

## 431例HIV/AIDS患者巨细胞病毒感染情况的调查分析

张路坤 王辉 孙丽琴 王思苑

**【摘要】** 目的 调查HIV/AIDS患者中巨细胞病毒(CMV)感染情况,比较血抗-CMV-IgM、血或尿CMV DNA载量等实验室指标以判断CMV感染的阳性检出率。方法 采用化学发光免疫分析法(CLIA)和荧光定量PCR(FQ-PCR)方法分别检测HIV/AIDS患者的血抗-CMV-IgM、血/尿CMV DNA载量;同时计数外周血CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞,收集患者高效抗逆转录病毒治疗(HAART)情况。结果 431例HIV/AIDS患者中,共检出CMV DNA阳性者148例,阳性率为34.34%。合并CMV感染的HIV/AIDS患者CD4<sup>+</sup>T细胞计数显著低于非CMV感染者,其差异具有统计学意义( $\chi^2 = 62.14, P < 0.0001$ ),而HIV RNA载量则呈相反趋势( $\chi^2 = 128.39, P < 0.0001$ )。非CMV感染者中,正在接受HAART治疗的患者比例(240/283, 84.81%)显著高于CMV感染者(50/148, 33.78%)( $\chi^2 = 114.93, P < 0.0001$ )。依据血抗-CMV-IgM、血/尿CMV DNA载量等实验室指标判断CMV感染的检测情况来看,尿CMV DNA阳性检出率为90.54%(134/148),显著高于其他两种指标。此外,HIV合并CMV感染者的临床表现并不明显,眼部疾病及眼底改变为其主要症状。结论 HIV感染是否合并CMV感染与HIV/AIDS患者的免疫状态及是否接受HAART治疗相关。应在HIV/AIDS患者中检测尿CMV DNA载量来确定有无CMV感染,同时常规行眼底检查,以期提高CMV感染的早期检出率。

**【关键词】** 人类免疫缺陷病毒; 获得性免疫缺陷综合征; 巨细胞病毒

**Analysis on 431 HIV/AIDS patients with cytomegalovirus infection** ZHANG Lu-kun, WANG Hui, SUN Li-qin, WHANG Si-yuan. Shenzhen Third People's Hospital, Shenzhen 518000, China  
Corresponding author: WANG Hui, Email: huiwang98@yahoo.com.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate on the clinical characteristics of HIV/AIDS patients with cytomegalovirus infection. The percentage of cytomegalovirus infection was determined by different laboratory parameters including blood anti-CMV-IgM and blood/urine CMV DNA. **Methods** The quantity of blood anti-CMV-IgM and blood/urine CMV DNA were detected by CLIA and FQ-PCR. The number of CD4<sup>+</sup>T cells and HIV RNA in peripheral blood were also simultaneously determined to evaluate the efficiency of HARRT. **Results** There were 148 positive cytomegalovirus carriers among 431 HIV/AIDS patients. The percentage of cytomegalovirus infection was 34.34%. The number of CD4<sup>+</sup>T cells of HIV/AIDS patients with co-infection of cytomegalovirus was lower than that of patients with HIV but without CMV infection. The statistical results showed significant difference ( $\chi^2 = 62.14, P < 0.0001$ ). By contrast, the percentage of HIV RNA load of AIDS patients without cytomegalovirus infection who were treated by HAART was significantly higher than that of those with both HIV and cytomegalovirus infection (84.81% vs 33.78%) ( $\chi^2 = 114.93, P < 0.0001$ ). The results of CMV infection shown by blood anti-CMV-IgM and blood/urine CMV DNA indicated that the positive percentage of urine CMV DNA was the highest rate (90.54%) of detecting cytomegalovirus infection among those of blood anti-CMV-IgM and blood/urine CMV DNA. In addition, the clinical features of patients with both HIV and cytomegalovirus infection were not significantly different. Eye diseases and fundus changes were the major symptoms. **Conclusions** Whether people with HIV infection are co-infected by CMV or not is related to the immune status of AIDS patients

and dependent on HAART therapy. The urine CMV DNA should be conducted to detect the cytomegalovirus infection and the routine fundus examination should also be carried out so that the possibility of detection of cytomegalovirus infection could be improved at early stage of CMV infection in AIDS patients.

