

HBV 宫内感染预测指标的探讨

潘文涛, 尹玉竹, 谌小卫, 周水生, 李小毛*

(中山大学附属第三医院妇产科, 510060)

摘要:【目的】探讨 HBsAg 阳性孕妇的新生儿乙肝联合免疫前的 HBV-M 和 HBV DNA 预测 HBV 宫内感染的实用价值。【方法】对我院 2006 年 6 月至 2008 年 2 月间分娩的 HBsAg 阳性孕妇的 420 例婴儿, 其中新生儿 HBsAg 或 HBV DNA 阳性为 33 例, HBsAg 和 HBV DNA 双阳性共 6 例, 对其满 6 月龄时进行随访, 复查 HBV-M 以确诊 HBV 宫内感染。【结果】HBV 宫内感染率为 0.95%(4/420), 新生儿 HBsAg 或 HBV DNA 阳性诊断 HBV 宫内感染的阳性似然比为 14.3, 而 HBsAg 和 HBV DNA 双阳性时诊断宫内感染的阳性似然比为 208.3。【结论】HBsAg 阳性孕妇的新生儿乙肝联合免疫前的 HBsAg 和 HBV DNA 双阳性对 HBV 宫内感染具有较准确的预测作用, 可以作为 HBV 宫内感染的初步临床诊断。

关键词: 乙型肝炎病毒; 宫内感染; 预测

中图分类号: R71

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2010)01-0110-04

Prediction Indexes of Hepatitis B Virus Intrauterine Infection

PAN Wen-tao, YIN Yu-zhu, CHEN Xiao-wei, ZHOU Shui-sheng, LI Xiao-mao*

(Department of Obstetrics and Gynecology, The Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the value of HBV-M and HBV DNA of newborns born to HBsAg-positive mother, which were tested before combined immunization of hepatitis B. 【Method】A total of 420 infants born to HBsAg-positive mothers delivered in Obstetric Department of the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University from June 2006 to February 2008 were followed up at least 6 months and rechecked HBV-M to confirm the diagnosis of HBV intrauterine infection, which included 33 HBsAg or HBV DNA positive newborn babies and 6 newborns with both HBsAg seropositive and HBV DNA seropositive. 【Result】HBV intrauterine infection rate was 0.95%. Using newborn both HBsAg positive and HBV DNA positive as diagnostic criterion to diagnose HBV intrauterine infection, the positive likelihood ratio was 208.3, while using newborn HBsAg positive or HBV DNA positive as diagnostic criterion, it was 14.3. 【Conclusion】Newborn both HBsAg positive and HBV DNA positive obtained before combined immunization of hepatitis B may predict HBV intrauterine infection, and it may play as a clinical index of preliminary diagnosis of HBV intrauterine infection.

Key words: hepatitis virus B; intrauterine infection; prediction

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2010, 31(1): 110-113]

既往国内以新生儿外周血乙型肝炎病毒表面抗原(Hepatitis B surface antigen, HBsAg)阳性或乙型肝炎病毒脱氧核苷酸(HBV deoxyribonucleic acids, HBV DNA)阳性作为乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)宫内感染的临床诊断标准, 近年有学者认为该诊断标准不能真实反映 HBV 宫内感

染率, 而普通接受 2001 年第二届阻断 HBV 母婴传播和乙型肝炎免疫与临床应用学术会议纪要提出 HBV 宫内感染的定义即新生儿出生时从其外周静脉采血测到乙肝病毒复制标志物的存在, 且持续阳性至少 3 个月以上, 以及尽管同样采用主被动联合免疫, 但近期无免疫效果^[1]。但是需要对

收稿日期: 2009-04-01

基金项目: 广东省自然科学基金(05001670); 广东省科技计划项目(2007B030502012)

作者介绍: 潘文涛, 医学硕士, 住院医师, E-mail: panwentao@yahoo.com; * 通信作者: 李小毛教授, 主任医师, 博士生导师, 妇产科主任, 广东省医学会围产医学分会主任委员, E-mail: tigerlee777@163.com

婴儿进行随访3个月以上,方能得到HBV宫内感染的诊断,导致诊断滞后,给HBV宫内感染的相关临床或基础研究带来极大的不便,为此,本文对我院2006年6月至2008年2月间分娩的HBsAg阳性孕妇的婴儿进行随访和回顾性分析,探讨HBsAg DNA预测HBV宫内感染的实用价值,以期寻找HBV宫内感染的初步诊断标准。阳性孕妇的新生儿乙肝联合免疫前的乙型肝炎病毒血清标志物(HBV serum markers, HBV-M)和HBV DNA预测HBV宫内感染的实用价值,以期寻找HBV宫内感染的初步诊断标准。

