

丙型肝炎病毒母婴传播及羊水、乳汁和唾液的作用

王占英, 牛美智, 鲁学恒, 李颖, 乔光彦

王占英, 李颖, 乔光彦, 中国医科大学附属二院感染科 辽宁省沈阳市 110004
牛美智, 沈阳市中国人民解放军第四人民医院内科 辽宁省沈阳市 110031
鲁学恒, 沈阳铁路分局沈北医院内科 辽宁省沈阳市 110013
沈阳市科委资助课题, No. 9540
项目负责人: 王占英, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属二院感染科. zhanyingwang@hotmail.com
电话: 024-83956961
收稿日期: 2003-03-07 接受日期: 2003-03-25

摘要

目的: 研究丙型肝炎病毒(HCV)母婴传播及羊水、乳汁和唾液在母婴传播中的作用。

方法: 用酶免疫测定(EIA)检测IgG抗-HCV; 逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测HCV-RNA; Taq DNA聚合酶循环测序法对PCR产物测序。

结果: 抗-HCV和HCV-RNA均阳性孕妇的24例婴儿中有4例血清检出HCV-RNA, 阳性率为16.7%; 一对HCV-RNA均阳性母、婴的HCV-cDNA序列同源率为100%; 母亲羊水、乳汁和唾液HCV-RNA阳性率分别为25%、16.7%和0%; 3例羊水HCV-RNA阳性母亲的婴儿有2例HCV-RNA阳性(66.7%)。

结论: 母婴传播是婴幼儿感染HCV的重要途径, 传播率为16.7%。羊水在HCV母婴传播中起重要作用。

王占英, 牛美智, 鲁学恒, 李颖, 乔光彦. 丙型肝炎病毒母婴传播及羊水、乳汁和唾液的作用. 世界华人消化杂志 2003;11(11):1822-1824

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1822.asp>

0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)主要经输血注射传播^[1]。然而母婴传播也是HCV的重要传播途径, 但国内外报告其传播率差异较大。HCV可在宫内或分娩时感染婴儿, 但羊水、乳汁和唾液在HCV母婴传播中的作用尚不清楚。我们于1996-01/2000-01筛查4 233例妊娠晚期孕妇, 对其中24例抗-HCV及HCV-RNA均阳性的孕妇进行母婴传播研究, 并检测母亲羊水、乳汁和唾液的HCV-RNA, 以揭示三种体液在母婴传播中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 1996-01/2000-01在中国医科大学附属第二医院和沈阳市妇婴医院妇产科门诊对4 233例妊娠晚期妇女筛查血清抗-HCV, 检测肝功能, 部分血清-30℃保存备检HCV-RNA, 其中抗-HCV阳性孕妇46例, 32例接受本研究。其中24例血清HCV-RNA阳性, 16例有手术、输血及输血液制品史; 有4例为慢性丙型肝炎;

其余20例为病毒携带者, 产前检查肝功能均正常。对32例血清抗-HCV阳性孕妇所生子女定期随访1 a, 在出生后1 wk内、3 mo、6 mo、9 mo和12 mo分别采血检测抗-HCV、HCV-RNA和ALT。采血后1 h内分离血清, 立即-30℃保存。采集15例抗-HCV阳性母亲的羊水各2 mL, 乳汁和唾液各5 mL。羊水用无菌注射器抽取, 唾液于清晨刷牙漱口前采集。乳汁1 000 r/min离心20 min去脂质层, 羊水和唾液10 000 r/min离心5 min取上清, -70℃保存。乳汁HCV-RNA提取前10 000 r/min离心5 min取上清。所有容器均经高压灭菌处理。选择10例抗-HCV及HCV-RNA均阴性孕妇的婴儿作为对照。

1.2 方法

1.2.1 抗-HCV检测 IgG抗-HCV用第三代抗-HCV EIA检测, 试剂盒由上海荣盛生物科技公司提供(批号991001), 检测及结果判定均严格按试剂说明书进行。

1.2.2 HCV-RNA检测 RNA提取参考文献方法^[2]。逆转录和PCR按文献方法^[3]。PCR结束后, 取15 μL样品加在含0.5 μg/mL EB的20 g/L琼脂糖胶电泳, 紫外检测仪观察结果。第二次PCR扩增片段为145 bp。每次实验均设阳性、阴性及空白对照, 且每份样本重复2次, 结果一致者判为阳性。引物参考文献^[4], 利用高度保守的HCV 5'非编码区序列由中国科学院上海细胞生物研究所合成。外引物正、负链分别为5'-ACT CCA CCA TAG ATC ACT CC-3'和5'-AAC ACT ACT CGG CTA GCA GT-3'; 内引物正、负链分别为5'-TTC ACG CAG AAA GCG TCT AG-3'和5'-GTT GAT CCA AGA AAG GAC CC-3'。

