· 调查报告与分析 ·

云南 HBsAg 阳性孕产妇生产婴儿免疫应答及感染状况分析

康文玉[1], 王锋[2], 李琼芬[1], 张丽芬[1], 许琳[1], 田子颖[1], 沈立萍[2]

摘　要: 目的　了解云南省乙肝表面抗原(HBsAg)阳性孕产妇所生婴儿在实施母婴阻断后的免疫应答及乙肝感染状况。**方法**　筛查出全云南省 2011 年 1—6 月入院分娩的 HBsAg 阳性孕产妇, 实施母婴阻断后以其所生婴儿为调查对象, 于 7—12 月龄采集静脉血 2 mL, 分离出血清标本先统一采用 ELISA 法做乙肝血清学 5 项指标检测, 筛选出 HBsAg 阳性的标本采用荧光定量 PCR 法进行乙肝病毒载量(HBV DNA)检测, 筛选出 HBsAg 阴性且乙肝表面抗体(anti-HBs, 抗 – HBs)阳性的标本采用化学发光法做抗 – HBs 定量检测。**结果**　共收集到调查对象 3 026 人, 母婴阻断实施后免疫应答率为 92.43%, 有效免疫应答率为 80.04%; 低、无免疫应答者占 16.09%; 母婴阻断失败率为 3.87%。本次调查共检出 10 种乙肝血清标志物组合模式, 检出率最高为模式 6, 占 74.62%; 其次为模式 5, 占 14.44%; 再次为模式 7, 占 3.70%; 模式 4 占 3.37%。母婴阻断失败组中, HBV DAN 含量 $>5\times10^7$ IU/mL 占 45.30%; $500\sim5\times10^7$ IU/mL 占 39.32%; <500 IU/mL 占 15.38%; HBeAg 阳性率为 79.49%。产生免疫应答组检出 3 种血清组合模式, 乙肝病毒 e 抗体(anti-HBe, 抗 – HBe)阳性率为 3.79%, 乙肝病毒核心抗体(anti-HBc, 抗 – HBc)阳性率为 23.20%。定量检测抗 – HBs, 抗体水平 >1 000 mIU/mL 的高免疫应答者占 66.93%, 抗体水平在 100 ~ 1 000 mIU/mL 的中免疫应答者占 19.66%, 抗体水平在 10 ~ 100 mIU/mL 的低免疫应答者占 13.41%。经统计分析, 产生免疫应答抗 – HBs 的抗体水平高低与婴儿体内是否携带抗 – HBe、抗 – HBc 及性别无关。**结论**　对 HBsAg 阳性孕产妇所生婴儿实施母婴阻断, 并建立健全产后对婴儿追踪机制, 对预防和控制婴儿感染乙肝起关键作用。

关键词: 乙肝病毒; 母婴阻断; 婴儿; 感染状况; 免疫应答

中图分类号: R 373.2+1　**文献标志码**: A　**文章编号**: 1001-0580(2017)12-1735-04　DOI: 10.11847/zgggws2017-33-12-16

Hepatitis B virus infection and immune response among infants born to HBV surface antigen positive mothers in Yunnan province

KANG Wen-yu*, WANG Feng, LI Qiong-fen, et al (* *Department of Planned Immunization, Yunnan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Kunming, Yunnan Province* 650022, China)

Abstract: Objective　To examine the infection prevalence of and immune response to hepatitis B virus (HBV) among infants born to HBV surface antigen (HBsAg) positive mothers in Yunnan province. **Methods**　The HBsAg positive women were screened out from all pregnant women hospitalized for their delivery in Yunnan province between January through June 2011; then procedures for the prevention of mother-to-infant transmission (PMTCT) were implemented among the participants and their newborns. The venous blood specimens (2 milliliters for each) were collected from the participants' infants aged 7 – 12 months and detected for HBsAg, antibody to HB surface antigen (anti-HBs), hepatitis B e antigen (HBeAg), antibody to HB e antigen (anti-HBe), and antibody to HB core antigen (anti-HBc) with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The specimens positive to HBsAg were further quantified for HBV-DNA with PCR-fluorescent probing and those negative to HBsAg but positive to anti-HBs were detected for the quantification of anti-HBs with chemiluminescence immunoassay. **Results**　Among a total of 3 026 infants with PMTCT, the immune response rate was 92.43% and the effective immune response rate was 80.04%, while the proportion of the infants presenting non-effective immunity was 16.09% and the failure rate of PMTCT was 3.87%. For all specimens detected, 74.62% were anti-HBs positive-only; 14.44% were both anti-HBs and anti-HBc positive; 3.70% were negative for all the five indicators; and 3.37% were anti-HBs, anti-HBe and anti-HBc positive. For all the infants identified as PMTCT failure, 45.30%, 39.32%, and 15.38% were determined with the HBV-DNA of $>5\times10^7$ IU/ml, $500-5\times10^7$ IU/ml, and <500 IU/ml and 79.49% were HBeAg positive. Among the infants with effective immune response, 80.73% were anti-HBs positive-only; 16.62% were both anti-HBs and anti-HBc positive; 3.65% were anti-HBs, anti-HBc and anti-HBe positive; and the positive rate of anti-HBc and anti-HBe were 23.20% and 3.79%, respectively. Of all the infants with effective immune response, 66.93%, 19.66%, and 13.41% were detected with the anti-HBs level of >1 000 mIU/ml, 100 – 1 000 mIU/ml, and 10 – 99 mIU/ml. The results of statistical analyses demonstrated that immune response level was irrelevant neither to gender nor to serum positivity of anti-HBe and anti-HBc. **Conclusion**　The implementation of PMTCT and postpartum medical follow-up play a critical role for the prevention and control of HBV infection among the infants born to HBsAg positive mothers.

