

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 17. 004

婴儿血液、尿液和产妇母乳巨细胞病毒 DNA 检测结果的相关性^{*}

张效本,田 葱,赵雪丽,原慧芳
(河南省开封市医学科学研究所 475000)

摘 要:目的 探讨婴儿血液、尿液及其母亲母乳的人巨细胞病毒(HCMV)DNA 检测结果的相关性及婴儿 HCMV 感染的诊断价值。方法 收集 258 例婴儿血液、尿液和对应母乳的 HCMV 标本,采用全自动荧光定量 PCR 法进行检测。结果 258 例婴儿血液、尿液及其母亲母乳的 HCMV DNA 阳性率分别为 28.68%、48.06%、61.24%,血液和尿液联合检测 HCMV DNA 阳性率为 55.04%,3 种标本联合检测 HCMV DNA 阳性率为 74.41%。3 种标本 HCMV DNA 检测结果具有相关性,但差异无统计学意义($\chi^2_{\text{乳-血}}=12.84, P=0.219$; $\chi^2_{\text{乳-尿}}=29.02, P=0.318$; $\chi^2_{\text{尿-血}}=63.09, P=0.444$)。结论 婴儿血液、尿液及其母亲母乳联合检测可能对婴儿相关疾病溯源和 HCMV 感染起到互补诊断,具有重要的临床意义。

关键词:婴儿; 人巨细胞病毒; DNA; 联合检测
中图分类号:R446 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2018)17-2536-03

The relationship between infantile blood, urine and breast milk of human cytomegalovirus DNA test results and its clinical significance^{*}

ZHANG Xiaoben, TIAN Cong, ZHAO Xueli, YUAN Hui Fang
(Kaifeng Institute of Medical Sciences, Kaifeng, Henan 475000, China)

Abstract: **Objective** To analyze the relationship between infantile blood, urine and breast milk of human cytomegalovirus DNA test results, and investigate the value of three kinds of samples in the diagnosis of infantile cytomegalovirus infection. **Methods** The DNA of human cytomegalovirus was detected by the automatic fluorescence quantitative PCR method. **Results** The cytomegalovirus DNA positive rates of 258 infants with blood, urine and corresponding breast milk were 28.68%, 48.06% and 61.24% respectively, the combined test of infantile blood and urine was 55.04%, the positive rate was 74.41% for three samples. Through correlation analysis and differential testing ($\chi^2_{\text{milk-blood}}=12.84, P=0.219$; $\chi^2_{\text{milk-urine}}=29.02, P=0.318$; $\chi^2_{\text{blood-urine}}=63.09, P=0.444$), the DNA test results of three samples of cytomegalovirus were related, but the relationship was not close. **Conclusion** The combined detection of infantile blood, urine and breast milk may be of great clinical significance for the diagnosis of infant related diseases and the complementary diagnosis of cytomegalovirus infection.

Key words: infant; human cytomegalovirus; DNA; combined detection

人巨细胞病毒(HCMV)属疱疹病毒科,为双链 DNA 病毒,是引起围产儿感染最常见的病毒^[1]。HCMV 可侵袭多个器官、系统而产生严重疾病^[2]。免疫机制发育不成熟的新生儿和婴儿,则可产生肝炎、肺炎、脑膜炎、智力低下、先天性耳聋等严重的感染症状^[3]。因此,及早诊断和治疗对疾病的控制和预后有着重要意义。现探讨婴儿血液、尿液、母乳联合检测在婴儿 HCMV 感染的诊断价值。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 258 例疑似 HCMV 感染的婴儿来自 2015 年 10 月至 2017 年 11 月该市妇幼保健院就诊

或住院患者,男 152 例,女 106 例,年龄 28 d 至 11 个月,中位年龄 3 个月。临床表现为黄疸和(或)肝功能异常者 114 例,腹泻 29 例,肺炎 45 例,脑炎 7 例,传染性单核细胞增多症 3 例,心肌炎 3 例,其他 57 例。HCMV 感染的诊断参考中华医学会儿科学分会发布的《巨细胞病毒诊断方案(1998 年)》^[4]和《儿童 HCMV 疾病诊断和防治的建议(2012 年)》^[5]。

