

# 不同喂养方式对先天性巨细胞病毒感染新生儿病毒载量的影响

杨洋<sup>1</sup>,王春晖<sup>1</sup>,王宝西<sup>1</sup>,王琳<sup>2</sup>

1.空军军医大学第二附属医院儿科,陕西 西安 710038;

2.长安医院儿科,陕西 西安 710016

**【摘要】** 目的 探讨母乳喂养与人工喂养对先天性巨细胞病毒(CMV)感染新生儿病毒载量的影响。方法 选择2016年7月至2019年6月空军军医大学第二附属医院儿科诊治的82例CMV感染无症状新生儿为研究对象,根据喂养方式的不同将其分为两组,其中31例采用母乳喂养者为观察组,51例采用人工喂养者为对照组。比较两组新生儿唾液/尿液CMV DNA载量的差异,并随访至出生后6个月,观察两组新生儿的肝功能异常和脑发育异常情况。结果 观察组和对照组新生儿的CMV DNA病毒载量出生3 d内[(2.62±0.51) vs (2.51±0.62)]、1个月[(1.85±0.95) vs (1.92±0.73)]、3个月[(1.82±0.92) vs (1.71±0.75)]、6个月[(1.69±0.62) vs (1.62±0.53)]比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ );所有新生儿均获得随访,观察组与对照组新生儿的肝功能异常(3.23% vs 0)、脑发育异常(0 vs 0)、中性粒细胞减少(3.23% vs 0)、贫血(3.23% vs 0)、听力异常(6.45% vs 1.96%)检出率比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 乳汁CMV阳性母乳喂养并不增加无症状CMV感染新生儿CMV病毒载量,亦不增加继发CMV感染风险。

**【关键词】** 先天性巨细胞病毒;感染;母乳喂养;人工喂养;病毒载量

**【中图分类号】** R722.13 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2020)16-2105-03

**Effect of different feeding methods on viral load of neonates infected with congenital cytomegalovirus.** YANG Yang<sup>1</sup>, WANG Chun-hui<sup>1</sup>, WANG Bao-xi<sup>1</sup>, WANG Lin<sup>2</sup>. 1. Department of Pediatrics, the Second Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an 710038, Shaanxi, CHINA; 2. Department of Pediatrics, Chang'an Hospital, Xi'an 710016, Shaanxi, CHINA

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of breast-feeding and artificial feeding on viral load of neonates infected with congenital cytomegalovirus (CMV). **Methods** A total of 82 asymptomatic neonates with CMV infection diagnosed and treated in the Second Affiliated Hospital of PLA Military Medical University from July 2016 to June 2019 were selected as the study objects. According to the different feeding methods, they were divided into two groups: the observation group (31 cases) were breast fed, and the control group (51 cases) were artificial fed. The difference of CMV DNA load in saliva/urine between the two groups were observed and followed up to 6 months after birth. The abnormal liver function and abnormal brain development between the two groups of neonates were observed. **Results** There was no significant difference in CMV DNA viral load between the observation group and the control group within 3 days, 1 month, 3 months and 6 months after birth: (2.62±0.51) vs (2.51±0.62), (1.85±0.95) vs (1.92±0.73), (1.82±0.92) vs (1.71±0.75), (1.69±0.62) vs (1.62±0.53),  $P>0.05$ . All newborns were followed up. There was no significant difference in the detection rate between the observation group and the control group for abnormal liver function (3.23% vs 0), brain development abnormality (0 vs 0), neutropenia (3.23% vs 0), anemia (3.23% vs 0), hearing abnormality (6.45% vs 1.96%),  $P>0.05$ . **Conclusion** CMV positive breast feeding does not increase the viral load of CMV in asymptomatic CMV infected newborns, and does not increase the risk of CMV infection.

**【Key words】** Congenital cytomegalovirus (CMV); Infection; Breast feeding; Artificial feeding; Viral load

先天性巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)感染是新生儿出生2周内被CMV感染母亲传染引起,全球活产新生儿CMV感染率约0.7%,CMV感染可导致新生儿感音神经性耳聋、视力障碍、智力发育迟缓等疾病<sup>[1]</sup>,严重影响其生长发育,降低其生活质量,给患儿、家庭及社会带来严重的不良影响。早期发现CMV感染是预防胎儿宫内感染和新生儿感染的主要途径,但对于已感染患儿,如何进行良好的干预十分重要。其

中,对于CMV感染新生儿其喂养方式尚存较大争议,母乳喂养是否增加CMV感染新生儿CMV病毒载量尚无一致性结论。本研究探讨母乳喂养与人工喂养对CMV病毒载量的影响,现将结果报道如下:

