

• 论 著 •

获得性免疫缺乏综合征患者合并巨细胞病毒性肺炎情况分析

张 米, 雷素云[△], 杨翠先, 樊红丽

(云南省传染病专科医院检验科, 昆明 650301)

摘要:目的 调查获得性免疫缺乏综合征(AIDS)患者中合并巨细胞病毒性肺炎的发生情况, 比较血清标本与痰液标本的巨细胞病毒阳性检出率。方法 采用酶联免疫法和实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)分别检测 AIDS 患者中高度怀疑为巨细胞病毒性肺炎的血清巨细胞 IgM、血清和痰液的巨细胞病毒载量水平。结果 35 例 AIDS 合并巨细胞病毒性肺炎的患者中, 入院时 CD4⁺T 细胞水平平均为(74.3±58.1)个/μL。其中血清中巨细胞 IgM 抗体阳性检出率为 2.9%; 血清中病毒载量阳性检出率为 8.6%; 痰液中巨细胞病毒载量阳性检出率为 65.7%。CD4⁺T 细胞计数<50 个/μL 患者中, 巨细胞病毒检出率为 70.6%; CD4⁺T 细胞计数在 50~100 个/μL 患者阳性检出率为 57.1%; CD4⁺T 细胞计数>100 个/μL 患者的阳性检出率为 63.6%。不同水平的 CD4⁺T 细胞间巨细胞病毒的阳性检出率差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 在 AIDS 合并巨细胞病毒性肺炎的感染初期, 痰液标本的巨细胞病毒载量检测比血液的巨细胞病毒抗体及病毒载量检测阳性率更高, 可作为临床早期快速的诊治病毒性肺炎的有效辅助诊断方法。

关键词:人类免疫缺陷病毒; 巨细胞病毒; 肺炎

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.07.019 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)07-0960-03

Analysis of AIDS patients complicating cytomegalovirus pneumonia

ZHANG Mi, LEI Suyun[△], YANG Cuixian, FAN Hongli

(Department of Clinical Laboratory, Yunnan Provincial Infectious Disease Specialist Hospital, Kunming, Yunnan 650301, China)

Abstract: **Objective** To investigate the incidence situation of cytomegalovirus(CMV) pneumonia in AIDS patients and to compare the CMV positive detection rates in serum and sputum samples. **Methods** ELISA and real-time fluorescent quantitative PCR methods were used to detect serum CMV IgM, serum and sputum CMV loading levels in AIDS patients with highly suspected CMV pneumonia. **Results** Among 35 cases of AIDS complicating CMV pneumonia, the CD4⁺T cell level at admission was(74.3±58.1) cell/μL. The positive detection rate of CMV IgM antibody in serum was 2.9%. The positive detection rate of viral load in serum was 8.6%. The positive detection rate of CMV viral load in sputum was 65.7%. The detection rate of CMV was 70.6% in the patients with CD4⁺T count <50 cell/μL, the positive detection rate in the patients with CD4⁺T cell count 50—100 cell/μL was 57.1%. The positive detection rate in the patients with CD4⁺T cell count >100 cell/μL patients was 63.6%. There was no statistically significant difference in the positive detection rates among different levels of CD4⁺T cells($P>0.05$). **Conclusion** In the infection initial stage of AIDS patients with complicating CMV pneumonia, the CMV viral load detection of sputum specimen has higher positive rate compared with blood CMV antibody and viral load detection, which can serve as the effectively assisted diagnostic method for clinical early and rapid diagnosis and treatment of viral pneumonia.

Key words: human immunodeficiency virus; cytomegalovirus; pneumonia

获得性免疫缺乏综合征(AIDS)是一种由人类免疫缺陷病毒(HIV)引起的免疫缺陷性疾病,是危害人类健康的重大传染病之一。随着病程的不断进展,机体免疫功能降低,容易被病原微生物侵袭,发生机会性感染。人类巨细胞病毒(HCMV)感染是 AIDS 患者重要的机会性感染之一。人类是 HCMV 感染的唯一宿主,大部分感染无症状,为潜伏感染。潜伏部位主要主要唾液腺、乳腺、肾脏、白细胞等其他腺体中,可长期或间歇地自唾液、乳汁、尿液、精液、宫颈和阴道分泌物中排出病毒。当机体免疫功能低下时,病毒被激活而发生显性感染^[1]。在 AIDS 患者尸检中, HCMV 发现率为 16.7%~73.7%,仅次于肺孢子菌感染^[2]。肺是 HIV 感染及其所致 AIDS 相关并发症中最容易受累的器官。肺部机会性感染是导致 AIDS 发病和死亡的重要原因。而在机会性感染中,病毒感染占 7.7%^[3],病毒性肺炎占肺部感染的 38.5%^[4],是临床上危及 AIDS 患者

