

荧光定量聚合酶链反应技术检测儿童患者人巨细胞病毒结果分析

贾 伟,师志云,赵志军,赵 颖,魏 军(宁夏医科大学总医院医学实验中心,银川 750004)

【摘要】 目的 了解本院儿童患者人巨细胞病毒(HCMV)感染现状。**方法** 采用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)技术对 243 例住院疑似患儿进行 HCMV-DNA 定量检测。**结果** HCMV 总阳性率为 16.05%;男性和女性阳性率分别为 17.83%和 12.79%;1 个月至 1 岁年龄组(婴儿期)患者最高为 17.41%。临床诊断主要以肝损害、腹泻和黄疸为主。**结论** 加强儿童患者 HCMV 的检测,有助于临床诊断与治疗方案的选择。

【关键词】 人巨细胞病毒; 荧光定量聚合酶链反应; 儿童

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.13.015 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)13-1568-02

Result analysis of rea-time PCR detection on HCMV among children patients JIA Wei, SHI Zhi-yun, ZHAO Zhi-jun, ZHAO Ying, WEI Jun (Clinical Laboratory Center, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

【Abstract】 Objective To learn about the infection status of HCMV among children patients in our hospital. **Methods** Samples were taken routinely from 243 children patients, and we detected HCMV-DNA by FQ-PCR. **Results** Total positive rate of HCMV was 16.05%. The positive rates of male and female samples were 17.83% and 12.79% respectively. The positive rate in patients aged 1 month to 1 years accounted for 17.41%. The clinical diagnosis result showed the main symptoms of HCMV infection were liver injury, diarrhea, jaundice. **Conclusion** To enhance detection of HCMV is important for clinical diagnosis and treatment options of infection.

【Key words】 HCMV; fluorescent quantitative PCR; children

人巨细胞病毒(HCMV)属疱疹病毒 B 亚科, DNA 为线状双链分子, 具有严格的种属特异性和潜伏活化特性, 人体是 HCMV 的惟一宿主^[1-3]。患儿 HCMV 感染多为原发性感染, 主要通过孕妇宫内感染引起母婴垂直传播, 临床表现呈现多样性, 可引起溶血性黄疸、肝炎、肺炎及多脏器损害等^[4], 缺乏特异性, 其诊断主要依赖于实验室检测。为了解本院住院患儿 HCMV 的感染现状, 本研究应用荧光定量聚合酶链反应(PCR)技术对 2010 年 8 月至 2011 年 12 月来本院就诊的患儿进行 HCMV 检测, 按照不同性别、年龄及临床诊断进行比较分析, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2010 年 8 月至 2011 年 12 月来本院儿科住院的 243 例患者, 男 157 例, 女 86 例, 年龄 29 d 至 11 岁, 平均年龄 7.8 个月, 乙二胺四乙酸抗凝血采集后立即送检。

1.2 仪器与试剂 7300 型荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司), HCMV-DNA 检测试剂盒(中山大学达安基因股份有限公司)。

1.3 方法 按仪器和试剂相关说明书进行操作: 取血清 100 μ L 加入 100 μ L 的 DNA 浓缩液混匀, 12 000 r/min 离心 10 min, 弃上清液向沉淀中加入 20 μ L 的 DNA 提取液, 100 $^{\circ}$ C 恒温处理 10 min, 12 000 r/min 离心 5 min, 取 3 μ L 进行 PCR 反应。

1.4 统计学方法 所有数据采用 SPSS11.0 软件进行 χ^2 检验分析。

2 结 果

2.1 不同性别 HCMV-DNA 阳性检测结果 243 例中 HCMV 感染 39 例, 感染率为 16.05%。男性阳性率为 17.83%(28/157), 女性为 12.79%(11/86), 男性与女性检出率相比, 差异无统计学意义($P>0.05$), 见表 1。

2.2 不同年龄 HCMV-DNA 阳性检测结果 HCMV-DNA 阳

性率以 1 月至 1 岁年龄组(婴儿期)最高, 为 17.41%, 与其他各年龄组感染差异无统计学意义($P>0.05$), 见表 2。

表 1 不同性别 MP DNA 阳性检出情况

性别	<i>n</i>	阳性例数	阳性率(%)	χ^2	<i>P</i>
男	157	28	17.83	—	—
女	86	11	12.79	1.049 1	>0.05

注:—表示无数据。

表 2 不同年龄 HCMV-DNA 阳性检出情况

年龄	<i>n</i>	阳性例数	阳性率(%)	χ^2	<i>P</i>
≤ 1 个月	2	0	0.00	—	—
1个月至1岁	201	35	17.41	—	—
2~3岁	14	1	7.14	0.390 6	>0.05
4~15岁	26	3	11.54	0.226 5	>0.05

注:—表示无数据。

2.3 HCMV-DNA 阳性患者临床诊断分布 39 例 HCMV 阳性患者临床诊断主要包括巨细胞病毒感染(25.64%)、肝损害(17.95%)、腹泻(10.26%)、黄疸(10.26%)等, 见表 3。

表 3 HCMV-DNA 阳性患者临床诊断分布构成比(%)

临床诊断	阳性例数	构成比
肺炎	2	5.14
巨细胞病毒感染	10	25.65
婴儿肝炎	1	2.56
肝损害	7	17.95
腹泻	4	10.26
黄疸	4	10.26
淋巴结炎	2	5.14

续表 3 HCMV-DNA 阳性患者临床诊断分布构成比(%)

