

[文章编号] 1000-2200(2009)09-0826-02

· 临床医学 ·

巨细胞病毒感染实验室检测结果的比较

苏文, 殷素梅, 陈娟, 赵论, 周海荣

[关键词] 巨细胞病毒; 感染; 实验室检测

[中国图书资料分类法分类号] R 373.9 [文献标识码] B

巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)是一类在自然界普遍存在,但又具有严格种属特异性的病毒。人类CMV感染非常普遍,并且是人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)的唯一宿主^[1,2]。初次感染多在2岁以下,大多呈隐性或潜伏感染,但在一定条件下侵袭多个器官和系统可产生严重疾病。病毒分离虽为“金标准”,但CMV分离培养困难,费时耗力,临床应用较少。临床一般用血清学方法和分子生物学方法辅助诊断。目前较多实验室采用酶联免疫吸附试验(ELISA)或免疫荧光技术检测血清中特异性CMV抗体,但检出率较低且只能定性。PCR荧光检测CMV-DNA,时间短,准确,是值得推广的一种技术手段,但在实际应用中也有一定的不足。本文将两种方法进行对比分析,旨在为临床CMV感染的诊断提供及时准确的实验室诊断结果。

1 材料与方法

1.1 标本采集 2007年7月至2008年7月收集临床诊断CMV感染患者各种标本共134例,其中咽拭子28例,用无菌咽拭子采集患者咽喉分泌物;痰液13例和乳汁3例,均收集于无菌痰杯中;尿液20例,用无菌痰杯留取中段尿;血液60例,取外周抗凝血2 ml用于CMV-DNA检测,其中37例同时取3 ml非抗凝血用于CMV抗体检测。

1.2 仪器与试剂 人CMV血清IgM由德国OUMENG公司生产,人CMV核酸扩增荧光定量试剂盒购自中山大学达安基因股份有限公司。ABI-7000全自动FQ-PCR仪为美国应用生物系统公司生产。

1.3 方法

1.3.1 CMV抗体检测 免疫印迹技术检测血清中特异性CMV抗体(CMV-IgM),操作和结果的判断严格按照试剂盒说明书进行,出现颜色反应为阳性。

1.3.2 CMV-DNA检测 (1)标本处理:取外周抗凝血2 ml,3 000 r/min离心5 min,取白细胞层(血浆与红细胞之间部分)50 μ l置1.5 ml无菌Eppendorf离心管中备用;尿液标本12 000 r/min离心6 min,留取沉淀备用;咽拭子标本之间加入1 ml无菌生理盐水,痰液标本吸取适量加入1 ml生理盐水中,高速震荡5 min,移入1.5 ml无菌Eppendorf离心管中,12 000 r/min离心6 min,留取沉淀备用。(2)DNA提取:上述经处理的备用标本加入50 μ l DNA专用提取液,高速震

荡5 min,100 $^{\circ}$ C煮沸10 min,4 $^{\circ}$ C 12 000 r/min离心6 min备用。(3)荧光PCR定量检测:分别取处理后上清液5 μ l,加入50 μ l CMV-DNA检测体系中,在ABI-7000仪中进行检测,循环条件为:93 $^{\circ}$ C 2 min预变性;93 $^{\circ}$ C 45 s \rightarrow 55 $^{\circ}$ C 60 s,10个循环;93 $^{\circ}$ C 30 s \rightarrow 55 $^{\circ}$ C 45 s,30个循环;阴阳性对照、标准曲线和定量标本同时进行检测。

1.4 结果判断 将结果定义为每毫升外周血单个核细胞的CMV-DNA拷贝数,每毫升>1 000拷贝为阳性;咽拭子标本、尿液和痰液等标本CMV-DNA>25拷贝为阳性。

