DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.09.028
第25卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 9
2003年5月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE May. 2003

文章编号:1000-5404(2003)09-0809-03

论著

肾移植术后巨细胞病毒检测的临床意义

张志成,邓少丽 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所检验科,重庆 400042)

提 要:目的 探讨肾移植术后检测巨细胞病毒感染的意义。方法 利用酶联免疫吸附法(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)以及聚合酶链反应(Polymerase chain reaction, PCR)检测肾移植术后受者血清中的抗-CMV抗体及CMV-DNA。结果 检测了72例肾移植术后的受者抗-CMV抗体及CMV-DNA,抗-CMV抗体及CMV-DNA阳性率均明显高于术前($P<0.01$),其中25%的CMV感染者发展为CMV病。移植术后CMV-DNA阳性者发生急性排斥反应的几率明显高于CMV-DNA阴性者。结论 检测肾移植受者血清中的抗-CMV抗体及CMV-DNA可以协助诊断肾移植受者是否感染CMV以及引起的CMV病,对临床治疗肾移植术后CMV病有着重要的意义。

关键词:肾移植;巨细胞病毒抗体;巨细胞病毒DNA
中图法分类号:R446.5;R619;R699.2 文献标识码:A

Clinical significance of cytomegalovirus detection after kidney transplantation

ZHANG Zhi-cheng, DENG Shao-li (Laboratory Department, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: **Objective** To investigate the significance of the detection of cytomegalovirus (CMV) infection after kidney transplantation. **Methods** The serum CMV antibody (anti-CMV) and CMV-DAN of 72 recipients before and after transplantation were detected respectively by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and polymerase chain reaction (PCR). **Results** The levels of serum CMV antibody and CMV-DNA of 72 recipients after transplantation were significantly higher than those of pre-operation ($P<0.01$), among which 25% CMV infected recipients developed CMV disease. The possibility of acute rejection in CMV-DNA positive patients was obviously higher than that in CMV-DNA negative ones. **Conclusion** Detection of serum CMV antibody and CMV-DNA in renal transplantation recipients is helpful for the diagnosis of CMV infection and CMV disease and is of great importance in the treatment of CMV disease after kidney transplantation.

Key words: kidney transplantation; cytomegalovirus antiboby; cytomegalovirus DNA

巨细胞病毒(Cytomegalovirus, CMV)感染是肾移植术后最常见的感染之一。巨细胞病毒感染分原发和激活感染[1]。同种异体肾移植患者术后发生CMV感染十分普遍[2],部分免疫功能低下或缺失的受者可能会发展为有严重临床症状的CMV病(或称CMV综合征)。导致部分肾移植肾功能丧失或死亡。大量迹象表明CMV可能是诱发肾移植急慢性排斥反应的重要因素[3,4]。因此检测肾移植患者术后CMV时临床治疗肾移植术后受感染以及纠正排斥反应有着重要意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

1999年1月至2002年1月在本院接受肾移植的72例病人。其中男性43例、女性29例,年龄25~61岁,平均49.5岁,均未发生超急性排斥反应。所有受者术后均先用甲基波尼松龙预防排斥,待血清肌酐(Cr)<250 μmol/L时使用环孢素A+强的松+硫唑嘌呤(CSA+pred+Aza)三联免疫抑制剂。正常对照40人,男性28人、女性12人,年龄17~56岁,平均39.3岁,均为门诊健康体检人员。

1.2 研究方法

1.2.1 正常人、供者、受者血清中抗-CMV抗体检测 采取不抗凝血3 ml,分离血清;测定按试剂盒进行,CMV抗体检测试剂盒由万泰生物技术有限公司提供。供受者阳性、阴性分别以D+、D-及R+、R-表示。供、受者术前检查1次。受者术后3个月内每周检测1次。

1.2.2 肾移植病人CMV-DNA检测 抽取病人抗凝血4 ml,离心分离出白细胞,从白细胞中提取CMV-DNA,用聚合酶联反应(PCR)检测提取白细胞中有无CMV-DNA,测定按试剂盒说明进行。