作者单位: 1. 云南省疾病预防控制中心免疫规划所, 昆明 650022; 2. 中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所肝炎室

作者简介: 康文玉(1976 –), 女, 河北深州人, 副主任技师, 硕士, 主要从事免疫规划针对传染病的实验室检测工作。(王锋为本文共同第一作者)

通讯作者: 李琼芬, E-mail: liqiongfen1023@163.com

数字出版日期: 2017 – 2 – 4 10:52

数字出版网址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20170204.1052.006.html

Key words: hepatitis B virus; prevention of mother-to-infant transmission; infants; infection status; immune response

乙型肝炎(以下简称乙肝)病毒(hepatitis B virus, HBV)的母婴传播是造成新生儿感染和慢性携带的重要原因之一,全球每年约有 35% ~40% 的 HBV 感染是通过母婴传播造成的[1]。婴儿感染 HBV 后,约 90% 发展成慢性 HBV 感染,其中约 25%转化为肝硬化或肝细胞癌而早逝[2]。2011 年云南省实施了卫生部/全球疫苗免疫联盟(Ministry of Health/Global Alliance for Vaccine and Immunization, MOH/GAVI)合作项目乙肝母婴阻断效果观察工作,对 HBsAg 阳性孕产妇所生婴儿实施了母婴阻断并进行了追踪调查,现将 3 026 名婴儿的乙肝感染状况及免疫应答情况进行分析,了解云南省乙肝母婴阻断的实施效果,为日后乙肝防控提供科学的参考依据。

1　对象与方法

1.1　对象　采用横断面调查方式,对云南省 16 个州市 129 个县 2011 年 1—6 月入院分娩的所有孕产妇进行调查,孕产妇总人数约为 235 032 人,进行 HBsAg 筛查的总人数为 229 743 人,筛查率约为 97.75%;筛查出 HBsAg 阳性孕产妇 5 364 人,阳性率为 2.33%;对其所生婴儿实施母婴阻断,于 7 ~12 月龄采集婴儿静脉血 2mL,共采集到合格婴儿血清标本 3 026 份,有效率为 56.41%;其中男婴占 54.03% (1 635/3 026),女婴占 45.97% (1 391/3 026);城镇居住占 20.09% (608/3 026),农村居住占 79.91% (2 418/3 026)。

1.2　方法

1.2.1　母婴阻断方法　母婴阻断即对婴儿实施 10 μg 的乙肝疫苗(hepatitis B vaccine, HepB)和 100 U 乙肝免疫球蛋白(hepatitis B immunoglobulin, HBIG)联合免疫,HepB 按照 0、1、6 免疫程序;于7 ~12 月龄采集婴儿静脉血 2mL,分离血清后 -20 ℃ 冻存待检。

1.2.2　HBV 血清标志物检测及结果判定　采集到的血清标本先统一做 HBV 血清学 5 项指标检测,筛选出 HBsAg 阳性的标本进行乙肝病毒载量检测,筛选出 HBsAg 阴性且抗 -HBs 阳性的标本做抗 -HBs 定量检测。所有检测试剂均在效期内,操作严格按试剂盒说明书进行。统一采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测 HBV 血清学 5 项指标(HBsAg、抗 -HBs、HBeAg、抗 -HBe、抗 -HBc)。检测试剂:HBsAg(美国 Abbott 公司)批号为 L458110;Anti-HBs、HBeAg anti-HBe(厦门英科新创公司)批号分别为 2011016202、2011016303、2011016401;HBcAb(上海科华生物)批号为 201106011。检测结果以婴儿 HBsAg 阴性且抗 -HBs 阳性判定为有免疫应答,即乙肝母婴阻断成功;HBsAg 阳性判定为乙肝母婴阻断失败;将 HBsAg、anti-HBs 均为阴性判定为无免疫应答。

