

·临床研究报道·

母婴乙型肝炎病毒 DNA 定量的相关性研究

林坚, 廖蔚, 韩家莲, 王春平, 周明, 伍春兰, 黄文瑶, 康春阳

[摘要] 目的 探讨母婴之间 HBV - DNA 含量的关系。方法 应用荧光定量 PCR 技术检测 22 对母婴 HBV - DNA。结果 胎儿脐血 HBV - DNA 含量与孕妇 HBV - DNA 含量呈线性相关($r = 0.4984$, $P < 0.05$)。结论 提示孕妇 HBV - DNA 含量的高低反映 HBV 垂直感染的强弱。

[关键词] 乙型肝炎;病毒;宫内传播;相关性分析

[中图分类号] R572.6⁺2 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1008 - 8830(2000)03 - 0174 - 02

乙型肝炎病毒(HBV)可从母体传给胎儿已十分肯定^[1],但母婴宫内垂直传播的机制、机率和规律尚未完全阐明。随着实验技术的发展,相关研究不断深入。本文应用荧光定量聚合酶反应技术检测孕妇血清和胎儿脐血中 HBV - DNA 含量,探讨母婴 HBV 传播的关系。

1 资料与方法

1.1 对象

共研究 22 对母婴。孕妇均有肝炎病史,其中 7 例 HBV 聚合酶链反应(PCR)定性为阳性,15 例 HBV 血清学异常。孕妇于分娩前采集静脉血、胎儿于分娩时采集脐血、分离血清贮存于 - 20℃。

1.2 方法

1.2.1 血清学检测 HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb 及 HBcAb 均采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测,试剂由北京万泰生物药业有限公司提供,操作按说明书进行。

1.2.2 血清 HBV - DNA 定性 外周血离心取血清,4℃保存待测。HBV - DNA 检测采用 PCR 法,试剂由上海夏华生物医学工程有限公司提供。扩增产物在 2%琼脂糖凝胶(含 0.5 μg 溴化乙锭)电泳后,用紫外灯观察特定大小(566 bp)的 DNA 条带。每次检测均设阴性、阳性及空白对照管。

1.2.3 血清 HBV - DNA 定量 采用 AG - 9600 Amplisensor 荧光定量 PCR 系统(美国 Biotronics Technologies Corp 提供)测定。操作程序:血清样

本先进行一定循环的不对称 PCR 扩增,加入单链 DNA 模板互补的双链荧光引物,再进行巢式 PCR 扩增;结果表达:HBV - DNA 定量测定范围为 $10^{3.0 \sim 9.5}$ Copies/ml,结果以 log copies/ml 表示。

1.3 统计学方法

母婴 HBV - DNA 定量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,母婴之间的相关性分析采用线性回归检验,组间均数的比较采用 t 检验或 P 检验。数据用 SPSS 6.0 软件处理。

2 结果

2.1 母婴 HBV - DNA 含量的关系

孕妇 HBV - DNA 含量为 6.58 ± 1.33 , 婴儿 HBV - DNA 含量为 5.58 ± 1.50 , 直线回归分析显示母婴 HBV - DNA 含量测定值之间明显相关($r = 0.4984$, $P = 0.018$)。回归方程为:婴儿 HBV - DNA 预测值 = $1.8836 \pm 0.5615 \times$ 母亲 HBV - DNA 测定值。随着孕妇 HBV - DNA 定量测定值的增加,其婴儿 HBV - DNA 定量测定值也增加($P < 0.05$)。

2.2 母婴 HBV - DNA 定量与 HBV - DNA 定性、血清学改变的关系

将母亲 HBV - DNA 定性阳性者母婴 HBV - DNA 定量测定与母亲乙肝血清学检测异常进行比较,母婴 HBV - DNA 定量均无明显差异,见表 1。

2.3 宫内感染情况

22 例婴儿乙型肝炎血清学检测中,12 例异常,其中 4 例 HBeAg(+),其他为 HBeAb, HBeAb 等阳性。

[作者简介] 林坚,男,1956 年出生,硕士。
[作者单位] 518001 深圳市罗湖区人民医院

表 1 母婴 HBV - DNA 定量与孕妇 HBV - DNA 定性及 HBV 血清学异常的关系

	HBV - PCR (+) (n = 7)	血清学异常 (n = 15)	t 值	P 值
孕妇	7.28 ±1.53	6.25 ±1.18	1.55	0.153
胎儿	6.014 ±1.23	5.45 ±1.64	0.89	0.389

3 讨论

我国是乙肝高发区,一般人群感染率约在 10 % 左右,有些地区高达 20 %。换言之,约有 10 %~ 20 % 的孕妇为乙肝感染者。由于 HBV 可经母体垂直传播感染胎儿,乙肝宫内感染也成为乙肝高发区严峻的公共卫生问题。各地有关 HBV 宫内感染率报道不一,但目前普遍认为血清 HBV - DNA 是反映 HBV 在体内复制和宿主传染性的直接指标^[2]。刘志华^[3]等报道孕妇血清 HBV - DNA 含量增加,胎儿发生宫内感染的危险性也增高,并由此推论孕妇血清 HBV - DNA 含量标志着乙肝传染性的强弱。本研究采用荧光定量 PCR 技术,配对检测孕妇与胎儿 HBV - DNA 含量,发现胎儿脐血 HBV - DNA 含量与孕妇 HBV - DNA 含量呈线性相关($r=0.4984, P<0.05$),支持用血清 HBV - DNA 含量来估计宿主传染性的论点。本组研究提示母婴 HBV - DNA 含量高低与孕妇 HBV - DNA 定性、HBV 血清学异常无明显差异。

