

论著 · 临床研究

FQ-PCR 检测法诊断先天性巨细胞病毒感染的卫生经济学评价

李禄全¹ 余加林¹ 谭俊杰²

(重庆医科大学附属儿童医院,1. 新生儿诊治中心; 2. 临床分子医学中心,重庆 400014)

[摘要] **目的** 探讨采用荧光定量聚合酶链式反应(FQ-PCR)检测法诊断新生儿先天性巨细胞病毒(CMV)感染的经济学成本。**方法** 对610例日龄在14 d以内的新生儿采用酶联免疫吸附法检测血清CMV抗体,对于CMV-IgM或IgG阳性新生儿采用FQ-PCR检测其尿液CMV含量,并分析确诊1例CMV感染病例的平均费用。**结果** CMV-IgM阳性新生儿的FQ-PCR阳性率为42.9%(15/35);单纯IgG阳性者为2.9%(16/547)。CMV-IgM阳性组CMV DNA对数值的均值为 5.79 ± 1.24 ,明显高于单纯CMV-IgG阳性组(4.11 ± 0.87)($P < 0.01$)。CMV-IgM阳性病例确诊先天性CMV感染的平均费用为256元/例,单纯IgG阳性者为3760元/例。**结论** (1)CMV-IgM阳性新生儿CMV DNA含量高于单纯CMV-IgG阳性者;(2)FQ-PCR确诊CMV-IgG阳性的新生儿为先天性CMV感染的成本-效益比远高于CMV-IgM阳性的患儿,对于CMV-IgG阳性新生儿,该法不适合于大规模流行病学诊断性研究。
[中国当代儿科杂志,2010,12(10):796-798]

[关键词] 巨细胞病毒;先天性感染;荧光定量聚合酶链式反应;新生儿
[中图分类号] R722 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2010)10-0796-03

Economic evaluation on diagnosis of congenital cytomegalovirus infection by fluorescent quantitative polymerase chain reaction in neonates

LI Lu-Quan, YU Jia-Lin, TAN Jun-Jie. Neonatal Diagnosis and Treatment Center, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China (Email: liluquan456@yahoo.com.cn)

Abstract: Objective To explore the cost-effectiveness of the diagnosis of congenital cytomegalovirus (CMV) infection by fluorescent quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR) in neonates. **Methods** Serum CMV immunoglobulin M (CMV-IgM) and CMV-IgG were detected using ELISA in 610 neonates aged less than 14 days. CMV DNA content was detected by FQ-PCR. The cost-effectiveness analysis was then performed. **Results** The positive rate of FQ-PCR in neonates with positive CMV-IgM was 42.9% (15/35), while, 2.9% (16/547) in neonates with positive CMV-IgG. The mean logarithm values of CMV DNA in neonates with positive CMV-IgM were higher than those in neonates with positive CMV-IgG (5.79 ± 1.24 vs 4.11 ± 0.87 ; $P < 0.01$). The costs of the diagnosis of CMV infection by FQ-PCR were 256 RMB/case in neonates with positive CMV-IgM, and 3760 RMB/case in neonates with positive CMV-IgG. **Conclusions** The CMV DNA content in neonates with positive CMV-IgM is higher than that in neonates with positive CMV-IgG. Diagnosis of congenital CMV infection by FQ-PCR in neonates with positive CMV-IgG is not suitable for large scale epidemiological survey because of high cost-effectiveness ratio.

[Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12 (10):796-798]
Key words: Cytomegalovirus; Congenital infection; Fluorescent quantitative polymerase chain reaction; Neonate

先天性巨细胞病毒(cytomegalovirus,CMV)感染是指由于母亲在怀孕期间感染CMV,垂直传播导致胎儿感染CMV,引起胎儿或新生儿多器官损害的感染性疾病。先天性CMV感染对新生儿的影响极大,但90%的患儿出生时无症状,在生长发育过程中,逐渐表现出脑瘫、耳聋等神经系统后遗症^[1]。因此,开展大规模的先天性CMV感染的流行病学调查,早期发现先天性CMV感染显得尤为重要。酶联免疫吸附法(ELISA)检测法简便、快速,在国内广泛应用,但该检测方法检测得到的CMV-IgG抗体既可

[收稿日期]2009-12-09;[修回日期]2010-01-17
[基金项目]重庆市科委基金项目(CSTC,2009BB5269);重庆医科大学科研基金(XBYB2008040);重庆市重点学科建设经费资助(2010-53)。
[作者简介]李禄全,男,硕士,主治医师。