1.2.3　HBV DNA 检测及结果判定　采用荧光定量 PCR 检测技术。仪器为荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司 7500 型),HBV PCR 荧光定量检测试剂盒(德国 QIAGEN 公司)批号为 20110701/1,阳性标准品批号为 20110803/1。QIAGEN HBV PCR 荧光定量检测试剂盒检出下限为 500 IU/mL,检出上限为 5×10^7 IU/mL。根据试剂盒检出限将结果分为 3 组:$> 5 \times 10^7$ IU/mL 的为高含量组,500 ~ 5×10^7 IU/mL 为中含量组,<500 IU/mL 为低含量组。

1.2.4　HBsAb 定量检测及结果判定　采用化学发光法。仪器为全自动化学发光免疫分析仪(美国 ARCHITECT 公司 i2000 型)、抗 -HBs 定量检测试剂盒(美国 Abbott 公司)批号为 41057LF00;阳性结果检测下限为 10 mIU/mL,上限为 1 000 mIU/mL。根据既往资料[3]及试剂盒检测上下限,将阳性结果分为 3 组:检测结果为 10 ~100 mIU/mL 时,机体产生的保护性抗体较少,判定为低免疫应答;结果为 100 ~1 000 mIU/mL 时,机体产生了有效的保护性抗体,判定为中免疫应答;结果 >1 000 mIU/mL 时,机体产生高浓度保护性抗体,判定为高免疫应答。高免疫应答与中免疫应答均属有效应答(抗 -HBs 定量值 >100 mIU/ml)。

1.3　统计分析　采用 Epi Data 3.02 建立数据库,将调查内容及实验结果录入数据库,电子表格 Excel 2003 逻辑检查,核对无误后,使用 SPSS 16.0 软件进行分析。样本率的分析用 χ^2 检验,其中理论格子数 <5 的用 Fisher 检验。

2　结　果

2.1　HBV 血清学 5 项指标检测

2.1.1　检出模式(表 1)　据报道乙肝血清学 5 项指标有 32 种组合[4]。本次共检出 10 种组合模式,各种组合模式见表 1。检出率最高的模式为模式 6(单项抗 -HBs 阳性)占 74.62%,其次为模式 5(抗 -HBs、抗 -HBc 阳性)占 14.44%;再次为模式 7(全阴性)占 3.70%,模式 4(抗 -HBs、抗 -HBe、抗 -HBc 阳性)占 3.37%。

2.1.2　不同免疫应答情况检出模式构成　母婴阻断失败率(即 HBsAg 阳性率)为 3.87% (117/3 026),免疫应答率为 92.43% (2 797/3 026),无免疫应答占 3.70% (112/3 026)。母婴阻断失败组检出 6 种血清组合模式:模式 1(HBsAg、HBeAg、抗 -

HBc 阳性）占 76.07%（89/117），模式 2（HBsAg、抗－HBe、抗－HBc 阳性）占 3.42%（4/117），模式 3（HBsAg、抗－HBc 阳性）占 8.55%（10/117），模式 8（HBsAg、抗－HBs、抗－HBc 阳性）占 2.56%（3/117），模式 9（HBsAg、抗－HBs、HBeAg、抗－HBc 阳性）占 3.42%（4/117），模式 10（HBsAg、抗－HBs 阳性）占 5.98%（7/117）。HBeAg 阳性率为 79.49%（93/117）。产生免疫应答组检出 3 种血清组合模式：模式 4 占 3.65%（102/2 797），模式 5 占 15.62%（437/2 797），模式 6 占 80.73%（2 258/2 797）。部分婴儿体内仍带有抗－HBe 和抗－HBc，这 2 项抗体阳性率分别为 3.79%（106/2 797）、23.20%（649/2 797）。无免疫应答组检出 1 种组合模式，即 5 项指标全阴（模式 7）。