**【Key words】** Human immunodeficiency virus (HIV); Acquired immune deficiency syndrome (AIDS); Cytomegalovirus

巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)是人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染者/艾滋病(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)患者机会性感染中较常见的病毒之一。AIDS患者尸检中发现CMV感染率可达16.7%~73.7%,仅次于肺孢子虫感染<sup>[1-2]</sup>。CMV感染可累及HIV/AIDS患者的眼部、肺脏、消化道和神经系统等多器官、多系统。若不及时诊治,会导致多种并发症,甚至失明等严重后果。由于HIV/AIDS患者的免疫功能低下,感染CMV后,早期无明显临床症状,不易诊断。因此,对HIV/AIDS患者是否感染CMV的早期筛查尤为重要。本研究对于本院就诊的431例HIV/AIDS患者进行了CMV感染情况的筛查,分析CD4<sup>+</sup>T细胞计数、HIV RNA拷贝数、血抗-CMV-IgM、血/尿CMV DNA等临床指标,以及HIV治疗状况在HIV合并CMV感染诊治中的价值。

## 资料与方法

### 一、研究对象

选取2011年1月1日至2012年6月30日于本院就诊的HIV/AIDS患者共431例。对本组患者行血/尿CMV DNA、血抗-CMV-IgM、CD4<sup>+</sup>T细胞计数、HIV RNA检测后,筛查出HIV合并CMV感染者共148例。对研究对象进行问卷调查,收集患者年龄、性别、HIV感染途径,高效抗逆转录病毒治疗(highly active anti-retroviral treatment, HAART)情况等资料,并分别采集研究对象外周静脉血5 ml和24 h晨尿作为化验标本。本次研究的程序遵循人体试验委员会所制定的伦理学标准,所有研究对象在知情同意后均签署了知情同意书。

### 二、HIV/AIDS合并CMV感染的诊断标准

1. AIDS的诊断:所有病例均呈抗-HIV阳性,且由深圳市疾病预防控制中心艾滋病实验室采用免疫印迹法确证。病例的诊断标准采用1993年美国疾病控制与预防控制中心(CDC)制定的AIDS/HIV诊断标准。

2. CMV感染的诊断:根据血或尿CMV核酸

定量检测结果结合临床表现判定是否存在CVM感染,即血或尿CMV DNA定量检测有一项阳性者即诊断为感染。

### 三、方法

1. 采用荧光定量聚合酶链反应(fluorescence quantitive polymerase chain reaction, FQ-PCR)检测患者尿液或血液中CMV DNA的含量。试剂盒为中山医科大学达安基因诊断公司提供的CMV DNA荧光定量试剂盒。采用美国ABI公司荧光定量检测仪(ABI-7500)。患者尿液或血液中CMV DNA  $> 1 \times 10^3$ 拷贝/ml即判定为阳性。采用化学发光免疫分析法(chemiluminescence immunoassay, CLIA)检测抗-CMV-IgM。采用北京欧蒙生物技术有限公司生产的酶联免疫吸附试验试剂盒,操作严格参照说明书。

2. HIV相关指标检测:应用Coulter Epics XL流式细胞仪及三色荧光标记的单克隆抗体试剂盒分析检测CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞、T细胞亚群计数。采用Roche公司的Light Cycle荧光定量核酸检测仪检测HIV RNA载量,HIV荧光定量试剂盒为深圳市匹基公司产品。

### 四、统计学处理

采用SPSS 16.0软件进行统计学分析,连续性变量采用 $t$ 检验,分类变量采用 $\chi^2$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。由于血抗-CMV IgM检出结果分别与血CMV DNA、尿CMV DNA检出结果进行统计学比较,故采用Bonferroni调整法对 $\alpha$ 进行调整( $\alpha' = \alpha/2$ ),以 $P < 0.025$ 为差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、HIV合并CMV感染者的一般情况

本研究431例HIV/AIDS患者中,共检出CMV DNA阳性者148例,阳性率为34.34%(148/431)。148例CMV感染者中,男性124例,女性24例;年龄4~77岁,平均年龄为(38.51 ± 12.03)岁;未发现年龄和性别因素在CMV感染和非CMV感染者的差异存在统计学意义。就HIV感染途径而言,经男男性行为途径感染HIV者,其合并感染CMV的频

