

程研究, 2015, 18(26): 4164-4168.

[11] JIANG S D, WU Q Z, LAN S H, et al. Reliability of the measurement of thoracolumbar burst fracture kyphosis with Cobb angle, Gardner angle, and sagittal index[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2012, 132(2): 221-225.

[12] 梁勃威, 丁真奇, 陈浩, 等. 伤椎后 1/3 切除重建与椎体次全切除重建治疗胸腰椎爆裂性骨折的前瞻性比较研究[J]. 中华创伤骨科杂志, 2016, 18(12): 1069-1074.

(收稿日期: 2018-02-08 修回日期: 2018-04-24)

• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 18. 039

新生儿巨细胞病毒感染的临床检测研究

张美娜, 赵 虎, 李仁哲, 唐敏英, 吴 琳, 詹世淮, 王庆华, 谭建明
(福州总医院泌尿外科, 福州 350025)

摘要:目的 探讨实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)法检测新生儿巨细胞病毒(CMV)在不同标本类型中的阳性检出率。方法 选取 2015 年 1 月至 2016 年 6 月该院收治的 662 例疑似感染 CMV 的新生儿作为研究对象, 根据收集标本类型的不同分为尿液组(337 例)、血液组(325 例)。参照 CMV 检测的标本要求采集标本后, 按照达安基因人 CMV 核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光法)说明书进行检测。结果 检测结果显示, 新生儿 CMV 感染的总阳性率为 7.40%, 不同标本类型 CMV 阳性检出率存在差异, 其中尿液阳性检出率为 8.9%, 而血液阳性检出率则为 5.85%。新生儿尿液和血液 CMV 阳性感染拷贝数分布呈偏态分布, 数据集中在 $10^3 \sim 10^5$, 几何均数分别为 3.19×10^4 、 4.75×10^3 , 两者比较差异有统计学意义($P=0.0246$)。结论 临床检测新生儿 CMV 感染, 尿液标本优于血液标本检测, 其阳性检出率更高, 可更好地指导临床医生用药。

关键词: 新生儿; 巨细胞病毒感染; 实时荧光定量聚合酶链反应; 阳性率

中图法分类号: R722.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)18-2812-02

巨细胞病毒(CMV)是新生儿产后感染最常见的病原微生物之一, 可导致新生儿出现黄疸、耳聋、智力障碍等症状, 严重威胁新生儿的身心健康^[1]。因 CMV 感染通常呈无症状的感染, 隐密性较强, 早期确诊 CMV 对新生儿的治疗显得尤为重要^[2-4]。本研究选取本院收治的 662 例疑似感染 CMV 的新生儿作为研究对象, 对其进行 CMV 核酸检测分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性研究 2015 年 1 月至 2016 年 6 月来本院就诊疑似感染 CMV 的新生儿患者 662 例。年龄 0~120 d, 中位年龄 76 d。根据新生儿的患病情况, 收集其尿液或血液标本, 进行后续的核酸定量检测。根据收集标本类型的不同分为尿液组(337 例)、血液组(325 例)。

1.2 仪器与试剂 CMV DNA 定量检测试剂为广州达安基因股份有限公司人 CMV 核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光法), 所用扩增仪器为 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Life Technologies)。

1.3 方法 严格按照说明书操作和 PCR 实验条件具体要求。PCR 扩增仪扩增, 根据 CMV 不同拷贝数的标准品(1.0×10^4 、 1.0×10^5 、 1.0×10^6 、 1.0×10^7)、阴性质控品及待检样本的扩增曲线, 观察得出结果。

1.4 统计学处理 采用 Graphpad Prism 软件进行统计分析, CMV DNA 平均拷贝数采用几何均数($G = n \sqrt{x_1 \cdot x_2 \cdots x_n}$) 计算所得组间比较采用 U 检验。计数资料以百分数表示, 采用 χ^2 检验, 以 $P <$

