

一定的危害,妊娠又促使打鼾的发生和发展,打鼾孕妇易发生不良妊娠和危险妊娠,重者对胎儿生长发育造成一定的危害。所以对打鼾孕妇更应加强围生期的保健,建立优生管理网络,做好胎儿及新生儿疾病筛查,密切注意孕妇生理指标变化和胎儿的监测,早期干预、早期预防,杜绝出生缺陷儿的发生。

参考文献

1 Chaudhuri M, Garg SK, Narang A, *et al.* Kinetics of the ophylline in apnea of prematurity in small for gestational age babies. *Indian Pediatr*,1996,33(3):181-187

2 乐杰. 妇产科学. 第 6 版. 北京:人民卫生出版社,2005:92,130-145

3 Ip MS, Lam B, Launder IJ, *et al.* A Community Study of Sleep Disordered Breathing in Middle-aged Chinese Men in Hong Kong. *Chest*, 2001, 119(1):4-5

4 中华医学会呼吸病学分会睡眠呼吸疾病学组. 阻塞性睡眠呼吸综合征诊治指南(草案). *中华结核和呼吸杂志*,2002,25(4):195-198

5 朱淑盟. 袁义厘. 女性鼾症的发生因素分析及防治. *中国民族民间医药*,2009, 19(1):29-30

6 林良明. 低出生体重儿影响儿童的今天和未来. *中华预防医学杂志*,2002, 36(3):147-148

7 Loube DI, Poceta JS, Morales MC, *et al.* Self-reported snoring in

pregnancy: association with fetal outcome. *Chest*, 1996, 109(4): 885-889

8 朱文昭,舒畅. 打鼾对妊娠的影响(附 465 例孕妇分析). *临床耳鼻咽喉科杂志*,2002,16(6):295-296

9 Franklin KA, Holmgren PÅ, Jönsson F, *et al.* Snoring, Pregnancy-Induced Hypertension, and Growth Retardation of the Fetus. *Chest*, 2000, 117(1):137-141

10 Koken G, Sahin FK, Cosar E, *et al.* Oxidative stress markers in pregnant women who snore and fetal outcome: a case control study. *Acta Obstet Gynecol Scand*,2007, 86(11):1317-1132

11 Smith R, Wickings EJ, Bowman ME, *et al.* Corticotropin-releasing hormone in chimpanzee and gorilla pregnancies. *Clin Endocrinol Metab*,1999,84(2):2820-2825

12 黄聪史,文静,杜晓丽,等. 孕妇血浆 CRH 预测早产的研究. *广州医学院学报*,2005,33(5):33-36

13 夏敏,崔运河,蔡士香,等. 孕妇情绪异常对胎儿发育的影响. *济宁医学院学报*,1997,20(3):41-42

14 程怡民,袁伟,莱卫东,等. 北京、上海、成都三市剖宫产的影响因素研究. *中华流行病学杂志*,2003,24(2):893-896

(收稿:2010-09-22)

(修回:2011-01-19)

IgG 抗体亲和力指数在儿童巨细胞病毒感染诊断中的意义

郑晓群 余 坚 田可港 张 琪

摘 要 **目的** 探讨 IgG 抗体亲和力指数(AI)在儿童巨细胞病毒(HCMV)感染诊断中的意义。**方法** 分别收集 120 例临床疑似 HCMV 感染患儿的尿液和外周血标本,采用实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)和微粒子酶免化学发光法检测尿液 HCMV DNA 载量和血清 HCMV IgM/IgG 抗体;采用尿素变性结合酶联免疫吸附试验(ELISA)测定 HCMV IgG 抗体亲和力指数(AI)。**结果** 120 例疑似 HCMV 感染患儿的尿液 HCMV DNA、血清 HCMV IgM 和 HCMV IgG 阳性检出率分别为 70.83%(85/120)、60.83%(73/120)和 76.67%(92/120),差异有统计学意义($\chi^2=7.252, P=0.027$);25 例 HCMV IgM⁺/IgG⁺患儿中,以高亲和力抗体检出为主,占 92%(23/25);67 例 HCMV IgM⁺/IgG⁺患儿中,以低、中等亲和力抗体为主,分别占 26.87%(18/67)和 53.73%(36/67);高、中、低 IgG 抗体 AI 患儿尿液 HCMV DNA 阳性检出率分别为 36.11%(13/36)、86.84%(33/38)和 100%(18/18),差异有统计学意义($\chi^2=32.262, P<0.01$)。**结论** IgG 抗体亲和力指数测定能准确地反映 HCMV 感染的活动状况,有助于 HCMV 感染的诊断与治疗。