率较高(49.32% vs 8.52%), 差异具有统计学意义( $P = 0.007$ )。

二、HIV合并CMV感染者的CD4<sup>+</sup> T水平以及治疗情况

HIV/AIDS合并CMV感染者, 其CD4<sup>+</sup> T细胞计数为1~526个/ $\mu$ l, 平均( $116.2 \pm 113.6$ )个/ $\mu$ l; 非CMV感染者, 其CD4<sup>+</sup> T细胞计数在1~1752个/ $\mu$ l, 平均值为( $230.5 \pm 182.9$ )个。对CD4<sup>+</sup> T细胞计数分组后发现, CD4<sup>+</sup> T细胞计数高频数段, 非CMV感染者的比例显著高于CMV感染者, 差异具有统计学意义( $P < 0.0001$ )。HIV合并CMV感染者的HIV RNA拷贝数要显著高于非感染者(69.59% vs 15.19%), 差异具有统计学意义( $P < 0.0001$ )。非CMV感染者中, 84.81%的患者正在接受HAART治疗; CMV感染者中, 仅33.78%的患者接受HAART治疗, 差异具有显著统计学意义( $P < 0.0001$ ), 见表1。

三、3种方法检测CMV感染结果的比较

尿CMV DNA呈阳性者为134例, 检出率为90.54%(134/148); 血CMV DNA呈阳性者为30例, 检出率为20.27%(30/148)。血抗-CMV-IgM阳性者16例, 检出率为10.81%(16/148)。此外, 非CMV感染者中, 有9例呈血抗-CMV-IgM阳性, 假阳性率为3.18%(9/283)。将血抗-CMV-IgM检出结果与血或尿抗-CMV-IgM检出结果分别进行比较, 以 $P < 0.025$ 为差异具有统计学意义( $\alpha' = 0.025$ )。将血抗-CMV-IgM和尿CMV DNA的检出结果进行比较, 差异具有统计学意义( $\chi^2 = 188.197, P < 0.0001$ ); 将血抗-CMV-IgM和血CMV DNA的检出结果进行比较, 差异无统计学意义( $\chi^2 = 5.045, P = 0.027$ ), 见表2~3。

四、CMV感染者的临床表现和疗效

148例CMV感染者中有12例主要症状为眼前有漂浮物、视力模糊、视力下降, 逐渐加重至视力丧失。眼底检查发现视网膜典型病变(视网膜血管炎、渗出、出血、沿血管分布的视网膜黄白病损区、不规则的黄白色颗粒等), 其中2例患者首发为CMV视网膜炎, 随后才发现感染HIV, 且已进入艾滋病期; 另外10例患者临床表现轻微, 常规眼底检查发现眼底异常。CMV所致肠炎者7例, 主要症状为腹泻、便血, 肠道组织PCR检测CMV DNA阳性。未发现CMV中枢感染的病例。

本研究中共有73例患者接受了抗CMV治疗。治疗过程为: 静脉滴注0.25 mg更昔洛韦, 2次/d, 治疗2周后改为相同剂量更昔洛韦, 1次/d, 静脉

滴注, 治疗1周; 共治疗3周后复查血和尿CMV DNA。复查结果显示, 73例患者中, 血CMV DNA全部低于检测下限, 尿CMV DNA仍有6例呈阳性, 且此6例患者的CD4<sup>+</sup> T细胞计数均低于100个/ $\mu$ l。

## 讨 论

人巨细胞病毒属于疱疹病毒科, 是致人类病毒性疾病的最常见病原体之一。人类是人CMV感染的唯一宿主, 大部分CMV感染无症状, 为潜伏感染。潜伏部位主要在唾液腺、乳腺、肾脏、白细胞或其他腺体中, 可长期或间歇地自唾液、乳汁、尿液、精液、宫颈和阴道分泌物中排出病毒。病毒可以通过垂直和水平方式进行传播。

本研究发现, HIV合并CMV感染者中, 有CMV相关临床表现的患者仅占19.59%, 多数为潜伏感染者。男男同性途径感染HIV者占49.32%, 临床诊断CMV肠炎的患者共7例, 其中有6例为男男同性途径感染HIV, 提示CMV感染高度流行于男同性恋者之间, 男同性恋者特殊的性接触方式也许是导致CMV传播的重要途径。主要是因为直肠黏膜结构比较薄弱, 易受到创伤和感染所致。