能来自母体胎传,也可能是胎儿或新生儿自身受CMV感染后产生,需进一步采用其他方法确诊。目前可采用荧光定量聚合酶链式反应(FQ-PCR)检测病毒含量确诊新生儿先天性CMV感染^[2]。FQ-PCR检测法是否适用进行大规模的流行病学调查,其费用-效果如何?国内少有研究。本研究旨在前瞻性探讨FQ-PCR确诊新生儿先天性CMV感染的经济学成本,为大规模开展流行病学调查的费用-效果分析提供依据。

1 对象及方法

1.1 研究对象

2008年3月至2009年2月重庆医科大学儿童医院新生儿诊治中心收治的日龄在14 d以内的新生儿为研究对象,所有进行FQ-PCR检测的新生儿均具备由患儿家长签署的知情同意书,本研究获得重庆医科大学附属儿童医院伦理委员会批准(批准文号:2008006)及中国临床试验注册中心注册,编号(ChiCTR-OCC-00000489)。

1.2 ELISA检测CMV-IgG和IgM

所有新生儿入院时无论有无先天性CMV感染的危险因素及表现,均即刻采集静脉血2 mL,采用ELISA法初步检测CMV-IgM和IgG,检测方法参照试剂盒操作说明完成,并逐月进行质量控制检测。

1.3 FQ-PCR检测CMV DNA

对于ELISA法初步检测结果为CMV-IgM或IgG阳性的新生儿采集其尿液5 mL,进一步用FQ-PCR检测确诊是否存在CMV感染,对于部分CMV-IgM及IgG均为阴性的新生儿,其父母要求进一步检测有无CMV感染,亦采集尿液送检。选用CMV AD169株基因组中编码即刻早期转录调节蛋白的IE1基因的一段高度保守的非编码区为扩增靶序列,长度86 bp。上游引物:5'-TGGGCTAACTATG-CAGAGCA-3',下游引物:5'-AGCCATFGGTGCTCT-FAGGG-3'。PCR反应中,利用Taq酶5'-3'外切酶活性将荧光探针切断,通过荧光值的变化,利用阳性标准品制成的标准曲线进行定量。反应体系50 μ L,同时设置不加模板的阴性对照。扩增条件:93 $^{\circ}$ C 2 min,93 $^{\circ}$ C 45 s,55 $^{\circ}$ C 1 min,10个循环,93 $^{\circ}$ C 30 s,55 $^{\circ}$ C 45 s,30个循环。电脑对整个PCR反应过程中荧光量进行实时检测,反应结束时自动绘制出每个被检对象的PCR扩增曲线,通过与标准品的扩增曲线比较进行定量。FQ-PCR检测方法逐月进行质量控制检测。

1.4 统计学分析

所有数据输入SPSS 13.0统计软件,并进行资料正态性分布检验。病毒含量数据先进行log对数转换,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,并进行随机样本t检验,计数资料采用卡方检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ELISA检测法及FQ-PCR检测结果

剔除所有仅进行ELISA检测法检测但未进行FQ-PCR检测的病例,纳入统计对象共610例新生儿,其中男377例,女233例。单纯CMV-IgM阳性17例,IgM及IgG均为阳性18例,单纯IgG阳性547例,IgM及IgG均为阴性共28例。IgM阳性35例中FQ-PCR检测也为阳性者15例,阳性率为42.9%;单纯IgG阳性547例中FQ-PCR检测也为阳性者16例,阳性率为2.9%;IgM及IgG均为阴性的28例中,无一例FQ-PCR为阳性。

2.2 CMV-IgM阳性和CMV-IgG阳性组尿液中DNA拷贝数比较

CMV-IgM阳性组尿液中CMV DNA拷贝数在 $5.40 \times 10^3 \sim 1.67 \times 10^8$ 之间;单纯CMV-IgG阳性组CMV DNA拷贝数在 $7.13 \times 10^2 \sim 7.58 \times 10^5$ 之间,2组尿液CMV DNA拷贝数对数值log转换,并进行正态性分布检验,数据符合正态性分布,CMV-IgM阳性组CMV DNA均值为 5.79 ± 1.24 ,明显高于单纯CMV-IgG阳性组(4.11 ± 0.87),两组比较差异有统计学意义($t = 4.395, P < 0.01$)。

