

血清联合乳汁 HBV DNA 定量检测的临床意义

胡 凯¹, 游国文¹, 袁光勇¹, 刘宵妮² (江西省景德镇市第二人民医院: 1. 检验科; 2. 妇产科 333000)

【摘要】 目的 检测乙型肝炎病毒(HBV)携带产妇血清和乳汁 HBV DNA 的含量,以指导母乳喂养。**方法** 选取 2008 年 3 月至 2010 年 1 月在门诊或住院的 HBV 携带产妇 100 例,采用荧光定量 PCR 检测产妇血清和乳汁 HBV DNA。**结果** 38 例大三阳产妇血清和乳汁 HBV DNA 阳性率分别为 100.0%和 81.6%,39 例小三阳产妇血清和乳汁中 HBV DNA 阳性率分别为 66.7%和 33.3%,23 例双抗阳性产妇血清和乳汁中 HBV DNA 阳性率分别为 30.4%和 13.0%。三组间乳汁阳性率比较,大三阳产妇乳汁 HBV DNA 阳性率(81.6%)高于小三阳产妇(33.3%)。**结论** HBV 携带产妇乳汁的传染性低于血液,大三阳产妇经母乳传播 HBV 的概率高于小三阳产妇。乳汁中的 HBV DNA 阴性乙肝病毒携带产妇,建议母乳喂养,但需要动态观察,确保母乳喂养的安全。

【关键词】 DNA,病毒; 肝炎病毒,乙型; 血清; 乳,人
DOI:10.3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 05. 039 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)05-0591-02

在我国乙型病毒性肝炎(简称乙肝)属于高发病,HBV 慢性携带者约(1~1.5)亿;HBV 携带产妇占正常产妇的 10%~15%左右,每年新发现的乙肝患者中 30%~50%是由母婴垂直传播所致;每年有近八十万儿童通过母婴垂直传播感染乙肝病毒。母婴传播途径最为活跃的因素之一就是乳汁传播^[1]。推行母乳喂养是解决儿童健康问题的重要措施,母乳是婴儿最理想食物,提倡母乳喂养也已成共识,因此 HBV 携带产妇母乳喂养是产后乙肝病毒传播的一个重要因素,当新生儿或婴儿消化道任何一处有炎症或破损时,母乳中乙肝病毒会侵入血液循环引起感染,而乳汁中 HBV DNA 的拷贝数与传染风险呈正比,因此乳汁中 HBV DNA 的检测对指导母乳喂养具有重要意义。本科对 100 例 HBV 携带产妇的血清、乳汁进行 HBV DNA 检测,并加以分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2008 年 3 月至 2010 年 1 月在本院门诊就诊或住院的 HBV 携带产妇 100 例,根据 HBV 血清标志物分为 3 组: A 组 38 例,即 HBsAg(+),HBeAg(+),HBcAb(+),俗称“大三阳”; B 组 39 例,即 HBsAg(+),HBeAb(+),HBcAb(+),俗称“小三阳”; C 组 23 例,即 HBeAb(+),HBcAb(+),俗称“双抗阳性”。全部病例符合 2000 年全国病毒性肝炎学术会议修订的《病毒性肝炎防治方案》诊断标准。对全部产妇产后抽取空腹静脉血 3~4 mL,4 h 内分离血清;产后 1~3 d 采集乳汁 2~3 mL(采集乳汁时先清洁乳头,且要求乳头无破损)。血清及乳汁标本均置于 PCR 专用管中待检。

1.2 仪器与方法

1.2.1 仪器 采用杭州泰和热磁电子有限公司生产的 FQD-33A 型荧光定量 PCR 检测系统,上海克隆生物高技术有限公司生产的 HBV 核酸扩增荧光定量检测试剂盒。

1.2.2 方法 乳汁处理: 4℃冰箱过夜后,从中间层取乳汁 750 μL 于一个无菌 eppendorf 管内,接着加等量 100 g/L PEG 液混合;然后 4℃,15 000 r/min 离心 10 min,弃上清液;最后加入 40 μL DNA 提取液^[2]进行 PCR 检测,测定乳汁中 HBV DNA 的拷贝数。以 HBV DNA≥10³ copy/mL 作为判断阳性的标准。