的重要机会性感染。巨细胞病毒性肺炎在 AIDS 患者中不常见,但却在 AIDS 病毒性肺炎中常见。HCMV 血清学抗体阳性,一般认为是潜伏感染的再发,而非新发感染^[5]。因此,早期准确诊断 HCMV 感染具有重要意义。目前, HCMV 感染的实验室诊断方法多种,包括病毒分离培养,病毒抗原、抗体检测,病毒 DNA 检测及细胞学检测等。本研究采用 HCMV-IgM 抗体及 HCMV-DNA 检测方法对高度怀疑的 AIDS 合并病毒性肺炎患者的血液及痰液标本进行检测,首次采用痰液标本 HCMV-DNA 检测作为 HCMV 肺炎的辅助诊断方法,以期临床诊治 HCMV 感染提供数据支持。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013—2015 年本院收治的 AIDS 合并肺部感染患者中高度怀疑巨细胞病毒性肺炎的患者。排除标准:疑似病毒性肺炎的 AIDS 患者血清、痰等标本经微生物室

细菌、真菌涂片培养阴性者。

1.2 方法

1.2.1 标本收集 采集患者静脉血液于无菌试管中, 3 000 r/min离心 10 min,分离血清标本;留取患者痰液标本, 根据试剂盒要求处理痰标本。

1.2.2 HCMV-IgM 抗体检测方法 采用北京现代高达生物技术有限责任公司提供巨细胞病毒 IgM 抗体检测试剂盒(酶联免疫法),具体操作步骤和结果判读详见的试剂盒说明书。

1.2.3 HCMV-DNA 检测方法 应用中山大学达安基因股份有限公司提供的 HCMV-DNA 定量检测试剂盒[实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)]。PCR 扩增条件如下:93 ℃ 2 min 预变性;93 ℃ 45 s,55 ℃ 60 s,10 个循环;93 ℃ 30 s,55 ℃ 45 s,30 个循环。每次检测按试剂盒提供的阳性定量标准品做标准曲线,同时设置阴性、阳性对照。诊断标准:阳性,曲线为 S 型且 HCMV-DNA>1 000 个/mL;阴性,曲线不为 S 型。

1.3 统计学处理 统计分析软件为 SPSS19.0,计数资料采用例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 患者基本情况 本研究共纳入 AIDS 合并疑似巨细胞病毒性肺部感染患者共 35 例;男女比例为 6 : 1;平均年龄为 (42.1±13.2)岁;已婚 25 例,未婚 8 例,离异或丧偶 2 例;汉族占 85.7%(30/35);农民占 48.6%(17/35),工人占 22.9%(8/35),其他自由职业等占 28.6%(10/35)。

对纳入的 AIDS 患者 CD4⁺ T 细胞水平统计发现,35 例 AIDS 患者的 CD4⁺ T 细胞水平均较低,平均为 (74.3±58.1) 个/ μ L。其中 CD4⁺ T 细胞计数<50 个/ μ L 的患者占 48.6%(17/35),CD4⁺ T 细胞计数在 50~100 个/ μ L 的患者为 20.0%(7/35),CD4⁺ T 细胞计数>100 个/ μ L 的患者占 31.4%(11/35)。

2.2 AIDS 患者 HCMV-IgM 及 HCMV-DNA 检测结果 35 例疑似巨细胞病毒性肺部感染的 AIDS 患者均进行血清 HCMV-IgM 抗体检测,其中 22 例患者进行了血清 HCMV-DNA 检测,所有患者的痰液均行 HCMV-DNA 检测。阳性率分别为:血清 HCMV-IgM 为 2.9%(1/35),血清 HCMV-DNA 为 8.6%(3/22),痰液 HCMV-DNA 为 65.7%(23/35)。其中血清中巨细胞病毒阳性检出率显著低于痰液的检出率,差异有统计学意义($P<0.05$)。巨细胞病毒的血清抗体检测与血清、痰液的病毒载量检测的阳性检出率相差较大,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清 HCMV-IgG 抗体检测结果阳性的患者,其血清和痰液的 DNA 检测结果均为阴性。

对 23 例痰液 HCMV-DNA 阳性患者的病毒载量水平与其相应 CD4⁺ T 细胞水平之间相关性分析发现:在 AIDS 合并巨细胞病毒性肺炎患者中,不同水平 CD4⁺ T 细胞计数,其 HCMV-DNA 阳性检出率差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 CD4 ⁺ T 细胞计数与 HCMV-DNA 检出率比较		
CD4 ⁺ T 细胞水平 (个/ μ L)	HCMV-DNA 阳性率[% (n/n)]	
	痰液中	血清中
<50	70.6 (12/17)	20.0 (2/10)
50~100	57.1 (4/7)	0.0 (0/4)

