

产妇血清与乳汁中乙型肝炎病毒 DNA 含量相关性研究

马东志¹, 郭 静², 文 雪³ (河南省项城市永丰乡中心医院: 1. 检验科; 3. 妇产科 466200; 2. 河南省周口市临床检验中心 466000)

【摘要】 目的 通过分析乙型肝炎病毒(HBV)携带产妇血清 HBV DNA 含量与其乳汁中 HBV DNA 含量相关性, 探讨乙型肝炎孕妇母乳喂养的安全性问题, 并指导母乳喂养。**方法** 选择在项城市永丰乡中心医院住院分娩 HBV 携带产妇 136 例, 采用实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)技术测定其血清及产后乳汁中 HBV DNA 含量。**结果** 76 例血清 HBV DNA 阳性产妇, 乳汁标本中 40 例阳性, 总阳性率为 52.6%。其中 22 例血清 HBV DNA 含量在 $1.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^5$ U/mL 者, 乳汁标本中阳性率为 9.0%; 30 例血清 HBV DNA 含量在 $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^7$ U/mL 者, 乳汁标本中阳性率为 60.0%; 24 例血清 HBV DNA 含量在 $1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^9$ U/mL 者, 乳汁标本中阳性率为 83.3%。乙型肝炎产妇血清 HBV DNA 含量与乳汁中 HBV DNA 含量呈正相关。**结论** HBV 携带产妇均应作血清、乳汁 HBV DNA 定量检测, 根据其传染危险性采取措施, 正确指导母乳喂养, 确定哺乳方式, 从而降低新生儿 HBV 感染率。

【关键词】 乙型肝炎病毒 DNA; 产妇; 母婴传播; 乳汁

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.17.024 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)17-2159-02

The correlation research on the HBV DNA content of maternal's serum and milk MA Dong-zhi¹, GUO Jing², WEN Xue³ (1. Department of Clinical Laboratory, 3. Department of Obstetric and Gynecologic, Yongfeng Central Hospital, Xiangcheng, Henan 466200, China; 2. Zhoukou Clinical Examination Center, Zhoukou, Henan 466000, China)

【Abstract】 Objective To analyze the correlation of HBV DNA content in serum and milk of the maternal with HBV, and to evaluate the safety of breast feeding performed by pregnant women with HBV. **Methods** A total of 136 pregnant women with HBV were selected, and real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction(FQ-PCR) was adopted to determine the HBV DNA content in their serum and milk. **Results** 76 cases of positive serum HBV DNA and 40 cases of positive milk HBV DNA were determined in terms of the test results. The total positive rate was 52.6%. Among the 136 cases, the positive rate of milk sample was 9.0% in 22 cases whose serum HBV DNA content was between 1.0×10^3 U/mL and 1.0×10^5 U/mL. The positive rate of milk sample was 60.0% in 30 cases whose serum HBV DNA content was between 1.0×10^5 U/mL and 1.0×10^7 U/mL. The positive rate of milk sample was 83.3% in 24 cases whose serum HBV DNA content was between 1.0×10^7 U/mL and 1.0×10^9 U/mL. It followed that the milk HBV DNA content had a positive correlation with the serum HBV DNA content in maternal with HBV. **Conclusion** Pregnant women with HBV should receive the quantitative determination of HBV DNA in serum and milk and take measures timely according to the infection risk. Then the HBV infection rate of newborns can be reduced by directing breast feeding correctly and determining feeding methods.

【Key words】 hepatitis B virus DNA; maternal; mother-to-child transmission; milk

世界卫生组织大力提倡母乳喂养, 在推行母乳喂养时, 应特别注意母乳喂养的安全性。我国每年大约 2 000 万产妇, HBV 携带者产妇占正常产妇的 25% 左右^[1], 在母婴传播中, 乳汁传播是 HBV 母婴传播途径最活跃的因素之一, 母乳喂养的安全性是产妇及其家人非常重视的问题。作者对项城市永丰乡中心医院 2009 年 7 月至 2011 年 9 月住院 HBV 携带产妇测定血清及其乳汁中 HBV DNA, 并分析其相关性, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 136 例 HBV 感染产妇血清和乳汁标本来自项城市永丰乡中心医院 2009 年 7 月至 2011 年 9 月住院产妇, 年龄 20~33 岁, 均曾用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测诊断为 HBV 携带者。

1.2 样本的采集与处理 血清采集在产妇分娩前采集静脉血离心取血清 1 mL 备检; 取乳汁时先用温水擦洗乳头, 收集产后初乳, 取 1~3 mL 乳汁置无菌试管中, 置冰箱中 4℃ 过夜, 吸弃上层乳白色脂肪层, 备检。