CMV感染常发生于CD4<sup>+</sup> T细胞计数 $< 100$ 个/ $\mu$ l的患者, 当CD4<sup>+</sup> T细胞计数 $< 50$ 个/ $\mu$ l时发病率为30%~40%<sup>[3]</sup>。本研究结果和既往报道一致, CMV感染者中有58.11%的患者CD4<sup>+</sup> T细胞计数 $< 100$ 个/ $\mu$ l。另外, 69.59%的患者HIV RNA  $> 500$  拷贝/ml, 提示正在进行HAART治疗的HIV/AIDS患者合并CMV感染的几率显著低于未接受HAART治疗者。本研究认为HAART治疗能够恢复艾滋病患者CD4<sup>+</sup> T细胞抗机会性病原体感染的免疫功能, 此种恢复与治疗前已破坏的免疫功能严重程度无关, 而取决于治疗后CD4<sup>+</sup> T细胞增加的幅度、病毒复制被控制的程度和持续时间。

由于CMV感染比其所致疾病更普遍, 因此组织及体液中查到CMV仅表示存在感染并不一定致病。CMV感染发病可累及多个器官, 常见胃肠炎、肺炎、视网膜炎, 亦可引起脑炎、肝炎、胰腺炎或肾上腺坏死等<sup>[4-5]</sup>。既往研究显示, CMV视网膜炎为AIDS患者晚期的并发症, 多出现在CD4<sup>+</sup> T淋巴细胞 $< 50$ 个/ $\mu$ l患者, 故CMV性视网膜炎常被称为AIDS标志性疾病<sup>[6-7]</sup>。CMV视网膜炎若不经及时有效治疗有可能导致永久性失明。因此, 早期进行CMV感染的筛查显得尤为重要。

表1 431例患者的一般资料及CMV感染的分布 [例 (%) ]

	CMV感染	非CMV感染	统计量	P
性别				
男	124 (83.78)	224 (79.15)	$\chi^2 = 1.34$	0.247
女	24 (16.22)	59 (20.85)		
年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$ )	38.51 $\pm$ 12.03	37.55 $\pm$ 11.55	$t = -0.81$	0.417
HIV感染途径				
男男性途径	73 (49.32)	109 (8.52)	$\chi^2 = 16.10$	0.007
异性途径	62 (41.89)	161 (56.89)		
输血	4 (2.70)	6 (2.12)		
静脉药瘾	8 (5.41)	4 (1.41)		
母婴	1 (0.68)	0 (0.00)		
CD4 <sup>+</sup> T (个/ $\mu$ l)				
< 100	86 (58.11)	63 (22.26)	$\chi^2 = 62.14$	< 0.0001
100~250	46 (31.08)	116 (40.99)		
250~350	8 (5.41)	53 (18.73)		
> 350	8 (5.41)	51 (18.71)		
HIV RNA				
$\leq$ 500 拷贝/ml	45 (30.41)	240 (84.81)	$\chi^2 = 128.39$	< 0.0001
> 500 拷贝/ml	103 (69.59)	43 (15.19)		
HAART治疗				
否	98 (66.22)	43 (15.19)	$\chi^2 = 114.93$	< 0.0001
是	50 (33.78)	240 (84.81)		

表2 FQ-PCR法测定尿CMV DNA和血抗-CMV-IgM的检测结果 (例)

尿CMV DNA	血清抗-CMV-IgM		$\chi^2$	P <sup>a</sup>
	(+)	(-)		
(+)	15	119	188.197	< 0.0001
(-)	1	13		

注: <sup>a</sup>: 以P < 0.025为差异具有统计学意义

表3 FQ-PCR法测定血CMV DNA和血抗-CMV-IgM的检测结果 (例)

尿CMV DNA	血清抗-CMV IgM		$\chi^2$	P <sup>a</sup>
	(+)	(-)		
(+)	2	28	5.045	0.027
(-)	14	104		

注: <sup>a</sup>: 以P < 0.025为差异具有统计学意义

CMV感染的诊断以实验室检查为主要依据。 PCR法分别检测了431例HIV/AIDS患者的抗-CMV-IgM、以及血和尿 CMV DNA载量。本研究采用化学发光免疫分析法 (CLIA) 和FQ-

示,测定尿CMV DNA载量较其他两种方法更具优越性,其检出率显著高于特异性IgM抗体检测和血CMV DNA检测。

血抗-CMV-IgM阳性为活动性CMV感染的诊断指标,提示近期可能有CMV活动性感染或潜伏的病毒被激活。但是抗-CMV-IgM抗体产生具有滞后性,当病原体感染约2周后患者IgM抗体才能达到可检测到的水平。此外,HIV/AIDS患者由于免疫系统功能明显受损,不能产生足量的特异性IgM抗体或滞后产生IgM抗体,易造成假阴性结果。此外,本研究还发现9例IgM抗体假阳性患者。综上所述,测量血抗-CMV-IgM来判断是否CMV感染,存在其局限性。

