

· 论 著 ·

HBsAg ELISA—/NAT+ 的 HBV 血清学模式和病毒变异分析

杨华军, 甘业美

(松桃苗族自治县人民医院, 贵州铜仁 554100)

摘要:目的 结合乙型肝炎病毒核酸(HBV DNA)的检测结果,分析血清标本血清学模拟及 DNA 序列,了解 HBV DNA 以及 HBsAg 血型模式之间的关系。**方法** 选自该院 54 例血液标本作为本研究对象;对标本行 HBV DNA 提取、PCR 扩增处理、PCR 产物纯化、DNA 测序、HBV 基因分型和序列分析,并运用生物信息学软件对测序结果进行分析处理,对比分析基因突变情况。**结果** PCR 扩增结果,54 例标本中 40 例表现为非常显著的 PCR 扩增不佳,14 例标本 PCR 产物电泳均能够观察到 1 400 bp 特异性条带;22 例为 HBsAg ELISA 阳性,14 例为隐匿性 HBV 阳性,PCR 扩增阳性行基因型检测,B 型基因在 HBsAg ELISA 中占 81.82%,C 型基因在隐匿性 HBV 阳性中比例为 78.57%,差异具有统计学意义($P<0.05$);14 株隐匿性 HBV 基因中,6 例在 S 区区域内发生基因序列点突变,其中 2 例在 1 个碱基点出现突变,另 3 例在 2 个位点的碱基点出现突变;3 例 HBV 基因 C 型感染者出现基因点突变,2 例 B 基因型感染者出现基因点突变;5 例标本在 9 个位点部位的“a”决定簇内碱基点出现突变,A-C 的突变较多。**结论** 血液筛查中,检测显示为 HBsAg 的阴性合格血液,仍可能有隐匿性乙肝感染和窗口期漏检,其病毒株主要为 C 型,且有变异株,B 型病毒株相对较少,但突变株相对较高,可能逃避现有筛查试剂。

关键词:乙型肝炎病毒; 血清学模式; 病毒变异

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.18.025

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)18-2569-05

Analysis of HBV serological pattern and virus variation in HBsAg ELISA—/NAT+

YANG Huajun, GAN Yemei

(Songtao Miao Autonomous County People's Hospital, Tongren, Guizhou 554100, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between HBV DNA and HBsAg blood group model by analyzing the serological and DNA sequences of serum samples. **Methods** Blood samples from 54 patients were selected from this hospital,collecting blood samples;on the HBV DNA extraction,PCR amplification,purification of PCR products,DNA sequencing,HBV gene analysis and sequence,and the use of bioinformatics software. The results were analyzed and compared the gene mutation. **Results** The results of PCR amplification,54 specimens in 40 cases showed significant PCR was poor,14 specimens were able to observe the electrophoresis of PCR amplified 1 400 bp specific band;22 cases were HBsAg ELISA positive,14 cases of occult HBV positive,PCR positive amplification for genotype,B genotype accounted for in 81.82% HBsAg ELISA,C gene in occult HBV positive accounted for 78.57% ($P<0.05$);occult HBV gene of 14 strains,6 cases in the S area of the area occurred in the gene sequence of point mutations,including 2 cases in 1 base point mutations,the other 3 cases of base point in 2 sites the emergence of mutation;3 cases of HBV genotype C infected gene point mutation,2 cases of genotype B infected gene point mutation;5 cases were in the 9 site of the "a" family decided to base mutation,A-C mutation. **Conclusion** Blood screening,detection showed HBsAg negative blood qualified,may still have occult HBV infection and missed the window period,were mainly C type,B type and mutant strain is relatively less,but the mutant is relatively high,may escape the existing screening reagent.