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2016年7月至2019年6月空军军医大学第二附属医院儿科诊治的82例CMV感染无症状新生儿为研究对象。纳入标准:①CMV病

毒血清学证实母亲为原发性 CMV 感染;②新生儿出生 2 周内经实时荧光聚合酶链反应检测到 CMV<sup>[2]</sup>;③足月产。排除标准:①先天性心脏病、畸形、早产儿;②先天性免疫缺陷性疾病;③母亲妊娠期间合并糖尿病、高血压等其他合并症或并发症。根据喂养方式不同将其分为两组,观察组 31 例,采用母乳喂养,其中男性 19 例,女性 12 例;日龄 2~11 d,平均(5.32±2.16) d;出生方式:剖宫产 20 例,阴道分娩 11 例;出生孕周 36~41 周,平均(38.25±2.61)周。对照组 51 例,采用人工喂养,其中男性 29 例,女性 22 例;日龄 3~12 d,平均(5.39±2.05) d;出生方式:剖宫产 33 例,阴道分娩 18 例;出生孕周 37~42 周,平均(38.61±2.15)周。两组新生儿性别、日龄、出生方式、出生孕周比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究经医院医学伦理委员会批准,患儿家属均知情并签署同意书。

1.2 方法 对照组新生儿采用配方牛乳制品喂养,喂养量根据每日婴儿所需能量(100~120 kcal/kg)计算<sup>[3]</sup>。观察组新生儿采用纯母乳喂养,根据新生儿需求随时进行母乳喂养。

1.3 CMV 病毒载量检测 所有新生儿均于出生后 3 d 内、1 个月、3 个月、6 个月(观察组于新生儿出生 1 个月、3 个月、6 个月)采集母乳、采集唾液或尿液标本检测 CMV DNA,72 h 内完成检测。实时荧光定量 PCR 法:具体步骤:① DNA 模板提取:分别吸取 50  $\mu$ L 的阴性、弱阳性与强阳性质控品于离心管,加入 TRIzol (美国 Invitrogen 公司)提取总 RNA,ND-1000 紫外分光光度计(NanoDrop 公司)检测 RNA 纯度和完整性。取 20  $\mu$ g 总 RNA,采用 M-MLV 逆转录酶(Epicentre 公司)将 RNA 逆转录为 cDNA,反应体系 20  $\mu$ L,反应条件:15 $^{\circ}$ C 30 min,45 $^{\circ}$ C 30 min,85 $^{\circ}$ C 5 min 灭活。②实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)检测:CFX96 实时

荧光 PCR 仪(美国 Bio-Rad)检测 CMV DNA 水平,qRT-PCR 流程:将吸 10<sup>4</sup>、10<sup>5</sup>、10<sup>6</sup>、10<sup>7</sup> copies/mL 阳性参考品 2  $\mu$ L 置于 PCR 管,加入 qRT-PCR 反应体系,反应液配制如下:0.4  $\mu$ L PCR 引物 F (10  $\mu$ mol/L),0.4  $\mu$ L PCR 引物 R (10  $\mu$ mol/L),1  $\mu$ L PCR 缓冲液(10 $\times$ ),1  $\mu$ L dNTP (2.5 mmol/L),0.6  $\mu$ L 氯化镁溶液,0.5 U *Taq* 聚合酶,0.2  $\mu$ L ROX Reference Dye,2.5  $\mu$ mol/L 荧光染料 SybergreenI,加水至 8  $\mu$ L。反应条件:95 $^{\circ}$ C 变性 15 s 65 $^{\circ}$ C 退火 20 s;75 $^{\circ}$ C 延伸 15 s,共 40 个循环。扩增反应结束后根据中华医学会儿科学分会感染消化组制定 CMV 感染诊断方案对新生儿 CMV 载量进行判定<sup>[4]</sup>,试剂盒均购自北京贝尔生物工程有限公司,检测流程严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 随访 所有新生儿均定期采用门诊定期复查或电话形式进行随访,随访至出生后 6 个月,复查内容包括外周血肝功能检测、头颅 B 超检测脑发育情况、外周血常规分析,听力筛查等。

1.5 统计学方法 应用 SPSS25.0 统计软件进行数据分析,计量资料符合正态分布,以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,采用重复测量方差分析及独立样本 *t* 检验,计数资料比较采用  $\chi^2$  检验比较,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组母乳 CMV DNA 载量比较 观察组母亲乳汁中 CMV DNA 载量在出生后 1 个月、3 个月、6 个月分别为  $(3.12\pm 0.62)\times 10^3$ 、 $(2.69\pm 0.35)\times 10^3$ 、 $(2.64\pm 0.37)\times 10^3$ ,观察组母亲乳汁中不同时间段的 CMV DNA 载量比较差异无统计学意义( $F=1.032$ , $P>0.05$ )。

