

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2013.02.001

· 论 著 ·

婴幼儿巨细胞病毒感染器官损害与基因型

李梨平¹, 覃亚斌¹, 祝兴元¹, 朱纯华¹, 周峥珍¹, 范丽明¹, 李小曼²

(1 湖南省儿童医院儿科医学研究所, 湖南 长沙 410007; 2 湖南师范大学生命科学学院, 湖南 长沙 410081)

[摘要] **目的** 了解婴幼儿人巨细胞病毒(HCMV)感染时,母嬰血清抗体不同表型与其肝损伤和致畸的关系,并检测其糖膜蛋白 B 基因型。**方法** 选择 2009 年 1 月—2010 年 12 月某院收治的 337 例血清 HCMV IgG 抗体阳性,尿液 HCMV DNA 定量 >500 copies/mL 的 HCMV 感染患儿,同时检测其母亲血清 HCMV IgG 抗体。采用酶联免疫捕获法检测血清 HCMV 抗体;荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测 HCMV DNA;人胚肺成纤维细胞(HEL)进行 HCMV 病毒分离;巢式 PCR、限制性片段长度多态性(RFLP)分析技术进行 HCMV 临床分离株糖膜蛋白 B 基因型检测。**结果** 在 337 例 HCMV 感染患儿中,124 例血清抗体表型为 HCMV IgM(+)IgG(+),其母亲血清抗体表型 HCMV IgG(-)组患儿肝功能异常与致畸率分别为 86.42%和 40.74%,显著高于母亲 IgG(+)组的 65.12%和 34.88%(均 $P<0.01$);213 例患儿血清抗体表型为 HCMV IgM(-)IgG(+),其母亲血清抗体表型 HCMV IgG(+)与 IgG(-)两组比较,患儿肝功能异常率(53.85% vs 66.89%)差异无显著性($P>0.05$),而致畸率母亲 IgG(-)组(28.38%)显著高于 IgG(+)组(23.08%)($P<0.05$)。HCMV IgG(+),尿液 HCMV DNA $\geq 10^4$ copies/mL 患儿的尿标本中病毒分离阳性率为 50.00%(31/62)。随机抽取 8 株 HCMV 临床分离株(来源患儿中 7 例有肝脑损害),检测糖膜蛋白 B 基因,均为 gB1 型,与标准株 AD169 株、TOWNE 株的 DNA 序列相似性分别达 94.8%和 97.0%。8 株 HCMV 的 DNA 序列同源性达 98.5%;氨基酸序列同源性高达 99.4%。**结论** 母亲为 HCMV IgG 阳性的患儿肝功能异常和致畸率比母亲为 HCMV IgG 阴性的患儿低。HCMV DNA $\geq 10^4$ copies/mL 婴幼儿可预示症状性 HCMV 感染。gB1 型可能是导致婴幼儿肝脑损害的主要基因型。

[关键词] 人巨细胞病毒;糖膜蛋白 B 基因;基因分型;婴幼儿;肝脑损害;母婴传播

[中图分类号] R725.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2013)02-0081-07

Organ damage and genotypes of infantile cytomegalovirus infection

LI Li-ping¹, QIN Ya-bin¹, ZHU Xing-yuan¹, ZHU Chun-hua¹, ZHOU Zheng-zhen¹, FAN Li-ming¹, LI Xiao-man² (1Hunan Pediatric Research Institute, Hunan Children's Hospital, Changsha 410007, China; 2 College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the association between serum antibodies or glycoprotein B (gB) genotype of human cytomegalovirus (HCMV) with liver damage or birth defect. **Methods** From January 2009 to December 2010, 337 hospitalized infants whose serum HCMV IgG antibody was positive and HCMV DNA in urine exceeded 500 copies/mL were included in the study. HCMV antibodies (IgG, IgM) of infants and mothers were detected by capture enzyme-linked immunosorbent assay; HCMV DNA in infants were detected by real-time polymerase chain reaction; HCMV from clinical specimens were cultured in human embryonic lung fibroblasts; HCMV gB was genotyped by nested PCR-restriction fragment length polymorphism. **Results** Of 337 infants infected with HCMV, serum HCMV antibodies of 124 were both IgM(+) and IgG(+), liver damage rate and birth defect rate were higher in infants whose mothers' HCMV IgG were negative than that were positive(86.42% vs 65.12% for liver damage,

