

• 临床经验 •

HBV DNA 及乙肝标志物检测乙肝产妇脐血和乳汁的应用分析

蔡莉莉, 姚美珍, 谭立明, 王外梅, 秦和昌, 李华, 刘川

蔡莉莉, 谭立明, 王外梅, 秦和昌, 李华, 江西医学院第二附属医院检验科 江西省南昌市 330006
姚美珍, 江西医学院第二附属医院妇产科 江西省南昌市 330006
刘川, 江西医学院第二附属医院分子中心实验室 江西省南昌市 330006
通讯作者: 蔡莉莉, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 江西医学院第二附属医院检验科. lolo0131@163.com
收稿日期: 2005-03-07 接受日期: 2005-03-22

摘要

目的: 探讨 HBV DNA 及其标志物检测乙型肝炎 (Hepatitis B, HB) 产妇脐血和乳汁及临床意义。

方法: 51 例乙肝产妇采用荧光定量聚合酶链反应 (FQ-PCR) 和酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测产妇血清、脐血和乳汁的 HBV DNA 含量及乙肝标志物, 并对结果进行回顾性分析。

结果: 51 例乙肝产妇检测乙肝六项结果显示脐血 32 例阳性, 乳汁 31 例阳性, 与对照组比较有非常显著性意义 ($P < 0.01$); 脐血和乳汁中各项乙肝指标检测结果显示 HBeAg 阳性率最高, 分别是 79.4% 和 82.3%; 51 例乙肝产妇检测 HBV DNA 含量结果为 HBsAg、HBeAg、HBcAb、Pre-S₁ 模型最高, 脐血和乳汁分别是 76.2% 和 81.0%。

结论: 乙肝产妇定量检测 HBV DNA 及其乙肝标志物有利于阻断乙肝垂直传播, 从而降低乙肝的新生儿感染率。

蔡莉莉, 姚美珍, 谭立明, 王外梅, 秦和昌, 李华, 刘川. HBV DNA 及乙肝标志物检测乙肝产妇脐血和乳汁的应用分析. 世界华人消化杂志 2005;13(10): 1231-1233
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1231.asp>

0 引言

乙型肝炎 (HB) 是一种严重危害人类健康的全球性疾病, 而我国是高度地方性流行区, 乙肝病毒 (Hepatitis B Virus, HBV) 携带者高达 10-15%, 每年有百万的乙肝表面抗原携带者分娩, HBV 的围产期传播是重要的传播途径^[1], 鉴于母乳喂养的优越性, 且近年来世界卫生组织大力提倡开展母乳喂养. 因而, 乙肝血清学标志阳性的母亲能否哺乳, 其宫内感染率又是如何值得探讨. 我们自 2002-06 开始对乙肝表面抗原阳性的产妇配对检测母血清、脐血、乳汁的乙肝六项及乙肝病毒核糖核酸 (HBV DNA) 进行了检测, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 51 例乙肝产妇均是 2002-06/2004-12 江西医学院第二附属医院妇产科住院患者, 年龄为 18-37 岁, 平均年龄 25 ± 2.4 岁. 无菌采集产妇血清、脐血, 同时注意避

免产妇血液的污染, 收集产后 2-4 d 内的初乳. 健康产妇对照 40 例, 年龄 19-36 岁, 平均年龄 26 ± 1.8 岁。

1.2 方法

1.2.1 采用中山医科大学中山生物公司生产的乙肝五项试剂及阿尔法公司生产的 Pre-S₁ 检测试剂盒, 采用 ELISA 法并严格按试剂说明书要求操作。

1.2.2 HBV DNA 定量检测 试剂盒由中山医科大学达安基因诊断中心提供, 引物序列为: P1: 5' ATCTGCTGCTAT GCCTCATCTT3' (23 bp), P2: 5' ACAGTGGGGGAA GCCCTACGAA3' (23 bp); 荧光探针序列为: 5' TGGCTAGT TTACTAGTGCCATTTG3' (25 bp). HBV DNA 的标准由中山医科大学达安基因诊断中心提供. 严格按试剂盒说明书要求操作, HBV DNA 定量使用美国 ABI 公司 PE5700 自动荧光 PCR 仪。