CMV-DNA检测试剂由上海复生生物工程研究所提供。供者与受者术前检查1次。受者术后3个月内每周检测1次。

1.3 统计学处理

两组之间率的比较用χ^2检验。

作者简介:张志成(1962-),男,四川省巴中市人,主管技师,主要从事肾移植病人巨细胞病毒感染检测方面的研究。电话:(023)68757272

收稿日期:2002-08-27;修回日期:2003-02-18

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 结果

2.1 肾移植受者手术前、后抗-CMV 和 CMV-DNA 检测结果

肾移植受者术前抗-CMV 抗体和 CMV-DNA 阳性例数与正常对照组相比无显著性差别($P>0.05$)，见表1，但受者术后抗-CMV 抗体和 CMV-DNA 阳性率非常显著高于对照组和术前组($P<0.01$)，见表1。

表1 肾移植受者手术前、后抗-CMV 和 CMV-DNA 检测结果

Tab 1 The detected results of anti-CMV, CMV-DNA before and after kidney transplantation

	Anti-CMV			CMV-DNA		
	Positive	Positive rate (%)	Negative	Positive	Positive rate (%)	Negative
Control goup	24	60.0	16	0	0	40
Pre-operation	39	54.1	33	0	0	72
Post-operation	61	84.7 **##	11	44	61.1 **##	28

**: $P<0.01$ *vs* control group; ##: $P<0.01$ *vs* pre-operation group

2.2 肾移植受者术前抗-CMV 抗体与术后 CMV-DNA 的关系

所有肾移植受者术前 CMV-DNA 均为阴性。但是，术后3个月内44例(61.1%)肾移植受者外周血细胞中 CMV-DNA 呈现阳性，其中31例术前抗-CMV 抗体为阳性，见表2。另外，44例 CMV-DNA 阳性者中有11例(25%)发生有临床症状的 CMV 病。

表2 72例肾移植受者术前抗-CMV 抗体与术后 CMV-DNA 的关系

Tab 2 The relationship between anti-CMV in pre-operation group and CMV-DNA in post-operation group of the 72 recipients

CMV-DNA after operation	Sample	Anti-CMV before operation (n)		
		Positive	Positive rate (%)	Negative
Positive	44*	31	(70.5)	13
Negative	28	6	(27.3)	22

*: including 11 CMV disease patients

2.3 肾移植术前供、受者血清抗-CMV 抗体与受者 CMV-DNA 的关系

术前肾移植供、受者抗-CMV 抗体均为阴性时，肾移植受者术后 CMV-DNA 阳性发生率非常明显低于其他组患者($P<0.01$)，见表3。

表3 肾移植术前供、受者血清抗-CMV 抗体与受者 CMV-DNA 的关系

Tab 3 The relationship of recipients CMV-DNA and anti-CMV of donors and recipients before operation

Anti-CMV		Sample	CMV-DNA positive after operation (positive rate %)
D^-	R^-	25	3(12.0)
D^+	R^-	14	12(85.7)**
D^+	R^+	19	18(94.7)**
D^-	R^+	14	11(78.6)**

D^+, D^-: The positive and negative anti-CMV in donors; R^+, R^-: The positive and negative anti-CMV in recipients; **: $P<0.01$ *vs* D^-R^-

2.4 CMV-DNA 与肾移植术后发生排斥反应的关系

72例肾移植术后3个月内 CMV-DNA 阳性者发生急性排斥反应的几率明显高于 CMV-DNA 阴性者($P<0.01$)，见表4。

表4 CMV-DNA 与肾移植术后发生排斥反应的关系

Tab 4 The relationship of reaction after operation and CMV-DNA

CMV-DNA	Sample	Sample of repel reaction (positive rate %)
Positive	44	23(52.2)**
Negative	28	2(7.1)

