

## 2 项对诊断儿童人巨细胞病毒活动性感染的比较

李 丽(广东省化州市人民医院检验科 525100)

**【摘要】 目的** 比较血清人巨细胞病毒(HCMV)-IgM 抗体(以下简称 IgM 抗体)与 HCMV pp65 抗原(以下简称 pp65)两种方法对 HCMV 活动性感染诊断检测的实用意义。**方法** 采集临床疑似 HCMV 活动性感染儿童血标本 91 份,分离血浆和多形白细胞,分别用于 IgM 抗体检测和 pp65 抗原检测,同时用聚合酶链反应(PCR)检测 HCMV DNA,与 pp65 抗原作平行比较。**结果** pp65 抗原检测的结果与 IgM 抗体检测的符合率为 70.3%,与 HCMV DNA 检测相比,pp65 抗原检测的符合率、特异性和敏感度分别为 85.5%、70.6%和 75.6%,而且高 pp65 抗原血症与患者临床症状密切相关。**结论** pp65 抗原血症反映该病毒活动状况,可监测 HCMV 活动性感染。

**【关键词】** 巨细胞病毒; HCMV pp65 抗原; HCMV-IgM; 聚合酶链反应; 儿童

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.09.012 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)09-1082-02

**Comparison of two method for the diagnosis of the active infection of human cytomegalovirus in child** LI Li (Clinical Laboratory, People's Hospital of Huazhou City, Guangdong 525100, China)

**【Abstract】 Objective** To comparison the significance of human cytomegalovirus (HCMV) pp65 antigen test and HCMV-specific IgM assay for the diagnosis of active infection of HCMV in children. **Methods** 91 cases of children with suspected infection of HCMV were enrolled and detected for IgM, pp65 antigen and HCMV DNA. **Results** The coincidence rate of pp65 antigen result and IgM examination was 70.3%. Compared with HCMV DNA detection, the coincidence rate, specificity and sensitivity were 85.5%, 70.6% and 75.6%. Increasing of pp65 antigen level was closely correlated with the clinical symptom of patients. **Conclusion** pp65 antigen level could reflect the activation status of HCMV, which could be used for the monitoring of the activation of HCMV.

**【Key words】** cytomegalovirus; HCMV pp65 antigen; HCMV-IgM; polymerase chain reaction; child

人类巨细胞病毒(HCMV)感染在我国相当普遍,是最常见的宫内感染病原体,可经血液、唾液、精液、乳汁等分泌物传播<sup>[1]</sup>。HCMV 对人类影响很大,尤其对免疫功能低下者,如孕妇、婴幼儿、器官移植、恶性肿瘤类患者还有放射损伤、获得性免疫缺陷综合征等。故对小儿 CMV 感染作早期诊断检测是十分必要的。HCMV 感染可导致先天性畸形,智力低下,发育迟缓等,严重可引起肝炎、肺炎等胃肠道疾病<sup>[2]</sup>。本文对 91 例临床疑似 CMV 感染的患儿进行检测,并对其检测方法进行了比较,报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2009 年 4 月至 2011 年 6 月在本院住院临床临床上怀疑为 CMV 感染的患儿共计 91 例,男 47 例,女 44 例。年龄 1 个月至 10 岁,其中 1 岁以内 38 例,占 41.8%,大于 1 岁 53 例,占 58.2%。

**1.2 CMV pp65 抗原血症检测** 采用 CMV Brite™ Turbo 试剂盒检测,由北爱尔兰 IQ 公司提供。严格按照试剂盒说明操作。肝素或乙二胺四乙酸抗凝的空腹全血 3~5 mL,2 h 内送检。取蒸馏水 1:10 稀释 A 液(红细胞裂解液),把 2 mL 血与 30 mL 稀释 A 液混合,置 4℃ 5 min,2 500 r/min 离心 2 min,弃上清液。若裂解红细胞不理想,再重复一次。把细胞团悬于 30 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)中,2 500 r/min 离心 2 min,弃上清液。PBS 调整细胞浓度为  $2 \times 10^6$ /mL。每份标本制备 3 张片,2 张做检测,1 张做背景对照。用 PBS 1:5 稀释 B 液(固定液),用 PBS 1:5 稀释 C 液(渗透液),将 2 张片插入 B 液 5 min,再将所有片子放入 PBS 洗液 3 min,然后放入 C 液 1 min,洗片。加 35 μL 单抗(D 液),37℃ 20 min,洗片,晾干,细胞片不能干透。加入 35 μL FITC 标记抗体(E 液),37℃ 20

min,洗 2 次后用自来水轻轻洗片,盖片。

用荧光显微镜观察结果,镜下观察全部细胞,pp65 阳性细胞为均匀圆形/多叶核染色,绿色或黄绿色。阳性细胞大于 5 个/ $5 \times 10^4$  为阳性。