关键词 人巨细胞病毒 抗体 亲和力指数

The Diagnostic Significance of IgG Antibody Avidity Index in Children with HCMV Infection. Zheng Xiaoqun, Yu Jian, Tian Kegang, Zhang Qi. *The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325027, China*

Abstract Objective To investigate the diagnostic significance of the human cytomegalovirus (HCMV) specific IgG antibody avidity index (AI) in children with HCMV infection. **Methods** Urine and peripheral blood specimens of 120 clinical suspected cases with HC-

CMV infection were selected respectively. The urine HCMV DNA load and serum HCMV IgM/IgG of which were detected by fluorescent quantitative PCR (FQ-PCR) and microparticle enzyme chemiluminescence immunoassay. HCMV IgG avidity indexes were measured by urea degeneration combining enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The positive detection rate of HCMV DNA in urine, serum HCMV IgM and HCMV IgG in 120 patients with suspected HCMV infection were 70.83% (85/120), 60.83% (73/120) and 76.67% (92/120), and there was significant difference ($\chi^2 = 7.252, P = 0.027$). In 25 cases of HCMV IgM⁻/IgG⁺ children, high avidity antibody accounted for 92% (23/25). In 67 cases of HCMV IgM⁺/IgG⁺ children, the low and moderate avidity antibodies accounted for 26.87% (18/67) and 53.73% (36/67). The positive rate of urine HCMV DNA in high, moderate and low antibodies AI of children was 36.11% (13/36), 86.84% (33/38) and 100% (18/18) respectively, and there was significant difference ($\chi^2 = 32.262, P < 0.01$). **Conclusion** Determination of IgG antibody AI can accurately reflect the activities of HCMV infection status, which is helpful for diagnosis and treatment of HCMV infection.

Key words Human cytomegalovirus; Antibody; Avidity index

人巨细胞病毒 (human cytomegalovirus, HCMV) 为疱疹病毒科 β 属双股线性 DNA 病毒。发达国家人群 HCMV 的感染率为 40% ~ 60%, 发展中国家更高, 且多在婴幼儿时期发生^[1]。HCMV 在宿主体内的感染按时序可分为原发感染和再发感染, 约 5% 先天性原发 HCMV 感染患儿表现出一系列严重的临床症状, 因此敏感和有效地诊断 HCMV 感染显得尤其重要。目前 HCMV 感染的诊断有: 传统的病毒分离, 由于培养时间长, 要求条件高, 不适用于临床常规检查; 血 HCMV IgG 抗体不能判断现症感染, IgM 抗体检查的阳性率低; 血/尿 HCMV DNA 载量检测灵敏度高, 但不能反映感染的状态^[2,3]。本研究采用尿素变性结合酶联免疫吸附试验实验 (ELISA) 检测 HCMV IgG 抗体亲和力, 旨在探讨 IgG 抗体亲和力指数 (avidity index, AI) 在儿童 HCMV 感染诊断中临床意义。

对象与方法

1. 2009 年 7 ~ 12 月温州医学院附属育英儿童医院收治疑似 HCMV 感染患儿 120 例, 男性 71 例, 女性 49 例, 年龄 1 ~ 12 个月, 平均 7.6 ± 0.4 个月。入院诊断婴儿肝炎综合征 42 例, 特发性血小板减少性紫癜 16 例, 肠炎 30 例和上呼吸道感染 32 例。

2. 主要试剂与仪器: HCMV DNA 实时 FQ-PCR 试剂盒, 由广州达安基因诊断有限公司提供; HCMV IgG 抗体亲和力试剂盒, 由德国欧蒙公司提供; AB7500 荧光定量 PCR 仪, 美国 AB 公司生产; AXSYM 全自动化学发光仪, 美国 Abbott 公司生产等。

3. 血清 HCMV IgM/IgG 检测: 采用美国 Abbott 公司 AXSYM 全自动化学发光仪及配套试剂盒进行血清 HCMV IgM/IgG 抗体检测。

