

299-304.

- [3] Malfertheiner P, Megraud F, O'morain CA, et al. Management of helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/Florence consensus report[J]. Gut, 2012, 61(5):646-664.
- [4] 陈月梅, 王敏, 张婷婷, 等. 8 536 例健康体检者幽门螺杆菌血清尿素酶抗体阳性率分析[J]. 实用预防医学, 2012, 19(2):254-255.
- [5] 高峰, 马春婷. 新疆维吾尔族与汉族患者幽门螺杆菌检出率分析[J]. 医学研究杂志, 2015, 44(9):97-99.
- [6] 胡品津, 胡伏莲. 中华医学会第 4 次全国幽门螺杆菌学术会议纪要[J]. 中华消化杂志, 2005, 25(11):698-699.
- [7] 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染的流行病学[J]. 中国医刊, 2007, 42(2):17-18.
- [8] 王蔚虹. 幽门螺杆菌的耐药性及根除治疗对策[J]. 中国实用内科杂志, 2010, 30(9):864-865.

- [9] 施正超, 余铭, 李克诚. 幽门螺杆菌的感染机制[J]. 中华消化内镜杂志, 2001, 32(1):64-65.
- [10] Sasidharan S, Lachumy SJ, Ravichandran M, et al. Epidemiology of helicobacter pylori among multiracial community in northern peninsular, Malaysia: effect of age across race and gender[J]. Asian Pac J Trop Med, 2011, 4(1):72-75.
- [11] 张万岱, 胡伏莲, 萧树东, 等. 中国自然人群幽门螺杆菌感染的流行病学调查[J]. 现代消化及介入诊疗, 2010, 15(5):265-270.
- [12] Marie MA. Seroprevalence of helicobacter pylori infection in large series of patients in an urban area of Saudi Arabia [J]. Korean J Gastroenterol, 2008, 52(4):226-229.

(收稿日期:2016-02-16 修回日期:2016-04-25)

## • 临床研究 •

## 8 种血液病患者人巨细胞病毒感染情况分析

徐爽, 吕晓丽, 邹菊贤, 杨文青, 李锐成, 沈建军, 张惠中<sup>△</sup>

(第四军医大学唐都医院临床实验与检验科, 西安 710038)

**摘要:**目的 探讨不同血液病患者人巨细胞病毒(HCMV)感染情况。方法 选取该院 8 种血液病患者共 274 例, 采用实时荧光定量 PCR 法对患者血液或尿液进行 HCMV DNA 检测。结果 血液病患者感染率由高到低依次为急性淋巴细胞白血病(ALL, 39.47%)、急性混合型白血病(AL, 28.57%)、急性非淋巴细胞白血病(ANLL, 26.15%)、再生障碍性贫血(AA, 20.34%)、骨髓异常增生综合征(MDS, 14.29%)、慢性粒细胞白血病(CML, 13.64%)、三系血细胞减少(0.40%), 19 例非霍奇金淋巴瘤(NHL)未检出 HCMV 感染。274 例患者总阳性率达 13.87%, 其中 AL 阳性率最高(23.02%)。肿瘤患者 HCMV 感染率高于非肿瘤患者, 感染率分别为 24.85% 和 13.76%, 差异有统计学意义( $\chi^2=4.339, P<0.05$ )。8 种血液病患者 HCMV DNA 载量均值为  $5.00 \times 10^3$  IU/mL, 最高达  $1.29 \times 10^6$  IU/mL。结论 8 种血液病患者存在不同程度的 HCMV 感染, 且肿瘤患者较非肿瘤患者感染率更高。