临床诊断	阳性例数	构成比
营养不良	1	2.56
脾肿大,出血	1	2.56
婴儿肝损综合征	1	2.56
重度营养不良	1	2.56
泌尿系感染	1	2.56
脑发育不良	1	2.56
先天性心脏病	1	2.56
支气管肺炎	1	2.56
喘息性支气管炎	1	2.56
合计	39	100.00

3 讨 论

HCMV 是先天性和围生期感染最为常见和重要的病原体,几乎可以侵犯机体的所有器官,危害很大。HCMV 先天性感染的发生率约为 0.5%~2.5%。绝大多数在新生儿期没有表现出症状,仅 5%~10%具有轻重不一的症状,从宫内生长迟缓、黄疸、肝脾肿大、瘀斑以及中枢神经系统异常的严重疾病,到较为局限的感染^[5]。因此,采用荧光定量 PCR 技术对 HCMV 感染早期、快速诊断、及时给予抗病毒治疗以减轻症状、减低病死率具有重要意义。

本研究结果显示,本院儿科住院患者 HCMV 阳性率达 16.05%,男性和女性患儿阳性率分别为 17.83%和 12.79%,

男女之间相比差异无统计学意义。患儿不同年龄段 HCMV 感染率不同,以婴儿期最高为 17.41%。同时本研究显示, HCMV 感染临床诊断主要以巨细胞病毒感染(25.64%)、肝损害(17.95%)、腹泻(10.26%)、黄疸(10.26%)为主,临床症状轻重不一,给临床诊断和治疗带来一定困难。所以,对 HCMV 感染患者,应早期明确诊断,积极防治,减少危害。

参考文献

[1] 杨方华,张德纯. 荧光定量 PCR 检测人巨细胞病毒的方法学建立[J]. 中国微生态学杂志,2009,21(3):275-277.

[2] 高培杰,赖惠英,傅清流. 荧光定量 PCR 检测巨细胞病毒感染的标本选择[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(10):2149-2151.

[3] Chou S. Cytomegalovirus UL97 mutations in the era of ganciclovir and maribavir [J]. Rev Med Virol, 2008, 18(4):233-246.

[4] 王岩,郭晓英,李佳丹,等. 荧光定量 PCR 法在检测 246 例小儿巨细胞病毒感染中的应用[J]. 黑龙江医药科学, 2010,33(6):16-17.

[5] 黄绮梨,朱锋,方仲文. 孕妇血清巨细胞病毒负荷量与胎儿宫内感染研究[J]. 检验医学与临床,2008,5(16):986-989.

(收稿日期:2011-12-30)

(上接第 1567 页)

在本研究中,作者发现给予羊膜腔内注射 PS 后,肺组织内 SP-A mRNA 及蛋白表达均较细菌组有所增高,其机制可能为注射 PS 后使肺泡表面张力降低,肺泡萎陷减少,肺顺应性提高,肺水肿减轻,从而使 AEC II 细胞损害减轻,板层小体破坏减少,减轻了炎症反应所致的 SP-A 下降。通过以上研究,表明在感染环境中进行羊膜腔内注射 PS 对减轻肺损伤、促进肺发育具有积极作用,对预防早产儿发生 NRDS 等肺疾病具有重要意义。

参考文献

[1] Inoue A,Xin H,Suzuki T,et al. Suppression of surfactant protein A by an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor exacerbates lung inflammation[J]. Cancer Sci,2008,99(8):1679-1684.

[2] Wissel H,Schulz C,Rudiger M,et al. Chlamydia pneumoniae affect surfactant trafficking and secretion due to changes of type II cell cytoskeleton[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,2003,29(3 Pt 1):303-313.

[3] Heinrich S,Hartl D,Griese M. Surfactant protein A from genes to human lung diseases[J]. Curr Med Chem,2006, 13(27):3239-3252.

[4] Gil HW,Oh MH,Woo KM,et al. Relationship between pulmonary surfactant protein and lipid peroxidation in lung injury due to paraquat intoxication in rats[J]. Kore-an J Intern Med,2007,22(2):67-72.

[5] Kishore U,Bernal AL,Kamran MF,et al. Surfactant pro-

teins SP-A and SP-D in human health and disease[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz),2005,53(5):399-417.

[6] Jung A,Allen L,Nyengaard JR,et al. Design-based stereological analysis of the lung parenchymal architecture and alveolar type II cells in surfactant protein A and D double deficient mice[J]. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol, 2005,286(2):885-890.

[7] Maeda H,Fujita MQ,Zhu BL,et al. Pulmonary surfactant-associated protein A as a marker of respiratory distress in forensic pathology: assessment of the immuno-histochemical and biochemical findings[J]. Leg Med (To-kyo),2003,5(Suppl 1):S318-321.

[8] Krause MF,Wiemann T,Reisner A,et al. Surfactant re- duces extravascular lung water and invasion of polymor- phonuclear leukocytes into the lung in a piglet model of airway lavage[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2005, 18(2): 129-139.

[9] Illia R,Solana C,Oliveri P,et al. Evidence of fetal pulmo- nary aspiration of intra-amniotic administered surfactant in animal experiment[J]. J Perinat Med,2004,32(4):354- 358.

[10] Lisawa J,Pietrasik D,Zwolinski J,et al. Intraamniotic surfactant supply as RDS prevention [J]. Med Wieku Rozwoj,2003,7(3 Suppl 1):255-260.

(收稿日期:2012-03-22)