脐血基本上反映了胎儿感染情况。王小青

等^[4]应用套式 PCR 技术对 271 例 HbsAg 阳性孕妇的胎儿进行检测,脐血阳性率为 18.18 %,婴儿静脉血阳性率为 22.22 %,基本相符。本组资料显示胎儿 HBV 血清学改变为 12 例,其中 8 例主要为 HBsAb, HBcAb, HBeAb 阳性, HBeAg 阳性为 4 例。目前认为 HBsAb, HBcAb, HBeAb 均属 IgG 类抗体,可经胎盘直接传递给胎儿,并不一定系胎儿自身产生^[5]。因此,新生儿时期检测 IgG 类抗体阳性,不能反映婴儿感染的实际情况。此时,只有 HBeAg 阳性才能确定为宫内感染。有关宫内感染率与孕妇 HBV - DNA 含量的关系,尚需扩大标本进行深入研究。

[参 考 文 献]

[1] Ghendon Y. Perinatal transmission of hepatitis B Virus in high - incidence countrise [J]. J Virol Meth, 1989, 17(1): 69 - 79.
[2] Samazaki R, Mitz M, Wolf H, et al. Detection of hepatitis B Virus using amplification of viral DNA by means of polymerse chain raction [J]. J Med Virol, 1989, 27(4): 304 - 308.
[3] 刘志华,徐德忠,闫水平,等. 孕妇血清中乙型肝炎病毒 DNA 含量与胎儿宫内感染的关系 [J]. 中华妇产科杂志,1999, 34 (3): 133 - 134.
[4] 王小青,刘亦琪,孙亦骏,等. 母乳喂养传播乙型肝炎病毒的临床研究 [J]. 江苏医药,1996, 22(12): 827 - 828.
[5] 杨德春,尚世强,洪文澜. 聚合酶链反应对抗 - HBV 阳性母亲宫内传播乙肝病毒的研究 [J]. 新生儿科杂志,1997, 12(2): 100 - 102.

(收稿日期:1999 - 10 - 20 修回日期:2000 - 03 - 09)

(本文编辑:吉耕中)

(上接第 166 页)
环^[4,5]。值得注意的是,这些大而“年青”的血小板富有 PF3,具有较强的粘附性和聚集力,对患儿的凝血、出血机制产生影响,导致微血管血栓形成和高血粘滞综合征发生,使病情恶化、预后不良,故有必要对重症肺炎的这种病理生理机制进行干预。本研究还发现,疾病的发展和转归与治疗前后 PL T,MPW 和 PDW 的变化具有相关性,即临床症状和体征改善与 PL T,MPW 和 PDW 的恢复相平行;PL T,MPW 和 PDW 得以恢复正常者的预后良好;否则,预后不良。故对小儿重症肺炎时,有必要动态检测血小板参数变化,以指导治疗和评估疾病的结局。

复方丹参具有抑制血小板聚集和疏通微循环(活血化淤)的药理作用,故对具有高血粘滞综合征的重症肺炎患儿可能特别适合^[7]。复方丹参能解除低氧性肺血管痉挛、清除氧自由基等,故其应用于小儿重症肺炎时,可改善心肌等组织缺氧,促进器官功能恢复,打断恶性循环,从而较快地缓解危重症状、降低血液粘滞度和缩短病程,进而降低小儿病死率^[2,7]。此外,复方丹参还具有抑制粒细胞趋化性

及随机运动等作用,故能减少肺泡渗出和改善肺组织顺应性,有利于炎症吸收^[2]。婴儿重症肺炎后,呼吸困难和肺部罗音消失较快可能与此作用有关。

[参 考 文 献]

[1] 江载芳. 我国小儿急性呼吸道感染的防治现状 [J]. 中国实用儿科杂志,1997, 12: 122 - 123.
[2] 张心中. 多器官功能衰竭的研究进展 [J]. 新医学,1995, 26: 454 - 456.
[3] 诸福棠. 实用儿科学(下册) [M]. 第 4 版,北京:人民卫生出版社,1985, 41.
[4] Tomita E, Akatsuka J, Kokubum Y. Differential diagnosis of various thrombocytopenias in childhood by analysis of platelet volume [J]. Perdiatr Res, 1980, 14(2): 133 - 137.
[5] Oconnor TA, Ringer KM, Gaddis ML. Mean platelet volume during coagulase - negative staphylococcal sepsis in neonates [J]. Am J Clin Pathol, 1993, 99(1): 69 - 72.
[6] 肖昕,李着算,吕英,等. 新生儿细菌 L 型败血症的血小板参数变化 [J]. 临床儿科杂志,1998, 16(4): 266 - 267.
[7] 郝翠芳,于小玲,孟宪凤,等. 复方丹参对妊高征孕妇微循环的影响 [J]. 实用妇产科杂志,1998, 14(3): 203 - 204.

(收稿日期:2000 - 02 - 14 修回日期:2000 - 05 - 16)

(本文编辑:尹飞)