关键词: 血液病; 人巨细胞病毒; 实时荧光定量 PCR

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.049

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)20-2915-03

人巨细胞病毒(HCMV)属  $\beta$  疱疹病毒亚科, 属广泛传播的机会致病病毒, 在人群中血浆免疫球蛋白 G(IgG) 抗体阳性率为 40%~100%<sup>[1]</sup>。免疫功能正常者初次感染后无症状, 大部分病毒被免疫系统清除, 少部分呈潜伏状态, 但当抵抗力下降, 潜伏病毒被重新激活, 引起活动性感染甚至致死性损伤, 其中血液系统是其感染的主要受累部位之一<sup>[2-3]</sup>。HCMV 干扰造血功能, 使造血细胞增殖和分化, 导致间质性肺炎病死率高达 80% 以上<sup>[4-5]</sup>。近年来, 分子生物学技术的发展为病毒感染诊断开辟了新途径, 其中实时荧光定量 PCR 法因其灵敏、特异、光谱技术敏感及精确定量的特点得到广泛应用。该技术全程全封闭反应, 从根本上解决 PCR 扩增产物污染问题, 具有较高的灵敏度、特异性、精确性, 高效率、污染小等特点, 为临床及科研提供及时、准确、可靠的实验室数据<sup>[6]</sup>。现应用实时荧光定量 PCR 法检测 8 种血液病患者 HCMV DNA, 报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2013 年 1 月至 2015 年 12 月该院住院血液系统疾病患者 274 例, 其中急性混合型白血病(AL)21

例, 慢性粒细胞白血病(CML)22 例, 急性淋巴细胞白血病(ALL)38 例, 急性非淋巴细胞白血病(ANLL)65 例, 非霍奇金淋巴瘤(NHL)19 例, 三系血细胞减少 36 例, 骨髓异常增生综合征(MDS)14 例, 再生障碍性贫血(AA)59 例。

**1.2 仪器与试剂** 仪器为美国 ABI-7500 型实时荧光定量 PCR 扩增仪, 人巨细胞病毒核酸检测试剂盒由中山大学达安基因股份有限公司生产。

**1.3 方法** (1) 血液标本: 抽取患者血液 3 mL, 4 000 r/min 离心 5 min, 吸取血清 100  $\mu$ L 置于 0.5 mL 无菌 Eppendorf 管内, 加入等量 DNA 提取液振荡混匀, 100  $^{\circ}$ C 恒温处理 10 min, 12 000 r/min 离心 5 min, 上清液备用。(2) 尿液标本: 嘱患者用无菌生理盐水或洁净清水冲洗外阴部后留取初尿液(晨尿)于无菌尿杯中。(3) 非血性尿标本: 将尿液倒入无菌干燥管, 14 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 沉淀中加无菌生理盐水, 振荡混匀, 14 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液留沉淀。(4) 血性尿标本: 将尿液倒入无菌干燥管, 14 000 r/min 离心 5 min, 弃上清, 沉淀中加无菌去离子水振荡混匀, 14 000 r/min 离心 5

min, 弃上清液留沉淀, 重复洗涤直至上清液清亮(去除红细胞)后留沉淀。向沉淀中加 50 μL DNA 提取液振荡混匀, 100 °C 恒温处理 10 min, 12 000 r/min 离心 5 min, 上清液备用。

**1.4 基因扩增与结果判读** 分别吸取样品 DNA、质控品 DNA 和阳性定量参考品各 2 μL 于扩增管中, 8 000 r/min 离心 1 min 后上机扩增, 每次扩增均设阳性、阴性对照和空白对照。扩增参数为 93 °C 预变性 120 s; 93 °C 45 s → 55 °C 60 s, 10 个循环; 93 °C 30 s → 55 °C 45 s, 30 个循环, 55 °C 时采集荧光。根据阳性定量参考品扩增结果分析并调节基线和阈值, 线性相关系数( $r$ ) > 0.98。若增长曲线不呈 S 型或 CT 值等于 30, 则判定检测结果为阴性, 若增长曲线呈 S 型且 CT 值小于 30, 结果为阳性。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS16.0 统计软件进行数据分析, 计数资料以例数和百分比表示, 组间比较使用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 8 种不同血液病患者 HCMV DNA 检测结果比较** 274 例患者 HCMV 感染 56 例, 感染率 20.44%。其中 ALL 患者感染率最高(39.47%), 其次为 AL 和 ANLL(28.57% 和 26.15%)。274 例患者共检测 1 233 例次, 总阳性率达 13.87%, 其中 AL、ALL、ANLL 占阳性总例数的比例较高, 分别为 23.02%、17.80%、14.40%。

