

DOI:10.7499/j.issn.1008-8830.2013.09.009

论著·临床研究

## 婴儿血液、尿液及母乳中病毒 DNA 检测 在诊断人巨细胞病毒感染中的应用

徐莉莉<sup>1</sup> 牟文凤<sup>1</sup> 杨丽<sup>1</sup> 王宜成<sup>2</sup>

(1. 青岛市妇女儿童医院 检验科, 山东 青岛 266034;  
2. 青岛农业大学资源与环境学院, 山东 青岛 266109)

**[摘要]** 目的 定量检测疑似人巨细胞病毒(HCMV)感染婴儿血液、尿液及对应母亲乳汁中的 HCMV-DNA, 评估三者在不同年龄组内辅助诊断 HCMV 感染的意义。方法 选取 170 例疑似 HCMV 感染婴儿, 根据年龄分为两组: 新生儿组(<28 d,  $n=43$ )和 28 d~5 个月组( $n=127$ ), 分别收集血液、尿液及母乳, 应用荧光定量聚合酶链式反应法(FQ-PCR)检测 HCMV-DNA。结果 新生儿组血液、尿液及母乳 HCMV-DNA 阳性检出率分别为 65.1%、18.6% 和 93.0%, 28 d~5 个月组三者检出率分别为 64.6%、92.9% 和 72.4%, 28 d~5 个月组尿液检出率显著高于新生儿组( $P<0.01$ ), 而母乳检出率却显著低于新生儿组( $P<0.01$ )。82 例血液和尿液 HCMV-DNA 为阳性的患儿, 其尿液 HCMV-DNA 拷贝数明显高于血液。结论 不同年龄组尿液及母乳中 HCMV-DNA 检出率不同, 根据年龄选择合适的送检标本对提高检出率具有重要意义。

[中国当代儿科杂志, 2013, 15(9): 748-750]

**[关键词]** 人巨细胞病毒; 脱氧核糖核酸; 血液; 尿液; 乳汁; 儿童

### Application of HCMV DNA detection in infants' blood, urine and mothers' breast milk in the diagnosis of HCMV infection among infants

XU Li-Li, MOU Wen-Feng, YANG Li, WANG Yi-Cheng. Department of Laboratory Medicine, Qingdao Women and Children's Hospital, Qingdao, Shandong 266034, China (Mou W-F, Email: muwff@163.com)

**Abstract: Objective** To quantify human cytomegalovirus (HCMV) DNA in the blood and urine of infants of different ages with suspected HCMV infection, and in the breast milk of their mothers, and to evaluate the significance of HCMV DNA detection in the three specimen types in the diagnosis of HCMV infection among infants of different ages. **Methods** A total of 170 infants with suspected HCMV infection were divided into groups A (<28 days;  $n=43$ ) and B (28 days to 5 months;  $n=127$ ) according to their ages. Blood and urine were collected from the infants, and breast milk was collected from their mothers. The specimens were examined by fluorescence quantitative PCR for detection of HCMV DNA. **Results** In group A, HCMV DNA detection rates in blood, urine and breast milk were 65.1%, 18.6% and 93.0% respectively. In group B, HCMV DNA detection rates in blood, urine and breast milk were 64.6%, 92.9% and 72.4% respectively. HCMV DNA detection rate in urine in group B was significantly higher than in group A ( $P<0.01$ ), however, HCMV DNA detection rate in mothers' breast milk in group B was significantly lower than in group A ( $P<0.01$ ). Among the 82 infants with positive results for blood and urine, the copy number of HCMV DNA in urine was significantly higher than that in blood. **Conclusions** HCMV DNA detection rates in urine and breast milk are different among infants of different ages, so use of suitable specimens according to age is of great significance for improving detection rate.

[Chin J Contemp Pediatr, 2013, 15(9):748-750]

**Key words:** Human cytomegalovirus; DNA; Blood; Urine; Breast milk; Child

人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)是一种疱疹病毒科 DNA 病毒, 因其感染后能使被感染细胞肿大并产生巨大的核内嗜酸性包涵体故

称为巨细胞病毒。HCMV 可长期或间歇地从患者或隐性感染者的唾液、精液、尿液、乳汁和子宫颈分泌物中排出。HCMV 感染在我国流行广泛,

[收稿日期] 2012-12-27; [修回日期] 2013-02-17

[作者简介] 徐莉莉, 硕士研究生, 检验师。

[通信作者] 牟文凤, 主管技师。

且首次感染多发生在婴儿时期<sup>[1]</sup>。HCMV一旦侵入人体,将长期或终身存在于体内,在绝大多数免疫正常个体常呈无症状感染,但在免疫抑制个体、胎儿和小婴儿可出现明显症状<sup>[2-3]</sup>。因此,对婴儿感染的早期诊断具有重要意义。