4. 尿液 HCMV DNA 测定: 采用实时 FQ-PCR 法, 选用 HCMV 病毒株 AD169 基因组中编码即刻早期转录调节蛋白的 IE 基因的一段高度保守的非编码区为扩增靶区域, 设计特异性引物及荧光探针。取新鲜混匀晨尿 1ml, $8000 \times g$ 离心 10min, 弃上清加 DNA 裂解液 50 μ l, 混匀, 沸水浴 10min, 冷却后 $10000 \times g$ 离心 5min, 取上清液 2 μ l 做实时 FQ-PCR 检测。具体按试剂盒说明书进行操作, 每次实验做标准曲线, 同时设

置阳性、阴性和空白对照。检测结果以病毒载量大于检测下限 500 copies/ml 为阳性。

5. HCMV IgG 抗体亲和力试验: 采用尿素变性结合酶联免疫吸附试验法, 具体操作步骤为: 在相应微孔板加入 100 μ l 标准品、稀释后标本 (1:101 稀释), 每份标本平行做 2 孔, 室温温育 30min, 倒掉微板内液体, 用 300 μ l 清洗缓冲液洗 1 次; 在第一条孔中加入 200 μ l 尿素溶液, 在相应的第 2 孔中加入 200 μ l 磷酸盐缓冲液, 室温温育 10min, 倒掉微孔板内液体, 用 300 μ l 清洗缓冲液洗 3 次; 每孔滴加 100 μ l 酶结合物, 室温温育 30min, 倒掉微孔板内液体, 用 300 μ l 清洗缓冲液洗 3 次; 每孔滴加 100 μ l 色原/底物混合液, 室温避光温育 15min, 每孔滴加 100 μ l 终止液; 比色前轻轻振动微孔板以使液体扩散均匀, 450nm 波长比色, 终止液后 30 min 之内完成。AI 值计算: AI = 经尿素处理的样本吸光度值/相应未经尿素处理的样本吸光度值 $\times 100\%$ 。AI 结果的意义: AI < 40% 为低亲和力抗体, 提示为原发感染; $40\% \leq AI \leq 60\%$ 为中等亲和力抗体; > 60% 为高亲和力抗体, 表示为过去感染 (包括病毒活化或再感染)。

6. 统计学方法: 使用 SPSS for Windows 15.0 软件包进行统计学分析。各组比较采用卡方检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. HCMV 感染患儿 3 种方法检测结果见表 1: 120 例 HCMV 感染患儿尿液 HCMV DNA、血清 HCMV IgM 及 HCMV IgG 阳性检出率经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 7.252, P = 0.027$); 其中血清 HCMV IgM⁻/IgG⁺ 占 20.83% (25/120), IgM⁺/IgG⁺ 占 55.83% (67/120), IgM⁻/IgG⁻ 占 18.34% (22/120), IgM⁺/IgG⁻ 占 5% (6/120)。

表 1 HCMV 感染患儿 3 种方法检测结果

方法	n	阳性数	阳性率 (%)
尿液 HCMV DNA	120	85	70.83
血清 HCMV IgM	120	73	60.83
血清 HCMV IgG	120	92	76.67

2. HCMV IgG 抗体 AI 结果:25 例 HCMV IgM⁻/IgG⁺ 患儿(A 组)与 67 例 HCMV IgM⁺/IgG⁺ 患儿(B 组)IgG 抗体 AI 检测结果见表 2,经 χ^2 检验,差异有统计学意义($\chi^2=40.457, P<0.01$),A 组 IgG 抗体以高亲和力为主,B 组以中、低亲和力为主。

表 2 两组患儿 HCMV IgG 抗体 AI 结果 [n(%)]

组别	n	IgG 抗体 AI		
		高	中	低
A	25	23(92)	2(8)	0(0)
B	67	13(19.40)	36(53.73)	18(26.87)

A 组与 B 组比较, $P<0.01$

3. 不同 IgG 抗体 AI 患儿尿液 HCMV DNA 阳性结果:高、中、低 IgG 抗体 AI 患儿尿液 HCMV DNA 阳性检出率分别为 36.11% (13/36)、86.84% (33/38) 和 100% (18/18),经 χ^2 检验,差异有统计学意义($\chi^2=32.262, P<0.01$)。

讨 论

HCMV 是婴幼儿和免疫力低下人群的主要病原体之一。婴幼儿 HCMV 感染最常累及肝脏,也可累及肺脏、血液、消化道等多个脏器,引起相应症状^[1]。HCMV 感染具有潜伏激活的生物学特性,一旦感染终生相伴,常呈潜伏感染状态,多种诱因可使潜伏的病毒被激活,引发明显的临床症状,具体机制目前尚不很清楚^[4]。HCMV 感染多呈亚临床感染或不典型的感染,对于感染状态的确定多依赖于有效的实验室检测。就 HCMV 感染的诊断而言,目前最大的困惑是如何区分潜伏感染与活动性感染、原发或继发性活动感染?