1 材料与方法

1.1 研究对象和方法

把2006年6月至2008年2月在中山大学附属第三医院产科分娩的临床资料完善的血清HBsAg阳性孕妇的足月新生儿451例作为研究和随访对象。采集新生儿出生24h内、乙肝主-被动联合免疫前的股静脉血检测HBV-M和HBV DNA载量。所有研究对象都接受乙肝主-被动联合免疫[即0,1,6方案($10\mu\text{g}$, $5\mu\text{g}$, $5\mu\text{g}$) + 出生6h内肌注HBIG 200 IU],在婴儿满6月龄时对其进行随访,并复查HBV-M。

1.2 诊断标准

HBV宫内感染诊断标准:根据2001年第二届阻断HBV母婴传播和乙型肝炎免疫与临床应用学术会议纪要提出HBV宫内感染的定义,即新生儿出生时从其外周静脉采血测到乙肝病毒复制标志物的存在,且持续阳性至少3个月以上,以及尽管同样采用主被动联合免疫,但近期无免疫效果^[1]。

1.3 检测方法

新生儿期、婴儿期外周血HBV-M(HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBsAb, and HBcAb)检测采用ELISA法,试剂盒购于中山生物工程有限公司,操作及结果判断,按试剂盒说明书进行。HBV DNA检测应用实时荧光定量PCR技术,试剂盒购于中山大学达安基因生物制品有限公司,操作及结果判断按试剂盒说明书进行, $< 10^3$ copies/mL为HBV DNA阴性, $\geq 10^3$ copies/mL为阳性。

1.4 统计学处理^[2]

阳性似然比 = 真阳性率/假阳性率;验前概率

(感染率) = 金标准下的感染例数/总体研究对象;验前比(感染比) = 感染者/无感染者;验后比 = 验前比 $\times$ 似然比;验后概率(诊断感染率) = 验后比/(1 + 验后比)。

2 结果

2.1 HBsAg阳性孕妇及其新生儿一般临床情况

2006年6月至2008年2月在我院足月分娩的符合入选标准的HBsAg阳性孕妇451例,33例失访,其中1例其新生儿免疫接种前HBsAg阳性,HBV DNA阴性,总失访率为7.32%。418例HBsAg阳性孕妇的新生儿共420例,其中2例为双胎妊娠,母亲年龄为(28.5 ± 3.6)岁,HBeAg阳性母亲177例,HBV DNA阳性母亲244例,其中159例病毒定量 $\geq 1.0 \times 10^6$ copies/mL,83%的高病毒复制孕妇采用人工喂养;平均孕次为1.90 ($S = 2.15$),平均产次为1.19 ($S = 0.45$);平均孕周为38.7 ($S = 3.0$)周;经阴道分娩203例,剖宫产分娩217例;男婴213例,女婴207例,平均出生体质量3.26 ($S = 1.44$) kg。

2.2 HBsAg阳性孕妇的婴儿HBV-M的随访结果

按本研究采用的HBV宫内感染的诊断标准,出生和乙肝联合免疫接种后满6月龄时HBsAg均持续阳性的婴儿4例,则HBV宫内感染率为0.95%,且这四例婴儿的母亲HBV DNA水平均大于 10^6 copies/mL,均未接受母乳喂养。420例婴儿出生24小时内免疫前、免疫完成后满6个月龄时HBV-M的变化情况如表1所示,乙肝免疫前的HBV-M以----++和---++为主,占76.42%,免疫接种完成后以-+---和-----为主,约86.67%,+-+类型在免疫前后变化较大,如表1所示。

2.3 新生儿HBV-M、HBV DNA预测宫内感染分析

420例HBsAg阳性孕妇婴儿乙肝免疫前HBsAg阳性率为5.71%,HBV DNA阳性率为3.57%,新生儿HBsAg或HBV DNA阳性率为7.86%,新生儿HBsAg和HBV DNA双阳性率为1.43%,而符合HBV宫内感染现国内公认标准的只有4例婴儿,宫内感染率为0.95%。以新生儿HBsAg阳性、新生儿HBV DNA阳性、新生儿HBsAg或HBV DNA阳性、新生儿HBsAg和HBV DNA双阳性作为HBV宫内感染的诊断指标,所得敏感性和特异

性均高于 95%,但其阳性似然比以新生儿双阳性为高,结果如表 2 所示。

表 1 420 例 HBsAg 阳性孕妇的婴儿 HBV-M 的乙肝免疫接种前后的变化情况

Table 1 Change of serum HBV-markers of infants born to HBsAg-positive mothers before and after immunization of hepatitis B