**1.3 CMV DNA 检测** 取同期患儿尿液,采用深圳匹基公司 HCMV DNA 荧光定量检测试剂盒,扩增循环条件按试剂盒的设定进行,聚合酶链反应(PCR)扩增循环次数为 42 个。检测系统由伯乐公司提供,同时连接计算机,对整个 PCR 过程中 PCR 产物荧光值进行实时检测,操作严格按说明书进行。

**1.4 血清 CMV IgM 检测** 取同期患者血清,采用微粒子酶免疫分析,严格按照试剂说明操作,试剂由美国 Abbott 公司提供。

**1.5 统计学方法** 采用一般  $\chi^2$  检验比较 pp65 与 CMV DNA、CMV IgM 之间的关联性, $P < 0.05$  为有关联性;用配对设计的  $\chi^2$  检验( $\chi^2_m$ )比较不同检验方法结果的差异性, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结 果

**2.1** 3 项共检测患儿 91 例,结果见表 1。由表 1 可见,CMV DNA 阳性率最高,为 49.5%,其次为 CMV pp65,为 37.4%。

表 1 3 项检测 CMV 感染结果

项目	病例数	阳性例数	阴性例数	阳性率(%)
CMV pp65	91	34	57	37.4
CMV DNA	91	45	46	49.5
CMV IgM	91	10	81	11.0
合计	273	89	184	32.6

**2.2** 91 例 CMV 患儿血 pp65 与尿 CMV DNA 和血 CMV

IgM 检测结果 见表 2。由表 2 可见, pp65 抗原血症与尿 CMV DNA 两种方法阳性分别为 34 例和 24 例, 均具有较高的检出率, 两种方法所检测的结果有明显相关性 ( $\chi^2 = 9.70$ ), 且结果之间差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 3.23, P > 0.05$ )。pp65 与血 CMV IgM 检测结果之间无明显相关性 ( $\chi^2 = 0.77$ ), 两种方法结果差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 12.03, P < 0.01$ )。pp65 抗原血症与尿 CMV DNA 阳性符合率为 75.6% (34/45), 阴性符合率为 80.7%, 与 IgM 阳性符合率为 29.4% (10/34), 阴性符合率为 70.4% (57/81)。pp65 相对于 PCR 的敏感性为 75.6% (34/45), 特异性为 70.6% (24/34), 与 HCMV DNA 相比, pp65 抗原的符合率为 85.5%, 与 IgM 抗体检测的符合率为 70.3%。

表 2 91 例 CMV 患儿血 pp65 与尿 CMV DNA 和血 CMV IgM 检测结果

血 pp65	n	尿 CMV DNA		血 CMV IgM	
		阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	34	24	10	5	29
阴性	57	21	36	5	52
合计	91	45	46	10	81

### 3 讨论

CMV 感染在我国相当普遍, 大多在幼年时期发生。多数感染者无明显症状, 但在婴儿期和有免疫抑制的个体可引起严重疾病<sup>[3]</sup>。CMV 感染状态可分为潜伏感染和激活感染, 由于健康人群中 CMV 潜伏感染也较常见, 因此区分潜伏感染和激活感染是临床诊断 CMV 感染的关键。目前临床上常用检测 CMV 的项目有血 CMVpp65、尿 CMV DNA 及血 CMV IgM<sup>[4]</sup>。

本文结果显示, 血 CMVpp65 和尿 CMV DNA 2 项检测结果均有较高的阳性率, 阳性符合率也较高, 且统计学显示结果上具有明显相关性, 结果之间差异无统计学意义。CMV pp65 是 CMV-u183 基因编码的即刻早期蛋白, 在 CMV DNA 复制前就有合成, 调控随后的病毒基因的表达及 DNA 合成, 是体内活动性 CMV 复制的标志。因此, CMV 激活感染时, pp65 持续高水平表达, 潜伏感染时表达极低, 一般检测不到。而且 pp65 抗原血症可在激活感染早期即呈阳性。目前认为 pp65 抗原是 HCMV 感染时外周血白细胞中最容易被检出的 CMV 抗原, HCMV pp65 抗原血症作为免疫组化法直接检测血液白细胞中的 CMV 抗原, 不但具有快速、简便、容易操作的特点<sup>[5-7]</sup>, 而且还能根据结果区分患者 CMV 的感染状态, 在 CMV 活动性感染及预后判断上有明显优势。有研究表明, 可以根据 CMV 抗原血症水平来推断 CMV 感染的类型和时期, 原发感染抗原血症水平高, 继发感染抗原血症水平低; 感染初期及恢复期水平低, 发生进展性 CMV 疾病时水平迅速上升。