0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CMV DNA PCR 扩增检测结果 4 个标准品(1.0×10^4 、 1.0×10^5 、 1.0×10^6 、 1.0×10^7)、代表性阳性样品(DNA 拷贝数 5.2×10^5 , 黑箭头所指)以及阴性对照的扩增曲线如图 1 所示, 证明 CMV PCR 扩增结果准确、可信。

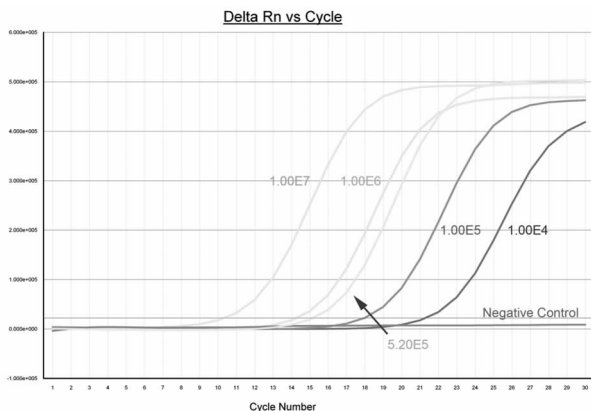


图 1 CMV DNA PCR 扩增曲线图 (箭头所指为阳性标本)

2.2 新生儿不同标本 CMV 阳性检出率 以 CMV DNA 拷贝数 $\geq 1 \times 10^3$ 判读为阳性, 结果发现, 662 例新生儿检出 CMV 49 例, 阳性检出率为 7.40%, 其中尿液标本阳性检出率为 8.9% (30/337), 血液标本阳性检出率为 5.85% (19/325), 见表 1。

2.3 新生儿 CMV 阳性感染标本的拷贝数分布 两组新生儿 CMV 阳性感染标本的拷贝数分布均呈右偏

态分布,数据大多集中在 $10^3 \sim 10^5$,尤以 $10^3 \sim 10^4$ 段的人数最多。尿液组和血液组阳性标本 CMV 拷贝数的几何均数分别为 3.19×10^4 、 4.75×10^3 ,两组间差异有统计学意义($P=0.0246$),见图 2。

表 1 新生儿不同标本类型 CMV 感染阳性检出率的比较

组别	n	阳性例数(n)	阳性例数比(%)	阳性率(%)
尿液组	337	30	61.20	8.90
血液组	325	19	38.80	5.85
合计	662	49	100.00	7.40

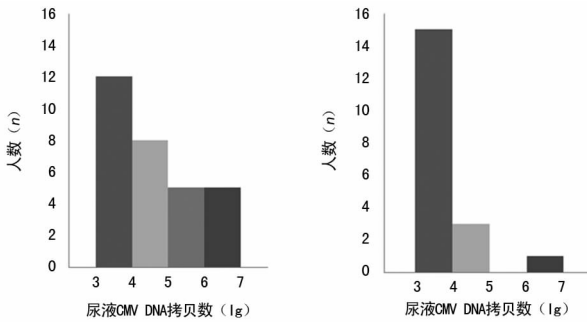


图 2 新生儿 CMV 阳性感染标本 DNA 拷贝数分布

3 讨论

CMV 是新生儿产后感染最常见的病原微生物之一,可在尿液、血液等广泛传播^[5]。PCR 扩增检测是诊断 CMV 的标准方法之一^[6]。然而在临床检测中 CMV 的检出率始终不高。本研究拟采集新生儿尿液、血液等不同来源标本,采用实时荧光定量 PCR 检测尿液、血液样本中 CMV 的 DNA 拷贝数,探索最佳的标本选择途径,从而提高新生儿 CMV 的正确检出率。

