

## 以 HBsAg 和 HBeAg 为筛查指标监控经手术感染 HBV 的比较

吴 颺<sup>1</sup>, 姜旻岚<sup>2</sup>, 杨双旺<sup>2</sup>

**[摘要]** 目的: 比较以 HBsAg 和 HBeAg 为筛查指标监控的经手术感染 HBV 的差别。方法: 从控制传染源、切断传播途径和保护易感者 3 个方面比较以 HBsAg 和 HBeAg 为筛查指标的经手术感染 HBV 监控方法的差别。结果: HBV 经单层手套传播的感染阈值为  $10^5$  ID/ml, HBsAg 阳性者、HBeAg 阴性者和 HBeAg 阳性者的传染性达感染阈值的比率分别为 19.23%、3.20% 和 83.88%, 3 组差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。医护人员有效接种乙型肝炎疫苗后, HBV 经手术传播的感染阈值为  $10^{8.5}$  ID/ml, 0.64% HBsAg 阳性者的传染性超过感染阈值, 超过者均为 HBeAg 阳性。结论: 以 HBsAg 和 HBeAg 为筛查指标的两种监控方法在控制传染源、切断传播途径和保护易感者 3 个方面都存在差异。

**[关键词]** 传染病预防; 乙型肝炎表面抗原; 乙型肝炎 E 抗原; 医院感染

[中国图书资料分类法分类号] R 184.6; R 392.11 [文献标识码] A

## Comparison of HBsAg and HBeAg as screening index of HBV infection during operation

WU Biao<sup>1</sup>, JIANG Min-lan<sup>2</sup>, YANG Shuang-wang<sup>2</sup>

(1. Department of Infectious Diseases, The Second Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233040;

2. The 454th Hospital of PLA, Nanjing Jiangsu 210002, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the difference of using HBsAg or HBeAg as screening index of HBV infection during operation.

**Methods:** HBsAg and HBeAg were used as supervising and controlling indexes of HBV infection during operation, and the difference was compared in three aspects: the infective source, the spreading route and the susceptible person. **Results:** HBV infective threshold value of single layer gloves was  $10^5$  ID/ml. The ratio of patients with HBsAg positive, HBeAg negative and HBeAg positive, whose infectivity had reached HBV infective threshold value, were 19.23%, 3.20% and 83.88%, respectively. The difference was significant ( $P < 0.01$ ). After healthcare workers were inoculated against HBV, the HBV infective threshold value was  $10^{8.5}$  ID/ml during surgical operation; 0.64% of the infectious HBsAg positive carriers exceeded the infective threshold value. **Conclusions:** HBsAg and HBeAg are greatly different as supervising and controlling indexes of HBV infection in infective source, spread route and susceptible person.

**[Key words]** communicable disease control; hepatitis B surface antigens; hepatitis B e antigens; nosocomial infection

我国 HBV 携带率在 10% 左右, 各科入院患者中不少为 HBV 携带者, HBV 感染对医护人员构成了严重的职业性威胁, 这种威胁在手术中更大。为此, 我国在手术中一直使用以 HBsAg 为筛查指标的 HBV 传染源监控方法 (HBsAg 监控法), 该法制定于乙型肝炎 (乙肝) 疫苗紧缺时期, 有限的疫苗首先用于阻断母婴传播, 未能顾及高危成人, 而现今的情况已完全不同。为此, 有学者提出在医护人员有效接种乙肝疫苗的基础上, 以 HBeAg 取代 HBsAg 作为手术中 HBV 传染源监控指标, 对其阳性者采取加强防护措施的监控方法 (HBeAg 监控法)<sup>[1]</sup>。本文从控制传染源、切断传播途径和保护易感者 3 个方面比较两种方法的区别。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 2006 年 2 月至 2007 年 12 月, 蚌埠

医学院第二附属医院 786 例连续入院的手术患者。男 563 例, 女 223 例; 年龄 5 ~ 82 岁。患者入院时均空腹采静脉血 3 ml, 分离血清, 于  $-40$  °C 保存备用。

## 1.2 方法

1.2.1 HBV 血清学标志 (HBVM) 检测 使用 A-5082 TECAN 酶标仪 (ELISA 法) 检测每份血清的 HBsAg 和 HBeAg, 试剂盒购于上海荣盛生物技术有限公司, 按说明书操作。

1.2.2 实时荧光定量 PCR (FQ-PCR) 法检测 HBV DNA 采用 FQ-PCR 法检测系统 (型号: FQD-33A, 杭州大和热磁电子有限公司)。(1) 样本处理。取待测血清样本以及试剂盒中的对照品各 100  $\mu$ l, 分别加到 0.5 ml 离心管中; 加入 100  $\mu$ l DNA 提取液 I, 振荡混匀,  $13\ 000 \times g$  离心 10 min; 吸弃上清; 再加入 25  $\mu$ l DNA 提取液, 振荡 10 s,  $100$  °C 干浴或沸水浴 10 min;  $13\ 000 \times g$  离心 10 min, 保留上清备用。(2) 核酸扩增及检测。整个过程的不同步骤在不同操作区进行。①试剂配制 (PCR 前准备区): 在每个 0.2 ml 离心管中加入 37.6  $\mu$ l PCR 反应液, 0.4  $\mu$ l Taq 酶及 0.06  $\mu$ l 尿苷酶 (UNG) 作为反应管。②加