**: $P<0.01$ *vs* CMV-DNA negative

3 讨论

巨细胞病毒是疱疹病毒科β属的 DNA 病毒，发达国家正常人群血清抗-CMV 抗体检出率约为40%~60%，发展中国家可达90%以上[5]。初次感染巨细胞病毒在两周后即可检测病人血清中抗-CMV 抗体。正常人 CMV 感染多为隐性感染或症状轻微，但在新生儿、器官移植受者以及免疫功能低的人群，CMV 感染可以引起严重的临床症状，可导致病人间质性肺炎、致盲性 CMV 视网膜炎和器官移植后发生排斥反应。虽然 CMV 的多种蛋白具有抗原性，可以引起体液免疫应答，产生多种抗体，但抗体的免疫保护性弱，不足以防止 CMV 再次感染，体内有较高水平抗体者仍可感染 CMV 而发展成 CMV 病。CMV 通常和宿主细胞结合，主要激活补体及抗体依赖的细胞毒杀伤作用。

本研究72例肾移植受者术后检测其外周血 CMV-DNA 发现44例 CMV-DNA 阳性，而术前检测受者 CMV-DNA 未检出。CMV-DNA 的检出表明体内有 CMV 复制，存在着活动性 CMV 感染，其原因可能是肾移植患者术后为防止排斥反应，大量使用免疫抑制剂，肾移植受者术后处于免疫抑制状态，诱发潜伏的病毒激活[1,3]。目前文献[6]报道 CMV 活动性感染率为42%~93%，本试验发现术后3个月内 CMV 感染发生率为61.1%，而与术前供受者是否感染 CMV 密切相关，即受者体内潜伏的 CMV 被激活和来源于供者的获得性感染是受者发生活动性感染的主要原因。尤其是血清抗-CMV 抗体阴性的受者接受阳性供者，一般认为源于供者的 CMV 感染主要通过组织器官获得[7]。72例肾移植受者术后 CMV-DNA 阳性出现排斥反应的几率明显高于术前 CMV-DNA 阴性病人，导致此现象的原因尚不完全清楚。可能是 CMV 改变了受感染细胞的某些基因表达，使受者的移植器官遭到免疫攻击。此外，异体移植肾常为 CMV 感染的焦点，局部的炎症损伤也可诱发急慢性排斥反应[8]。

研究表明检测肾移植受者血清抗-CMV 抗体及 CMV-DNA 对临床预防 CMV 感染，防止和治疗肾移植

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

后 CMV 病有着重要的价值。

参考文献：

[1] 赵 缜. 移植病人中 HCMV 激活感染标志的研究进展[J]. 国外医学病毒学分册, 2001, 8(6): 180－182.

[2] Hibberd P L, Surman O S, Bass M, *et al*. Psychiatric disease and cytomegalovirus viremia in renal transplant recipient[J]. Psychosomtics, 1995, 36(6): 561－563.

[3] Akposso K, Rondeau E, Haymann J P, *et al*. Long-term prognosis of renal transplantation after pre-emptive treatment of cytomegalovirus infection[J]. Transplantation, 1997, 63(7): 974－976.

[4] Yilmaz S, Koskinen P K, Kallio E, *et al*. Cytomegalovirus infection enhanced chronic kidney allograft rejection is linked with intercelluar adhesion molecule-expression[J]. Kidney Int, 1996, 50(2): 526－537.

[5] Muller G A, Muller C A, Einsele H, *et al*. Cytomegalovirus infection: How to manage it in the immunocomprised transplant recipient[J]. Nephrol Dial Transplant, 1994, 9(1): 3－4.

[6] Willen J, Son V, Eric J, *et al*. Pneumatosis intestinalis in patients after cadaveric kidney transplantation: possible relationship with an active cytomegalovirus infection[J]. Transplantion, 1984, 38(5): 506－510.

[7] Steel H M, Murday A J. Cytomegalovirus as a cause of morbidity in heart transplantation[J]. Transplantation, 1996, 62(4): 492－495.

[8] Craigen J L, Grundy J E. Cytomegalovirus induced up-regulation of LFA-3 (CD58) and ICAM-1(CD54) is a direct viral effect that is not prevented by ganciclovir or foscarent treatment[J]. Transplantation, 1996, 62(8): 1102－1108.