CMV 最容易侵犯的部位是肾脏、肝胆系统的管道上皮细胞,在肾小管上皮细胞内大量复制后经尿液排出,因此尿液中 CMV DNA 拷贝数较高^[7]。沈丹等^[8]在确诊或高度怀疑为 CMV 性肝炎的儿童患者中,应用实时荧光定量 PCR 方法,检测患者血清、外周血单个核细胞及 3 次混合尿 3 种标本 CMV DNA 的水平,结果发现尿液标本的 CMV 检出率最高,定量检测结果最高。钟瑞芬等^[9]采用实时荧光定量 PCR 和 IgM 抗体化学发光法两种方法分别检测新生儿尿液和血液中的 CMV,结果发现尿液标本检测结果与上述结果类似。本研究采用新生儿尿液和血液标本,发现尿液 CMV 检出率较血液高,且拷贝数的几何均数为 3.19×10^4 ,显著高于血液中 CMV 的拷贝数 (4.75×10^3) 一个数量级。由于新生儿的特殊性,尿液较血液更易于采集,有利于后续治疗连续采集、检测。因此,尿液是新生儿检测 CMV DNA 的最佳标本选择。

早期使用更昔洛韦对免疫能力较强的新生儿进行抗 CMV 病毒治疗,可在很大程度上减轻症状、降低

病死率。前期研究结果显示,CMV 在感染机体后通常呈潜伏期感染,90% 以上的新生儿先天性感染无任何临床症状^[10]。与此同时,CMV DNA 检测是确诊新生儿感染 CMV 的最可靠方法。因此 CMV DNA 检测结果的假阴性会极大地延误新生儿患者的治疗时机。本研究发现,尿液标本中 CMV 的阳性检出率较血液标本高,且其平均拷贝数也较血液标本高出一个数量级,可在一定程度上降低 CMV 检出假阴性的发生,进而有效地对临床是否采取抗病毒治疗给予指导意见。

综上所述,新生儿 CMV 感染的阳性检出率与标本的采集途径存在一定的相关性,尿液是新生儿 CMV DNA 检测的最佳标本。采用尿液检测新生儿 CMV 的感染状况,对于临床指导 CMV 的抗病毒治疗,提高新生儿 CMV 感染的预后有很好的积极意义。

参考文献

- [1] 许玲芬,孙梅,毛志芹,等. 婴儿巨细胞病毒肝炎临床分析及更昔洛韦疗效评价[J]. 中国实用儿科杂志,2002,17(8):472-474.
- [2] 邓慧玲,谢燕,符佳,等. 尿巨细胞病毒-DNA 定量动态监测在婴儿巨细胞病毒肝炎诊治中的临床意义[J]. 现代医药卫生,2011,27(14):2128-2129.
- [3] CANNON M J, GRIFFITHS P D, ASTON V, et al. Universal newborn screening for congenital CMV infection: what is the evidence of potential benefit[J]. Rev Med Virol, 2014, 24(5):291-307.
- [4] HOWARD J, HALL B, BRENNAN L E, et al. Utility of newborn screening cards for detecting CMV infection in cases of stillbirth[J]. J Clin Virol, 2009, 44(3):215-218.
- [5] 张丹,韩辉. 巨细胞病毒的感染机制及与缺血性脑血管病之间的关系[J]. 中国综合临床,2015,36(2):191-192.
- [6] 李明辉,李海峰,夏海波,等. FQ-PCR 检测尿巨细胞病毒在婴儿 CMV 感染中的应用价值[J]. 国际病毒学杂志,2014,21(6):286-288.
- [7] 郑晓群,冯晶晶,林虹,等. 尿液上皮细胞中巨细胞病毒载量预测婴儿巨细胞病毒激活感染的价值[J]. 中华检验医学杂志,2009,32(4):403-406.
- [8] 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,2015,24(1):35-37.
- [9] 钟瑞芬,黎四平,梁丽云,等. 尿 HCMV-DNA 检测在新生儿疾病中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(4):475-477.
- [10] GIBSON L, BARYSAUSKAS C M, MCMANUS M A, et al. Reduced frequencies of polyfunctional CMV-Specific T cell responses in infants with congenital CMV infection [J]. J Clin Immunol, 2015, 35(3):289-301.