[收稿日期] 2012-05-07

[基金项目] 湖南省科技厅基金资助(2009FJ3119)

[作者简介] 李梨平(1962-),女(汉族),湖南省湘乡市人,主任检验师,主要从事巨细胞病毒感染研究。

[通讯作者] 李小曼 E-mail: lixiaoman818@163.com

40.74% vs 34.88% for birth defect, $P < 0.01$); Serum HCMV antibodies were IgM(-) and IgG(+) in 213 infants, liver damage rate in infants whose mothers' serum antibodies were IgG(+) was not significantly different compared with that were IgG(-) (53.85% vs 66.89%, $P > 0.05$), but birth defect rate in IgG(-) group was higher than IgG(+) group (28.38% vs 23.08%, $P < 0.05$). Isolation rate of HCMV from urine was 50.00% (31/62) in infants whose HCMV IgG were positive and urine HCMV DNA $\geq 10^4$ copies/mL. gB genotype of 8 randomly selected HCMV strains (7 were from infants with liver or brain damage) were all gB1, compared with AD169 or TOWNE strain, DNA sequence homology was 94.8% and 97.0% respectively, homology of DNA sequence among 8 strains was 98.5%, and amino sequence was 99.4%. **Conclusion** The liver damage and birth defect are lower in infants whose mothers' HCMV IgG were positive than that were negative. Urine HCMV DNA $\geq 10^4$ copies/mL in infants can be a marker for HCMV infection. gB1 may be the main genotype in infants' liver and brain damage.

[**Key words**] human cytomegalovirus; glycoprotein B; genotype; infant; liver and brain damage; mother-child transmission

[Chin Infect Control, 2013, 12(2): 81-87]

巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)是巨细胞包涵体病(CID)的病原体,属于 β 疱疹病毒亚科。人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)在人群中感染非常普遍,以不显性感染或潜伏感染为主。HCMV一旦侵入人体,将长期或终生存在于体内,在绝大多数免疫正常的个体,常呈无症状感染,但在免疫抑制的个体、胎儿和婴儿中可出现明显HCMV感染症状。孕妇HCMV原发、新发或复发感染均可引起新生儿宫内感染或围生期感染,致胎儿畸形,智力低下和发育迟缓等。肝细胞是HCMV感染的主要靶细胞,它可感染小儿肝脏内各种细胞。在婴幼儿肝炎中,有50%为HCMV感染。我们就2009年1月—2010年12月本院337例血清HCMV IgG抗体阳性,尿液HCMV DNA定量 >500 copies/mL的患儿进行母婴血清抗体不同时与其肝功能及致畸关系的探讨,并进行特定基因型检测,分析其与肝脑损害的关系,现报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 2009年1月—2010年12月本院收治的337例血清HCMV IgG抗体阳性,尿液HCMV DNA定量 >500 copies/mL的HCMV感染患儿,其中男性202例,女性135例,年龄20 d~18个月。同时检测患儿母亲血清HCMV IgG抗体。患儿血清HCMV IgM抗体阳性为活动性感染。

1.2 主要试剂 HCMV抗体酶联免疫检测试剂盒,为北京贝尔生物有限公司产品;荧光定量HCMV DNA检测试剂盒,为中山大学达安基因股份有限公司产品;DNA提取试剂盒,为北京天根生物有限公司产品;MEM购自Gibco公司;新生牛血

清(FBS)购自杭州四季清生物有限公司;Pfu酶、限制性内切酶Hinf I和Rsa I,购自大连宝生物工程有限公司。

1.3 方法

1.3.1 血清HCMV IgM、HCMV IgG检测 采用酶联免疫捕获法检测血清HCMV IgM、HCMV IgG,操作严格按说明书进行。

1.3.2 HCMV DNA检测 采集晨尿,用血液细胞组织基因DNA提取试剂盒提取病毒DNA,用荧光定量HCMV DNA检测试剂盒进行检测,操作严格按说明书进行。

1.3.3 HCMV分离 随机抽取62例患儿(患儿和母亲的血清HCMV IgG抗体均为阳性,患儿尿液HCMV DNA $\geq 10^4$ copies/mL),取其新鲜尿液10 mL,接种于长满单层人胚肺成纤维细胞(HEL)的24孔板中,置细胞培养箱中培养3~4周,如出现细胞病变效应(CPE)即为HCMV分离阳性。取出现CPE的HEL培养瓶,待CPE达到50%~80%病变程度时,加0.25%的胰酶洗脱细胞并收取病毒于冻存管,标明日期、标本号,加二甲亚砜置-80℃冰箱备用。