2 结果

2.1 乙肝六项检测结果 51 例乙肝产妇血清 HBV (+) 者 51 例, 母乳为 31 例, 脐血 32 例. 与对照组相比均有非常显著差异 ($P < 0.01$), 对照组无 1 例 HBV 阳性。

2.2 各项乙肝指标检测结果 51 例母血清、脐血和乳汁中, HBsAg 最高, HBeAb 最低 (表 1)。

表 1 母血清 HBV 指标与脐血和乳汁中的 HBV 指标比较

HBV	血清		脐血		乳汁	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
HBsAg	51	100	32	62.7	31	60.8
HBsAb	0	0	0	0.0	0	0.0
HBeAg	34	66.7	27	79.4	28	82.3
HBeAb	11	21.6	5	45.4	4	36.4
HBcAb	46	90.2	27	58.7	25	54.3
Pre-S ₁	31	60.8	17	54.8	18	58.1

2.3 母血清中各种乙肝模型与配对脐血和母乳的 HBV DNA 定量结果比较, 其中 HBsAg、HBeAg、HBcAb、Pre-S₁ 模型最高, HBsAg、HBcAb 模型最低 (表 2)。

3 讨论

乙型病毒性肝炎是由乙型肝炎病毒感染引起的, 新生儿乙型肝炎病毒感染的发生率由很多因素决定, 主要是母婴传播. 产妇病毒携带者传播给胎儿的途径有三种可能: (1) 经胎盘传播; (2) 分娩时由母血传播或胎儿吞咽病毒污染的羊水而受感染; (3) 产后与产母生活上的密切接触,

表2 各种乙肝模型HBV DNA检测脐血、母乳的结果比较

HBV	n	HBV		DNA	
		脐血	%	母乳	%
HBsAg	2	1	50.0	1	50.0
HBsAg、HBeAg、HbcAb	10	7	70.0	6	60.0
HBsAg HBeAb、HbcAb	4	2	50.0	1	25.0
HBsAg、HBeAg	3	2	66.7	2	66.7
HBsAg、HbcAb	1	0	0.0	0	0.0
HBsAg、HBeAg、HbcAb、Pre-S ₁	21	16	76.2	17	81.0
HBsAg、HBeAb、HbcAb、Pre-S ₁	7	3	42.9	3	42.9
HBsAg、HbcAb、Pre-S ₁	3	1	33.3	1	33.3
合计	51	32	62.7	31	60.8

如通过唾液、乳汁、汗液、大小便等。我国每年约有150万乙肝病毒携带者分娩,约有近100万新生儿被感染。婴幼儿至青年期病毒常处于免疫耐受的高复制期,血清病毒长期稳定在一个较高水平,国外一些学者认为许多慢性HBV感染缺乏自发性病毒清除,故可以是终生感染^[2]。我国的慢性HBV携带主要是由于婴幼儿期感染建立的免疫耐受性。孕妇体内乙肝病毒的感染状态直接决定了母婴垂直传播的发生率^[3]。由于新生儿接种乙肝疫苗可有效阻断HBV的产前和产后传播,但对宫内传播的作用较少,宫内传播的相关因素及其防御的指标已成为临床监测的重要依据。

乙肝病毒可通过胎盘屏障引起胎儿宫内感染。脐血HBV抗原标志物阳性则表示可能HBV宫内感染^[4]。HBV的胎盘传播是非常活跃的。Sharma *et al*^[5]报道HBV的胎盘传播率随产妇HBV的复制活跃程度不同而不同,产妇单纯HBsAg阳性其婴儿受感染率较低,约为50-60%,如合并有HBeAg阳性或HbcAb阳性则胎盘传播率显著上升,可达88-90%。本研究结果表明,在51例HBsAg阳性产妇的新生儿脐血中HBsAg的检出率为62.7%,HBeAg的检出率为79.4%,HBeAb的检出率为45.4%,HbcAb的检出率为58.7%,Pre-S₁的检出率为54.8%,与配对母血比较无显著性差异。51例乙肝产妇有32例脐血HBV DNA阳性检出率为62.7%;说明产妇HBV标志物阳性与脐血中的HBV标志物以及HBV DNA的检出率呈高度的一致性,而对照组无1例感染,说明HBV DNA阳性产妇宫内感染机率明显增高,感染性增强。HBV感染的产妇,其胎儿先天异常或产死的危险性显著增加,妊娠可加剧产妇肝炎的发展。如产妇血HBV DNA反复多次检测为阳性且肝功能亦有明显改变者,应酌情建议终止妊娠。