（编辑 张大春）

文章编号：1000-5404(2003)09-0811-01

个案与短篇

烧伤感染创面痂下组织细菌的分离和药敏试验

Isolation and antibiotic sensitivity testing of bacteria in subeschar tissue of infected burn wound

王配合，彭毅志 （第三军医大学附属西南医院全军烧伤研究所，重庆 400038）

感染是烧伤病人的主要死亡原因，也是各脏器衰竭的原始动因[1]。同时，烧伤后感染也是治疗的难点之一，烧伤创面既是细菌良好的培养基，又是细菌繁殖和造成侵袭性感染的主要途径之一[2]。烧伤病人感染创面痂下组织细菌培养及定量可直接反映侵入深层的致病菌和菌量，也反映细菌的百分比，有助于区分主要致病菌（优势菌），比创面培养更具有参考价值，对判断感染程度、指导临床治疗具有重要价值[1]。回顾性创面痂下组织细菌学调查，可为临床经验性治疗及正确选择抗生素治疗提供参考。本研究总结了近期 365 例严重烧伤病人切（削）痂时下组织细菌调查结果。

1 材料和方法

1.1 材料

菌株：均分离自第三军医大学附属西南医院烧伤研究所病房 365 例病人，共获痂下组织细菌定量标本 450 份。用普通培养基和选择性培养基进行培养。各种抗生素纸片均由厂家提供或购买。

1.2 方法

采用铂环法[1]进行细菌定量培养，采用细菌鉴定手册的方法进行菌种鉴定。

严格按照美国临床实验室标准化委员会（NCCLS）制定的指南下进行纸片扩散法药敏鉴定。所监测的抗生素有：万古霉素、舒普深、头孢他啶、头孢唑啉、头孢呋辛、阿米卡星、环丙沙星。以行列表 χ^2 检验进行统计学分析。

2 结果

2.1 一般情况

痂下组织定量标本 450 份中，阳性标本 390 份，阳性率为 86.7%，其中菌量大于 105 cfu/g 的标本为 165 例，占 36.7%；痂下组织菌种分布在阳性标本中，G^- 杆菌感染共为 8 种细菌占 51.5%，居前三位的分别为绿脓杆菌为 24.1%、沙雷氏菌为 7.7%、硝酸盐阴性杆菌为 7.2%；G^+ 球菌感染占 46.2%，其中金葡菌占 41.5%，居第一位。

2.2 药敏结果

在 G^+ 球菌药敏结果中，见表 1。虽然金葡菌对万古霉素保持 100% 敏感率，但因其抗菌谱较窄只对 G^+ 球菌有效，故不做为经验性用药考虑（因本所细菌室当时没有泰能纸片及其它抗生素药敏监测结果过少故没有列入比较）。其次舒普深为 76%、头孢他啶为 60%，最低则是环丙沙星为 40%；舒普深对粪链球菌敏感率最低为 60%，但仍高于其它抗生素；对所有 G^+ 球菌舒普深、头孢他啶平均敏感率分别为 75%、59%，最低平均敏感率则是环丙沙星及阿米卡星均为 42%。

在 G^- 杆菌药敏结果中，见表 2。对绿脓杆菌，舒普深、头孢他啶敏感率分别为 99%、81%，最低则是阿米卡星为 52%；舒普深对嗜麦芽假单胞菌敏感率最低为 59%，低于环丙沙星 62%；对所有 G^- 杆菌，舒普深、头孢他啶平均敏感率分别为 87% 和 78%，最低平均敏感率则是阿米卡星为 51%。

（下转 817 页）

作者简介：王配合（1972－），男，河北省邯郸市人，医师，主要从事烧伤感染研究及临床救治方面的研究。现在河北省石家庄市白求恩国际和平医院烧伤整形科。电话：(0311)7998354

收稿日期：2001-11-15；修回日期：2002-06-18

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net