2.2 两组新生儿的 CMV DNA 病毒载量比较 两组新生儿出生 3 d 内、出生 1 个月、3 个月、6 个月 CMV DNA 病毒载量比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。

表 1 两组新生儿不同时间的 CMV DNA 病毒载量比较( $\bar{x}\pm s$ , $\times 10^6$ )

组别	例数	出生后 3 d	出生 1 个月	出生 3 个月	出生 6 个月	F 值	P 值
观察组	31	2.62±0.51	1.85±0.95	1.82±0.92	1.69±0.62	1.236	0.169
对照组	51	2.51±0.62	1.92±0.73	1.71±0.75	1.62±0.53	1.623	0.098
<i>t</i> 值		0.635	0.195	0.352	0.036		
P 值		0.241	0.868	0.749	0.956		

2.3 两组新生儿的随访结果比较 所有患儿均获得随访,出生后 3 d、3 个月、6 个月听力筛查观察 2 例未通过,对照组 1 例未通过,肝功能检查观察组 1 例丙氨酸氨基转移酶偏高,对照组均正常,头颅 B 超均未发

现脑发育异常,血常规检测观察组 1 例中性粒细胞减少,1 例贫血,对照组 1 例贫血,两组肝功能异常、脑发育异常、中性细胞减少、贫血、听力异常检出率比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 2。

表 2 两组新生儿随访结果比较[例(%)]

组别	例数	肝功能异常	脑发育异常	中性粒细减少	贫血	听力异常
观察组	31	1 (3.23)	0 (0)	1 (3.23)	1 (3.23)	2 (6.45)
对照组	51	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.96)
$\chi^2$ 值		1.666	0.000	1.666	1.666	1.103
P 值		0.197	1.000	0.197	0.197	0.294

### 3 讨论

CMV是人体感染细胞肿大形成的巨大核内包涵体,胎儿宫内CMV感染可导致出生缺陷或畸形,新生儿CMV感染可影响其生长发育。据报道10%~15%的CMV感染患儿在生长发育过程中可能产生感音性神经性耳聋及认知和神经损害症状等后遗症<sup>[5]</sup>。新生儿CMV感染通过产道、输血、哺乳3种途径获得,其中母乳传播是围生期CMV感染的主要影响因素<sup>[6]</sup>。母乳CMV阳性婴儿是否可以给予母乳喂养,母乳喂养是否可增加新生儿CMV病毒载量或导致继发CMV感染性尚存争议。

本研究观察乳汁CMV阳性产妇在新生儿出生后1个月、3个月、6个月CMV DNA载量均 $\geq 1 \times 10^3$ ,均为阳性,但其载量并无显著变化。CMV阳性乳汁喂养新生儿是否对新生儿CMV DNA载量产生影响?本研究进一步观察了新生儿尿液/唾液中CMV DNA载量变化,发现其尿液/唾液中CMV DNA载量在出生后1个月、3个月、6个月均呈阳性,CMV DNA载量有下降趋势,但是整体变化差异无统计学意义,说明母乳喂养不增加CMV阳性无症状新生儿CMV DNA载量,分析原因,主要为患儿出生时CMV病毒已经在体内存在和增殖,母乳喂养并不能引起感染加重和临床症状严重。人工喂养患儿尿液/唾液中CMV DNA载量在出生后1个月、3个月、6个月并无出现明显下降,与人工喂养患儿比较,母乳喂养患儿CMV DNA载量无统计学差异,说明喂养方式尚不对CMV DNA载量构成影响。与张琳等<sup>[7]</sup>报道结果一致。

本研究通过随访观察母乳喂养对CMV阳性无症状新生儿发育的影响,发现观察组患儿听力异常2例,但与对照组比较无明显差异,说明母乳喂养并不增加患儿听力损害风险。观察组出现1例丙氨酸氨基转移酶升高,说明母乳喂养可能增加肝功能损害,具体原因不明,因此该结论尚待纳入更多样本加以证实。研究显示CMV感染可引起脑室周围钙化、脑发育不全和实质坏死<sup>[8]</sup>,本研究两组头颅B超均未发现脑室周围钙化和脑坏死,提示母乳喂养不引起CMV病毒载量增多,进而不会影响神经系统正常发育。出现上述结果原因可能与本研究随访时间过短有关,也有可能头颅B超对脑实质病变敏感度低导致。本研究两组贫血检出率比较差异无统计学意义,观察组1例中性粒细胞降低因呼吸道感染导致,因此尚不认为母乳喂养可导致CMV的继发感染。