**2.2 肿瘤患者和非肿瘤患者阳性率结果比较** CML、ALL、ANLL、AL、NHL 共 165 例, HCMV 感染 41 例, 感染率 24.85%; 非肿瘤性血液病患者感染率为 13.76%, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.962, P < 0.05$ )。见表 1。

**2.3 5 种血液病患者 HCMV DNA 载量分析** 同一疾病患者之间病毒载量差异较大, 最高可达  $1.29 \times 10^6$  IU/mL, 5 种血液病患者 HCMV DNA 载量不同, 但均值为  $5.00 \times 10^3$  IU/mL。见表 2。

表 1 肿瘤患者和非肿瘤患者阳性率结果比较

类别	<i>n</i>	阳性例数( <i>n</i> )	阳性比例(%)	占阳性总数比例(%)	$\chi^2$	<i>P</i>
肿瘤血液病	165	41	24.85	73.21(41/56)	4.962	0.026
非肿瘤血液病	109	15	13.76	26.79(15/56)		

表 2 5 种血液病患者的 HCMV DNA 载量分析

临床诊断	阳性例数( <i>n</i> )	$x_{\min} \sim x_{\max}$ (IU/mL)	阳性例数 检测值均值(IU/mL)
CML	9	$1.44 \times 10^2 \sim 2.52 \times 10^4$	$5.46 \times 10^3$
ALL	42	$1.03 \times 10^2 \sim 1.29 \times 10^6$	$3.33 \times 10^3$
ANLL	53	$2.14 \times 10^2 \sim 5.62 \times 10^4$	$3.59 \times 10^3$
AL	29	$1.01 \times 10^2 \sim 5.62 \times 10^4$	$2.97 \times 10^3$
AA	31	$2.09 \times 10^2 \sim 3.80 \times 10^4$	$4.78 \times 10^3$

## 3 讨 论

HCMV 属于疱疹病毒科, 是特异性 DNA 病毒, 自首次分离后被证实是一种在人群中广泛存在的感染因子<sup>[7]</sup>。因 HCMV 在体内可感染 T 细胞、B 细胞、NK 细胞及单核细胞, 进一

步造成免疫抑制, 因此免疫功能低下者较健康者更易感染。随着现代生物医学的发展, 造血干细胞移植取得长足进步, 尤其是在血液恶性疾病的危险分期和分层治疗中得到广泛应用, 较大改善疾病预后, 但移植后细胞免疫和体液免疫功能下降, 致使患者易发生病毒(单纯疱疹病毒、带状疱疹病毒、EB 病毒、巨细胞病毒)感染, 其中 HCMV 感染发生率较高<sup>[8]</sup>。目前, 国内外对 HCMV 致病的研究多集中于新生儿及器官移植患者, 实际上多数血液病同样会对机体免疫系统造成损害, 导致机体免疫功能下降, 从而诱发 HCMV 再次活化<sup>[9]</sup>。

本研究结果显示, 274 例患者 HCMV 感染者 56 例, 感染率 20.44%, 其中 ALL 患者感染率最高, 达 39.47%, 其次为 AL, 占 28.57%, 可能与 HCMV 在体内易感染 T 细胞、B 细胞及单核细胞, 造成免疫抑制有关。本组 AA 患者 HCMV 感染率达 21.53%, 在 8 种疾病的阳性总例数中占 20.34%。桂敏等<sup>[10]</sup>研究表明, HCMV 活动性感染可使造血干细胞明显减少, 引起造血衰竭, 但因骨髓 HCMV 活动性感染导致部分再生障碍性白血病的发生, 还是骨髓 HCMV 活动性感染加重再生障碍性白血病, 有待于进一步研究。本组 274 例患者共检测 1 233 例次, 总阳性率达 13.87%, 其中 ANLL 所占比例最高, 其次为 AA 和 ALL, 这一结果除了与 HCMV 易感染免疫细胞造成免疫抑制有关, 还可能与疾病的状态和监测时间间隔有关, 提示合理的病毒检测策略对感染的控制至关重要。