乙肝病毒携带者母乳传播问题一直是医务人员比较关注的重点问题之一。关于乙肝病毒标志物阳性及HBV DNA阳性产妇能否进行母乳喂养,国际上是一个有争议的问题。本研究表明51例乙肝产妇,在乳汁中六种标志物的检出率分别为HBsAg的检出率为60.8%,HBeAg的检出率为82.3%,HBeAb的检出率为36.4%,HbcAb的检出

率为54.3%,Pre-S₁的检出率为58.1%。其乳汁中HBV DNA阳性检出率为60.8%,说明其传染性强,不宜作母乳喂养。Gupta *et al*^[6]报道婴儿在出生头1 a内HBV感染的比率与其HBV复制的活跃程度成正比关系。如母亲仅HBsAg阳性则婴儿感染率为17%,如为HBeAb阳性,婴儿感染率为9%,如为HBeAg阳性则1 a后婴儿约有73%受感染。虽然纯母乳喂养是目前被视为婴儿最理想的天然食品,应大力提倡纯母乳喂养。而产妇明显存在HBV感染,无论何种血清学模型,乳汁是否安全,需检测乳汁中的HBV DNA,已证实能通过喂哺途径传播给婴儿时,为了儿童健康,对于HBV复制活跃的母亲应及时阻止这种传播途径,终止母乳喂养而改为人工喂养。

近年来,HBV Pre-S₁蛋白的研究较多,备受人们的重视,认为HBV Pre-S₁蛋白与HBV DNA, HBeAg, 肝脏损害机制等都有极其密切的关系。HBV病毒基因组负链含有4个主要开放读码框架,分别命名为S、C、P、X基因区,HBV Pre-S₁蛋白属S基因区的一部分,位于病毒颗粒表面具有高度免疫原性^[7]。Neurath *et al*^[8]认为HBV Pre-S₁蛋白和HBV复制密切相关,可作为HBV复制和活动性的指标。本研究中51例乙肝产妇脐血和母乳中Pre-S₁的检出率分别为54.8%和58.1%与阴性组比较有非常显著性差异($P < 0.01$),同时,我们也可发现在“大三阳”与HBsAg、HBeAg、HbcAb、Pre-S₁两种模型中脐血和母乳HBV DNA的阳性率明显高于其他模式。乙肝孕妇中存在HBeAg、Pre-S₁是病毒复制的指标,HBV DNA从基因定量水平进一步证实了HBeAg、Pre-S₁二种标志物是反映乙肝病毒复制的良好指标。HBV Pre-S₁蛋白作为HBV复制和传染的一项敏感指标,产妇HBV Pre-S₁蛋白阳性,特别是孕晚期阳性,容易通过围产期传播给婴儿,值得引起重视。

总之,产妇HBV携带状态与母婴传播的关系密切。用乙肝六项血清学指标联合HBV DNA的定量法对脐血与母乳的检出,可以直接反映产妇传染性的强弱,进而监测HBsAg阳性产妇的胎儿发生宫内感染危险性的高低,同

时也对指导母乳喂养提供了可靠依据. 因此, 对乙肝血清学指标(HBeAg、Pre-S₁)阳性, HBV DNA含量高的产妇应积极采取措施, 可以降低母婴的感染率.