1.3.4 HCMV临床分离株糖膜蛋白B基因型检测

1.3.4.1 DNA模板制备 取尿样感染的细胞提取培养液上清1 mL,旋涡振荡40 s,加入蛋白酶K和SDS至终浓度200 μ g/mL和0.5% (mg/mL),混匀置37℃水浴5 h,用酚、氯仿抽提DNA, NaAc、无水乙醇沉淀,弃去上清液并用70%的乙醇洗涤,真空离心干燥后溶于TE备用。

1.3.4.2 HCMV巢式聚合酶链反应(PCR)引物序列参照文献[1-2],扩增临床分离株糖膜蛋白B基因,其中外套引物序列:上游5'-GGCATCAAG-

CAAAAATCT-3', 下游 5'-CAGTTGACCGTACTG-CAC-3', 预期目的扩增产物大小为 482~488 bp; 内套引物序列: 上游 5'-TCGAACTGGAACGTTTGGC-3', 下游 5'-GAAACGCGCGCAATCGG-3', 预期目的扩增产物大小为 299~305 bp。第 1 轮 PCR 总体积 50 μ L, PCR 反应体系为: ddH₂O 33.5 μ L、10 \times Pfu buffer 5.0 μ L、dNTP mix 5.0 μ L、gB 外套引物各 2.0 μ L、模板 2.0 μ L、Pfu 酶 0.5 μ L。每次 PCR 均设阳性和空白对照。第 1 轮 PCR 反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 50 s, 60 $^{\circ}$ C 50 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 共 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 5 min。第 2 轮 PCR 时, 将第 1 轮 PCR 扩增产物 10 倍稀释后取 2 μ L 作为 DNA 模板, 引物改为内套引物, 35 个循环, 其余 PCR 反应体系及反应条件同第 1 轮。

1.3.4.3 限制性片段长度多态性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) 分析 采用限制性内切酶 Rsa I 和 Hinf I 进行 RFLP 分析, 酶切结果判断^[1-2]如下。(1) Rsa I 酶切: I 型为 239、66 bp, II 型为 239、63 bp, III 型为 195、63、41 bp, IV 型为 195、66、44 bp; (2) Hinf I 酶切: I 型和 IV 型均为 202、67、36 bp, II 型为 202、100 bp, III 型为 202、97 bp。

1.3.4.4 PCR 产物测序及比对分析 将临床分离病毒株 PCR 扩增的产物送往广州英韦创津生物科技有限公司进行基因测序, 结果与 Genbank 上的标准株 TOWNE 株 (FJ616285) 和 AD169 株 (FJ527563) 进行比对。

1.4 应用软件 应用 SPSS 18.0 进行统计分析, 采用 χ^2 检验; primer premier 5.0 软件进行酶切位点分析; clustal X 软件进行序列比对; Mega 4.1 软件建树分析。

2 结果

2.1 HCMV 抗体不同时患儿肝功能及致畸状况 在 337 例 HCMV 感染患儿中, 124 例血清抗体表型为 HCMV IgM(+)IgG(+), 其母亲血清抗体表型 HCMV IgG(-) 组患儿肝功能异常与致畸率显著高于 IgG(+) 组 ($P < 0.01$); 213 例患儿血清抗体表型为 HCMV IgM(-)IgG(+), 其母亲血清抗体表型 HCMV IgG(+) 与 IgG(-) 两组比较, 患儿肝功能异常率差异无显著性 ($P > 0.05$), 而致畸率母亲 IgG(-) 组显著高于 IgG(+) 组 ($P < 0.05$)。见表 1~2。

表 1 HCMV 抗体不同情况下患儿肝功能状况 (例, %)

Table 1 Association between mother's HCMV IgG and infantile liver injury (No. of cases, %)