Key words: hepatitis B virus; serological pattern; virus variation

在临床治疗中,输血是一种疗效显著,并且相对较为特殊的治疗方式,其在挽救生命上具有非常重要的作用。但同时血液也是疾病传播的最主要的途径,使得不少输血者的健康因此遭受到威胁,特别是以乙型肝炎(以下简称“乙肝”)病毒(HBV)为代表的一系列疾病,极易因输血而发生疾病传播。为此,为输血中,对 HBV 进行检测具有非常重要意义。但因其普遍表现为隐匿性感染,而引起隐匿性感染的原因又非常普遍。为此,其主要处在的“a”的表位,是最主要的免疫优势表位,与此同时,也属于乙型肝炎表面抗原(HBsAg)检测最主要的靶点,而在发生漏检问题时,也与 HBsAg 的突变有着非常密切的关系。已有大量研究证实,HBsAg 抗原活性出现改变主要是“a”表位及其周边主要亲水区域 MHR_{aa100-160} 氨基酸突变所致^[1]。但因“a”表位本身也属于乙肝疫苗最主要的保护性表位和乙肝疫苗球蛋白靶点,“a”表位突变株的流行特点本身就会伴随着乙肝诊断试剂以及疫苗的变化而出现非常明

显的下降,故通过探讨 HBsAg “a”表位是当前研究的热点和重点^[2]。HBV 是一种噬肝 DNA 病毒,它出现突变的概率较一般 DNA 病毒更高。由于 HBV 基因发生变异,在对其检测上,无论是免疫学还是分子生物学的敏感性均受到了较大的挑战^[3]。当前,在对献血人员 HBV 进行筛查的过程中,主要对 HBsAg 进行检测。为了更好地掌握我国献血人员 HBV 筛查体系下无偿献血人员中 HBsAg 突变株及隐匿性 HBV 感染情况,本研究拟运用 HBsAg ELISA—结合 HBV 核酸(NAT+)的检测结果,对血清标本进行血清学模拟以及 DNA 序列分析,从而有效掌握 HBV DNA 以及 HBsAg 血型模式之间的关系,期望基于此对血液 HBV 筛查方法进行改进,降低其漏检率。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 试剂 HBsAg 电化学发光分析试剂与 NAT 试剂(罗氏诊断),HBsAg ELISA 检测试剂(美国雅培),PCR 引物,测

序试剂(ABI 公司),DNA 胶回收试剂盒(TaKaRa),病毒核酸提取试剂盒(QIAGEN)等。

1.1.2 仪器 全自动酶免疫分析系统(瑞士 Hamilton),全自动加样仪(贝克曼 Biomek 4000),全自动混样仪(洛阳惠尔纳米科技有限公司),核酸提取仪(贝克曼 Biomek),核酸扩增检测仪(罗氏诊断),全自动免疫电化学发光分析仪(瑞士万通),实时定量 PCR 仪(北京鼎国昌盛生物技术),电子天平(上海精科)等。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 从本血液中心 2015 年 1 月至 2016 年 12 月共采集到无偿献血血样标本 53 217 份中随机选取 54 例用于本研究。所有标本均放置在 2~8℃ 冰箱中进行保存备用,采血后 4 h 内,1 500 r/min,室温,离心 20 min,分离出血浆,置 2~8℃ 保存,48 h 内完成 ELISA、NAT 检测。

1.2.2 HBV DNA 提取 运用病毒核酸提取试剂盒行病毒 DNA 的提取,操作方法:取 200 μL 血清、25 μL QIAGEN 蛋白酶、200 μL 缓冲液 A1 置于离心管内,行 15 s 充分震荡;56℃ 下孵育 15 min;短暂离心,将管盖上方的液滴去除;加入无水乙醇,震荡,室温下放置 5 min;短暂离心,将管盖上方的液滴去除;取溶解物加入柱子中,注意避免沾湿边缘,盖上管盖,离心处理,抛弃含有溶液的收集管,继续重复 3 次;取柱子置于离心管内,离心处理,保证膜能够充分干燥,重复 1 次;取柱子,抛弃含有溶液的收集管,将柱子盖子打开,将灭菌蒸馏水在膜中心,盖上管盖,在室温下放置 5 min,离心处理;提取 DNA 放置在一 20℃ 下备用。

1.2.3 PCR 扩增 (1)引物:HBSSER,CCT TGT AAG TTG GCG AGA A;HBSSWF,AAC ATC AGG ATT CCT AGG AC;HBSS-R,ACG TTT GGT TTT ATT AGG GTT C;HBSS-F,TTC ATC CTG CTG CTA TGC C。理论上来说,扩增产物包括 HBV pre-S 以及 S 区基因。(2)扩增:在 PCR 扩增仪上行 PCR 扩增。提取模板,经预变性、变性、退火、延伸反复 40 次循环;各轮 PCR 分别设置阴阳性对照组,阳性对照为不同拷贝数的 HBV 标准质粒;通过琼海糖凝胶电泳对 PCR 产物进行观察。最后行纯化处理。