表 1　3 026 份标本实验室检测模式构成

模式		血清标志物					检出数	检出率（%）
		HBsAg	anti-HBs	HBeAg	anti-HBe	anti-HBc		
7 种常见模式	1	+	−	+	−	+	89	2.94
	2	+	−	−	+	+	4	0.13
	3	+	−	−	−	+	10	0.33
	4	−	+	−	+	+	102	3.37
	5	−	+	−	−	+	437	14.44
	6	−	+	−	−	−	2 258	74.62
	7	−	−	−	−	−	112	3.70
3 种少见模式	8	+	+	−	−	+	3	0.10
	9	+	+	+	−	+	4	0.13
	10	+	+	−	−	−	7	0.23

2.2　HBV DNA 检测　对母婴阻断失败的 117 名婴儿进行病毒载量检测，高含量组为 53 人，占 45.30%；中含量组为 46 人，占 39.32%；低含量组为 18 人，占 15.38%。

2.3　Anti-HBs 定量检测

2.3.1　不同免疫应答组中 3 种血清组合模式检出情况（表 2）　本次调查婴儿中，产生免疫应答共有 2 797 人，抗－HBs 抗体水平在 10～100 mIU/mL 的低免疫应答者 375 人，占 13.41%；抗体水平在 100～1 000 mIU/mL 的中免疫应答者 550 人，占 19.66%；抗体水平 >1 000 mIU/mL 的高免疫应答者 1 872 人，占 66.93%。有效免疫应答率为 80.04%（2 422/3 026）。不同组免疫应答调查对象中，3 种血清模式组合占比差异无统计学意义（均 $P>0.05$）。

表 2　不同免疫应答组中 3 种血清组合模式检出情况

组别	调查例数	模式 4		模式 5		模式 6	
		例数	检出率（%）	例数	检出率（%）	例数	检出率（%）
低免疫应答组	375	11	2.94	62	16.53	302	80.53
中免疫应答组	550	16	2.91	75	13.64	459	83.45
高免疫应答组	1 872	75	4.01	300	16.03	1 497	79.97
χ^2 值		2.08		2.11		3.33	
P 值		0.35		0.35		0.19	

2.3.2　不同免疫应答组性别构成　低免疫应答组男婴占 54.13%（203/375），女婴占 45.87%（172/375）人；中免疫应答组男婴占 55.45%（305/550），女婴占 44.55%（245/550）；高免疫应答组男婴占 53.47%（1 001/1 872），女婴占 46.53%（871/1 872）；3 组间男婴和女婴占比差异无统计学意义（$\chi^2=0.64$，$P=0.73$）。

3　讨　论

对 HBsAg 阳性孕产妇所生婴儿实施乙肝母婴阻断是乙肝防控的重要举措之一，但现行的乙肝母婴阻断策略成功率并非 100%，用乙肝疫苗及乙肝免疫球蛋白联合免疫保护率达 95%～97%[5]，即失败率为 3%～5%。本调查结果显示，母婴阻断失败率为 3.87%，与文献报道的基本一致。对这部分婴儿进行 HBV-DNA 检测，$>5\times10^7$ IU/mL 占 45.30%，500～5×10^7 IU/mL 占 39.32%，<500 IU/mL 占 15.38%；说明大部分已感染婴儿体内病毒载量很高，且 HBeAg 阳性率为 78.63%，说明乙肝病毒在婴儿体内复制非常活跃。新的研究资料显示，使用恩替卡韦（entecavir，ETV）治疗 2～6 岁儿童比成人有更好的疗效[6-7]。因此，尽早发现这些阻断失败的婴儿把握治疗的关键期非常重要。既往研究资料显示，母亲 HBeAg 阳性和高病毒载量是母婴阻断失败的高危因素[8-11]，母亲 HBV DNA $>2\times10^5$ IU/mL 是最主要危险因素[6,12]；而孕后期采用替诺福韦酯（tenofovir diso-

中国公共卫生 CPH

proxil fumarate, TDF)治疗,将母体内病毒载量降到安全范围可以提高母婴阻断的成功率[6,13]。

本调查中母婴阻断婴儿免疫应答率为 92.43%,有 3 种血清指标组合模式,部分有免疫应答的婴儿仍带有抗 - HBe 和抗 - HBc,这 2 项抗体阳性率分别为 3.79%、23.20%,携带这 2 项抗体可能是母传抗体也可能是围产期接触到母体病毒一过性感染后康复,还有可能与抗 - HBe 和抗 - HBc ELISA 检测试剂假阳性率高相关,携带时间长短还有待于进一步追踪观察。有效免疫应答率为 80.04%,低免疫应答者占 12.39%。高、中、低 3 组免疫应答调查对象中,3 种血清模式检出率差异无统计学意义,男婴和女婴占比差异亦无统计学意义;说明产生免疫应答抗 - HBs 的抗体水平高低与婴儿体内是否携带抗 - HBe、抗 - HBc 及性别无关。而婴儿免疫应答产生保护性抗体水平的高低是否与出生时体重、Apgar 评分及早产、过期产等因素相关,则有待于进一步追踪调查及统计分析。