1.2 方法

1.2.1 标本采集和处理 采用洁净试管收集婴儿晨尿或产妇乳汁(清洗乳头)1.5 mL,10 000 r/min 离心 5 min 留取沉淀物;取婴儿空腹全血 1.0 mL 加入含

^{*} 基金项目:河南省开封市科技发展计划资助项目(1603033)。
作者简介:张效本,男,副主任技师,主要从事病毒性肝炎检验研究。

EDTA 抗凝剂的试管中,使用 1.0 mL 淋巴细胞液抽提细胞,生理盐水洗涤留取沉淀。不能及时检测的标本—20℃保存。

1.2.2 仪器与试剂 全自动荧光定量 PCR 扩增仪,DA7600 型,佛山达安医疗设备有限公司生产。HCMV DNA 检测试剂盒为中山达安基因股份有限公司产品。

1.2.3 HCMV DNA 测定 严格按试剂盒说明书操作。将 50 μL 处理后的尿液、乳汁、血细胞沉淀物,以及等量 DNA 提取液加入 1.5 mL 离心管中,100℃加热 10 min,12 000 r/min 离心 5 min 取上清液 2 μL 做 PCR 扩增。FQ-PCR 扩增条件:93℃,2 min 预变性;93℃ 45 s→55℃ 60 s,10 个循环;93℃ 30 s→55℃ 45 s,30 个循环。结果判定由分析处理软件系统自动生成。试剂盒检出限度为 10³ copy/mL。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据分析。计数资料以例数或百分率表示,结果关联性分析使用 χ^2 检验;差别性检验,关联系数 *P* 越接近 1 表示关系越密切,反之越不密切。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 种标本 HCMV DNA 阳性率结果比较 258 例婴儿血液、尿液及其母亲母乳 HCMV DNA 阳性率分别为 28.68%(74/258)、48.06%(124/258)、61.24%(158/258)。婴儿血液和尿液联合检测 HCMV DNA 的阳性率为 55.04%(142/258),3 种标本联合检测 HCMV DNA 的阳性率为 74.41%(192/258)。

2.2 3 种标本检测的相关性及诊断价值 258 例婴儿血液、尿液及其母亲母乳 HCMV DNA 检测结果经关联性分析和差别性检验,结果之间有相关性,但差异无统计学意义(均 *P*>0.05)。见表 1~3。

表 1 血液和尿液标本 HCMV DNA 检测结果之间的相关性(*n*)

血液 DNA	尿液 DNA		合计
	阳性(+)	阴性(-)	
阳性(+)	56	18	74
阴性(-)	68	116	184
合计	124	134	258

注: $\chi^2=63.09,P=0.444$

表 2 血液和母乳标本 HCMV DNA 检测结果之间的相关性(*n*)

血液 DNA	母乳 DNA		合计
	阳性(+)	阴性(-)	
阳性(+)	58	100	158
阴性(-)	16	84	100
合计	74	184	258

注: $\chi^2=12.84,P=0.219$

表 3 尿液和母乳标本 HCMV DNA 检测结果之间的相关性(*n*)

血液 DNA	尿液 DNA		合计
	阳性(+)	阴性(-)	
阳性(+)	97	61	158
阴性(-)	27	73	100
合计	124	134	258

注: $\chi^2=29.02,P=0.318$

3 讨 论

HCMV 感染在我国流行广泛,原发性感染多发生于婴幼儿时期^[5]。成人常为隐性感染,但婴儿由于免疫系统发育尚不完全,感染后极易诱发相关疾病。对婴儿 HCMV 感染诊断除依靠临床症状外,实验室诊断尤其重要^[6]。HCMV 感染后病毒核酸比血清学证据和临床症状出现得更早,因此可将检测 HCMV 核酸作为 HCMV 感染的早期诊断指标^[7]。目前,有关婴儿血液、尿液及其母亲母乳 HCMV DNA 检测已有临床应用的相关报道^[7-8]。但未对 3 种标本检测结果之间的相关性进行探讨。