PCR 检测技术是近年来新兴的一种技术, 具有简便、快速、敏感且检测标本要求低等特点, 但是 PCR 要求有较严格的实验场所, 否则极易出现假阴性或假阳性结果; 并且 PCR 要求有一定的设备, 如 PCR 扩增仪, 还要求有合理的引物设计及需要购买 Taq 酶等, 花费较大。由于 PCR 的高灵敏性, 存在敏感性虽高但特异性差的缺点, 而且 PCR 检测阳性不能区分是潜伏感染还是激活感染, 所以 PCR 的应用受到一定的限制。

本组实验 CMV IgM 的检出率较低。IgM 的量不仅与病毒负荷有关, 还与患者免疫功能状态有关。CMV 感染患儿多有免疫功能低下, 也影响其敏感性和特异性。另外检测血 CMV IgM 易受类风湿因子及特异性 IgG 的影响, 灵敏度较低。因此, 检测 CMV IgM 在诊断 CMV 感染中的价值受到限制。

对于 CMV 感染, pp65 抗原血症法检测 CMV pp65 抗原是一种敏感、特异、快速的诊断方法; 不仅能早期诊断, 其量化结果有助于评价感染状态与判断预后, 也是观察治疗后果的有效检测手段<sup>[8]</sup>。pp65 抗原血症法方法学几经完善, 已成为国际公认的活动性 HCMV 感染诊断的“标准”方法, 以后相继建立的方法均以此方法作为对照。

### 参考文献

- [1] 金艳. 人巨细胞病毒先天性感染实验室诊断的研究进展 [J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(3): 282-285.
- [2] 杨炳中, 谭汉梅. 小儿巨细胞病毒感染 48 例的临床分析 [J]. 重庆医学, 2008, 37(18): 2097-2098.
- [3] 高文英, 陈悦, 黄敬泉, 等. 聚合酶链反应 (PCR) 方法与其它三种 CMV 抗体检测方法的比较 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2003, 11(2): 30-31.
- [4] 魏健, 汤永民, 郑季彦, 等. 流式细胞术检测 pp65 抗原血症在诊断巨细胞病毒感染上的应用 [J]. 中华儿科杂志, 2005, 43(1): 13-17.
- [5] 赵缜, 季育华, 移植病人中 HCMV 激活感染标志的研究进展 [J]. 国外医学: 病毒学分册, 2001, 8(6): 180-182.
- [6] 夏吉荣, 王富兰, 祝继华. 人巨细胞病毒活动性感染的分析 [J]. 重庆医科大学学报, 2003, 28(2): 195-197.
- [7] 李敏, 季育华, 陆志橡, 等. 人巨细胞病毒潜伏-再激活感染的研究进展 [J]. 国外医学: 微生物学分册, 2001, 24(5): 7-9.
- [8] St George K, Boyd MJ, Lipson SM, et al. A multisite trial comparing two cytomegalovirus (CMV) pp65 antigenemia test kits, brite and Bartels/Argene CMV antigenemia [J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(4): 1430-1433.

(收稿日期: 2012-10-25 修回日期: 2012-12-10)

(上接第 1081 页)

(2): 145-147.

- [5] Plebani M, Piva E. Erythrocyte sedimentation rate: use of fresh blood for quality control [J]. Am J Clin Pathol, 2002, 117(4): 621-626.
- [6] 钱忠萍, 陈忠. 自动血沉分析仪应用中的思考 [J]. 临床检验杂志, 2003, 21(3): 187-188.
- [7] 蒋中英. XC-A30 全自动血沉分析仪的临床应用评价 [J].

现代中西医结合杂志, 2012, 21(13): 1445-1446.

- [8] 祝丙华, 李安全, 张金树, 等. 两种方法测定血沉结果比较与评价 [J]. 检验医学与临床, 2009, 6(18): 1505, 1507.
- [9] 黄燕妮. ESR-30 型全自动血沉分析仪的临床应用 [J]. 海南医学, 2011, 22(10): 128-129.

(收稿日期: 2012-10-25 修回日期: 2012-12-10)