本次调查中,低、无免疫应答者占 16.09% (487/3 026),这部分婴儿不容忽视,是乙肝感染的高危人群,应该建立追访机制,调整免疫策略,通过采取再次全程免疫、加大免疫剂量或使用免疫调节剂等措施,尽快使这部分婴儿产生有效免疫应答,进而防止乙肝感染。

调查对象中也发现了 3 种少见血清组合模式,母婴阻断失败组中有 HBsAg 和抗 - HBsAb 同时阳性的模式出现:模式 8、模式 9 和模式 10,这 3 种模式检出率较小,仅为 0.43% (13/3 026),可能是由于接种了乙肝免疫球蛋白也可能是因为处于感染初期,也可能与不同亚型病毒感染相关;有待于继续追踪调查。

综上所述,做好孕产妇产前筛查,对 HBsAg 阳性孕产妇所生婴儿实施母婴阻断,并建立、健全产后对婴儿追踪机制,及时发现阻断失败的小龄组病例,以利于捕捉有利的治疗时机;及时发现低、无免疫应答儿童,制定有效的免疫策略予以及时的重新免疫,使其产生保护性抗体,对预防和控制婴儿感染乙肝起到关键作用。

参考文献

[1] Poovorawan Y, Sanpavat S, Chumdermpadetsuk S, et al. Long term hepatitis B vaccine in infants born to hepatitis B e antigen positive mothers[J]. Archives of Disease in Childhood, 1997, 77(1): 47 - 51.

[2] Centers for Disease Control and Prevention. Assessing completeness of perinatal hepatitis B virus infection reporting through comparison of immunization program and surveillance data - United States[J]. MMWR, 2011, 60(13): 410 - 413.

[3] Zanetti AR, Mariano A, Romanò L, et al. Longterm immunogenicity of hepatitis B vaccination and policy for booster: an Italian multicentre study[J]. Lancet, 2005, 366(9494): 1379 - 1384.

[4] 崔富强,毕胜利,张勇. 中国人群大样本调查乙型肝炎病毒感染血清学标志物检出模式分析[J]. 中国疫苗和免疫, 2009, 15(4): 294 - 299.

[5] 赵捷,单芙香,刘刚. 新生儿乙肝母婴阻断免疫策略及相关因素研究[J]. 现代预防医学, 2011, 38(15): 2954 - 2955.

[6] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 年更新版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(12): 1941 - 1960.

[7] Chang KC, Wu JF, Hsu HY, et al. Entecavir treatment in children and adolescents with chronic hepatitis B virus infection. [J]Pediatrics and Neonatology, 2015(15): 1 - 6.

[8] 丁峥嵘,康文玉,陆林,等. 云南省乙肝母婴阻断实施现状及效果评价[J]. 中华流行病学杂志, 2014, 35(2): 114 - 116.

[9] Kang WY, Ding ZR, Shen LP, et a1. Risk factors associated with immunoprophylaxis failure against mother to child transmission of hepatitis B virus and hepatitis B vaccination status in Yunnan province, China[J]. Vaccine, 2014, 32(27): 3362 - 3366.

[10] 倪红霞,曹文广. 乙肝病毒母婴传播的病毒变异规律与乙肝疫苗免疫保护效果研究[D]. 上海:第二军医大学博士学位论文, 2013: 5.

[11] Song YM, Sung J, Yang S, et al. Factors associated with immunoprophylaxis failure against vertical transmission of hepatitis B virus[J]. Eur J Peditar, 2007, 166(8): 813 - 818.

[12] Han L, Zhang HW, Xie JX, et al. A meta-analysis of lamivudine for interruption of mother-to-child transmission of hepatitis B virus[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(38): 4321 - 4333.

[13] Jourdain G, Ngo-Giang-Huong N, Cressey TR, et a1. Prevention of mother-to-child transmission of hepatitis B virus: a phase III, placebo-controlled, double-blind, randomized clinical trial to assess the efficacy and safety of a short course of tenofovir disoproxil fumarate in women with hepatitis B virus e-antigen[J]. BMC Infectious Diseases, . 2016, 16, (1 - 6): 393.

收稿日期: 2016-10-13　　(郑新编辑　张翠校对)

中国公共卫生 CPH