本研究结果显示,婴儿尿液 HCMV DNA 阳性率(48.06%)高于血液(28.68%),推测尿液检测对婴儿 HCMV 感染的诊断价值可能大于血液;但婴儿尿液和血液 HCMV DNA 检测结果之间的相关性提示,两者关系并不密切,2 种标本检测结果一致性并不高。说明婴儿血液和尿液标本联合检测对 HCMV 感染的诊断具有互补作用,可减少漏诊。本研究血液 HCMV DNA 阳性率较低的原因,可能与病毒感染时期或者提取 DNA 的含量较少有关。

本研究 258 例婴儿血液、尿液及其母亲母乳标本检测结果表明,母乳 HCMV DNA 阳性率(61.24%)高于婴儿血液和尿液,与宋春兰等^[9]报道的 69.4%基本一致,认同母乳是婴儿 HCMV 获得性感染的主要途径,提示母乳喂养可能会增加婴儿 HCMV 感染概率,应引起重视。同时,分析母乳与婴儿血液、尿液检测结果的相关性显示,母乳与血液、尿液 HCMV DNA 检测结果之间的相关性也不密切,虽然母乳 HCMV DNA 结果为阳性(或阴性)者,婴儿血液或尿液 HCMV DNA 结果也多为阳性(或阴性),但仍有多例乳汁 HCMV DNA 结果为阳性者,血液或尿液 HCMV DNA 结果为阴性。因此,对于血液或尿液 HCMV DNA 阴性,又疑似 HCMV 感染的患儿,行母乳 HCMV DNA 检测很有必要,即使不能为 HCMV 感染的诊断提供直接证据,也对 HCMV 感染相关疾病溯源和治疗具有指导作用。

当前,母乳喂养增加婴儿 HCMV 感染概率已经被众多研究所证实。有研究报道,HCMV 的发病机制及预后受机体免疫力的影响,当(下转第 2542 页)

综上所述,中山市耳聋基因检出率处于全国耳聋基因检出率中等水平,对比各地耳聋基因突变检出率和构成百分率,表明进行该地区耳聋基因筛查结果可指导临床合理使用耳聋基因筛查,对各个基因突变患儿采取相应的指导和防护措施,可有效避免耳聋及耳聋加重。本研究测序和筛查结果显示初筛准确率高,可早期筛查携带耳聋基因患儿,为临床早期发现、早期诊断、早期治疗非综合征型耳聋提供参考依据和医学咨询,减少耳聋的发生及加重,提高患儿的社会适应能力和生活质量。

参考文献

[1] 唐向荣,严提珍,林墨菊,等. 广西 84 例非综合征型耳聋患者遗传性聋基因芯片检测结果分析[J]. 听力学及言语疾病杂志,2014,22(4):344-347.

[2] 赵连爽,陈昕,代娣,等. 沈阳地区非综合征性耳聋患者的基因芯片检测结果分析[J]. 检验医学与临床,2014,8(8):1018-1019.

[3] RODRIGUES F, PANEQUE M, REIS C, et al. Non-syndromic sensorineural prelingual deafness: The importance of genetic counseling in demystifying parents' beliefs about the cause of their children's deafness[J]. J Gene Couns, 2013, 22(4):448-454.

[4] 陈鑫苹,符征,符生苗,等. 海南地区非综合征遗传性耳聋四个常见基因突变的分析[J]. 现代检验医学杂志,2014,17(5):34-37.

[5] 王智楠,李隽,胡艳玲,等. 湖北地区新生儿听力与基因筛查模式的转变与发展[J]. 中国医学文摘(耳鼻咽喉科

学), 2015, 30(4):208-211.

[6] 胡海利,李卫东,邵子瑜,等. 未通过新生儿听力筛查的婴幼儿耳聋基因与 AABR 联合筛查结果分析[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2017, 25(6):579-582.

[7] 柴福,赵海亮,邱书奇. 新生儿 GJB2、GJB3、SLC26A4 和线粒体 DNA12SrRNA 基因突变筛查结果分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2017, 31(9):664-666.