1.2.3 PCR产物测序 PCR产物纯化试剂盒和荧光标记终止物测序试剂盒均由PE公司提供, 用Taq DNA聚合酶循环测序法测序。(1)测序引物为5'-TTC ACG CAG AAA GCG TCT AG-3'。(2)4种dNTP/ddNTP混合物每种各取2 μL, 分别加入4个微量离心管中, 每管中dNTP浓度均为30 μmol/L, 而每种dNTP相应ddNTP浓度分别为: ddATP 1.2 mmol/L, ddTTP 1.2 mmol/L, ddGTP 0.09 mmol/L, ddCTP 0.6 mmol/L。(3)HCV-cDNA测序模板的纯化按试剂说明书进行, 将HCV-cDNA片段与PCR反应剩余的dNTP及引物分离后, 加入测序引物、测序缓冲液和Taq DNA聚合酶(用量按试剂盒说明书)。(4)上述步骤(3)的混合物各取4 μL, 加入步骤(2)的4管dNTP/ddNTP中进行循环测序。(5)取3 μL测序反应物加入测序凝胶(60 g/L丙烯酰胺)上样孔内电泳, 通过自动测序仪读出核苷酸序列。

2 结果

2.1 婴儿抗-HCV和ALT检测结果 抗-HCV阳性母亲的32例婴儿出生时血清抗-HCV阳性率100%，3 mo为78.1%，6 mo为18.8%，只有2例持续性HCV血症的婴儿生后9 mo和12 mo时抗-HCV仍然阳性。所有婴儿血清ALT全部正常。对照组母亲的10例婴儿，抗-HCV均阴性。

2.2 婴儿HCV-RNA检测结果 HCV-RNA阳性孕妇的24例婴儿中有4例血清检出HCV-RNA，阳性率为16.7%。2例出生时，6 mo和12 mo时HCV-RNA均阳性，另2例仅在出生时检出HCV-RNA，生后6 mo和12 mo时复查均阴性。HCV-RNA阴性母亲的8例婴儿HCV-RNA均阴性。对照组10例婴儿未检出HCV-RNA。

2.3 HCV-cDNA序列测定 选择1例婴儿血清HCV-RNA持续阳性者，对母、婴HCV-cDNA进行序列测定，母、婴间HCV-cDNA序列(46-190 nt)完全相同，同源率为100%。

2.4 孕妇体液抗-HCV及HCV-RNA的检测 15例抗-HCV阳性母亲羊水、乳汁和唾液抗-HCV和HCV-RNA检测结果见表1。3例羊水HCV-RNA阳性母亲的婴儿有2例血清HCV-RNA阳性(66.7%)，而羊水HCV-RNA阴性母亲的婴儿HCV-RNA均阴性，二者间有非常显著的统计学差异($\chi^2=7.2$, $P<0.01$)。

表1 孕妇体液抗-HCV和HCV-RNA检测

体液	抗-HCV		HCV-RNA	
	n	阳性数(%)	n	阳性数(%)
羊水	15	15 (100) ^a	12	3 (25.0)
乳汁	15	8 (53.5) ^a	12	2 (16.7)
唾液	15	15 (100) ^a	12	0 (0)

乳汁抗-HCV阳性率显著低于羊水和唾液($\chi^2=6.71$, $^aP<0.01$)。

3 讨论

3.1 HCV母婴传播率 近年来国内外学者报告未合并HIV感染孕妇的婴儿HCV感染率为2.7-15.0%^[5-9]。本文结果表明24例HCV-RNA阳性的母亲所生婴儿中有4例出生后血清HCV-RNA阳性，2例HCV-RNA持续存在。其中1例母婴间HCV-cDNA相应片段序列同源率为100%，提示该婴儿HCV感染由其母亲传播。本文HCV母婴传播率为16.7%(4/24)。本文结果进一步证实母婴传播是HCV的重要传播途径之一。

3.2 HCV母婴传播的标志 抗-HCV作为人体感染HCV的间接证据，一直作为HCV血清流行病学调查的主要指标。但近年来研究^[3]证实孕妇的IgG抗-HCV可以通过胎盘到达婴儿体内，婴儿出生后血中IgG抗-HCV短期存在(大多数在6 mo内消失)不能认为婴儿已感染HCV。本文结果支持这一观点，抗-HCV阳性母亲的32例婴儿出生时IgG抗-HCV全部阳性，6 mo时80%以