Variable	Infant IgM(+) IgG(+)		Infant IgM(-) IgG(+)	
	Mother IgG(+)	Mother IgG(-)	Mother IgG(+)	Mother IgG(-)
Normal liver function	15(34.88)	11(13.58)	30(46.15)	49(33.11)
Abnormal liver function	28(65.12)	70(86.42)	35(53.85)	99(66.89)
Total	43(100.00)	81(100.00)	65(100.00)	148(100.00)
χ^2	7.69		3.29	
P	<0.01		>0.05	

表 2 HCMV 抗体不同情况下患儿致畸状况 (例)

Table 2 Association between mother's HCMV IgG and infantile birth defect (No. of cases)

Variable	Infant IgM(+) IgG(+)		Infant IgM(-) IgG(+)	
	Mother IgG(+) (n=43)	Mother IgG(-) (n=81)	Mother IgG(+) (n=65)	Mother IgG(-) (n=148)
Brain injury	6	20	8	31
Hearing impairment	2	4	4	3
Laryngeal cartilage dysplasia	2	1	-	1
Biliary atresia	2	-	3	-
Congenital heart disease	-	6	-	5
Hernia	-	2	-	2
Other abnormality	3	-	-	-
Total (No., %)	15(34.88)	33(40.74)	15(23.08)	42(28.38)
χ^2*	16.73		14.69	
P	<0.01		<0.05	

* Comparison of birth defect rate of children between mother IgG(+) group and IgG(-) group

2.2 抗体阳性患儿 HCMV 分离结果 从 62 例血清 HCMV IgG 阳性, 尿液 HCMV DNA $\geq 10^4$ copies/mL 患儿的尿标本中分离到 31 株 HCMV 临床株, 阳性率 50.00%。

2.3 HCMV 临床分离株糖膜蛋白 B 基因型检测

2.3.1 临床病毒株 gB 外套产物测序结果 随机抽取 8 株临床分离病毒株(标号为 gB-08、48、51、55、60、65、74、78, 其中 7 株来源于 7 例患有不同程度

肝脑损害的患儿)PCR 外套产物送测序, 所得序列与实验室高传代株 TOWNE 株和 AD169 株序列比对, 结果见图 1~2。

2.3.2 gB 基因型酶切片段分析 应用 primer premier 5.0 软件分析酶切位点、酶切产物长度, 结果显示, 8 株 HCMV 临床分离株均为 gB1 型。见表 3。

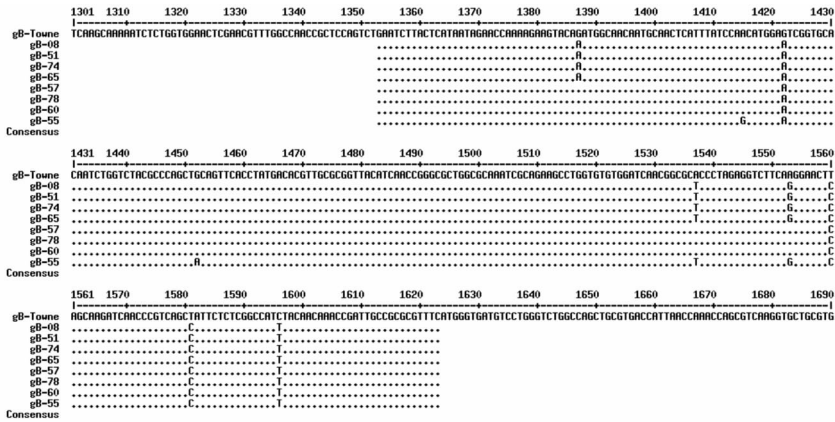


图 1 8 株临床分离病毒株与 TOWNE 株碱基突变结果比对图

Figure 1 Sequence alignments of base mutation between eight clinically isolated virus strains and TOWNE strain