1.2.4 DNA 测序与序列分析 (1)克隆:针对纯化处理后产物,直接行 PCR 产物测序,以便及时发现潜在的缺失突变和点突变。各标本分别选取 3 个克隆来实现测序;(2)质粒抽提:在首次运用 TKATRA MiniBEST Plasmid Purification Kit 时,需将 RNase A I 混浊液均加入到 Solution I 内,在充分混合之后,放置于 4℃ 条件下保存。(3)DNA 测序:运用全自动 DNA 测序仪,通过测序反应试剂盒进行双相测序。

1.2.5 NAT 检测 采用合并检测方式进行,选择 ELISA 测定 HBsAg 阴性、抗 HCV Ab 阴性、抗 HIV Ab 阴性的样品以及仅 1 种试剂为阴性的标本进行 3 种病原体核酸的检测。初期检测方式为合并检测(6 个样本混合)。采用 Roche Cobas S201 全自动核酸提取、扩增检测系统对标本进行检测:每个一级混样池(pool)包含 6 个纳入核酸检测的无偿献血者标本,全自动混样仪加样;一级混样池标本在全自动核酸提取仪中应用磁珠分离技术原理提取核酸,核酸扩增检测仪扩增检测序列,在服务器(Roche Cobas S201 系统服务器)中自动判读结果。每批检测均设置 1 个阴性质控和 5 个阳性质控(HBV/HCV/HCV-1-0/HIV-1M/HIV-2),每个一级混样池均含内对照(IC)。全自动核酸提取、扩增检测系统检出的反应性一级混样池拆分为 6 个组,组成该一级混样池的原始标本做单标本检测,单标本检测反应性判定为 NAT 反应性,单标本检测非反

应性判定为 NAT 非反应性。当合并检测汇集池样品中 HBV DNA、HCV RNA、HIV RNA 任何 1 项为反应性时,对该汇集池样品再进行拆分检测,挑选出对应的单份反应性样品。合并检测方式同时需满足单份样品临床检测的敏感性要求。

1.3 统计学处理 (1)PCR:对扩增阳性 PCR 产物序列进行进化分析和测定,明确 HBV 基因型;结合 PCR 产物片段长度的大小,对电泳条带区域分布的基因亚型和基因型进行观察,同时将测序的结构放置到 NCBI 内进行结果对比。采用生物信息学软件 MECA4、ContigExpress 分析测序结果。并对各基因型及基因片段序列以 Blast 完成同源列队,对基因突变情况进行对比。(2)NAT 评价:采用国家卫生和计划生育年龄临检中心和国际血筛标准品对检测结果的有效性进行评估。(3)所有数据采用 SPSS22.0 统计软件分析,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HBV pre-S/S 基因 PCR 扩增结果 根据 PCR 扩增结果来看,54 例标本中 40 例表现为非常显著的 PCR 扩增不佳,只有 14 例标本 PCR 产物电泳均能够观察到 1 400 bp 特异性条带,大多数的标本扩增产物量都非常的小,其特异性条带也相对较弱。见图 1。

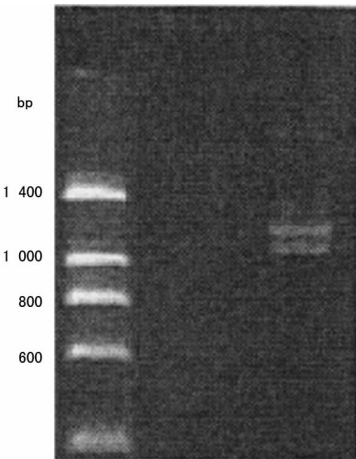
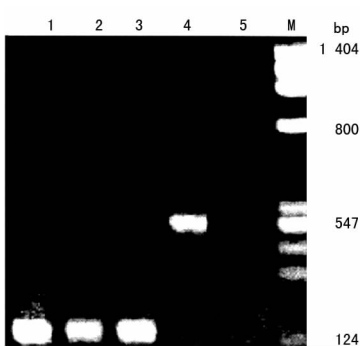