4 参考文献

- 1 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学会. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000;8:324-329
- 2 Chang MH, Hsu HY, Ni YH, Tsai KS, Lee PI, Chen PJ, Hsu YL, Chen DS. Precore stop codon mutant in chronic hepatitis B virus infection in children: its relation to hepatitis B e seroconversion and maternal hepatitis B surface antigen. *J Hepatol* 1998;28:915-922
- 3 吴俭, 曾义岚, 胡蓉, 唐洪玉. 乙肝病毒携带者围产期垂直传播防治策略探讨. 四川医学 2000;21:947-948
- 4 钱宇平. 流行病学. 北京: 人民卫生出版社, 1998:38
- 5 Sharma R, Malik A, Rattan A, Iraqi A, Maheshwari V, Dhawan R. Hepatitis B virus infection in pregnant women and its transmission to infants. *J Trop Pediatr* 1996;42:352-354
- 6 Gupta I, Sehgal A, Sehgal R, Ganguly NK. Vertical transmission of hepatitis B in north India. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 1992;36:263-267
- 7 Pfaff E, Klinkert MQ, Theilmann L, Schaller H. Characterization of large surface proteins of hepatitis B virus by antibodies to preS-S encoded amino acids. *Virology* 1986;148:15-22
- 8 Neurath AR, Kent SB, Strick N, Parker K. Identification and chemical synthesis of a host cell receptor binding site on hepatitis B virus. *Cell* 1986;46:429-436

编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 临床经验 •

重症急性胰腺炎并发上消化道出血 33 例

薛平, 黄宗文, 李永红, 王忠朝, 郭佳, 游真

薛平, 黄宗文, 李永红, 王忠朝, 郭佳, 游真, 四川大学华西医院中西医结合科 四川省成都市 610041

通讯作者: 黄宗文, 610041, 四川省成都市外南国学巷37号, 四川大学华西医院中西医结合科. huangzongwen@medmail.com.cn

电话: 028-85422556

收稿日期: 2005-03-09 接受日期: 2005-04-01

摘要

目的: 探讨重症急性胰腺炎并发上消化道出血的临床特征及防治方法.

方法: 统计分析我院 1996-01-01/2003-12-31 收治的 1161 例 SAP 患者中, 并发上消化道出血者 33 例, 将其分成早期组和晚期组, 对比分析其临床特征.

结果: SAP 并发上消化道出血的发生率为 2.84%, 在发病 3 d 内出血 12 例(36.7%), 3-7 d 内出血 4 例(12.1%), 7-14 d 出血 3 例(9.1%), 14 d 后出血 14 例(42.1%); 出血后 1 d 内死亡率为 54.5%(18/33 例), 3 d 内死亡率为 81.8%(27/33 例), 早期组死亡率为 87.5%(14/16 例); 早期组出血前糖皮质激素的使用率高于晚期组(75.0% vs 23.5%, $P = 0.003$); 晚期组出血前手术率高于早期组(70.6% vs 31.3%, $P = 0.024$); 晚期组休克发生率高于早期组(12.5% vs 64.7%, $P = 0.002$); 晚期组发热发生率高于早期组(37.5% vs 88.2%, $P = 0.004$); 痰、大便、引流物及血培养证实有感染者也高于早期组(31.3% vs 76.5%, $P = 0.009$).

结论: SAP 早期上消化道出血有 3 d 内和 14 d 后 2 个高峰期,

在出血后 3 d 内死亡率极高. 早期可能与应激和激素的使用等因素有关, 晚期可能与手术引起的应激和感染引起的 DIC 有关, 预防应激性溃疡的发生和减少休克及感染引起的 DIC, 有望减少 SAP 并发上消化道出血.

薛平, 黄宗文, 李永红, 王忠朝, 郭佳, 游真. 重症急性胰腺炎并发上消化道出血 33 例. 世界华人消化杂志 2005;13(10):1233-1235
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1233.asp>

0 引言

重症急性胰腺炎(SAP)是常见的急腹症之一, 其并发上消化道出血的发生率虽然不高, 但病情凶险, 死亡率极高, 有学者^[1]称其为致死性胰腺炎. 现将我院收治的SAP中并发上消化道出血的病例33例报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 1996-01-11/2003-12-31 我院共收治 SAP 1161 例, 均符合中华医学会关于 SAP 的诊断标准, 男 695 例, 女 466 例, 中位年龄 48.5 (8-87) 岁, 入院后经胃肠减压、抗感染、补充血容量、抑制胃酸、维持内环境的稳定、对症支持治疗及中医药“柴苓承气汤”灌肠和管喂, 出现呼吸衰竭转 ICU 呼吸机辅助呼吸治疗, 出现腹腔室间隔综合征、病情加重、胰腺坏死伴感染及胰周脓肿内科治疗无效者转外科手术治疗. 共死亡 118 例. 纳入标准: SAP 发病后出现呕血或黑便, 经呕吐物、大便隐血实验及胃镜检查