

孕妇及新生儿巨细胞病毒荧光定量聚合酶链反应检测的意义

孙莉莉,冯光,储穆庭(辽宁省沈阳市妇女儿童保健中心遗传室 110074)

【摘要】 目的 探讨孕期妇女以及新生儿进行巨细胞病毒检测的意义。方法 应用荧光定量聚合酶链反应法检测孕妇和新生儿尿液中巨细胞病毒 DNA 含量。结果 2008~2010 年孕妇尿液中巨细胞病毒检测的阳性率分别为 7.69%、14.33%、13.86%、17.43%，新生儿感染率分别为 9.90%、10.89%、12.38%、20.03%。结论 在孕妇及新生儿中进行巨细胞病毒检测对预防感染、降低新生儿病残率有着重要的意义。

【关键词】 孕妇； 新生儿； 巨细胞病毒； 聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.01.026 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)01-0056-01

Effect of the detection of CMV DNA in urine of pregnancy and neonatal SUN Li-li, FENG Guang, CHU Mu-ting (Genetic Department, Women and Children Health Care Center of Shenyang, Liaoning 110032, China)

【Abstract】 Objective To explore the effect of the CMV DNA detection in pregnancy and neonatal. **Methods** By fluorescent quantitation polymerase chain reaction method, CMV DNA concentration in urine was detected. **Results** From 2008 to 2010, the positive rates of CMV-DNA in pregnancy were 7.69%, 14.33%, 13.86% and 17.43% respectively, while the infection rates of neonatal were 9.9%, 10.89%, 12.38% and 20.03%. **Conclusion** It is significant that detection of CMV DNA can prevent infection and reduce neonatal morbidity.

【Key words】 pregnancy; neonatal; CMV; PCR

先天性疾病是新生儿死亡的重要原因,而其中巨细胞病毒感染在全世界范围内是最常见的一种原因,在发达国家活产儿巨细胞病毒的感染率为 0.3%~2.2%^[1]。病毒可以通过孕妇原发或继发性感染传播给胎儿,其中通过孕妇原发感染传播给胎儿的概率是 30%~40%,孕妇继发感染病毒传播给胎儿的概率很小。因此针对孕妇及新生儿进行巨细胞病毒的检测具有一定的临床意义。本院于 2008 年开始进行巨细胞病毒(CMV)的检测,主要采用荧光定量聚合酶链反应(PCR)的方法,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008 年 1 月至 2011 年 12 月在本中心遗传室进行巨细胞病毒检测的孕妇及新生儿。孕妇 33 823 例,新生儿 3 757 例。标本主要以尿液和乳汁为主。

1.2 仪器与试剂 ABI7300 PCR 仪,人类巨细胞病毒 DNA 定量检测试剂盒(达安基因股份有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本处理 取标本 1~1.5 mL 于离心管中,12 000 r/min 离心 5 min。

1.3.2 样本 DNA 提取 去上清液,沉淀中加入 50 μL DNA 提取液充分混匀,100 ℃ 恒温处理(10±1)min。12 000 r/min 离心 5 min,备用。

1.3.3 PCR 扩增 取 PCR 反应管若干,分别加入处理后样品上清液 2 μL 及阳性定量参考品 2 μL,8 000 r/min 离心数秒,放入仪器样品槽。循环条件:93 ℃ 2 min,93 ℃ 45 s→55 ℃ 60 s→10 个循环,93 ℃ 30 s→55 ℃ 45 s→30 个循环。

2 结果

2.1 2008~2011 年总筛查人数为 37 580 例,其中孕妇 33 823 例,巨细胞病毒阳性率为 13.77%;新生儿为 3 757 例,巨细胞病毒阳性率 13.95%。

2.2 2008~2011 年母乳乳汁阳性率较高,同时检测新生儿尿液的巨细胞感染率;孕妇尿液 CMV 检测的阳性率较低,由于

条件所限,未检测到其新生儿尿液的巨细胞感染率,具体情况见表 1、2。

表 1 乳母乳汁及新生儿尿液中 CMV 检测结果

年份	乳母		新生儿	
	n	阳性[n(%)]	n	阳性[n(%)]
2008	637	279(43.80)	434	43(9.90)
2009	1 464	1 195(81.63)	1 074	117(10.89)
2010	1 400	1 131(80.79)	1 131	140(12.38)
2011	1 965	1 342(68.30)	1 118	224(20.03)