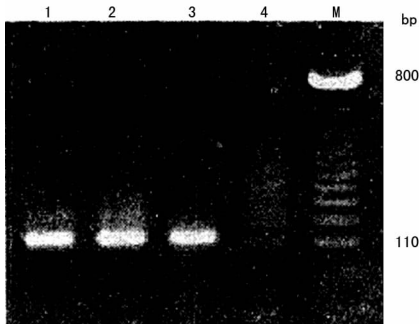
图 1 pre-S/S 基因扩增产物凝胶电泳

2.2 无偿献血者中隐匿性 HBV 感染情况及基因型 以参考序列作为参照,对 HBV S 基因 DNA 进行测序,两者结果差异 $<4\%$ 的标准确定基因型,结果见图 2~4。其中 22 例为 HBsAg ELISA 阳性,14 例为隐匿性 HBV 阳性;运用 PCR 扩增阳性行基因型检测,结果显示,B 型基因在 HBsAg ELISA 中所占比例较高,为 81.82%,而 C 型基因在隐匿性 HBV 阳性中所占比例较高,为 78.57%,且差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。



注:M 为 DNA 标记物;1~3 为 C 基因型;4 为 B 基因型;5 为 PCR 阴性对照。

图 2 HBV 基因分析 PCR 结果



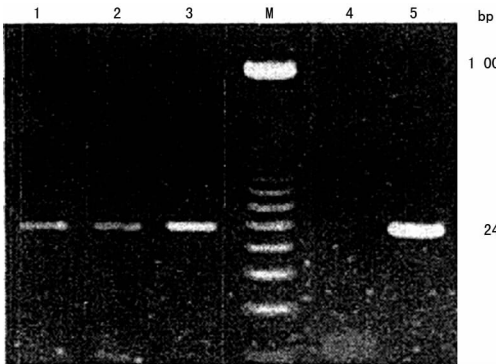
注:M 为 DNA 标记物;1~3 为 Ba 基因型,110 bp;4 为阴性对照。

图 3 B 基因亚型电泳图

2.3 隐匿性 HBV 感染者表面抗原 S 区基因突变情况 14 株隐匿性 HBV 基因中,3 株 B 基因型,11 株 C 基因型,其中 6 例在 S 区区域内发生基因序列点突变,其中 2 例在 1 个碱基点出现突变,另 3 例在 2 个位点的碱基点出现突变。11 例 HBV 基因 C 型感染者中,出现了 3 例基因点突变,另 2 例则均为 B 基因型感染者,且均为基因突变株。见表 2。

2.4 HBV S 基因“a”决定簇内点突变情况 14 例 HBsAg ELISA-/NAT+ 标本测序结果显示,其在“a”决定簇内点突变相对较多,共有 5 例标本在 9 个位点部位的“a”决定簇内碱

基点出现突变,见表 3。根据突变统计情况来看,A-C 的突变较多。经过克隆测序结果显示,出现突变的标本中基本上均存在多个野生型或突变株以及突变株混合感染。



注:M 为 DNA 标记物;1~3 为 C2 基因型,240 bp;4 为阴性对照;5 为 C2 基因型,240 bp。

图 4 C 基因亚型电泳图

表 1 隐匿性 HBV 基因型分析[n(%)]

方法	B 基因型	C 基因型	总计
HBsAg ELISA 阳性	18(81.82)	4(18.18)	22(100.00)
NAT 阳性	3(21.43)	11(78.57)	14(100.00)

表 2 HBV 表面抗原 S 区基因突变分析(n=5)