续表 1 CD4 ⁺ T 细胞计数与 HCMV-DNA 检出率比较		
CD4 ⁺ T 细胞水平 (个/ μ L)	HCMV-DNA 阳性率[% (n/n)]	
	痰液中	血清中
>100	63.6 (7/11)	12.5 (1/8)
P	>0.05	>0.05

3 讨 论

HCMV 感染在普通人群中非常普遍,成人抗体检出率在 85%以上,大多数感染者均无临床表现,在机体免疫功能正常时 HCMV 对人体不构成危害^[6]。通常 HCMV 感染后无临床症状,原发性的 HCMV 感染,机体免疫系统激活可有效清除绝大部分 HCMV,但仍有少量病毒在机体内终身潜伏,当下一次机体免疫平衡被打破时,HCMV 被重新激活进而引发多种与 HCMV 感染相关的疾病^[7]。临床最常见是器官移植后、肿瘤化疗、AIDS 合并 HCMV 感染,进而产生肝脾肿大、淋巴瘤系统疾病、视力减退或失明、孕妇致畸等。而 AIDS 患者由于其免疫系统被 HIV 侵蚀,导致免疫缺陷,更容易诱发各种病原微生物的增殖。

AIDS 合并巨细胞病毒性肺炎临床表现缺乏特异性,与其他类型的肺炎比较可无先驱症状,起病隐匿,病程较长,常伴免疫功能异常;对抗菌药物治疗无反应,对更昔洛韦等抗病毒药物治疗有效。本研究对 36 例疑似巨细胞病毒性肺炎的 AIDS 患者和血清 IgM 抗体检测发现,血清中抗体检测的阳性率极低,只有 1 例患者 HCMV-IgM 抗体阳性,且其相应的痰液和血清 HCMV-DNA 检测为阴性,与非 HIV 感染的人群中感染 HCMV 的阳性结果有差异^[8-9]。本研究发现,痰液标本的阳性检出率显著高于血清标本,可能是由于在 HCMV 的急性感染期,唾液腺及肾脏的上皮细胞最容易受病毒侵袭,当其侵入上皮细胞后开始增殖,增殖一定程度可诱发宿主细胞凋亡,同时释放宿主细胞病毒,部分病毒进入血液^[10-11],导致呼吸道中病毒水平远远高于血液系统,故血清中 HCMV 的阳性检出率低于相应的痰液标本检出率。

本研究发现,AIDS 患者的不同 CD4⁺ T 细胞水平中,血清中 HCMV 的阳性检出率差异无统计学意义($P>0.05$),这一结果与文献^[12]报道相悖。潘克女等^[7]发现,不同标本类型中 HCMV 的阳性检出率有差异,且 CD4⁺ T 细胞水平不同,其阳性检出率也相差较大。本研究发现,HCMV 的阳性检出率与 CD4⁺ T 细胞水平相关性不大,可能是由于本研究中 AIDS 患者的 HCMV 感染尚处于初级感染阶段,多数仅局限于肺部及呼吸道系统,尚未感染血液系统,故血清中 HCMV 的检出率较低。而 CD4⁺ T 细胞水平主要反映宿主整体的免疫功能,在 HCMV 局限性感染中,病毒尚未完全入侵宿主免疫系统,故痰液 HCMV 阳性检出率与 CD4⁺ T 细胞水平无相关性。

虽然 AIDS 患者中病毒性肺炎发病率较低,但 HCMV 病毒感染较常见。根据临床症状及体液标本的涂片、培养结果,筛选出高度怀疑的 AIDS 合并病毒性肺炎患者。本研究利用 AIDS 肺部感染的痰液标本对 HCMV 感染进行实验室诊断,提高了巨细胞病毒性肺炎的早期确诊率,为临床合理有效地利用抗病毒药物,降低 AIDS 患者合并机会性感染发生率提供实验室依据。

可比性分析试验中,参照 1/2 室间质评总误差要求,结果均在允许的误差范围内。通过性能评估和比对试验,证实 CS5100 准确度高,精密、线性均较好,携带污染率低,其检测结果与 CA7000 一致,在本实验室内,2 个系统可共同用于临床的诊断和疗效监测。

此外,关于全自动凝血分析仪性能评价,ISO15189 相关文件中有着非常严格的要求,规定凡是初装机或出现故障维修,都必须经过校准、检测及性能验证合格后,才能对临床患者标本进行检测。仪器性能评估的必要性和重要性要求,检验相关技术人员必须对其有足够的认识,在具体工作中要选择可行的评估方法,制订合理的性能评估文件,在实施中严格按规范进行落实,这样才能保证试验仪器的性能参数达到 ISO15189 相关文件的要求^[14]。本试验基于目前实验室条件,仅对常用的凝血项目进行了比对,后续将针对更多凝血检测项目进行性能评价,以保证临床所有检测数据的精准。

参考文献

[1] 王治国. 临床检验方法确认与性能验证[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:131.