Stage	Type					n	Percent(%)
New born (N = 420)	+	-	+	-	+	17	4.04
	+	-	-	+	+	5	1.19
	-	-	-	+	+	216	51.42
	-	-	+	-	+	105	25.00
	-	-	-	-	-	28	6.67
	-	-	-	-	+	29	6.90
	-	+	-	+	+	6	1.43
	-	+	-	-	-	3	0.71
	+	-	+	+	+	1	0.24
	+	-	-	-	+	1	0.24
Other						9	2.14
6 month infant (N = 420)	+	-	+	-	+	4	0.95
	+	-	-	+	+	0	0
	-	+	-	-	-	305	72.62
	-	+	-	+	+	10	2.38
	-	+	-	-	+	35	8.33
	-	-	-	-	-	59	14.05
	-	-	-	+	+	5	1.19
Other						2	0.48

Type: HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb expression type in order.

3 讨 论

3.1 HBV 宫内感染率

由于既往国内外 HBV 宫内感染的临床诊断不统一,致使宫内感染率的报道不一,国内外临床研究对活产儿宫内感染率的报道在 5.7% ~ 44.5% 之间^[3-8]。本文 HBV 宫内感染率为 0.95%,可能是迄今报道的最低的感染率,这可能是与本文采用的新的诊断标准、及时有效的对新生儿进行的乙肝主被动联合免疫(出生 6 h 内肌注 HBIG 200 IU 和酵母重组乙肝疫苗 10 μg)、和 HBV DNA 高复制母亲绝大部分采用人工喂养有关,然而,要获得疾病的真正发病率不仅需要一个统一的认可的标准,更需要大样本一定时间的观察,才能真正反映疾病的发生率,HBV 宫内感染率也不例外,本研究中的 HBV 宫内感染率仍需要进一步的大样本长时间的临床研究以考证。

3.2 目前相对公认的 HBV 宫内感染的诊断标准

既往国内学者普遍将新生儿外周血 HBsAg 阳性或 HBV DNA 阳性作为 HBV 宫内感染的临床诊断标准。研究证明,在分娩过程中,母婴之间存在有少量的输血^[8]。在分娩过程中随着胎盘屏障的破坏和强烈宫缩,HBV 标志物(包括 HBsAg、HBeAg 和 HBV DNA 等)可随母血进入胎儿血液循环内造成 HBV 的产时传播,如果 HBsAg 阳性的母亲 HBV 复制活跃,进入胎儿体内的母体的

表 2 新生儿 HBV-M、HBV DNA 诊断宫内感染的结果分析

Table 2 Diagnostic result of HBV intrauterine infection using newborn positive HBsAg and positive HBV DNA

Diagnostic index	n	Intrauterine infection		No infection		Positive likelihood ratio
		n	True positive rate	n	False positive rate	
HBsAg ⁺	24	4	4/4=1	20	20/416 = 0.048	20.8
HBV DNA ⁺	15	4	4/4=1	11	11/416 = 0.026	37.7
HBsAg ⁺ or HBV DNA ⁺	33	4	4/4=1	29	29/416 = 0.070	14.3
HBsAg ⁺ and HBV DNA ⁺	6	4	4/4=1	2	2/416 = 0.004 8	208.3

According to the statistic result, HBV intrauterine infection rate (prior probability) was 0.95%, the possibility of HBV intrauterine infection (posterior probability) for the HBsAg- positive or HBVDNA- positive newborn was 12.1%, while that of intrauterine infection for both HBsAg- positive and HBVDNA- positive newborn was 66.7%.

HBsAg 或 HBV DNA 量多,足以被检测出,则这一部分产时传播的 HBV 就可被误诊为 HBV 宫内感染。因此,新生儿 24 h 内 HBsAg 阳性或 HBV DNA 阳性作为 HBV 宫内感染的诊断标准有欠准确性,本研究也发现该诊断标准的误诊率较高。

HBV 宫内感染理论上是指,HBV 经过胎盘传播,进入胎儿体内,侵入肝组织或已整合入胎肝细胞内,表达 HBV 复制产物。据研究^[9] HBV 宫内感染多发生在晚孕期间,而乙肝病毒侵入人体后,最早在 1 ~ 2 周,最迟在 11 ~ 12 周血中出现