CMV感染是导致感音性神经性耳聋的危险因素,CMV感染可通过损伤上皮细胞,引起内耳炎症反应导致患儿远期发生感音性神经性耳聋。随着患儿生长发育感音性神经性耳聋症状可能逐渐加重,因此对无症状CMV感染患儿应密切随访,定期进行听力筛查<sup>[9-10]</sup>。本研究对两组患儿出生3 d、1个月、3个月、6个月分别进行听力筛查,结果两组听力异常率比较差异无统计学意义,可能与随访时间过短有关,也可能与目前听力筛

查技术受耳蜗毛细胞功能影响较大,导致假阴性率低有关。脑干听力诱发电位检查对感音性神经性耳聋更具敏感性<sup>[11]</sup>,因此对CMV阳性患儿定期进行脑干听力诱发电位检查至青春期很有必要。总之目前尚不确定母乳喂养对CMV感染无症状患儿听力是否产生影响,需要长时间随访加以证实。

综上所述,本研究通过观察母乳喂养和人工喂养对CMV阳性患儿唾液/尿液CMV DNA载量的影响,发现乳汁CMV阳性母乳喂养并不增加无症状CMV感染新生儿CMV病毒载量,亦不增加新生儿CMV继发感染风险,母乳喂养对CMV感染患儿大脑发育、感音性神经性耳聋影响尚待延长随访、提高检测手段敏感性加以证实。

### 参考文献

- [1] 中华医学会围产医学分会中华医学会儿科学分会中华医学会医学病毒学分会中国优生科学协会. 先天性巨细胞病毒感染筛查与临床干预指南[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2019, 35(4): 417-423.
- [2] 张小娇, 姜毅. 2017国际孕妇及新生儿先天性巨细胞病毒感染预防、诊断与治疗专家共识[J]. 中华新生儿科杂志, 2018, 33(2): 159-160.
- [3] 杨新芳, 靳胜燕, 邹萍, 等. 听力损害新生儿巨细胞感染的调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(13): 3104-3105, 3111.
- [4] 张敏刚, 李天友, 王浩, 等. 先天性HCMV感染新生儿尿液中病毒载量与疾病严重度的关系探讨[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2013, 27(6): 435-436.
- [5] 邵肖梅, 叶鸿桐, 丘小汕. 实用新生儿学[M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 69-126, 273-311.
- [6] BRITT WJ. Congenital human cytomegalovirus infection and the enigma of maternal immunity [J]. J Virol, 2017, 91(15): pii: e02392-16.
- [7] RAWLINSON WD, HAMILTON ST, VAN ZUYLENWJ. Update on treatment of cytomegalovirus infection in pregnancy and of the newborn with congenital cytomegalovirus [J]. Curr Opin Infect Dis, 2016, 29(6): 615-624.
- [8] DAR L, NAMDEO D, KUMAR P, et al. Congenital cytomegalovirus infection and permanent hearing loss in rural north indian children [J]. Pediatr Infect Dis J, 2017, 36(7): 670-673.
- [9] KARHOP E, HELLSLRNT S, LEWENSOHN-FUCHS I, et al. Congenital cytomegalovirus infection—a common cause of hearing loss of unknown aetiology [J]. Acta Paediatr, 2012, 101(8): e357-e362.
- [10] 徐放生. 乳汁中巨细胞病毒阳性时是否可以继续母乳喂养吗?[J]. 中国新生儿科杂志, 2009, 24(5): 260.
- [11] 张琳, 王淮燕, 梅涛, 等. 母乳喂养对婴儿唾液巨细胞病毒载量的影响[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2014, 29(10): 751-753.
- [12] SLAVULJICA I, KVEŠTAK D, HUSZTHY PC, et al. Immunobiology of congenital cytomegalovirus infection of the central nervous system—the murine cytomegalovirus model [J]. Cell Mol Immunol, 2015, 12(2): 180-191.
- [13] 李禄全. 先天性巨细胞病毒感染致耳聋与诱导GJB2基因突变的关系[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2013.
- [14] 封纪珍, 李素芳, 李天洁, 等. 石家庄市新生儿听力及耳聋基因联合筛查结果分析[J]. 河北医科大学学报, 2015, 36(11): 1271-1275.
- [15] KAWASAKI H, KOSUGI I, MEGURO S, et al. Pathogenesis of developmental anomalies of the central nervous system induced by congenital cytomegalovirus infection [J]. Pathol Int, 2017, 67(2): 72-82.

(收稿日期:2019-12-10)