2.3 费用-效果分析

ELISA检测法成本为33元/样本,FQ-PCR检测成本为110元/样本。本研究中,CMV-IgM阳性35例中FQ-PCR检测也为阳性者15例,确诊先天性CMV感染的费用为 $35 \times 110 / 15 = 256$ 元/例,而单纯IgG阳性547例中FQ-PCR检测为阳性者16例,费用为 $547 \times 110 / 16 = 3760$ 元/例。提示在流行病学调查中,对单纯CMV-IgG阳性病例进一步作FQ-PCR检测,其成本-效益比远高于CMV-IgM阳性病例,将导致极大的医疗资源的浪费。

3 讨论

本研究发现,对于CMV-IgM阳性新生儿,FQ-PCR检测法阳性率达42.9%,与国内其他学者研究

结果相似^[2],CMV DNA 拷贝数较单纯 CMV-IgG 抗体阳性组高,提示 CMV-IgM 阳性病例病毒含量处于高水平,更容易检测到 CMV DNA。CMV-IgM 阳性表明活动性感染,如同时抗 CMV-IgG 阴性,则表明为原发性感染^[3],对于早期拟定 CMV 的治疗方案具有重要意义,因此,对于 CMV-IgM 阳性的新生儿可反复采用 FQ-PCR 检测尿液 CMV DNA。本研究中,CMV-IgM 阳性新生儿确诊先天性 CMV 感染的费用为 256 元/例,远低于血清单纯 CMV-IgG 阳性者(3 760 元/例),因此,在大规模的流行病学调研中,FQ-PCR 法适用对象应当是 CMV-IgM 阳性新生儿。

国内一项对 31 165 例育龄妇女血清进行 CMV 检测结果显示,CMV-IgG 抗体阳性率高达 71.56%^[4]。由于 CMV-IgG 可以通过胎盘屏障垂直传给胎儿,因此,在新生儿体内检测 CMV-IgG 阳性率较高,本研究发现单纯血清 IgG 阳性 547 例中 FQ-PCR 为阳性仅 16 例,阳性率仅为 2.9%;也提示绝大部分的 CMV-IgG 抗体是来自于其母亲,而非胎儿本身受 CMV 感染所导致。本研究发现确诊单纯 IgG 抗体阳性新生儿为先天性 CMV 感染的平均费用高达 3 760 元/例。因此,在大规模的流行病学调查中,对于单纯 CMV-IgG 抗体阳性的新生儿采用 FQ-PCR 进一步检测有无 CMV 感染的成本极高,不适于常规开展。

鉴于在本研究中,确有 2.9% 的单纯血清 IgG 阳性新生儿确诊为先天性 CMV 感染,而先天性

CMV 感染将导致:(1) 孕妇出现习惯性流产,死胎、死产;(2) 在胚胎发育期胎儿各器官发育形态及功能异常,如:皮肤瘀斑、小头畸形、生长迟缓、脑积水、脉络膜视网膜炎等;(3) 早产、低出生体重、肝脾肿大、凝血功能异常等。因此对于存在上述危险因素的新生儿,其血清单纯 CMV-IgG 抗体阳性,也可采用 FQ-PCR 早期明确有无先天性 CMV 感染。无上述“特定危险因素”的新生儿,若其血清单纯 CMV-IgG 抗体阳性,可用 ELISA 法定期动态随访其血清 CMV 抗体水平以明确是否存在 CMV 感染。

综上所述,本研究提出 FQ-PCR 法适用于 CMV-IgM 阳性的新生儿的大规模流行病学调查,对于 CMV-IgG 阳性的新生儿,采用 FQ-PCR 法确诊的成本-效益比较高,除存在“特定危险因素”的新生儿外,不适用于发展中国家大规模流行病学调研。

[参 考 文 献]

[1] Leung AK, Sauve RS, Davies HD. Congenital cytomegalovirus infection[J]. J Natl Med Assoc, 2003, 95(3):213-218.
[2] 马艳萍,齐莹,吉耀华,刘庆,王继东,孙峥嵘,等. 荧光定量聚合酶链式反应法检测婴儿尿液人巨细胞病毒对人巨细胞病毒感染的诊断意义[J]. 实用儿科临床杂志,2007,22(22):1696-1712.
[3] 中华医学会儿科分会感染消化学组. 巨细胞病毒感染诊断方案[J]. 中华儿科杂志,1999,37(7):441.
[4] 袁中群,杜风泽,李玲霜. 育龄妇女巨细胞病毒感染优生管理措施的研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2004,12(3):115-116.

(本文编辑:王庆红)