上的婴儿抗-HCV已消失。但2例持续HCV血症者抗-HCV持续存在超过12 mo，故抗-HCV持续较长时间或主动产生可能提示婴儿已感染HCV^[9,10]。HCV-RNA是病毒存在和复制的直接指标，是确诊HCV感染的直接证据，故可作为判定母婴传播的标志。

3.3 HCV母婴传播感染方式 本文4例HCV感染婴儿均在出生后1 wk内血清HCV-RNA即阳性，其中2例在随访期间(6 mo时)血清HCV-RNA阴转，另2例血清HCV-RNA持续存在，并排除了与HCV感染有关的其他暴露因素，表明其传播方式可能为宫内或分娩时感染，与Steininger et al^[11]的研究结果一致。HCV感染孕妇引产胎肝HCV-RNA阳性证明宫内传播的存在^[3,12]。本文3例羊水HCV-RNA阳性母亲的婴儿有2例感染HCV，提示HCV污染的羊水在母婴传播中起重要作用。本文12例血清HCV-RNA阳性孕妇有2例乳汁中检出HCV-RNA(16.7%)，血清HCV-RNA阳性母亲的婴儿中有18例母乳喂养，除2例出生时即HCV-RNA阳性外，其余16例HCV-RNA均阴性，故不提示母乳引起HCV传播，与Tajiri et al^[13]研究结果一致。但Ruiz-Extremera et al^[14]认为HCV-RNA阳性乳汁有传染性，应避免母乳喂养。本文12例血清HCV-RNA阳性孕妇唾液均未检出HCV-RNA，与葛向华 et al^[15]研究结果一致，故认为唾液传播HCV的可能性较小。

4 参考文献

- Alter MJ. Hepatitis C virus infection in the United States. *J Hepatol* 1999;31(Suppl 1):88-91
- Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA Isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987;162:156-159
- 王占英, 王永来, 李颖, 吴海滨, 李娜, 乔光彦, 刘庆成. 丙型肝炎病毒母婴垂直传播的研究. *中国公共卫生* 1997;13:136-137
- Kanai K, Iwata K, Nakao K, Kako M, Okamoto H. Suppression of hepatitis C Virus RNA by interferon-alpha. *Lancet* 1990;336:245
- Roberts EA, Yeung L. Maternal-infant transmission of hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2002;36(5 Suppl 1):S106-113
- Newell ML, Pembrey L. Mother-to-child transmission of hepatitis C virus infection. *Drugs Today (Barc)* 2002;38:321-337
- Ceci O, Margiotta M, Mareello F, Francavilla R, Loizzi P, Francavilla A, Mautone A, Impedovo L, Ierardi E, Mastroianni M, Bettocchi S, Selvaggi L. Vertical transmission of hepatitis C virus in a cohort of 2, 447 HIV-seronegative pregnant women: a 24-month prospective study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001;33:570-575
- Polatti F, Viazzo F, Colleoni R, Belloni C, Zara F. Vertical transmission of hepatitis C virus and follow-up of newborns from infected mothers. *Minerva Ginecol* 2000;52:59-62
- Ferrero S, Lungaro P, Bruzzone BM, Gotta C, Bentivoglio G, Ragni N. Prospective study of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus: a 10-year survey (1990-2000). *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003;82:229-234
- Nordbo SA, Johansen OJ, Brubakk AM, Bakke K. Vertical transmission of hepatitis C virus in Sor-Trondelag. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2002;122:1977-1980
- Steininger C, Kundi M, Jatzko G, Kiss H, Lischka A, Holzmann H. Increased risk of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus by intrapartum infantile exposure to maternal blood. *J Infect Dis* 2003;187:345-351
- 沃健儿, 陈智, 刘克洲, 何南祥, 徐陈槐, 章明太. HCV感染孕妇的引产胎肝内HCV-RNA的定位研究. *中华传染病杂志* 1996;14:218-219

- 13 Tajiri H, Miyoshi Y, Funada S, Etani Y, Abe J, Onodera T, Goto M, Funato M, Ida S, Noda C, Nakayama M, Okada S. Prospective study of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:10-14
- 14 Ruiz-Extremera A, Salmeron J, Torres C, De Rueda PM, Gimenez F, Robles C, Miranda MT. Follow-up of transmis-

- sion of hepatitis C to babies of human immunodeficiency virus-negative women: the role of breast-feeding in transmission. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:511-516
- 15 葛向华, 王俊升. 用套式PCR方法检测慢丙肝患者唾液和尿液中的HCV-RNA. *临床肝胆病杂志* 1997;11:218-219