样本序号	基因型	基因序列	突变位点
14	C	TCC CCA ACC TCC AAT CAC TCA CCA ACC TCT TGT CCT CCA ATT TGT CCT GGC TAT CGT TGG ATG TGT CTG CGG CGT TTT ATC ATA TTC CTC TTC ATC CTG CTG CTA TGC CTC ATC TTC TTG TTG GTT CTT CTG GAC TAC CAC GGT ATG TTG CCC GTT TGT CCT CTA CTT CCA GGA ACA TCA ACT ACC AGC ACG GGA CCA TGC AAG ACC TGC ACG ATT CCT GCT CAC GGA ACC TCT ATG TTT CCC TCT TGT TGC TGT ACA AAA CCT TCG GAC GGA AAC TGC ACT TGT ATT CCC ATC CCA TCA TCC TGG GCT TTC GCA AGA TTC CTA TGG GAG TGG GCC TCA GTC CGT TTC TCC TGG CTC AGT TTA CTA GTG CCA TTT GT	304A-C,387A-C
		TCC AGG AAC ATC AAC TAC CAG CAA GGG ACC ATG CAA GAC CTG CAC GAC TCC TGC TCA AGG CAC CTC TAT GTT TCC CTC TTG TTG CTG TAC AAA ACC TTC GGA CGG AAA CTG CAC TTG TAT TCC CAT CCC ATC ATC TTG GGC TTT CGC AAG ATT CCT ATG GGA GTG GGC CTC AGT CCG TTT CTC CTG GCT CAG TTT ACT AGT GCC ATT TGT TCA GTG GTT CGT AGG GCT TTC CCC CAC TGT TTG GCT TTC AGT TAT ATG GAT GAT GTG GTA TTG GGG GCC AAG TCT GTA CAA CAT CTT GAG TCC CTT TTT ACC TCT ATT ACC AAT TTT CTT T	
20	C	CCC AAA TCT CCA GTC ACT CAC CAA CCT GTT GTC CAC CAA TTT GTC CTG GTT ATC GCT GGA TGT GTC TGC GGC GTT TTA TCA TCT TCC TCT GCA TCC TGC TGC TAT GCC TCA TCT TCT TAT TGG TTC TTC TGG ACT ATC AAG GTA TGT TGC CCG TTT GTC CTC TAA TTC CAG GAT CAT CAA CAA CCA GCA CCG GAC CAT GCA AAA CCT GCA CGA CTC CTG CTC AAG GAA CCT CTA TGT TTC CCT CAT GTT GCT GTA CAA AAC CTA CGG ACG GAA ACT GCA CCT GTA TTC CCA TCC CAT CAT CTT GGG CTT TCG CAA AAT ACC TAT GGG AGT GGG CCT CAG TCC GTT TCT CTT GGC TCA GTT TAC TAG TGC CAT TTG T	387A-C
28	B	AAC CTC CAA TCA CTC ACC AAC CTC TTG TCC TCC AAT TTG TCC TGG CTA TCG CTG GAT GTG TCT GCG GCG TTT TAT CAT ATT CCT CTT CAT CCT GCT GCT ATG CCT CAT CTT CTT GTT GGT TCT TCT GGA CTA CCA AGG TAT GTT GCC CGT TTG TCC TCT ACT TCC AGG AAC CTC AAC TAC CAG CAC GGG ACC ATG CAA GAC CTG CAC GAG TCC TGC TCA AGG AAA CTC TAC GTT TCC CTC TTG TTG CTG TAC AAA ACC TTC GGA CGG AAA CTG CAC TTG TAT TCC CAT CCC ATC ATC CTG GGC TTT CGC AAG ATT CCT ATG GGA GTG GGC CTC AGT CCG TTT CTC CTG GCT CAG TTT ACT AGT GCC ATT TGT TCA G	352T-A,436G-A
35	C		458A-C

续表 2 HBV 表面抗原 S 区基因突变分析 (n=5)

样本序号	基因型	基因序列	突变位点
40	B	AAA TCT CCA GTC ACT CAC CAA CCT GCT GTC CTC CAA TTT GTC CTG GTT ATC GCT GGA TGT GTC TGC GGC GTT CTA TCA TCT TCC TCT GCA TCC TGC TGC TAT GCC TCA TCT TCT TGT TGG TTC TTC TGG ACT ATC AAG GTA TGT TGC CCG TTT GTC CTC TAA TTC CAG GAT CAT CAA CAA CCA GCA CCG GAC CAT GCA AAA CCT GCA CGA CTC CTG CTC AAG GAA CCT CTA TGT TTC CCT CAT GTT GCT GTA CAA AAC CTA CGG ACG GAA ACT GCA CCT GTA TTC CCA TCC CAT CAT CTT GGG CTT TCG CAA AAT CCC TAT GGG AGT GGG CCT CAG TCC GTT TCT CTT GGC TCA GTT TAC TAG TGC CAT TTG TTC AG	339T-C,482A-C

表 3 HBV DNA 基因类型及碱基突变位点

样本序号	基因型	“a”决定簇
14	C	304A-C,387A-C
20	C	387A-C
28	B	352T-A,436G-A
35	C	458A-C
40	B	339T-C,482A-C