HBsAg^[4]。因此足月新生儿若已发生 HBV 宫内传播并感染,新生儿的 HBsAg 应阳性,并且在这种已发生 HBV 宫内感染的婴儿,即使采用乙肝主-被动联合免疫,进入了肝细胞的病毒,基本上是不可能被清除的,而对于急性暴露于 HBV 病毒的情况,大部分刚侵入机体血液内的病毒是可被及时的联合免疫所清除的^[10],产时传播的 HBV 正是如此。对婴儿进行乙肝联合免疫可以清除产时和产后的乙肝病毒传播^[1]。因此,理论上,诊断 HBV 宫内感染,以新生儿免疫前 HBsAg 阳性作为宫内感染的临床诊断标准,假阳性率较高,而若以 2001 年第二届阻断 HBV 母婴传播和乙型肝炎免疫与临床应用学术会议纪要提出宫内 HBV 感染的定义,或以国内有学者提出以婴儿 1 月龄检测 HBsAg 阳性为宫内感染的初筛诊断,6 月龄仍为阳性为确诊标准^[11],则误诊率大大降低,比较真实地反映 HBV 宫内感染率。

但其具有一定的缺陷性,如①诊断的滞后性,使标本的分类采集、存放带来困难,标本放置时间过长,可能影响实验的准确性等等,消耗较多的人力、物力,均会给 HBV 宫内感染的相关研究,尤其是基础研究带来极大的不便。②大量婴儿的随访、诊疗、采血,增加了研究的环节,消耗过多的人力资源。③这样的诊断需要进行大量的随访工作,失访是难免的,病人的依从性很难保证,本研究的失访率达 7.32%,其中 1 例其新生儿免疫接种前 HBsAg 阳性,HBV DNA 阴性,一定程度上影响了 HBV 宫内感染率的准确性。综上所述,如果有一个新的既准确又及时的 HBV 宫内感染的临床诊断标准,就可以提高 HBV 宫内感染相关研究的效率和科学性。

3.3 本研究预测指标的科学性

在更好的临床诊断标准产生之前,本研究探讨了 HBV 宫内感染的预测指标。经过统计分析,新生儿 HBsAg 和 HBV DNA 双阳性对预测 HBV 宫内感染具有较高的诊断水平。胎儿感染乙肝病毒,因机体的免疫器官未完全成熟,处于免疫耐受阶段,正如 HBV 自然感染的最初阶段,病毒在肝细胞内复制活跃,HBsAg、HBeAg 和 HBV DNA 可大量分泌入外周血中^[12]。在本研究中,也发现 HBV 宫内感染的婴儿,HBV-M 均表现为 HBsAg、HBeAg、HBeAb 阳性,且 HBV DNA 阳性;因此新生儿 HBsAg 和 HBV DNA 双阳性作为 HBV 宫内

感染的预测指标,可以排除产时感染的可能,提高初步诊断可靠性,理论和实际而言,具有一定的合理性,可以作为 HBV 宫内感染的初步临床诊断,使相关工作者缩小研究对象,减少大量的随访工作,给 HBV 宫内感染的临床研究和基础研究带来极大的方便。本文的 HBV 宫内感染预测指标有待更大样本随访研究进一步完善与证实。

参考文献:

- [1] 朱启镨. 第二届阻断 HBV 母婴传播和乙型肝炎疫苗与临床应用学术会议纪要 [J]. 中华传染病杂志, 2002, 20(4): 259-260.
- [2] 王建华. 流行病学. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 31, 160-161.
- [3] 张平, 李伟. 孕前抗病毒治疗阻断乙型肝炎病毒垂直传播的作用 [J]. 中华传染病杂志, 2004, 22(5): 345-346.
- [4] 彭文伟. 传染病学 [M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 22-29.
- [5] Ngui SL, O'Connell S, Eglin RP, et al. Low detection rate and maternal provenance of hepatitis B virus S gene mutants in cases of failed postnatal immunoprophylaxis in England and Wales [J]. Infect Dis, 1997, 176(5): 1360-1365.
- [6] Zhang SL, Yue YF, Bai GQ, et al. Mechanism of intrauterine infection of hepatitis B virus [J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(3): 437-438.
- [7] Xu DZ, Yan YP, Choi BC, et al. Risk factors and mechanism of transplacental transmission of hepatitis B virus: a case-control study [J]. J Med Virol, 2002, 67(1): 20-26.
- [8] Chen WH, Yin CS, Chang YK, et al. Neonatal gastric aspirates as a predictor of perinatal hepatitis B virus infections [J]. Int J Gynaecol Obstet, 1998, 60(1): 15-21.
- [9] Xu DZ, Yan YP, Zou S, et al. Role of placental tissues in the intrauterine transmission of hepatitis B virus [J]. Am J Obstet Gynecol, 2001, 185(4): 981-987.
- [10] 骆抗先. 乙型肝炎基础和临床 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 233-235.
- [11] 郇爱贞, 肖小敏. 乙肝病毒宫内感染临床诊断标准的探讨 [J]. 中国妇幼保健, 2007, 22(4): 475-476.
- [12] Chang MH. Hepatitis B virus infection [J]. Semin Fetal Neonatal Med, 2007, 12(3): 160-167.

(编辑 张恩健)