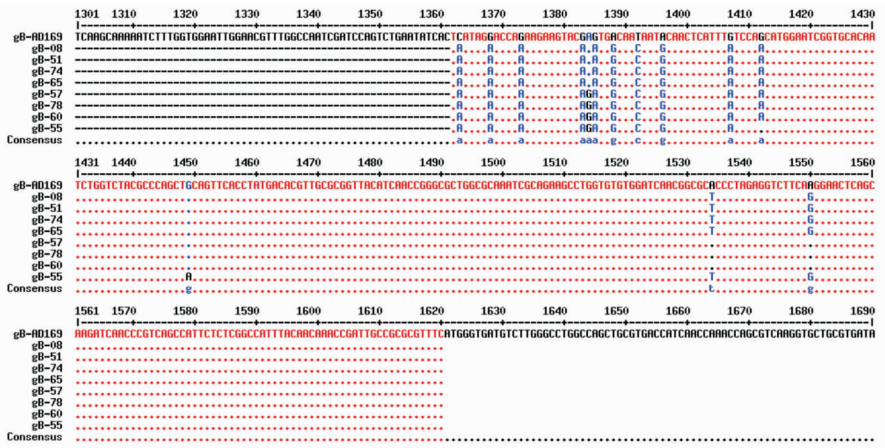


图 2 8 株临床分离病毒株与 AD169 株碱基突变结果比对图

Figure 2 Sequence alignments of base mutation between eight clinically isolated virus strains and AD169 strain

表 3 临床分离株 gB 内套序列 Hinf I 和 Rsa I 酶切位点结果

Table 3 Restriction sites of Hinf I and Rsa I at base sequence of product amplified by gB inner primers with the template of clinical isolates

Restriction endonuclease	Restriction site	Number	Site	Length of product(bp)	Typing
Hinf I	G [*] ANTC	2	36, 103	202, 67, 36	Type gB1
Rsa I	GT [*] AC	1	66	239, 66	Type gB1

*Restriction sites

2.3.3 临床病毒株 gB 基因型的序列同源性分析
临床分离的 8 株病毒株序列与 GenBank 标准病毒株 HCMV AD169 及 TOWNE 序列比对,应用 Mega4.1 构建基因树,结果见图 3。应用 DNASTar 软件将标准株 AD169 株、TOWNE 株序列分别与 8 株 HCMV 临床病毒株进行 DNA 序列相似性分析,序列相似性分别达到 94.8%、97.0%;8 株 HCMV 临床分离株进行 DNA 序列相似性分析,其同源性高达 98.5%。

2.3.4 HCMV 临床分离株 gB 型氨基酸序列比对
利用 DNASTar 软件,获得 8 株 HCMV 临床分离株 gB 型氨基酸序列,应用 Clustal X 软件,将其与 AD169 株和 TOWNE 株的氨基酸序列分别进行比

对,结果见图 4~5。8 株 HCMV 临床株氨基酸序列同源性高达 99.4%。

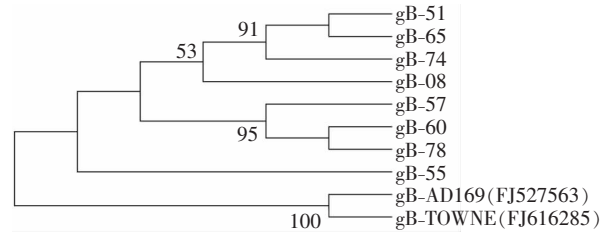


图 3 8 株临床分离病毒株与标准株比对基因树图

Figure 3 Phylogenetic trees of eight clinically isolated virus strains and standard strains

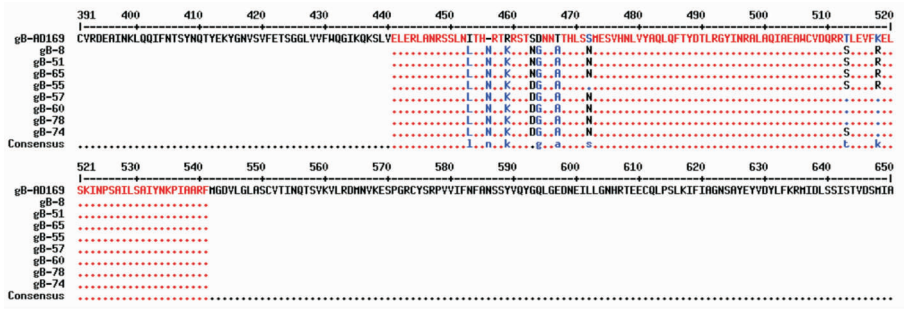


图 4 8 株临床分离病毒株与 AD169 株氨基酸序列比对图

Figure 4 Sequence alignment of amino acid between eight clinically isolated virus strains and AD169 strain