FQ-PCR技术是在常规PCR技术基础上发展起来的一种新型CMV DNA定量检测法,是目前最为准确和快速的微生物定量方法,可以解决PCR扩增产物污染和不能定量的问题<sup>[8-9]</sup>。该技术甚至可以在出现临床症状前3~10 d检测到病毒<sup>[10]</sup>。此外Jones等<sup>[11]</sup>在新生儿先天性CMV感染者的研究中发现,CMV感染之后,局部排毒量与机体内病毒量密切相关,检测尿CMV DNA可以较好地反映机体内CMV的病毒载量。本研究也发现,使用FQ-PCR检测尿CMV DNA具有较高的检出率。同时,该法取材方便、无创、易为患者接受,值得临床推广。

我国2011版《艾滋病诊疗指南》中指出<sup>[12]</sup>,对于CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞计数<200个/μl的AIDS患者,应定期检查眼底。一旦出现CMV病,应积极治疗,在疾病控制之后需终身服药以预防复发。对于CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞计数<50个/μl的AIDS患者应常规给予预防性服药(口服更昔洛韦),在经HAART治疗有效的患者若其CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞计数≥100个/μl且持续6个月以上时可考虑停止预防性给药。但目前在我国口服的更昔洛韦难以买到,且价格昂贵,故应用方面存在局限性。本研究显示,对于CMV感染者,静脉滴注更昔洛韦治疗3周后,绝大多数患者的血和尿CMV DNA低于检测下限,临床症状好转,疗效显著。所以对于确诊为CMV感染的HIV感染者,建议使用价格较为便宜的更昔洛韦针剂进行3周的抗CMV治疗,并在HAART之后且CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞计数<200个/μl期间定期监测血和尿CMV DNA。

综上所述,晚期AIDS患者易发生多种机会性

感染,其中CMV感染较为多见。AIDS患者中应该检测尿CMV DNA,同时进行常规眼底检查,筛查是否合并CMV视网膜炎,以期进行早期预防和诊断CMV感染,提高患者生存质量。

#### 参 考 文 献

- Noran CA, Suster S, Pavlova Z, et al. The spectrum of pathological changes in the lung in children with acquired immunodeficiency syndrome: an autopsy study of 36 cases. *Hum Pathol*,1994,25(8):877-881.
- Klatt EC, Nichols L, Noguchi T, et al. Evolving trends revealed by autopsies of patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Pathol Lab Med*,1994,118(8): 884-887.
- Walmsley S, OR'ourke K, Mortimer C, et al. Predictive value of cytomegalovirus (CMV) antigenemia and digene hybrid capture DNA assays for CMV disease in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin Infect Dis*,1998,27(3):573-581.
- Smith GH. Treatment of infections in the patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Intern Med*,1994,154(9):949-952.
- Solans EP, Garrity ER, McCabe M, et al. Early diagnosis of cytomegalovirus pneumonitis in lung transplant patients. *Arch Pathol Lab Med*,1995,119(1):33-35.
- 王焕玲,叶俊杰,李太生,等. AIDS并发巨细胞病毒性视网膜炎. *中国艾滋病性病*,2003,9(4):193-196.
- Tendero DT. Laboratory diagnosis of cytomegalovirus (CMV) infections in immunodepressed patients, mainly in patients with AIDS. *Clin Lab*,2001,47(3-4):169-183.
- Kuypers J, Wright N, Ferrenberg J, et al. Comparison of real-time PCR assays with fluorescent-antibody assays for diagnosis of respiratory virus infections in children. *J Clin Microbiol*,2006,44(7):2382-2388.
- 韩俊英,曾瑞萍. 荧光定量PCR技术及应用. *国外医学·遗传学分册*,2000,23(3):117-120.
- Risatti GR, Callahan JD, Nelson WM, et al. Rapid detection of classical swine fever virus by a portable real-time reverse transcriptase PCR assay. *J Clin Microbiol*,2003,41(1):500-505.
- Jones RN, Neal ML, Beattie B, et al. Development and application of a PCR-based method including an internal control for diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *J Clin Microbiol*,2000,38(1):1-6.
- 中华医学会感染病学分会艾滋病学组. 艾滋病诊疗指南(2011版). *中华传染病杂志*,2011,29(10):629-660.

(收稿日期:2012-08-23)

(本文编辑:孙荣华)