表 2 孕妇尿液 CMV 检测结果

年份	n	阳性(n)	阳性率(%)
2008	5 250	174	3.31
2009	8 339	210	2.52
2010	8 685	267	3.07
2011	6 083	61	1.00

2.3 巨细胞病毒 DNA 检测阳性的孕妇中有 90 例进行了产前诊断(羊水中巨细胞病毒 DNA 检测),结果均未发现有病毒复制,经随诊所有婴儿均正常,无任何临床症状。

3 讨论

巨细胞病毒感染是最常见的先天性感染疾病之一,而且它也是由病毒引起智力发育迟缓的最常见原因。在发达国家新生儿的先天性巨细胞病毒感染发生率为 0.3%~2.4%,新生儿获得这种病毒的感染主要是通过亲密的接触(包括污染的血标本、尿、分泌物等)、胎盘的垂直传播、产后可通过乳汁喂养传播^[2]。大约 10%~15% 先天性感染的婴儿在出生时会出现症状,出现症状的婴儿中 20%~30% 会死亡;然而 5%~15% 无症状的先天性感染的婴儿会出现后遗症。在孕(下转第 59 页)

下存放数月甚至 1 年不变,故更可靠^[11]。因此它的浓度升高,可提示发生了肾小管功能损伤,这种损伤可能预示肾炎和早期糖尿病肾病的发生。

从本文结果可以看出,在肾功能轻微受损(mAlb 31~100 mg/L)和明显损害(mAlb>100 mg/L)的糖尿病组中,患者血 CysC、尿 α_1 -MG、BUN 和 Cr 几项指标都明显升高,说明这几个指标都可以用来监测糖尿病患者的肾功能状况。但在 mAlb 正常组中,血 CysC 和尿 α_1 -MG 水平变化较 BUN 和 Cr 明显,阳性检出率也明显升高,与健康对照组比较差异显著。说明血 CysC 和尿 α_1 -MG 在 DN 的早期诊断中敏感性方面明显优于 BUN 和 Cr,对于糖尿病肾病早期的诊断有意义,能够早期发现糖尿病患者肾功能变化。

另外在 mAlb 正常组中,血 CysC 和尿 α_1 -MG 联合检出率明显高于单项指标检出率,由此可见,虽然血 CysC 与尿 α_1 -MG 作为 2 项独立的指标,可以从不同的方面反映肾功能的早期损害,但是如果将它们联合检测可在一定程度上提高早期肾损伤的检出率,为肾功能损伤特别是轻微受损和受损早期的糖尿病肾病提供诊断依据。

参考文献

[1] 郑新山. 血清胱抑素 C 和尿微量清蛋白在糖尿病早期肾损害中的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(1): 34-36.
 [2] Boulton AJ. The diabetic foot: a global view[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2000, 16(suppl): 2-5.
 [3] 胡芙蓉. 血清胱抑素 C 的测定及其临床应用[J]. 江西医学检验, 2001, 19(6): 375-377.
 [4] Lever AS, Bosch JP, Lewis JB, et al. A more accurate

method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine; a new prediction equation. Modification of diet in renal disease study group[J]. Ann Intern Med, 1999, 130(6): 461-470.