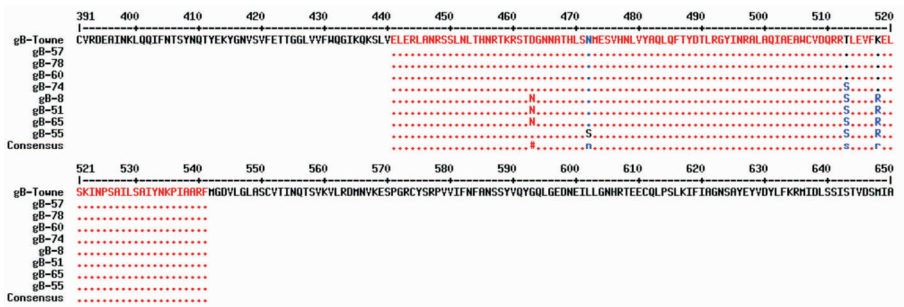


图 5 8 株临床分离病毒株与 TOWNE 株氨基酸序列比对图

Figure 5 Sequence alignment of amino acid between eight clinically isolated virus strains and TOWNE strain

3 讨论

HCMV 感染后可刺激人体产生特异性抗体,通过检测血清中 HCMV IgM、IgG 可间接证实体内 HCMV 的存在。IgG 抗体表示既往感染的指标,IgM 抗体代表近期感染的指标^[3]。据报道^[4],发达国家人群 HCMV 血清感染率为 40%~60%,发展中国家可达 80%~100%。孕妇处于隐性感染状

态,由于体内激素的变化,潜伏病毒激活或再次感染外源性不同的毒株后,使 HCMV 经过胎盘感染胎儿,引起先天性宫内感染。同时亦可经产道、吸吮母乳等感染婴儿,引起围产期感染^[5]。先天性 HCMV 感染可累及患儿身体的各个组织器官,如造血系统、呼吸系统、中枢神经系统、消化系统及泌尿系统等,是引起先天性畸形的重要原因之一^[6]。而无症状的感染患儿中有 10%~15% 留有后遗症,如智力迟

缓、耳聋和视力损害^[7]。在 HCMV 感染的研究中,人们发现活动感染者的临床症状、治疗效果和预后情况均比非活动性感染者严重。研究^[8]显示,孕妇自然获得性免疫可以降低妊娠出现先天性 HCMV 感染 69% 的危险,妊娠前孕妇已有免疫或孕妇年龄 25 岁或以上,都可以高度保护先天性 HCMV 感染的出现。本研究中母亲为 HCMV IgG 阳性的患儿肝功能异常和致畸率均比母亲为 HCMV IgG 阴性的患儿低,且差异有显著性($P < 0.01$)。

HCMV 感染的诊断方法主要依靠实验室检查,其诊断方法包括病毒培养、血清特异性抗体检测、抗原血症检测、分子生物学检测等。病毒培养常用作 HCMV 感染的确认试验。我们从 62 例 HCMV IgG 阳性,尿液 HCMV DNA $\geq 10^4$ copies/mL 患儿尿标本中分离到 31 株 HCMV 临床株。Chen 等^[9]认为,HCMV DNA 量 10^3 copies/mL 为预测患者即将发生症状的分界线。国内学者何蓉等^[10]研究显示,婴儿尿液中 HCMV DNA 含量与临床症状性 HCMV 感染密切相关, $> 10^5$ copies/mL 高度预示症状性 HCMV 感染。本研究尿液 HCMV DNA $\geq 10^4$ copies/mL 的 62 例患儿中,有 31 例为活动性感染,并有肺炎、肠炎、肝炎及脑部病变等临床症状,因此我们认为尿液 HCMV DNA $\geq 10^4$ copies/mL 的婴幼儿可预示症状性 HCMV 感染。

HCMV 基因组为长约 240 kb 的双链 DNA,由长的独特序列(UL)和短的独特序列(US)及存在于 L—S 连接部位的重复序列组成。整个基因组有 208 个 ORF(开放阅读框)并以其在基因组中的位置和顺序命名,ORF UL55 位于基因组中高度保守的 B 区,编码的产物 gB 为 HCMV 包膜中最丰富的糖蛋白,占包膜蛋白的 50% 以上。