1.2.3 统计学处理 采用 SAS 软件进行标本间阳性率的比较和统计学分析。

2 结果

HBV 携带产妇血清及乳汁 HBV DNA 检测结果见表 1。

表 1 100 例 HBV 携带产妇血清及乳汁 HBV DNA 检测结果

HBV DNA 阳性	大三阳(n=38)		小三阳(n=39)		双抗阳性(n=23)	
	血清	乳汁	血清	乳汁	血清	乳汁
n	38	31	26	13	7	3
百分比(%)	100.0	81.6	66.7	33.3	30.0	13.0
P	<0.01		<0.01		<0.05	

3 讨论

3.1 荧光定量 PCR 是近年来发展起来的一种分子水平的病原学检测方法,目前在医学检验中的应用日益广泛。1985 年美国 Cetus 公司的 Mullis 等首创 PCR 技术,将 DNA 鉴定技术推向新的台阶。该项技术是对特异性 DNA 片段进行非细胞依赖性的体外扩增,其最大特点是灵敏度高、特异性强、操作简便,因此很快被应用于 HBV DNA 的检测,使其成为目前诊断 HBV 隐匿性感染的主要方法^[3]。随着分子生物学技术的发展,目前 HBV DNA 的检测已由定性发展到定量。与传统的定量技术相比,荧光定量 PCR 技术方法采用完全闭管检测,不需 PCR 后处理,避免了交叉感染;同时采用实时检测技术,所得循环次数值和原始模板数量完全呈线性相关,定量准确率极高,可以检测 HBV 的真实感染和复制状况^[4],因而应用荧光定量 PCR 检测技术对 HBV 携带产妇的血清、乳汁进行 HBV DNA 检测,能快速、准确定量测定 HBV DNA,真实地反映血清、乳汁中是否存在 HBV 及复制情况、传染性强弱。

3.2 母乳喂养 目前被公认是解决儿童健康问题的主要途径之一。WHO 要求母乳喂养率达到 80%。母乳不仅含有适于婴儿生长发育的各种营养物质,而且还含有多种抗病物质。鉴于母乳喂养的优越性,近年来我国大力倡导母乳喂养,母乳喂养率日趋增高,由于许多传染病可通过哺乳传播,在推行母乳喂养时要特别注意母乳的安全性。关于 HBV 携带者的母乳喂养问题,目前国内外学者还有不同的观点。有资料显示,有 HBV 复制指标的产妇,乳汁中可检测出 HBsAg、HBeAg 和(或)HBV DNA,具有一定传染性,母乳喂养增加了婴儿感染 HBV 的危险。HBV DNA 是反映病毒复制和传染性的直接指

标^[5-6]。用检测产妇的初乳中 HBV DNA 来作为是否母乳喂养的标准被一些医院应用。产妇的初乳中 HBV DNA 阳性者,婴儿感染概率会相当高,用荧光定量 PCR 检测乳汁 HBV DNA,可直接反映乙肝产妇能否用母乳喂养,从而有针对性地采取措施,降低母乳喂养的感染率。

3.3 从表 1 中可见,38 例大三阳产妇血清和乳汁 HBV DNA 阳性率分别为 100.0%(38/38)和 81.6%(31/38),39 例小三阳产妇血清和乳汁中 HBV DNA 阳性率分别为 66.7%(26/39)和 33.3%(13/39),23 例双抗阳性产妇血清和乳汁中 HBV DNA 阳性率分别为 30.4%(7/23)和 13.0%(3/23)。三组间乳汁阳性率比较,大三阳产妇血清 HBV DNA 阳性率(81.6%)高于小三阳产妇(33.3%)。结果提示,HBV 携带产妇乳汁 HBV DNA 阳性率低于血清,乳汁的传染性低于血液;大三阳产妇经母乳传播 HBV 的概率高于小三阳产妇,双抗阳性(仅 HBeAb 与 HBcAb 阳性)者仍有 13.0%的产妇乳汁排毒,提示处于 HBV 感染恢复期的产妇,其乳汁也不一定是安全的。