[8] 刘畅,张彦,杨杰,等. 新生儿听力筛查联合聋病易感基因检测的临床应用价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31(9):884-886.

[9] 马建鹏,徐百成,边盼盼,等. 中国西北地区回族非综合征型聋患者耳聋相关基因研究[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2013, 10(5):451-455.

[10] 崔庆佳,王国建,张媛,等. GJB2、SLC26A4 基因相关耳聋儿童的听力损失特点分析[J]. 听力学及言语疾病杂志, 2014, 22(2):120-123.

[11] FISCHER-GHODSIAN N, PREZANT T R, CHALTRAW W E, et al. Mitochondrial gene mutation is a significant predisposing factor in aminoglycoside ototoxicity[J]. Am J Otolaryngol, 2007, 18(3):173-178.

[12] 李彦琼,刘德胜,吕超绍,等. 云南 337 名非综合征型聋患者 GJB3 基因 C538T 和 G547A 突变分析[J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(12):2024-2026.

[13] XIA J H, LIU C Y, TANG B S, et al. Mutations in the gene encoding gap junction protein beta-3 associated with autosomal dominant hearing impairment[J]. Nat Genet, 2008, 20(4):370-373.

(收稿日期:2017-12-29 修回日期:2018-03-28)

(上接第 2537 页)

感染了 HCMV 的孕妇免疫力下降时, HCMV 可被激活而变为显性感染,并通过母乳传播给婴儿^[10]。但也有研究认为,虽然新生儿产后通过母乳喂养 HCMV 感染率较高,但症状性感染率无明显升高^[11-12]。因此,母乳 HCMV DNA 检测对婴儿 HCMV 感染及相关疾病诊断的应用价值,还有待进一步的探讨和临床验证。

参考文献

[1] 李淑娟,曹云. 早产儿经母乳获得性巨细胞病毒感染的研究进展[J]. 中华围产医学杂志, 2014, 17(11):773-777.

[2] 宋丹,梅花. 新生儿先天性巨细胞病毒感染的诊断、预防及治疗进展[J]. 医学综述, 2017, 23(22):4453-4457.

[3] LI X, SHI X, QIAO Y. Observation of permeability of blood-labyrinth barrier during cytomegalvirus-induced hearing loss[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2014, 78(7):995-999.

[4] 中华医学会儿科学分会感染消化学组. 巨细胞病毒感染诊断方案[J]. 中国实用儿科杂志, 2000, 15(2):121.

[5] 中华医学会儿科学分会感染学组, 全国儿科临床病毒感

染协作组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童巨细胞病毒性疾病诊断和防治的建议[J]. 中华儿科杂志, 2012, 50(4):290-292.

[6] 阮强,何蓉. 人巨细胞病毒感染的实验室检测与诊断[J]. 实用儿科临床杂志, 2012, 27(10):729-731.

[7] 谢而付,黄珮珩,陈丹,等. 母乳及婴儿尿液人巨细胞病毒 DNA 检测在婴儿人巨细胞病毒感染中的应用[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(3):477-479.

[8] 唐华. 人巨细胞病毒感染的实验室诊断技术研究进展[J]. 现代医药卫生, 2015, 31(3):383-386.

[9] 徐莉莉,牟文凤,杨丽,等. 婴儿血液、尿液及母乳病毒 DNA 检测在诊断人巨细胞病毒感染中的应用[J]. 中国当代儿科杂志, 2013, 15(9):748-750.

[10] 宋春兰,杜开先. 巨细胞病毒感染婴儿母亲携带病毒检测的意义[J]. 中国医药科学, 2012, 2(17):120.

[11] 李迪,李艳. HCMV-DNA 载量与婴儿巨细胞病毒性肝炎的关系[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(18):2700-2704.

[12] 朱晓琴,陈丽平,刘兰华,等. 不同喂养和分娩方式对婴儿巨细胞病毒感染的影响及其结局[J]. 中华围产医学杂志, 2017, 20(8):571-576.

(收稿日期:2018-02-09 修回日期:2018-05-10)