿标本 HCMV DNA 的检出率明显高于血标本,采用尿标本更方便,且阳性率高。

[关键词] 巨细胞病毒;荧光定量;聚合酶链反应;人巨细胞病毒 IgM 抗体;儿童

[中图分类号] R446.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2057(2009)06-0447-02

Comparison of PCR and ELISA in detecting 154 cases children HCMV infection

MIAO Meihua, SHAO Xuejun, ZHU Hong, et al (Affiliated Children's Hospital, Soochow University, Suzhou 215003)

[Abstract] Objective: To explore the positive rate of human cytomegalovirus (HCMV) infection in children using different quantitative methods and different specimens. Methods: Fluorescent quantitative PCR and quantitative ELISA method were applied to 154 hospitalized children who were suspected to be infected by HCMV, to detect the HCMV DNA and HCMV IgM respectively. Among them, 73 children's urine and blood samples were collected simultaneously to detect the HCMV DNA. Results: HCMV DNA positive rate was higher than HCMV IgM significantly, and the urine samples had more positive rate than the blood ones when HCMV DNA was detected. If these two methods were employed simultaneously, the positive rate would improve further. Conclusion: Applying the fluorescent quantitative PCR and quantitative ELISA methods simultaneously could improve the positive rate of HCMV infection; urine sample was recommended which had much higher positive rate and easier to collect with the HCMV DNA copies.

[Key words] Cytomegalovirus; Fluorescent quantitative; polymerase chain reaction; Human cytomegalovirus IgM; Children

人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)属疱疹病毒科,为双链线状 DNA 病毒,具有潜伏—活动的生物学特征。HCMV 是儿科感染的重要病因,严重的 HCMV 感染常累及多系统和多脏器,肝脏是 HCMV 感染易累及的脏器,尤其在幼小儿童和免疫抑制个体^[1-3]。国内外此类报道不少,但分别从抗原和抗体两个方面对 HCMV 进行定量检测国内外报道不多,本文通过对 HCMV 定量检测的两种方法进行学比较,监测 HCMV 病毒活动,为临床及早诊治 HCMV 感染患儿提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对 2008 年 9 月~12 月住院疑感染 HCMV 患儿 154 例进行 HCMV DNA 和 HCMV IgM 抗体的定量检测,年龄 0~7 岁,男 91 例,女 63 例,其中有 73 例患儿同时收集到血和尿标本,男 38 例,女 35 例,诊断标准按照《巨细胞病毒感染诊断方案》^[3]。

1.2 方法 血 HCMV DNA 的检测采用 EDTA-2K 抗凝的全血,淋巴细胞分离液分离单个核细胞;尿 HCMV DNA 的检测采用随机尿标本, BIO-RAD iCYCLE PCR 荧光定量分析仪, 达安基因 HCMV DNA 荧光定量试剂盒检测; HCMV-IgM 采用 ELISA 方法定量检测,试剂由德国 Virion Serion 提供(Lab-systems Dragon 酶标仪, BIO-RAD 洗板机)。

1.3 统计学方法 采用 SPSS13.0 进行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 示差

异有统计学意义。

2 结果

2.1 HCMV 荧光定量 PCR 和抗体检测阳性率比较 对 154 例患儿同时进行 HCMV DNA PCR(血和/或尿标本)和 HCMV IgM(血清)的定量检测,见表 1。

2.2 不同标本 HCMV 荧光定量 PCR 检测结果比较 对能够同时采集到血和尿的 73 例患儿同时进行血和尿双份标本 HCMV DNA 的 PCR 检测,见表 2。

表 1 HCMV 荧光定量 PCR 和抗体检测的阳性率比较(n,%)

	PCR 阴性	PCR 阳性	合计
抗体阴性	81	31	112(72.7)
抗体阳性	10	32	42(27.3)
合计	91(59.1)	63(40.9)	154

注:两组相比, $P < 0.001$

表 2 不同标本 HCMV 荧光定量 PCR 检测结果比较

	尿阴性	尿阳性	合计
血阴性	36	20	56(76.7)
血阳性	3	14	17(23.3)
合计	39(53.4)	34(46.6)	73

注:两组相比, $P < 0.01$

3 讨 论

儿童是 HCMV 感染的易感人群, 活动性感染发生率高, 尤其 3 岁以内婴幼儿为高发年龄组^[4]。因此及早诊治 HCMV 感染患儿, 实验室检查尤其重要。病毒分离是诊断 HCMV 感染的金标准, 但不能满足临床需求。临床实用的方法包括血清学测定 HCMV 特异抗体, 即 HCMV IgM; 荧光定量 PCR 技术测定血、尿 HCMV DNA。HCMV IgM 抗体检测是诊断 HCMV 活动性感染的有效指标, 定量 PCR 通过检测 HCMV DNA 水平, 可监测病毒活跃程度。

本研究通过定量检测 HCMV IgM 和 HCMV DNA, 对其方法学及 HCMV DNA 检测时不同的标本来源时的检出率进行了分析和评价, 结果显示 PCR 检出率高于抗体的检出率, PCR 检测时尿检出率高于血检出率, 但不论采用何种检测方法或何种标本, 按照《巨细胞病毒感染诊断方案》^[3]都存在一定的假阴性率, PCR 检测时为 13.7%(10/73), 抗体检测时为 42.5%; PCR 采用尿标本检测是为 8.1%, 血标本检测时为 54.0%。我们知道, 不同的方法、不同的标本来源的检测结果表明着不同的临床意义, HCMV IgM 阳性表明 HCMV 活动或近期感染, 但婴儿尤其是新生儿免疫反应较弱, 可呈假阴性^[5]; HCMV IgM 阳性, HCMV DNA 阴性, 说明在病毒感染早期, 已有机体发生免疫抗体反应, 但病毒未能大量繁殖或还未侵入肾脏; HCMV IgM 阴性, HCMV DNA 阳性, 考虑急性的早期感染期已过, 抗体在血中的滴度已下降, 而病毒却在机体内不断产毒, 并可长期经肾脏排毒^[6]; 或是在经历潜伏期后, 人体抵抗力低下时, 又出现病毒活动; HCMV IgM 及 HCMV DNA 均阳性, 既是发病早期又是活动产毒期, 说明大量病毒在体内活动应积极治疗。HCMV 的嗜上皮特性, 使其易于感染在肾脏细胞内, 查尿中 HCMV DNA, 可知其复制, 排毒情况^[7-8], 且其阳性检出率比血要高, 假阴性率比血低得多, 因此, 采用尿标本