越来越多的证据表明,除了机体因素外,不同 gB 基因型也是影响 HCMV 感染转归的因素之一。Coquette 等^[11]通过对 92 例免疫功能低下者 HCMV gB 基因型的研究提示,同时混合感染 gB1—4 基因型的患者比 gB 单一基因型感染者更易出现移植排斥,继发其他疱疹病毒感染等临床表现。Yu 等^[12]研究了我国 79 例宫内感染 HCMV 新生儿 gB 基因型,发现感染 gB1 型者容易出现肝损害;还发现 gB1—3 基因型在我国 79 例宫内感染 HCMV 的新生儿中分布以 gB1 型为主。我们从 31 株临床分离的 HCMV 株中随机抽取 8 株进行 gB 基因型检测,发现全为 gB1 型,且其中 7 例患儿有不同程度的肝脑损害,这与 Yu 等^[12]研究相近。

gB 基因虽然高度保守,但不同的 HCMV 毒株在 gB 基因内的一定区域间仍存在变异。同一基因型的临床分离株间,其多肽同源性 $> 99\%$;不同基因型的临床分离株间,其多肽同源性为 $91\% \sim 98\%$ 。在本研究分离的 8 株 gB1 型临床分离株之间,多肽同源性 $> 99.4\%$ 。Chou 等^[1]对 11 株 HCMV 临床分离株 gB 基因(密码子 1—460)进行序列分析,结果发现不同株间核苷酸变化区域主要集中于密码子 27—67 及密码子 440—460 之间。我们对 8 株 gB1 型临床分离株进行比对分析,发现氨基酸变化最大的区域在 451—518 aa 之间,D463N、T513G、K518R、N472S 均为有义突变,相对应的标本是 51[#]、55[#]、8[#]、65[#],这些患儿均有肝脑损伤,其中 65[#] 为脑肝肾均受损的早产儿。

明确 HCMV 基因型与临床症状的关系,对进一步研究 HCMV 感染的致畸机制、预后评估、产前诊断以及疫苗研制和临床治疗可提供重要依据。

[参 考 文 献]

- [1] Chou S W, Dennison K M. Analysis of interstrain variation in cytomegalovirus glycoprotein B sequences encoding neutralization-related epitopes[J]. J Infect Dis, 1991, 163(3):1229 - 1234.
- [2] Wada K, Mizuno S, Kato K, *et al*. Cytomegalovirus glycoprotein B sequence variation among Japanese bone marrow transplant recipients[J]. Intervirology, 1997, 40(4): 215 - 219.
- [3] 段泓宇,喻韬,王朝敏. 巨细胞病毒感染诊断及治疗进展[J]. 中华妇幼临床医学杂志,2010,6(1):68 - 71.
- [4] 陈洁,叶寒青,王皓,等. 酶联免疫吸附试验检测人类巨细胞病毒抗体在肝移植患者术后诊断及监测中的应用[J]. 检验医学, 2006, 21(B10):23 - 26.
- [5] 方峰,董永绥,魏晴,等. 巨细胞病毒所致婴儿肝损害的前瞻性研究[J]. 中华儿科杂志, 1995,33(6):350 - 351.
- [6] 贺晓日,陈平洋. 先天性人巨细胞病毒感染发病机制的研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2007,34(3):220 - 222.
- [7] Galiano M C, Videla C M, Sanchez Puch S, *et al* Cytomegalovirus isolation by conventional cell culture and shell vial assay [J]. Medicina (B Aires), 2001, 61(6):825 - 829.
- [8] Fowler K B, Stagno S, Pass R F, *et al*. Maternal immunity and prevention of congenital cytomegalovirus infection[J]. JAMA, 2003,289(8):1008 - 1011.
- [9] Chen F H, Samson K T, Chen H, *et al*. Clinical applications of real-time PCR for diagnosis and treatment of human cytomegalovirus infection in children[J]. Pediatr Allergy Immunol, 2004,15(3):210 - 215.
- [10] 何蓉,刘兰青,吕绳敏,等. 荧光定量 PCR 方法检测婴儿尿液中人类巨细胞病毒基因的含量[J]. 中华儿科杂志,2001,39

(12):739-742.