[2] 杨志钊,缪丽韶,杨山虹,等. 利用 CLSI EP15-A 指南验证精密度和准确度[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(3):231-232.

[3] CLSI. EP15-A3 User verification of precision and estimation of bias; approved guideline-third edition[S]. Wayne, PA, USA; CLSI, 2014.

[4] CLSI. EP05-A3 Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; approved guideline-third edition [S]. Wayne, PA, USA; CLSI, 2014.

[5] CLSI. Defining, establishing, and verifying reference inter-

vals in the clinical laboratory Approved Guideline-third edition[S]. Wayne, PA, USA; CLSI, 2010.

[6] 胡丽涛. 血凝分析仪的性能评估方法的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(9): 975-977.

[7] 陈渊博,郑文婷,尹志军,等. CA7000 全自动凝血仪性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(2): 209-211.

[8] 王瑾,许程洁,李顺君,等. Sysmex-CA7000 全自动凝血仪性能评价[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(16): 3136-3138.

[9] 刘慧敏,梁学立,热依拉,等. Sysmex CA1500 自动凝血分析仪的性能验证[J]. 兵团医学, 2015, 45(3): 5-7.

[10] 张巧云,彭华,梁委军. 全自动血凝分析仪 Sysmex CS-5100 的性能验证与评价[J]. 右江医学, 2016, 44(1): 82-87.

[11] Geens T, Vertessen F, Malfait R, et al. Validation of the Sysmex CS5100 coagulation analyzer and comparison to the Stago STA-R analyzer for routine coagulation parameters[J]. Int J Lab Hematol, 2015, 37(3): 372-381.

[12] 贾晶媛,郑善奎,郝晓柯. Sysmex CS5100 与 Sysmex CA7000 血凝仪测定结果的可比性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(10): 1388-1390.

[13] 张芹,欧阳红梅,甸自金,等. 2 种全自动血凝分析仪凝血四项检测结果的比对研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(2): 205-206.

[14] 张立文. 红细胞分析仪和凝血分析仪的性能验证方法[J]. 电子技术与软件工程, 2016(13): 141.

(收稿日期:2016-12-16 修回日期:2017-01-23)

(上接第 961 页)

参考文献

[1] Lin YH, Yeh CJ, Chen YJ, et al. Recurrent cytomegalovirus colitis with megacolon in an immunocompetent elderly man[J]. J Med Virol, 2010, 82(4): 638-641.

[2] 蒋荣猛,张伟,陈志海. 艾滋病相关病毒性肺炎的诊治研究进展[J]. 中国艾滋病性病, 2011, 17(5): 600-602.

[3] 黄丽芬,唐小平,蔡卫平,等. 广东地区 762 例住院人类免疫缺陷病毒感染病人机会性感染分析[J]. 中华内科杂志, 2010, 49(8): 653-656.

[4] 李宏军. AIDS 肺部合并症 CT 表现与病理对照[J]. 医学影像学杂志, 2008, 18(1): 22-24.

[5] Huang L, Crothers K. HIV-associated opportunistic pneumonias[J]. Respirology, 2009, 14(4): 474-485.

[6] 万程彬. 人巨细胞病毒近期感染的血清学诊断[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2013, 26(2): 336-338.

[7] 潘克女,张永乐,徐爱芬,等. HIV 感染者 CD4⁺ T 淋巴细

胞计数及血浆和尿液人巨细胞病毒检测的临床意义[J]. 中国艾滋病性病, 2014, 20(12): 890-891.

[8] 徐新艳,赵艳丰. 人巨细胞病毒感染的检测及临床表现分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(21): 2848-2849.

[9] 李玲霞,高申,张特,等. 人巨细胞病毒感染 DNA 检测和 IgM 检测的比较及其联合应用价值的探讨[J]. 中国实验诊断学, 2015, 19(1): 78-80.

[10] 沈丹,黄少军,汪晶晶. 三种标本 CMV-DNA 含量检测在儿童巨细胞病毒性肝炎诊断和治疗监测中的应用[J]. 肝脏, 2015, 20(1): 35-37.

[11] 陶鹏飞,雷素云,杨欣平,等. 艾滋病合并巨细胞病毒性肺炎的临床特点和治疗[J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(2): 242-243.

[12] 梁均和,陈安妮,关毅荣,等. HIV/AIDS 患者外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞水平与巨细胞病毒感染相关性分析[J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2015, 22(1): 18-20.

(收稿日期:2016-10-17 修回日期:2016-12-11)