HCMV感染机体后缺乏特异性的症状和体征,给临床确诊HCMV感染带来一定困难,实验室诊断包括病毒分离、血清中HCMV IgM检测及HCMV-DNA检测等,因病毒分离不能在临床中广泛开展,婴儿产生IgM能力弱,导致前两者在辅助诊断婴幼儿HCMV感染中应用价值不大。荧光定量PCR(fluorescence quantitative PCR, FQ-PCR)融汇了PCR的高灵敏性、DNA杂交的高特异性和光谱技术精确定量的优点,在检测低病毒含量标本时有很高的应用价值。本研究应用FQ-PCR对不同年龄组内疑似HCMV感染的婴儿血液、尿液和母乳中HCMV-DNA进行检测,分析三者在不同年龄组内辅助诊断HCMV感染的意义并比较三者的浓度关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

170例疑似HCMV感染婴儿,为青岛市妇女儿童医院2011年12月至2012年11月门诊及住院患儿,其中男101例,女69例,年龄3d至5个月。将疑似患儿根据年龄分为两组:新生儿组(<28d, 43例)和28d~5个月组(127例)。170例疑似患儿中血液、尿液及母乳HCMV-DNA均为阳性者有56例,仅血液和尿液阳性者有82例。当患儿出现黄疸、肝脾肿大、紫癜、小头畸形、体重过轻、早产以及脉络视网膜炎、脑积水、脑组织钙化等HCMV感染相关的症状和体征,且血液、尿液、母乳中有任何一项HCMV-DNA阳性者诊断为有症状感染(8例仅母乳阳性者,在后续随访中证实血或尿HCMV-DNA阳性)。

### 1.2 标本收集

用无菌注射器取2 mL静脉血于含有EDTA作为抗凝剂的无菌离心管中,室温1600 g离心20 min,分离血浆,转入无菌离心管中备用。清洁患儿外阴,留取新鲜晨尿2~5 mL于干净无菌试管中,同时留取患儿母亲乳汁5 mL于干净无菌试管中,立即送检或置于4℃冰箱保存。

### 1.3 试剂与仪器

HCMV核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法)为凯杰生物工程(深圳)有限公司商品化产品,

Mx3000p荧光定量PCR仪为美国Stratagene公司产品。

## 1.4 统计学方法

采用SPSS(11.5)软件进行统计分析。计数资料以百分率表示,计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。两组间血液、尿液及母乳HCMV-DNA检出率比较采用 $\chi^2$ 检验,三种标本类型均为阳性患儿的HCMV-DNA拷贝数相关性分析采用Spearman相关性分析,血液和尿液阳性患儿HCMV-DNA拷贝数比较采用配对 $t$ 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患儿血液、尿液及母乳HCMV-DNA检出率比较

新生儿组43例疑似HCMV感染婴儿中,母乳检出率最高,血液次之,尿液最低(血液与尿液比较, $\chi^2=19.111$ ,  $P < 0.001$ ;血液与母乳比较, $\chi^2=10.118$ ;  $P=0.001$ ;尿液与母乳比较 $\chi^2=48.281$ ,  $P < 0.001$ )。28d~5个月组127例疑似HCMV感染婴儿中,尿液检出率最高,血液和母乳检出率差别无统计学意义(血液与尿液检出率比较, $\chi^2=30.480$ ,  $P < 0.001$ ;尿液与母乳比较, $\chi^2=18.583$ ,  $P < 0.001$ ;血液与母乳比较, $\chi^2=1.825$ ,  $P=0.177$ )。将两组间血液、尿液及母乳HCMV-DNA检出率分别进行比较,结果显示28d~5个月组尿液检出率明显高于新生儿组( $P < 0.001$ ),而母乳检出率则显著低于新生儿组( $P=0.005$ );两组间血液检出率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1。

表1 两组血液、尿液及母乳HCMV-DNA检出率比较  
[例(%)]

| 组别         | 例数  | 血液       | 尿液        | 母乳       |
|------------|-----|----------|-----------|----------|
| 新生儿组       | 43  | 28(65.1) | 8(18.6)   | 40(93.0) |
| 28d~5个月组   | 127 | 82(64.6) | 118(92.9) | 92(72.4) |
| $\chi^2$ 值 |     | 0.004    | 92.465    | 7.841    |
| $P$ 值      |     | 0.948    | <0.001    | 0.005    |

### 2.2 3种标本均阳性患儿HCMV-DNA拷贝数相关性分析

56例血液、尿液与母乳HCMV-DNA均为阳性的患儿,中位数年龄为53d,分别对HCMV-DNA浓度取对数,然后将三者进行两两Spearman相关性分析,结果显示三者浓度之间无相关性。

### 2.3 血液和尿液阳性患儿HCMV-DNA拷贝数比较

对82例血液和尿液均为阳性的患儿血和尿中HCMV DNA浓度取对数并进行配对 $t$ 检验,结果

显示尿液 HCMV-DNA 拷贝数 ( $3.92 \pm 0.71$ ) 明显高于血液 ( $3.01 \pm 0.89$ ) ( $t=6.254$ ,  $P<0.001$ )。