实时荧光定量 PCR 是目前准确、快速的分子生物学定量检测方法,能早期、灵敏地检测到 HCMV DNA,并可进行抗病毒治疗效果监测。由于尿液标本取材方便,本研究对疑诊 HCMV 感染的患儿进行尿液 HCMV DNA 测定,结果显示尿液 HCMV DNA 阳性检出率为 70.83%,提示 HCMV 感染普遍存在。但 HCMV DNA 阳性只能反映 HCMV 某一基因片段的存 在,不能准确反映病毒活动状态。HCMV IgM 抗体被作为实验室诊断活动性 HCMV 感染的重要指标之一,其阳性提示近期有 HCMV 活动性感染,但不能区分原发感染和再感染,且婴幼儿感染阳性率低。血清 IgM 和 IgG 同时检测有助于判断 HCMV 感染的状态,但对 IgM 和 IgG 同时阳性尚无法区分原发或继发感染。1989 年 Hedman 等^[5]首先采用尿素变性技术区分风疹病毒感染为原发感染或继发感染,其基本原理是宿主在初次接触抗原产生特异性 IgG 抗体的亲和

力随着免疫时间的推移会逐渐升高。该法同样适用于 HCMV 和其他病毒感染的诊断^[6-8]。

本研究应用尿素变性结合 ELISA 技术检测 HCMV IgG 阳性患儿的 Ig 抗体 AI,结果表明 HCMV IgM⁻/IgG⁺ 患儿 IgG 抗体以高亲和力为主,提示为过去感染(或再感染);HCMV IgM⁺/IgG⁺ 患儿 IgG 抗体以中、低亲和力为主,提示为原发感染或近期感染。另外,结果也表明中、低 IgG 抗体 AI 患儿尿液 HCMV DNA 阳性检出率高,分别为 86.84% 和 100%。因此,IgG 抗体亲和力检测对于全面判断 HCMV 感染是一个有效的补充,有助于评价其感染的时间。

综上所述,血清 HCMV IgM 抗体阳性提示存在 HCMV 活动性感染,但其检测受抗体自身代谢规律及交叉反应等限制。尿液 HCMV DNA 检测阳性能早期预测 HCMV 感染,但单纯依靠尿液 DNA 载量尚不能区分潜伏与活动性感染。IgG 抗体 AI 测定是目前区分原发或继发感染较特异的方法。因此,上述 HCMV 感染的诊断方法各有优缺点,临床上应综合尿液 HCMV DNA 载量、血清 HCMV IgM/IgG 抗体及 IgG 抗体 AI 测定结果,并结合临床表现全面判断患儿 HCMV 的感染状况。

参考文献

- Gandhi MK, Khanna R. Human cytomegalovirus; clinical aspects, immune regulation, and emerging treatments. *Lancet Infect Dis*, 2004, 4 (12): 725 - 738
- Cariani E, Pollara CP, Valloncini B, *et al.* Relationship between pp65 antigenemia levels and real - time quantitative DNA PCR for Human Cytomegalovirus management in immunocompromised patients [J]. *BMC Infect Dis*, 2007, 23(7): 138 - 140
- Lazzarotto T, Guerra B, Lanari M, *et al.* New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection[J]. *J Clin Virol*, 2008, 41(3): 192 - 197
- Reeves M, Sinclair J. Aspects of human cytomegalovirus latency and reactivation. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2008, 325: 297 - 313
- Hedman K, Rousseau SA. Measurement of avidity of specific IgG for verification of recent primary rubella[J]. *J Med Virol*, 1989, 27(4): 288 - 292
- Blackburn NK, Besselaar TG, Schoub BD, *et al.* Differentiation of primary cytomegalovirus infection from reactivation using the urea denaturation test for measuring antibody avidity[J]. *J Med Virol*, 1991, 33 (1): 6 - 9
- 张萌,侯林浦. 巨细胞病毒 IgG 特异性抗体亲和指数测定方法的研究[J]. *中国计划生育学杂志*, 2009, 164(6): 357 - 359
- Revello MG, Gorini G, Gerna G. Clinical evaluation of a chemiluminescence immunoassay for determination of immunoglobulin G avidity to human Cytomegalovirus[J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2004, 11(4): 801 - 805

(收稿:2010-09-14)