3.4 产妇血液检查为大三阳,由于血清 HBV DNA 拷贝数都比较高(HBV DNA $\geq 10^6$ copy/L),处于病毒复制活跃期,传染性强,即使乳汁 HBV DNA 检测结果为阴性亦不主张母乳喂养,以人工喂养方式为宜,因此,产妇乙肝免疫学检测呈“大三阳”应禁止哺乳。由于机体处于不同的免疫阶段及机体的抵抗力等多种因素的影响,病毒复制有动态变化,一次检测阴性不能保证整个哺乳期阴性;建议“小三阳”但乳汁 HBV DNA 阴性产妇定时做乳汁 HBV DNA 检测,了解乳汁污染情况,以指导哺乳。仅 HBcAb 或 HBeAb 阳性而 HBV DNA 阴性者,可以哺乳。因此用荧光定量 PCR 对母乳进行 HBV DNA 含量的检测,可以直接反映产妇传染性的强弱,同时也对指导母乳喂养提供了可靠依据。据观察,产妇乳汁 HBV DNA 定量结

果阴性进行母乳喂养安全系数很高,没有出现感染现象,可见利用产妇乳汁 HBV DNA 定量结果来判断是否母乳喂养是可行的方法。

综合以上分析作者认为,乙肝病毒标志物阳性产妇产后母乳喂养要慎重,无论血清 HBV 感染为何种模式,均应作乳汁 HBV DNA 检测来判断其传染性的强弱,采取针对性的措施有效地降低母乳喂养的感染率,以保证母乳喂养的安全。

参考文献

- [1] 林静吟,许岸高,袁建寰,等. 乙肝病毒母婴传播的可能途径研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志,1997,7(15):7-8.
- [2] 温旺荣,苏芳,吴勇,等. 乳汁处理方法对检测 HBV DNA 结果的影响[J]. 临床检验杂志,2007,25(1):31-32.
- [3] Hu KQ. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications[J]. Viral Hepat,2002,9:243.
- [4] Rodriguez-Frias F, Jardi R, Buti M, et al. Applicability of real-time PCR combined with melting curve analysis for the study of hepatitis B virus genome mutations[J]. Hepatology,2003,37(2):478-479.
- [5] Sumazaki R, Motz M, Wolf H, et al. Detection of hepatitis B virus in serum using amplification of viral DNA by means of polymerase chain reaction[J]. Med Virol,1989,27:304-308.
- [6] 白艳丽,李建平,许玉仙. HBV DNA 与 HBV TRFIA 检测结果比较分析[J]. 现代检验医学杂志,2004,19(5):43-44.

(收稿日期:2010-09-27)

• 临床研究 •

少弱精子症、无精子症助孕治疗前遗传学检查的临床意义

邹彦,史秋雯,徐苓珍,丘映[△](广西壮族自治区南宁市第二人民医院生殖医疗中心 530031)

【摘要】 目的 探讨辅助生殖技术(ART)治疗前遗传学检查的适应证。**方法** 将 420 例患者分为少弱精子症、极少弱精子症、梗阻性无精子症、非梗阻性无精子症 4 组进行外周血淋巴细胞培养和 G 显带染色体核型分析。**结果** 少弱精子症、无精子症患者的染色体异常率为 13.6%(57/420),其中性染色体异常占 68.4%(39/57),常染色体异常占 33.3%(19/57)。而极度少弱精子症及非梗阻性无精子症患者染色体异常率分别为 10.8%和 21.7%。**结论** 少弱精子症、无精子症患者,尤其是极度少弱精子症及非梗阻性无精子症患者染色体异常率较高,在 ART 治疗前进行染色体核型分析是必要的。

【关键词】 少弱精子症; 无精子症; 辅助生殖技术; 染色体核型

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.05.040 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)05-0592-03

现代社会,越来越多人的深受不孕不育的困扰,不育症的发病率由 8%~10%上升到 12%~16%,辅助生殖技术(assisted reproductive technique, ART)问世以来,已成为治疗不孕不育的最有效方法。但在体外受精(in vitro fertilization, IVF)和单精子卵胞浆内注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)周期中,常有异常受精的情况出现。研究显示 IVF 周期中,多精受精率高达 30%,而 IVF 和 ICSI 后单原核孕卵的发

生率为 2%~5%^[1],而这种多精受精不仅易致胚胎着床失败、自然流产率上升,还可导致部分性葡萄胎的产生和染色体异常儿的出生。这些不仅降低了辅助生殖技术的成功率,更给社会和家庭带来沉重的心理压力和经济损失,成为医学工作者亟待攻克的难题。

人类的自然生殖活动在人类生物进化中具有最为重要的选择机制,而 ART 是对这种选择机制的干预,使得在自然条

[△] 通讯作者, E-mail: nnqying@sina.com。