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2003年版权归世界胃肠病学杂志社

• 临床经验 •

十二指肠憩室 120 例

吴江, 邓长生

吴江, 邓长生, 武汉大学中南医院消化内科 湖北省武汉市 430071
项目负责人: 吴江, 430071, 湖北省武汉市武昌区东湖路 169 号, 武汉大学中南医院消化内科. no-river@163.net
电话: 027-87877459
收稿日期: 2003-03-08 接受日期: 2003-04-05

摘要

目的: 探讨十二指肠憩室临床表现、诊断与治疗的特点。

方法: 收集近 20 a 武汉大学中南医院住院患者中经 X 线钡餐、十二指肠镜检查及手术中发现的 120 例十二指肠憩室患者, 进行回顾性研究。

结果: 临床表现未见特殊, 多由 X 线检查确诊, 大部分为内科治疗。

结论: 十二指肠憩室的临床表现无特异性, 诊断主要依赖 X 线胃肠钡餐和胃、十二指肠镜检查确定。无症状者无需特殊治疗。患者有消化道症状, 且憩室与其他疾病共存时, 应首先考虑治疗其他疾病。

吴江, 邓长生. 十二指肠憩室 120 例. *世界华人消化杂志* 2003;11(11):1824-1825
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1824.asp>

0 引言

十二指肠憩室是指不同病因所致的十二指肠局部病理性囊袋样膨出。本文收集武汉大学中南医院 1983-01/2002-12 住院患者中经 X 线胃肠系统钡餐、十二指肠镜检查及手术中发现的十二指肠憩室患者 120 例, 进行了回顾性研究。

1 材料和方法

1.1 材料 本组 120 例中, 男 65 例, 女 55 例。年龄 18-86 岁, 其中小于 20 岁 1 例, 20-29 岁 8 例, 30-39 岁 10 例, 40-49 岁 13 例, 50-59 岁 30 例, 60-69 岁 34 例, 70-79 岁 19 例, 大于或等于 80 岁 5 例。降部憩室 91 例, 水平部 7 例, 升部 9 例, 降部与升部 5 例, 降部与

空、回肠 2 例, 降部与食管中段 1 例, 球部憩室 5 例。憩室数目 1-4 个不等, 单个者 105 例。大小不一, 最大者 4 × 5 cm, 最小者仅米粒大小。

1.2 方法 统计十二指肠憩室患者的临床表现和治疗与转归情况。

2 结果

2.1 临床表现 120 例中有 69 例合并消化道其他疾病: 胆管炎、胆囊炎、胆石症 12 例, 急性胰腺炎 3 例, 慢性胃炎 10 例, 急性胃黏膜病变 4 例, 十二指肠球炎、球部溃疡 16 例, 肝炎及脂肪肝 12 例, 肝囊肿 4 例, 食管炎、小肠异位胰腺、肝海绵状淋巴管瘤、肝血吸虫病、粘连性肠梗阻、空肠平滑肌肉瘤、结肠息肉、升结肠癌各 1 例。仅 6 例入院时诊断为十二指肠憩室。其消化道主要症状为上腹疼痛/不适(72.73%)、恶心呕吐(40.91%)、呕血和(或)黑便(34.91%)及黄疸(6.82%)。有憩室炎者 16 例。本组中 50 例有其他系统伴发疾病: 心血管系统 24 例, 呼吸系统 11 例, 泌尿系统 7 例, 内分泌系统 5 例(均为糖尿病), 神经系统 3 例。

2.2 治疗与转归 本组有 10 例施行手术治疗: 胃大部切除术 8 例, 十二指肠憩室包埋术 2 例。余均为内科治疗, 有 1 例因充血性心肌病死亡。

3 讨论

憩室是起源于管状器官的一种袋状和囊状结构。“真性”憩室包含肠壁各层, “假性”憩室是由于肌层缺陷而使黏膜及黏膜下层突出所致^[1]。十二指肠憩室在各种上消化道检查中的发现率约为 2.50%^[2]。本组患者中年以上者多见(大于或等于 40 岁 101 例, 84.16%)。男女发病率相近, 男性稍高(65/120, 54.17%), 但也有学者^[3]认为女性更多见。

十二指肠憩室好发于降部^[4], 且多在降部内侧, 距 Vater 壶腹约 2.50 cm 范围内^[1]。本组亦以降部为多(91/120, 75.83%), 另有水平部 7 例, 升部 9 例; 还有 5 例球部