### 3 讨论

HCMV 在自然人群中感染普遍,常表现为隐性感染。当个体免疫力低下时,病毒被激活而表现为显性感染<sup>[4]</sup>。婴儿感染后,应该进行早期治疗,因此对 HCMV 感染的早期诊断尤为重要。目前对婴儿 HCMV 感染除了依靠临床症状外,病毒分离是诊断的金标准<sup>[5]</sup>,但是不能在临床广泛开展。婴儿产生 IgM 能力弱, HCMV 感染后血清中 HCMV IgM 阳性检出率低,因此很少用于婴儿感染的诊断<sup>[6]</sup>。HCMV-DNA 检测有较高的特异性,且不受患者年龄及免疫能力的影响,是诊断活动性感染的较好指标,适用于小儿 HCMV 感染的监测<sup>[7]</sup>。

本研究是国内首次根据婴儿年龄进行分组,分别检测两组婴儿血液、尿液及母乳中 HCMV-DNA。结果显示新生儿组母乳检出率最高,28 d~5 个月组尿液检出率最高,这为临床提供了参考,可以根据疑似患儿的年龄选择送检标本,以提高检出率,做到早诊断早治疗。新生儿组尿液检出率明显低于母乳检出率,随着患儿年龄增长,尿液的检出率增高,而母乳检出率降低,可能是由于初乳较为浓缩,而新生儿肾脏浓缩功能还不健全,导致母乳中病毒拷贝数相对较高而尿液中病毒含量非常低,而随着年龄增长,患儿肾脏浓缩功能逐渐健全而母乳逐渐稀释导致尿液检出率增高母乳检出率降低。这一发现提示对于有症状的疑似新生儿,若尿液 HCMV-DNA 阴性者,不应排除 HCMV 感染,应同时检测患儿的血液和母乳,以免漏诊。

本研究对血液、尿液与乳汁 HCMV-DNA 均为阳性患儿的血液、尿液与乳汁 HCMV-DNA 浓度进行相关性分析,结果显示三者浓度之间无相关性,与文献报道不一致<sup>[8]</sup>。可见 HCMV 感染的母乳只是提供了一个传染源,但并不与造成患儿感染的量呈正相关。由此推断,可能是由于患儿个体差异,免疫功能各不相同造成,也可能是由于患儿中位数年龄 53 d,母乳喂养时间较短, HCMV 感染母乳病毒量的多少对患儿的影响尚未表现出来。

本研究对 82 例患儿配对血液和尿液 HCMV-DNA 拷贝数的对数值进行比较,发现尿液拷贝数明显高于血液。可能是由于 HCMV 最易侵犯管道上皮细胞,尤其是肾脏和肝胆系统, HCMV 在肾小球和肾小管上皮细胞内复制,经尿液排出,且尿液具有浓缩功能<sup>[9]</sup>,因此尿液中病毒拷贝数要相对高一些。

本研究中,虽然两组内血液中 HCMV-DNA 的检出率均不是最高的,但不能忽视血液的检测,因为本研究中有 3 例患儿,尿液和母乳检测均为阴性而血液检测为阳性。因此,若患儿标本不易留取,应优先选择检出率高的标本,若条件允许,应同时留取血液、尿液及对应母亲的乳汁,以提高 HCMV-DNA 的检出率,防止漏诊,做到早诊断,早治疗。

另外,由于 HCMV 的间歇性排毒性质,处于不排毒状态时检测的标本会产生与临床诊断不符合的现象,需反复、连续、多次检查 HCMV-DNA,以提高检出率。

### [参 考 文 献]

- [1] 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.
- [2] 中华医学会儿科学分会感染消化组,《中华儿科杂志》编委会.巨细胞病毒感染诊断方案[J].中华儿科杂志,1999,37(7):441.
- [3] 丁艳,熊昊,王竞春.小儿先天性心脏病与人巨细胞病毒感染的关系探讨[J].中国当代儿科杂志,2002,4(5):411-412.
- [4] Lin YH, Yeh CJ, Chen YJ. Recurrent cytomegalovirus colitis with megacolon in an immunocompetent elder man[J]. J Med Virol, 2010, 82(4): 638-641.
- [5] 方峰,董永绥.诊治巨细胞病毒感染时应注意的几个问题[J].中国实用儿科杂志,2000,15(2):86.
- [6] 舒焰红,赵杨.活动性人巨细胞病毒感染的病毒基因表达特点[J].实用医学杂志,2009,25(24):4113-4115.
- [7] 祝兴元,何谢玲,覃亚斌,马菊,李梨平.荧光定量 PCR 与 PP65 抗原检测在诊断儿童巨细胞病毒活动性感染的比较[J].中国实验诊断学,2012,2(16):285-287.
- [8] 谢而付,黄珮珩,陈丹,张丽霞,戎国栋,潘世扬.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.
- [9] 叶剑荣,袁利群,陆建国.FQ-PCR 技术在儿童尿液巨细胞病毒检测的临床应用[J].实用预防医学,2012,19(1):114-115.

(本文编辑:王庆红)