[5] 吴甲文, 李洁莲, 王巍. 血清胱抑素 C 测定在肾功能损害中的临床应用[J]. 中国医药指南, 2008, 6(25): 75-76.
 [6] 李海霞, 张春丽, 徐国宾, 等. 健康人群血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 与肌酐分布及其评价慢性肾脏病患者肾小球滤过率功能的比较研究[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(5): 702-704.
 [7] 李云生, 曾爱平, 戴再友, 等. 240 例肾脏疾病患者血清胱抑素 C 的变化及临床相关研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2004, 5(10): 598-599.
 [8] Marsh SJ, Dolson GM. Rhabdomyolysis and acute renal failure during high-dose haloperidol therapy[J]. Ren Fail, 1995, 17(4): 475-478.
 [9] Brunskill NJ, Stuart J, Tobin AB, et al. Receptor-mediated endocytosis of albumin by kidney ProXimal tubule cells is regulated by phosphatidylinositol 3-kinase[J]. J Clin Invest, 1998, 101(10): 2140-2150.
 [10] 周晓光, 刘佩玲. 血、尿 α_1 -微球蛋白测定及其对肾功能的评价[J]. 国外医学: 临床生物化学与检验学分册, 1994, 15(2): 83-85.
 [11] 陆学军, 李志艳, 徐国宾. 人 α_1 -微球蛋白的生物学研究新进展及其与疾病的关系[J]. 中国实验诊断学, 2004, 10(5): 562-564.

(收稿日期: 2012-06-08 修回日期: 2012-11-17)

(上接第 56 页)

早期发生垂直传播更容易导致胎儿发生感觉神经性耳聋或其他神经系统的后遗症,在孕后期垂直传播的婴儿预后比较好^[3]。因此孕妇早期进行巨细胞病毒的检测至关重要。

本中心于 2008 年开始对孕期妇女及新生儿进行巨细胞病毒的荧光定量 PCR 的检测,从表 1、2 可以看出,2008~2011 年 4 年乳汁中 CMV 的阳性率明显高于尿液中的阳性率。考虑巨细胞更容易从乳汁中排泄,母乳喂养的新生儿更容易被传染。本研究孕妇尿液中巨细胞病毒阳性率在 3% 左右,较国际数据偏低,考虑原因之一是国际上采用的血清学检测方法假阳性率较高,导致检测结果偏高。而本中心采用的是实时荧光定量聚合酶链反应法,弥补了血清学检测的不足,它不仅仅大大降低了假阳性的可能,极大地缩短了检测的窗口期(7 d),做到了早期检测,而且对于病毒检测做到了量化,因此可以用来检测病毒的活动性,评价抗病毒疗效,对于产前诊断及活动性感染和评价抗病毒治疗效果有着重要的意义;原因之二是巨细胞病毒是通过尿液间歇排放的,存在假阴性的可能,因此对可疑者需进行多次检测。本中心检测新生儿的感染率较国际数据偏高,原因可能是到本中心进行检测的新生儿大多数存在着一定的阳性体征如黄疸、发育迟缓等,在高危人群中进行检测导致巨细胞病毒阳性率偏高。

本中心通过巨细胞病毒的检测,帮助计划怀孕的妇女预防病毒的感染。对于孕期妇女通过检测可以帮助她们进行病毒感染以及病毒垂直传播风险的评估(通过羊膜腔穿刺,进行羊水中病毒检测)^[4-6],从而达到优生优育的目的。对于新生儿通

过 CMV DNA 的早期检测、早期发现、早期治疗,降低了新生儿的病残率。

参考文献

[1] Lazzarotto T, Guerra B, Lanari M, et al. New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection[J]. J Clin Virol, 2008, 41: 192-197.
 [2] Carlson A, Norwitz ER, Stiller RJ. Cytomegalovirus Infection in Pregnancy: Should All Women Be Screened[J]. Rev Obstet Gynecol, 2010, 3(4): 172-179.
 [3] Yinon Y, Farine D, Yudin MH. Screening, Diagnosis, and Management of Cytomegalovirus Infection in Pregnancy[J]. Obstet Gynecol Surv, 2010, 65(11): 736-743.
 [4] Yinon Y, Farine D, Yudin MH, et al. Cytomegalovirus Infection in Pregnancy[J]. J Obstet Gynecol Can, 2010, 32(4): 348-354.
 [5] 赵英, 林成芳, 杨劲. 胱抑素 C 及 α_1 -微球蛋白检测对糖尿病肾病诊断价值的比较分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(9): 935-936.
 [6] 张英芬, 钟柱香. 糖尿病肾病患者血清胱抑素 C 和尿 α_1 -微球蛋白的测定[J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(21): 5072-5073.

(收稿日期: 2012-05-22 修回日期: 2012-11-19)