既方便, 阳性率又高, 但由于肾小管间歇性排出 HCMV 颗粒, 可出现假阴性。因此, 血清 HCMV IgM 抗体和血、尿 HCMV DNA 同时检测可提高 HCMV 感染的诊断率, 有利于临床分析患儿的感染情况, 以便及时采取合理的治疗方案。

[参考文献]

[1] 方峰, 董永绥. 巨细胞病毒和巨细胞病毒感染的诊断[J]. 中华儿科杂志, 1999, 37(7):397-399.

[2] 方峰, 董永绥, 魏晴, 等. 巨细胞病毒所致婴儿肝脏损害的前瞻性研究[J]. 中华儿科杂志, 1995, 33(6):350-351.

[3] 方峰, 董永绥. 巨细胞病毒感染诊断方案[J]. 中国实用儿科杂志, 2002, 15(2):121-122.

[4] 张松丽, 吴佩婷. 小儿巨细胞病毒感染活动的相关因素分析[J]. 现代临床医学生物工程学杂志, 2000, 6(4):303-304.

[5] 方峰, 董永绥. 诊治巨细胞病毒感染时应注意的几个问题[J]. 中国实用儿科杂志, 2000, 15(2): 86-87.

[6] Noyola DE, Demmler GJ, Willamson WD, et al. Cytomegalovirus urinary excretion and long term outcome in children with congenital cytomegalovirus infection [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2000, 19(6):505-510.

[7] Weinberg A. Comparison of PCR antigenemia assay, and rapid blood culture for detection and prevention of cytomegalovirus disease after lung transplantation [J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38(2): 768-772.

[8] Eckant P. Detection of human cytomegalovirus in renal transplantation :comparison of four diagnostic methods :DNA in senaby polymerase chain reaction(PCR)DNA in leukocyte by PCR , PP65 leukocytic antigenemia and uiremia [J]. *Transplant Proc* , 1997, 29(5):2387-2389.

[收稿日期] 2009-08-05

(上接第 446 页) 即刻停止, 仅出现载瘤动脉区域部分脾脏梗死。

[参考文献]

[1] 吴丹明, 符伟国. 周围血管腔内技术[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2006:157-160.

[2] 程波, 董强, 卢晓明, 等. 腹部脏器假性动脉瘤诊治体会[J]. 腹部外科, 2004, 17(5):292-293.

[3] 袁链, 张小明, 沈晨阳, 等. 覆膜支架治疗降、腹主动脉假性动脉瘤 13 例分析[J]. 中华外科杂志, 2006, 44(11):751-753.

[4] 方淳, 俞炬明, 李明华, 等. 覆膜支架在周围血管病变中的应用[J]. 介入放射学杂志, 2007, 16(9):594-597.

[5] 周国锋, 冯敢生, 梁惠明, 等. 脾动脉栓塞治疗胰源性假性脾动脉瘤[J]. 中华放射学杂志, 2005, 39(4):387-389.

[6] 施海彬, 顾建平, 何旭, 等. 外周血管假性动脉瘤的介入治疗[J]. 中华放射学杂志, 2005, 39(9):929-931.

[7] 刘文贵, 梁定, 郭山峰. 生肢及肾脏假性动脉瘤的介入治疗[J]. 介入放射学杂志, 2008, 17(5):365-367.

[8] 卢再鸣, 温锋, 郭启勇, 等. 介入栓塞治疗内脏假性动脉瘤的临床观

察[J]. 中国临床医学影像杂志, 2007, 18(12):889-892.

[9] Tulsyan N, Kashyap VS, Greenberg RK, et al. The endovascular management of visceral artery aneurysms and pseudoaneurysms [J]. *J Vasc Surg*, 2007, 45(2):276-283.

[10] Rossi M, Rebonato A, Greco L, et al. Endovascular exclusion of visceral artery aneurysms with stent-grafts: technique and longterm follow-up [J]. *Cardiovasc Intervent Radiol* , 2008, 31(1):36-42.

[11] 王志军, 王茂强, 宋鹏, 等. 胰腺疾病外科术后大出血的急症介入治疗[J]. 介入放射学杂志, 2009, 18(6):420-424.

[12] Wallace M, Choi E, McRae S, et al. Superior mesenteric artery pseudoaneurysm following pancreaticoduodenectomy: management by endovascular stent-graft placement and transluminal thrombin injection [J]. *Cardiovasc Intervent Radiol* , 2007, 30(3):518-522.

[13] Andersen PE, Rohr N. Endovascular exclusion of renal artery aneurysm [J]. *Cardiovasc Intervent Radiol* , 2005, 28(5):665-667.

[14] 王宁军, 杨维竹, 江娜, 等. 内脏假性动脉瘤出血的栓塞治疗[J]. 介入放射学杂志, 2009, 18(5):414-416.

[收稿日期] 2009-08-27