[11] Coaquette A, Bourgeois A, Dirand C, *et al.* Mixed cytomegalovirus glycoprotein B genotypes in immunocompromised patients[J]. Clin Infect Dis, 2004, 39(2):155-161.

[12] Yu Z S, Zou C C, Zheng J Y, *et al.* Cytomegalovirus gB genotype and clinical features in Chinese infants with congenital infections[J]. Intervirology, 2006, 49(5):281-285.

DOI:10.3969/j.issn.1671-9638.2013.02.002

· 译文 ·

经鼻十二指肠管输注健康人粪便溶液治疗复发性艰难梭菌感染(摘译)

周鹏程, 李春辉 译 吴安华 审校

(中南大学湘雅医院, 湖南 长沙 410008)

[关键词] 艰难梭菌; 腹泻; 菌群失调; 粪便

[中图分类号] R442.2 [文献标识码] E [文章编号] 1671-9638(2013)02-0087-01

复发性艰难梭菌感染难以治疗, 抗菌药物治疗失败率较高。以往研究发现, 将健康人粪便输注到患者的十二指肠内, 对该病可能有较好的疗效, 但缺少随机对照试验的支持。本研究通过开放性的、随机对照试验, 研究经鼻十二指肠管输注健康人粪便溶液治疗复发性艰难梭菌感染的疗效。研究设计具体如下: 将复发性艰难梭菌感染患者随机分为 3 组, 分别处理。第 1 组: 开始使用万古霉素治疗 (500 mg 口服, 4 次/d, 共 4 d), 然后用 4 L 聚乙二醇溶液对患者灌肠, 最后将健康人粪便溶液 [含粪便 (141 ± 71)g], 经鼻十二指肠管输注十二指肠内; 第 2 组: 使用标准万古霉素治疗方案处理 (500 mg 口服, 4 次/d, 共 14 d); 第 3 组: 使用标准万古霉素治疗方案 (同第 2 组), 加聚乙二醇灌肠处理。使用人体肠道芯片 (HIT chip) 结合辛普森指数 (Simpson's reciprocal index) 评估各组患者处理前后肠道菌群的多样性。

该研究的临床疗效由一个不知患者分组情况的专家委员会来判定。研究主要终点为艰难梭菌相关性腹泻缓解, 并在开始治疗后的 10 周内不复发; 次要终点为腹泻缓解, 5 周内不复发。共计 41 例患者完成预定的评估, 另有 1 例患者在随访过程中死亡。其中 39 例患者在培养阳性前, 经聚合酶链反应

(PCR) 证实大便中存在艰难梭菌肠毒素基因。第 1 组, 共 16 例患者, 其中 13 例 (81%) 在第 1 次输注健康人粪便后腹泻缓解, 2 例在接受第 2 次输注后腹泻缓解, 另 1 例未缓解。第 2 组 4 例 (31%, 4/13) 及第 3 组 3 例 (23%, 3/13) 患者腹泻缓解, 分别与第 1 组比较, 均 $P < 0.001$ 。此外, 原属于第 2 或第 3 组的 18 例患者, 在抗菌药物治疗失败后, 接受健康人粪便输注疗法, 15 例腹泻缓解。输注健康人粪便溶液后, 患者的大便菌群同正常人接近, 其菌群多样性提高, 拟杆菌、梭状芽孢杆菌 IV 群、XIV a 群数量增加, 变形菌属数量减少。除第 1 组在输注粪便溶液当日, 患者有轻微的腹泻和腹部绞痛外, 3 组在其他不良事件上无显著差异。

该研究提示, 与使用万古霉素相比, 经鼻十二指肠管输注健康人粪便溶液治疗复发性艰难梭菌感染更为有效。

[参考文献]

[1] van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, *et al.* Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile* [J]. N Engl J Med, 2013, 368(5):407-415.

[收稿日期] 2013-02-27

[作者简介] 周鹏程 (1985-), 男 (汉族), 湖南省永州市人, 医师, 主要从事感染病学研究。

[通讯作者] 吴安华 E-mail: xywuanhua@csu.edu.cn