3 讨 论

世界卫生组织统计数据显示,目前全球有 4 亿人感染肝炎病毒,数量是艾滋病病毒感染者的 10 倍,每年约有 100 万人因此而死亡^[4]。中国为 HBV 高感染地区,大约有 1.2 亿人携带有 HBV。到目前为止,临床仍然以检测 HBV 抗原抗体为主,特别是通过 HBsAg 检测来实现对 HBV 感染状况的确定,极少对 HBV 核酸检测进行关注^[5]。根据原卫生部相关要求,血站针对献血者血样均必须通过 ELISA 来进行抗-HCV、HBsAg 以及抗-HIV 的二次筛查,促使经血液途径传播的病毒感染率能够得到极大程度的控制^[6]。但 ELISA 的筛查主要是对针对相应病毒的抗体或者抗原,故变异病毒、“窗口期”标本以及隐匿性 HBV 等就非常容易出现漏检^[7]。

因隐匿性 HBV 以及窗口期标本感染者献血而致使受血者感染的报道早有出现。Shi 等^[8]在研究中对 1 例接受了 HBsAg-/HBV DNA+ 的受血者的情况进行报道,该例患者在受血 12 个月窗口期就发展成为了非常典型的 HBV 感染者。另有研究者通过对 16 320 例 HBsAg 筛查阴性的无偿献血患者行血浆检测,结果发现,其中仍然有 8 例 HBV DNA 阳性的献血标本^[9]。相关学者通过对 5 例隐匿性 HBV 患者进行研究,结果显示,其中 1 例 HBsAg“a”决定簇基因出现变异,3 例 HBsAg“a”决定簇基因无明显变化,但“a”决定簇之外还存在诸多位点变异,1 例 S 基因第 74 位密码子出现使得变异终止,并致使 HBsAg 表现为表达缺陷,故其认为 HBV 隐匿性感染的最主要原因应当归属于 S 基因变异^[10]。

本研究通过核酸对无偿献血血浆标本进行检测,54 例标本 HBV 血清学检测均显示为阴性,通过多区段巢式 PCR 检测对核酸检测阳性标本进行基因分型及测序,其中 14 例成功测序。另选取了 22 例 HBsAg 阳性感染患者来进行对比,结果显示,C 型基因在隐匿性 HBV 阳性中所占比例达到了 78.57%,明显比 B 型基因更高(P<0.05)。通过对 14 例 HBsAg-/HBV DNA+ 献血者血液 HBV DNA S 区“a”表位的基因测序,结果显示,5 个基因点表现为突变,3 例 HBV 基因 C 型感染者出现基因点突变,2 例 B 基因型感染者出现基因点突变。

有研究者发现,隐匿性感染与 pre-S/S 突变存在相关性,而异常血清学诊断模式与 pre-S/S 突变相关,故其认为隐匿性感染可能与体液、细胞免疫压力有关^[11]。pre-S/S 缺失突变受到多个功能位点的影响,但由于 pre-S/S 起密码子突变的过程中,其会同时致使蛋白翻译随之发生相应的改变,从而导致 pre-S/S 区的多个功能位点因此随之受到不同程度的影响^[12]。而在“a”决定簇发生改变时,其含有的氨基酸也会出现相应的改变,从而使得构象也因此出现相应的变化,致使病毒合成、分泌随之受到相应程度的影响,最终使其对中和性抗体的吸附能力也发生改变。而这些变化均会导致其在面对 HBsAg 试剂筛查时出现漏诊^[13]。本研究中,5 个标本中就出现了 3 例表现为多重突变,并从多个方面对 HBsAg 免疫学检测带来影响。

综上所述,通过对比 HBsAg 阳性 HBV 以及隐匿性 HBV 基因,证实了在隐匿性 HBV 中 C 基因型频率较高,而 HBsAg 阳性 HBV 则主要为 B 基因型。故隐匿性 HBV 主要是 C 基因型所致,但 B 基因型更容易引起隐匿性 HBV 出现变异株,故下一步应当加强相关检测试剂的研发,期望能够尽快提高无偿献血的筛查准确性。

参考文献

[1] 邓雪莲,安万新,梁晓华,等. 大连市血液中心血清学检测与核酸检测并行的效果观察[J]. 中国输血杂志,2012,25(1):38-40.