1.3 试剂与仪器 HBV DNA 定量试剂由广州中山医科大学达安基因诊断中心提供, HBV DNA 定量扩增仪为上海宏石公司 SLAN 型全自动荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪。

1.4 检测方法 对产妇的血清及乳汁采用荧光定量 PCR 法定量检测 HBV DNA 含量, 试剂盒检测下限为 1.00×10^3 U/mL, 大于 1.00×10^3 U/mL 为阳性, 按照试剂盒说明书操作。

1.5 统计学处理 血清 HBV DNA 与乳汁 HBV DNA 含量相关性分析采用相关性检验, 计数资料采用 χ^2 检验, 计量资料采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 在 136 例 HBV 感染产妇血清标本中, 60 例(44.1%) HBV DNA 阴性, 即含量低于检测下限($< 1.00 \times 10^3$ U/mL); 76 例 HBV DNA 阳性($> 1.00 \times 10^3$ U/mL), 总阳性率为 55.9%, 其中 $1.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^5$ U/mL 者 22 例(16.2%), $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^7$ U/mL 者 30 例(22.1%), $1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^9$ U/mL 者 24 例(17.6%)。

2.2 在 136 例 HBV 感染产妇乳汁标本中, 96 例(70.6%) HBV DNA 阴性, 即含量低于检测下限($< 1.00 \times 10^3$ U/mL); 40 例 HBV DNA 阳性($> 1.00 \times 10^3$ U/mL), 总阳性率为 29.4%, 其中 $1.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^4$ U/mL 者 22 例(16.2%), $1.0 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^5$ U/mL 者 12 例(23.5%), $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^6$ U/mL 者 6 例(17.6%)。

2.3 在 136 例标本中, 60 例血清 HBV DNA 阴性者, 乳汁标

本中全部为阴性;76 例血清 HBV DNA 阳性者,乳汁标本中 40 例阳性,总阳性率为 52.6%。见表 1。

表 1 血清及其乳汁中 HBV DNA 的相关性

血清 HBV DNA 含量	血清例数	乳汁阳性例数	百分比(%)
$1.0\times 10^3\sim 1.0\times 10^5$ U/mL	22	2	9.0
$1.0\times 10^5\sim 1.0\times 10^7$ U/mL	30	18	60.0
$1.0\times 10^7\sim 1.0\times 10^9$ U/mL	24	20	83.3

3 讨 论

有研究报道如果乳汁中存在 HBV,当婴儿消化道任何一处有炎症或破损时,母乳中的 HBV 就可能侵入血液循环,引起感染 HBV^[2]。由于母乳是婴儿成长最理想的营养品,其中富含水、优质蛋白、不饱和脂肪酸、乳糖、矿物质及维生素。而且乳汁中还含有具有免疫功能的分泌型 IgA,少量 IgM 和 IgG、B 和 T 淋巴细胞、巨噬细胞及中性粒细胞,有益于婴儿生长发育。在发展中国家,母乳喂养婴儿常见疾病发病率和严重程度明显低于人工喂养婴儿,在无禁忌的情况下,母乳喂养最好。

本研究结果表明,血清中 HBV DNA 含量低于 10^5 U/mL 时,乳汁中存在 HBV 的概率仅为 9.0%,而血清中 HBV DNA 含量在 $10^5\sim 10^7$ U/mL 时,乳汁中存在 HBV 的概率上升为 60.0%;血清中 HBV DNA 含量在 $10^7\sim 10^9$ U/mL 时,乳汁中存在 HBV 的概率高达 83.3%。本研究结果还表明,HBV 携带产妇乳汁中 HBV DNA 阳性率随血清中 HBV DNA 含量的升高而增大,血清 HBV DNA 与乳汁中 HBV DNA 含量呈正相关。因此定量检测产妇血清、乳汁中 HBV DNA 来确定母婴 HBV 传播的风险性更为可靠^[3]。血清和乳汁中 HBV DNA 都是阴性的产妇可以放心实行母乳喂养;乳汁中 HBV DNA 阳性的产妇,不宜母乳喂养^[4];对于血清 HBV DNA 阳性,而乳汁中 HBV DNA 阴性的产妇,是否可以母乳喂养呢? 张永亮^[5]曾对 66 例 HBV 感染产妇的初乳及满月乳中 HBV DNA 含量进行过测定,发现有部分产妇初乳阳性者,在满月乳检测