Tabata 等<sup>[11]</sup>研究表明, HCMV 感染能刺激肿瘤细胞 TGF- $\beta$ 1 的产生和激活, 逃避宿主的免疫应答, 且在 HCMV 感染的不同组织中发现 HCMV 增加内皮细胞中整合蛋白  $\alpha v \beta 6$  的表达, 从而进一步激活 TGF- $\beta$ 1 分泌, 抑制宿主的免疫应答, 促进肿瘤的发生和发展。本研究结果说明, 肿瘤患者 HCMV 感染率(24.85%)高于非肿瘤患者(13.76%), 差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.962, P < 0.05$ ), 提示除与上述机制有关外, 肿瘤患者免疫状态低于非肿瘤患者, 因而更易诱发 HCMV 感染及其他机会病原体感染。此外, 免疫功能低下者白血病发病率明显升高, 一旦发病可使机体免疫功能进一步受损, 减弱免疫系统对肿瘤细胞的免疫监视和抗感染能力, 致使病毒活化和激活, 进一步加重病情。

本研究结果显示, 同一疾病患者之间病毒载量差异较大, 最高数值可达  $1.29 \times 10^6$  IU/mL, 5 种血液病患者 HCMV DNA 的载量不同, 但均值多集中在  $5.00 \times 10^3$  IU/mL。目前尚无明确定义合适的病毒载量判断感染的轻重。国外研究显示大于  $5.00 \times 10^3$  IU/mL 具有较高的患 HCMV 风险<sup>[12]</sup>。国内也有研究显示 HCMV DNA 大于  $5.00 \times 10^3$  IU/mL 时病情转归均较差<sup>[13]</sup>。所以, 及时监测并准确定量血液病患者 HCMV DNA 载量, 可帮助临床及早治疗, 缩短治疗时间, 并为评估治疗方案的成功与否和耐药性的出现提供重要依据。

综上所述, 不同血液病患者存在不同程度 HCMV 感染, 且肿瘤患者较非肿瘤患者感染率更高, 实时定量 PCR 法检测 HCMV DNA 具有快速、高灵敏度和特异度, 有重要的临床应用价值。

## 参 考 文 献

[1] Zhang X, Huang YP, Gao HN, et al. Quantification of cytomegalovirus glycoprotein Bn DNA in hematopoietic

stem cell transplant recipients by real-time PCR[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e51224.

[2] 浮苗, 田可港, 郑晓群. 人巨细胞病毒潜伏感染相关基因研究进展[J]. *中国病原生物学杂志*, 2014, 9(12): 1134-1138.

[3] 何政贤, 潘思年, 陈健良, 等. 人巨细胞病毒对造血系统的影响[J]. *中华儿科杂志*, 2003, 41(5): 321-324.

[4] Ichihara H, Nakamae H, Hirose A, et al. Immunoglobulin prophylaxis against cytomegalovirus infection in patients at high risk of infection following allogeneic hematopoietic cell transplantation[J]. *Transplant Proc*, 2011, 43(10): 3927-3932.

[5] 刘川, 邹叶青, 石庆芝. 造血干细胞移植中人巨细胞病毒检测: 荧光定量聚合酶链反应的早期诊断价值[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(28): 4563-4567.

[6] 阮强, 何蓉. 人巨细胞病毒感染的实验室检测与诊断[J]. *实用儿科临床杂志*, 2012, 27(10): 729-731.

[7] Muoz-Cobo B, Solano C, Costa E, et al. Dynamics of cytomegalovirus (CMV) plasma DNAemia in initial and recurrent episodes of active CMV infection in the allogeneic stem cell transplantation setting: implications for designing preemptive antiviral therapy strategies[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2011, 17(11): 1602-1611.

[8] 金欣, 陈建魁, 于农, 等. 荧光定量聚合酶链反应监测造血

干细胞移植后巨细胞病毒感染[J]. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(6): 1431-1432.

[9] Capria S, Gentile G, Capobianchi A, et al. Prospective cytomegalovirus monitoring during first-line chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia[J]. *J Med Virol*, 2010, 82(7): 1201-1207.