[2] 黄其俊,吴坚敏. 乙型肝炎 HBsAg、HBsAb 共存的血清学模式与 HBV DNA 相关性探讨[J]. 放射免疫学杂志,2011,18(5):597-598.

[3] 周怡,蒋靓,王凯,等. HBsAg 阴性 HBV DNA 阳性无偿献血者的血清学模式及其相关特征研究[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2017,30(1):86-89.

[4] 钟毓红,戴宇,张松照. 杭州地区体检人群乙型肝炎病毒血清学标志物分布特征[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2015,28(3):489-492.

[5] 肖春梅,贺岩,何瑞芬,等. HBV 血清学标志物特殊组合模式与 HBV-DNA 检测结果分析[J]. 宁夏医科大学学报,2014,36(10):1118-1120.

[6] 古醒辉,叶贤林,杜鹏,等. 深圳市无偿献血人群 HBsAg 筛查阳性的血清学特性检测分析[J]. 中国输血杂志,2014,27(4):375-378.

[7] 黄国珍. HBV 感染者 HBsAg 阳性的血清学标志物少见模式与 HBV-DNA、肝功能的相关性[J]. 中国医药导刊,2014,15(4):720-721.

[8] Shi Y, Wei F, Hu D, et al. Mutations in the major hydrophilic region(MHR) of hepatitis B virus(下转第 2575 页)

增强作用,通过细胞免疫机制促进细胞毒细胞的增殖,发挥细胞免疫^[8]。Th2 细胞主要功能为分泌 IL-4、IL-6、IL-10,对 B 淋巴细胞分化、增殖形成抗体具有明显的促进作用^[9]。CD8⁺能够分化为细胞毒性 T 淋巴细胞以及抑制性 T 淋巴细胞,前者通过分泌颗粒酶、淋巴毒素、穿孔素起到对靶细胞的杀伤作用,能够对 T 淋巴细胞因子的分泌起到抑制作用,进而抑制免疫应答^[10]。T 淋巴细胞亚群中 CD4⁺、CD8⁺之间互相制约调节机体的免疫应答,两者的平衡对机体正常免疫功能的维持具有十分重要的意义。CD19⁺作为机体重要的免疫因子,能够直接反映机体免疫水平,当 CD19⁺降低时表明机体免疫功能低下^[11]。研究结果显示,观察组 CD4⁺/CD8⁺ 升高,CD4⁺、CD8⁺平衡被打破,CD19⁺降低,提示新生儿免疫力低下。CD3⁺的升高表明机体受到的感染较强,也提示围产期产妇感染乙肝病毒的新生儿发生感染程度较高。

IgA、IgG、IgM 测定是检查体液免疫功能最常用的方法。通常检测这 3 类免疫球蛋白就可代表全身血清免疫球蛋白水平^[12]。B 淋巴细胞系机体免疫球蛋白的主要来源,在种类众多的免疫球蛋白中,唯有 IgG 具有通过胎盘的能力^[13]。孕妇体内 IgG 水平与脐带血的 IgG 水平基本保持一致。胎儿体内最先出现的血清免疫球蛋白是 IgM,机体无抗原刺激时,血清中分布较少,IgA 是机体黏膜局部抗感染免疫的主要抗体,其水平升高也能提示机体受到抗原侵袭^[14]。本研究结果表明,观察组 IgM、IgA 水平显著高于对照组,提示围产期产妇感染乙肝病毒的新生儿发生感染的可能性极大。同时,观察组新生儿存活率为 96.36%,低于对照组(100.00%),但差异无统计学意义($P>0.05$);观察组乙肝感染率、肺部感染率、黄疸发生率均显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);表明围产期产妇感染乙肝病毒对新生儿的免疫系统造成了重大影响^[15]。