时会转为阳性。由于本研究检测的产妇乳汁标本为初乳,没有对满月乳进行检测,所以作者建议血清 HBV DNA 阳性,乳汁 HBV DNA 阴性的产妇应定期做乳汁 HBV DNA 检查,一旦发现乳汁 HBV DNA 阳性立即停止母乳喂养;婴儿口腔溃疡等原因造成消化道破损时暂停母乳喂养;产妇乳头破损时暂停母乳喂养^[6]。当然,对于乳汁中 HBV DNA 含量在多少水平以下,为安全哺乳的标准,还需要更多的研究。HBV 携带产妇血清、乳汁中 HBV DNA 定量联合检测,有助于提示 HBV 传染高风险产妇在临床医生指导下及时采取措施,阻断母婴垂直传播,减少婴儿 HBV 感染率,有助于临床医师为产妇母乳喂养的风险性作出评估,从而正确地指导母乳喂养。

参考文献

[1] 马力,赵桂珍,梁争论. 孕妇血清、乳汁 HBV DNA 载量与母乳喂养安全性的研究[J]. 中国现代医学杂志,2006,16(17):2851-2855.

[2] 田秀俊,刘玉英. 乙型肝炎病毒携带产妇血清及乳汁 HBV DNA 含量的检测分析及临床应用[J]. 实用医技杂志,2008,15(33):4753.

[3] 王金侠,韩映雪. 乙型肝炎病毒 DNA 定量检测在乙型肝炎母婴传播中的应用价值[J]. 临床荟萃,2008,23(4):272.

[4] 乐杰. 妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:145-149.

[5] 张永亮. HBV 感染产妇血液、初乳、满月乳中 HBV DNA 载量分析[J]. 临床检验杂志,2009,27(5):392.

[6] 刘霞. HBV 阳性产妇血清 HBV-DNA 载量与乳汁传染性的关系探讨[J]. 现代预防医学,2008,35(11):2040-2041.

(收稿日期:2012-04-26)

(上接第 2158 页)

3.2.1 负高压 在一定范围内,汞的荧光强度随负高压增大而增大,但同时背景强度也增大,因此,在满足分析灵敏度条件下,不宜选择过大的负高压,以免影响重现性,通过实验,本仪器负高压在 270 V 最佳。

3.2.2 灯电流选择 在一定范围内,灯电流增加,荧光强度增大,但过大的空心阴极灯电流会增大仪器噪声,降低灯的使用寿命,因此,在满足分析灵敏度条件下,尽量选小的灯电流,通过选择,本仪器灯电流为 30 mA 最佳。

3.2.3 载气流量与屏蔽气流量 载气流量对试剂的荧光信号有较大影响,载气过大,会降低灵敏度,过低则使形成的氢化物无法迅速进入到原子仪器中,且有记忆效应。屏蔽气对保持氩气焰稳定,防止荧光猝灭具有关键作用。综合考虑,本实验采用载流流量 400 mL/min,屏蔽气流量 800 mL/min。

3.3 实验条件选择

3.3.1 硼氢化钾浓度的影响 在原子荧光光谱中,硼氢化钾的量是一个重要的影响荧光强度的因素。浓度过高会引起液相与气相干扰,特别是对汞的荧光信号的影响较明显,浓度过低,还原能力弱,灵敏度低,通过实验,选择硼氢化钾的适宜浓度为 15 g/L。

3.3.2 酸和酸浓度的选择 酸的种类和浓度对样品中汞的测定有很大影响。通过实验发现,汞元素在硝酸中的荧光强度比在盐酸中的荧光强度低一些,故选择盐酸作介质。实验显示,当盐酸溶液浓度为 5%(v/v)时,荧光强度较强,灵敏度与稳定

性均好。所以,本实验酸的浓度选择为 5%(v/v)。

综上所述,本法采用高压消解-原子荧光光谱法测定食品中汞含量,灵敏度高,相关系数、精密度与回收率好,空白值及检出限低,其前处理所需仪器设备简单,价格低廉,易于在基层实验室使用,尤其适合大批量检测,具有很好的实用性。

参考文献

[1] 曹丽军. 保健食品中汞的微波消化法检测[J]. 浙江预防医学,2002,14(10):80.

[2] GB/T5009.17-2003. 食品卫生理化国家标准检验方法[S]. 北京:中国国家标准出版社,2004.

[3] 周同惠,汪永康,陆婉珍,等. 分析化学手册(第二册)[M]. 北京:化学工业出版社,1999:569-572.

[4] 郭秀文,韩青,陈伟光. 氢化物发生原子荧光法在环境样品分析中的应用[J]. 职业与健康,2006,22(23):2073-2075.

[5] 钟远波,潘心红,卢丽明,等. 密闭微波消解 HG-AFS 测定酱油中砷[J]. 中国卫生检验杂志,2008,18(11):2268-2269.

[6] 李红其,田海燕,李明燕. 氢化物原子荧光光度法测定化妆品中微量汞[J]. 中国卫生检验杂志,2009,19(4):804-805.

(收稿日期:2012-05-03)