[10] 桂敏, 周东风, 孟浦, 等. 再生障碍性贫血患儿骨髓内人巨细胞病毒活动性感染对造血功能的影响[J]. *实用儿科临床杂志*, 2008, 23(22): 1763-1764.

[11] Tabata T, Kawakatsu H, Maidji E, et al. Induction of an epithelial integrin alphavbeta 6 in human cytomegalovirus-infected endothelial cells leads to activation of transforming growth factor-beta1 and increased collagen production[J]. *Am J Pathol*, 2008, 172(4): 1127-1140.

[12] Hadaya K, Wunderli W, Deffernez C, et al. Monitoring of cytomegalovirus infection in solid-organ transplant recipients by an ultrasensitive plasma PCR assay[J]. *J Clin Microbiol*, 2003, 41(8): 3757-3764.

[13] 赵晓涛, 张正, 张彦荣, 等. 荧光定量聚合酶链反应检测移植受者的巨细胞病毒 DNA 载量[J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(5): 438-440.

(收稿日期: 2016-02-16 修回日期: 2016-04-18)

• 临床研究 •

## 2012~2015 年耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌临床分布及耐药性

李金杰

(安徽省淮南市朝阳医院检验科 232007)

**摘要:**目的 探讨院内感染致耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌(CR-AB)的临床分布和耐药性。方法 回顾性分析 2012 年 1 月至 2015 年 6 月该院住院患者 CR-AB 院内感染情况, 采用纸片琼脂扩散法对菌株进行药物敏感试验。结果 共检出 CR-AB 130 株, 主要分布在 ICU 病房, 占 57.7%(75/130)。痰液是 CR-AB 最主要的标本来源, 占 63.08%。CR-AB 对多数抗菌药物的耐药率均达到 50.00% 以上, 但对米诺环素(27.69%)、丁胺卡那霉素(25.38%)、妥布霉素(16.15%)耐药率均低于 30.00%, 未发现耐多黏菌素的菌株。结论 CR-AB 耐药性较严重, 应加强对重点科室的管理, 合理选择有效的抗菌药物, 防止 CR-AB 传播。

**关键词:**院内感染; 碳青霉烯类; 鲍曼不动杆菌

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.050

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)20-2917-03

院内感染是医疗卫生界面临的一个非常重要的公共卫生问题, 院内感染不仅增加患者的病死风险, 而且带来巨额医疗费用, 加大患者的经济负担。据报道, 美国平均每年约有 2 百万人口发生院内感染, 其中病死数达 6~9 万人; 我国院内感染的发病率可达 6%~8% 之多<sup>[1]</sup>。目前, 随着各种多重耐药菌如耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌(CR-AB)、泛耐药铜绿假单胞菌(PDRPA)、产超广谱-内酰胺酶(ESBL)的革兰阴性杆菌等的产生与广泛传播, 以及临床侵入性诊疗技术的普遍开展, 院内感染的防控形势越来越严峻。CR-AB 是革兰阴性菌引起院内感染最多见的多重耐药致病菌, 随着检出率的不断增加及耐药性的不断上升, 选择合理治疗的药物难度越来越大<sup>[2]</sup>。现探讨院内感染 CR-AB 的临床

分布和耐药性, 为多重耐药菌感染的治疗措施的制订、抗菌药物的合理选用及多重耐药菌感染的有效预防提供参考资料。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2012 年 1 月至 2015 年 6 月该院住院患者的各类标本, 主要包括痰液、尿液、血液、脓液、胆汁、分泌物、引流物等。

**1.2 菌株分离与鉴定** 严格参照《全国临床检验操作规程(第 3 版)》进行细菌分离培养<sup>[3]</sup>, 初选菌株利用 VITEK-2 compact 全自动微生物分析仪鉴定完成最终确认。院内感染的确认按照原卫生部《院内感染诊断标准》。

**1.3 药物敏感试验** 采用 K-B 纸片扩散法进行试验, 结果严格按照美国临床实验室标准委员会(2012)的要求进行判