综上所述,围产期产妇感染乙肝病毒能显著升高 IgA、IgG 水平,提高 CD3⁺、CD4⁺比例、降低 CD19⁺比例,影响新生儿免疫功能,更易受到病毒感染。

参考文献

- [1] 陈丽霞,傅晓冬,范雪梅,等.围产期乙型肝炎感染产妇脐带血中免疫因子及新生儿免疫状态相关性研究[J].中华医院感染学杂志,2016,26(24):5686-5688.
- [2] 马文霞,卢艳辉,郭卫平,等.围产期乙肝病毒感染对脐血免疫功能影响的研究[J].河北医药,2012,34(7):1050-1051.
- [3] genotype C in North China[J]. J Med Virol, 2012, 84 (12):1901-1906.
- [9] 刘丽,杨忠思,许雷. HBsAg 阴性 HBV DNA 阳性的无偿献血者血清学模式及其意义[J]. 中国输血杂志, 2013, 25 (1): 49-50.
- [10] Kitab B, El Feydi AE, Afifi R, et al. Hepatitis B genotypes/subgenotypes and MHR variants among Moroccan chronic carriers[J]. J Infect, 2011, 63(1):66-75.
- [11] González R, Torres P, Castro E, et al. Efficacy of hepatitis B virus(HBV) DNA screening and characterization of a-

- [3] 马文霞,郭卫平,卢艳辉,等.围产期孕母感染状态与脐带血中免疫因子及新生儿免疫状态的关系[J].河北医药, 2012, 34(8):1154-1155.
- [4] 黄晨艳,刘辉,董娟,等.围产期母血与脐血乙肝标志物及 DNA 载量关联性研究[J].中华实验和临床病毒学杂志, 2012, 26(5):324-327.
- [5] 施素娟,孙建利,祝志娟.围产期感染及分娩方式与胎龄对新生儿免疫功能的影响研究[J].中华医院感染学杂志, 2015, 25(9):2133-2135.
- [6] 张展,闫欢,徐灵敏.母血、脐血、新生儿外周血中 sCD14、MMP-8 和 sTREM-1 表达水平与孕妇胎膜早破及新生儿围产期感染的相关性[J].中国妇幼保健, 2016, 31(1): 153-156.
- [7] 黄晨艳,方有兵,蔡娟,等.围生期产妇血清、乳汁、唾液乙肝病毒标志物间的关联性[J].中国妇幼保健, 2011, 26 (26):4081-4084.
- [8] 陈迎良,陈玲.妊娠合并乙型肝炎病毒感染孕妇及新生儿围产期的护理[J].河北医学, 2008, 14(11):1353-1355.
- [9] 张丽娟.乙型肝炎病毒感染对妊娠期肝内胆汁淤积症患者围产期母婴状况的影响[J].实用临床医药杂志, 2016, 20(11):80-82.
- [10] 周明芳,李晔,王伊龙.妊娠期 ICP 患者合并 HBV 感染对妊娠结局的影响[J].临床和实验医学杂志, 2014, 13 (21):1762-1764.
- [11] 杨敏,刘映霞.慢性乙型肝炎母婴传播的影响因素新进展[J/CD].中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2016, 10 (3):265-268.
- [12] 王芬芳,杨坤祥,钟泽艳.围产期孕妇及新生儿 B 群链球菌感染类型及耐药性分析[J].中国卫生检验杂志, 2016, 26(23):3469-3470.
- [13] 杨莉,吴建瑜,倪仁芳,等. HIV 感染孕产妇围产期个案管理实践[J].中国护理管理, 2016, 16(3):419-421.
- [14] 马丹娟,邓文喻,黄瑞玉,等.围产期孕产妇生殖道感染菌群分布及 B 族链球菌的定植分析[J].中国妇幼保健, 2016, 31(3):565-567.
- [15] 鲍丽雅,朱双,谢渊. HBsAg 阳性产妇血清 HBV-DNA 水平与新生儿 HBV 感染的关系[J].贵阳医学院学报, 2016, 41(9):1061-1063.

(收稿日期:2017-03-07 修回日期:2017-05-06)

(上接第 2572 页)

- cute and occult HBV infections among blood donors from Madrid, Spain[J]. Transfusion, 2010, 50(1):221-230.
- [12] 徐飞,牛文彦,何艳群,等. HBV 感染者 HBsAg 和 HBsAb 同时阳性的血清学异常模式的研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2014, 7(1):50-53.
- [13] 马清峰,熊亮,曾雅莉,等.乙型肝炎血清学标志物的不同模式与前 S1 抗原的相关性研究[J].中华医院感染学杂志, 2013, 23(11):2533-2535.

(收稿日期:2017-02-15 修回日期:2017-05-01)