1.5 统计学方法 采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 两种检测方法结果 134例标本进行荧光定量PCR检测CMV-DNA,51例阳性(41.13%),其中血清阳性22例(36.66%),咽拭子阳性15例(53.57%),尿液阳性8例(40.00%),痰液阳性6例(46.15%);37例血清标本同时采用免疫印迹法检测CMV-IgM,阳性32例(86.49%);血清CMV-DNA和CMV-IgM检测阳性率差异有统计学意义($\chi^2 = 23.02, P < 0.01$)。

2.2 CMV-DNA与CMV-IgM检测结果组合模式 以CMV-DNA与CMV-IgM检测结果阴阳性不同按照4种模式进行组合,各种模式比例见表1。

表1 不同CMV-DNA与CMV-IgM组合模式比例

模式	n	构成比(%)
DNA(+)IgM(+)	12	32.43
DNA(+)IgM(-)	4	10.81
DNA(-)IgM(+)	20	54.05
DNA(-)IgM(-)	1	2.70
合计	37	100.0

注:DNA(+)是指血浆、痰液、尿液、乳汁标本中任一标本检测阳性即记为阳性,DNA(-)是指所有标本中CMV-DNA检测均未出现阳性

3 讨论

HCMV致病力较弱,但人群感染广泛,在全世界60%~90%的人群中潜伏。免疫抑制患者,如异基因干细胞移植前接受免疫抑制治疗,潜伏CMV的活化,特别是CMV引起的病毒性肺炎可能威胁生命,同时CMV对宫内胎儿有致畸作用^[3]。因此为早期、快速而准确的检测HCMV感染,及时给予治疗以降低疾病的严重性和死亡率,应从形态学、抗原以及核酸等3个层次采用HCMV检测技术对CMV感染进行快速诊断^[4]。

CMV分离培养困难,临床一般用血清学方法和分子生

[收稿日期] 2008-11-28

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院康复部 感染病科,安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 苏文(1969-),男,主治医师。

生物学方法辅助诊断。CMV 抗体一般在初次感染数周后才能检出,持续时间较长,使用血清学方法检测 CMV-IgM 和 IgG 抗体实际上是检测人体对 CMV 感染的免疫反应状态,无法检测病毒自身,也就无法更准确灵敏地反映 CMV 感染情况^[5]。在免疫抑制状态下,CMV 抗体产生常延迟或缺乏,影响阳性检出率。因此,血清学方法虽简单,但不很准确,只能用于 CMV 感染的筛选^[5]。荧光定量 PCR(FQ-PCR)是进行临床基因诊断的新型定量检测方法,不但具有 PCR 的高灵敏性,探针技术的高特异性和光谱技术的高精确定量的优点,而且在检测过程中采用闭管体系,以及全自动定量分析,不需要 PCR 后处理,避免了扩增产物污染造成的假阳性结果。PQ-PCR 的另一个优点是可以对 CMV 进行定量检测,对长期使用免疫抑制剂的移植患者或特异性感染患者,可依据病毒荷载量的变化合理进行临床治疗,并可更加有效地评估患者的治疗效果^[6,7]。

本文通过对多种标本 CMV 不同感染标志物检测,结果显示血液标本的 DNA 检测阳性率很低,而咽拭子、痰液和尿液标本的 DNA 检测阳性率相对较高,说明 CMV 是条件致病病毒,一般情况下可以潜伏寄生在呼吸道、泌尿生殖道等部位,一旦机体免疫力下降或进行侵入性治疗时,病毒会侵入血液系统,播散至全身,引起病毒血症等症状。FQ-PCR 是直接检测病毒核酸,而患者病毒血症持续时间较短,因此导致血液 CMV-DNA 检测阳性率不高,但血液 CMV-DNA 检测阴性并不能排除 CMV 感染,临床可以通过在患者发热或有典型病毒血症时采集标本,以提高 CMV-DNA 检测阳性率。相对于 CMV-DNA 检测,CMV-IgM 检测阳性率较高,原因可能是部分患者就诊时处于感染恢复期、非病毒活动期或自身免

疫功能改变,只能检测到 CMV-IgM。CMV-IgM 检测阳性只能说明可能有过 CMV 感染或者自身抗体的改变而导致检测结果假阳性,只有检测到 CMV-DNA 才能说明 CMV 感染,而且感染处于活动期。因此,对于 CMV 感染的诊断,应结合临床表现、抗体检查、DNV 检测等多种手段综合判断,加强临床与实验室的信息沟通,排除各种实验室检查的影响因素,避免误诊和漏诊。

[参 考 文 献]

- [1] 阮光平,王晓宁. 巨细胞病毒疾病的研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(1):81-83.
- [2] Onno M, Pangault C, Le Fric G, et al. Modulation of HLA-C antigen expression by human cytomegalovirus: specific induction in activated macrophages harboring human cytomegalovirus infection [J]. Immunol, 2000, 164(12):6426-6434.
- [3] Sipewa MJ, Goubau P, Bodeus M. Evaluation of a cytomegalovirus glycoprotein B recombinant enzyme immunoassay to discriminate between a recent and a past infection [J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(10):3689-3693.
- [4] 自剑,肖漓,石炳毅. 器官移植术后人巨细胞病毒感染的实验室诊断研究进展[J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(12): 2791-2793.
- [5] 闫淑媛,陈平洋. 人巨细胞病毒感染的实验室诊断研究进展 [J]. 国外医学·儿科学分册, 2005, 32(5):284-287.
- [6] 周君霞,何林. 荧光定量 PCR 技术在小儿尿液巨细胞病毒检测中的应用 [J]. 中国热带医学, 2007, 7(5):717-718.
- [7] 王卓莹,王缦,陈华,等. 巨细胞病毒感染 PCR 检测方法的建立 [J]. 中国生物制品学杂志, 2008, 21(3):231-234.

[文章编号] 1000-2200(2009)09-0827-02

· 临床医学 ·

神经外科患者各型低钠血症鉴别诊断及治疗探讨

兰荣宝,仇洪,兰展

[关键词] 血钠过少;脑外科;诊断,鉴别

[中国图书资料分类法分类号] R 591.1

[文献标识码] B

低钠血症是神经外科患者术后常见的并发症,治疗比较棘手,若得不到正确及时的诊断和治疗,不仅影响原发病的治疗,严重的甚至危及生命,影响患者预后。其常见病因包括营养性和利尿性低钠血症、脑性盐耗综合征(cerebral saltwasting syndrome, CSWS)、抗利尿激素分泌不当综合征(syndrome of inappropriate antidiuretic hormonesecretion, SIADH)以及尿崩症等^[1]。病因不同治疗方法亦不同,甚至相反。2004 年 1 月至 2008 年 1 月,我科术后发生低钠血症 128 例,经恰当的治疗均治愈,现将低钠血症的诊断及治疗对策作一报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本组 128 例,男 87 例,女 41 例;年龄 19~81 岁。血清钠浓度 <105 mmol/L 10 例,105~124 mmol/L 36 例, >124~134 mmol/L 82 例,肾功能均正常,血尿素氮、血肌酐一过性增高,治疗后恢复正常。均行血钠、血浆渗透压、尿钠、尿渗透压测定。部分患者行血浆精氨酸加压素测定。临床表现:除原发病表现以外,低钠血症多表现为昏迷、昏睡、烦躁不安、妄想、精神萎靡、发热、癫痫、抽搐、食欲不振、频繁恶心、呕吐、心率加快、乏力、腱反射减弱、皮肤干燥或全身水肿等。

1.2 低钠血症分型 按病因分为 4 型:(1)营养性或利尿性低钠血症 50 例;(2)CSWS 37 例;(3)SIADH 28 例;(4)尿崩症 13 例。

1.3 检测指标 丢失的钠盐量(mmol)=[血钠正常值

[收稿日期] 2009-03-24

[作者单位] 广西壮族自治区河池市人民医院 神经外科,547000

[作者简介] 兰荣宝(1971-),男,主治医师。