[收稿日期] 2009-03-24

[作者单位] 1. 蚌埠医学院第二附属医院 感染性疾病科, 安徽 蚌埠 233040; 2. 解放军第 454 医院, 江苏 南京 210002

[作者简介] 吴 颺 (1974 -), 男, 主治医师。

样(样本处理区)。在反应管中加入处理过的样本、阴性对照、强阳性对照和临界阳性对照上清液及阳性参控品各 2  $\mu$ l, 盖紧 PCR 反应管管盖, 转移至检测区, 置于 FQ-PCR 仪上。③PCR 扩增(检测区)。94  $^{\circ}$ C 5 s, 60  $^{\circ}$ C 30 s, 42 个循环。

### 1.2.3 FQ-PCR 极量稀释法检测 HBV 感染剂量

将 FQ-PCR 检测 HBV DNA 低限作为一个 HBV 感染剂量(infect dose, ID), 用 PBS 液将 HBV DNA 阳性血液作 10 倍系列稀释, 直至 FQ-PCR 检测到 HBV DNA 阴性, 将其终末阳性的稀释倍数作为 HBV ID 数值, 以此数值作为 HBV 传染性或病毒浓度的指标。

### 1.2.4 缝针刺伤接种模拟试验确定手术中 HBV 感染阈值

取使用 FQ-PCR 极量稀释法确定 HBV 浓度为 ( $10^0 \sim 10^9$ ) ID/ml 的 HBsAg 阳性血液各 1 份<sup>[2]</sup>, 将手术中常用的直径较大的 8  $\times$  24, 3/8 弧的圆形缝针(原外科 7、8 号缝针)依次在上述血液中浸泡 30 s 后取出, 其后穿透放在 2% 琼脂表面的一层医用手套并刺入琼脂 0.5 cm。使用塑料钻孔器切割每个穿刺点, 切割部分放入 0.9 ml PBS 液中, 加热融化后以 FQ-PCR 检测 HBV DNA, 阳性切割物对应血液所含的最低 HBV ID 确定为 HBV 经手术传播的感染阈值。

### 1.2.5 使用乙肝疫苗的防护效果

接种乙肝疫苗后, 接种者的抗-HBs 滴度 < 10 IU/L 为无防护作用, 10 ~ 99.9 IU/L 为低度防护作用, 100 ~ 999.9 IU/L 为中度防护作用, > 1 000 IU/L 为高度防护作用<sup>[3]</sup>。 $\geq 10$  IU/L 为达到有效免疫水平, 表明对 HBV 感染具有防护能力, 可使 HBV 的感染阈值提高  $10^{8.5}$  ID/ml<sup>[4]</sup>。

### 1.3 统计学方法

采用秩和检验。

## 2 结果

### 2.1 HBVM 检测

786 例中检出 HBsAg 阳性 156 例, 为 HBsAg 携带者。其中, HBeAg 阳性者 31 例(19.87%), HBeAg 阴性者 125 例(80.13%)。

### 2.2 HBV 经手术传播的感染阈值

HBV 经单层手套传播的感染阈值为  $10^5$  ID/ml。

### 2.3 HBV 传染性比较

HBsAg 阳性、HBeAg 阴性和 HBeAg 阳性者的传染性 >  $10^5$  ID/ml 的比例分别为 19.23%、3.20% 和 83.88%, 3 组差异有统计学意义( $P < 0.01$ )(见表 1)。0.64% HBsAg 阳性者和 3.23% HBeAg 阳性者的 HBV 浓度超过  $10^{8.5}$  ID/ml。

## 3 讨论

### 3.1 筛查传染源

HBsAg 监控法所得 HBV 经手术

表 1 3 组患者 HBV 传染性比较[n;百分率(%)]

分组	n	HBV ID(ID/ml)			Hc	P
		< $10^5$	$10^5 \sim 10^{8.5}$	> $10^{8.5}$		
HBsAg 阳性组	156	126(80.77)	29(18.59)	1(0.64)		
HBeAg 阴性组	125	121(96.80)	4(3.20)	0(0.00)	103.85	< 0.01
HBeAg 阳性组	31	5(16.13)	25(80.65)	1(3.23)		
合计	312	252(80.77)	58(18.59)	2(0.64)		

传播的感染阈值为  $10^5$  ID/ml, 而 HBsAg 阴性 HBV 携带者的病毒浓度都在此阈值之下, 都不能成为传染源, 即传染源都存在于 HBsAg 阳性患者中, 故以 HBsAg 为筛查指标的预防方法对所有传染源都使用了加强防护措施, 属于零危险性的防护标准。HBeAg 是 HBV 高度传染性的血清学指标, 本文研究表明 HBeAg 是否阳性将 HBsAg 携带者分类可见, 83.88% HBeAg 阳性 HBsAg 携带者的病毒浓度 >  $10^5$  ID/ml, 是手术中的传染源, 最大传染浓度为  $10^3$  ID/ml; 3.20% HBeAg 阴性的 HBsAg 携带者是传染源, 最大感染阈值为 10 ID/ml。HBeAg 监控法通过医护人员有效接种乙型肝炎疫苗将 HBV 经手术传播的感染阈值提高到  $10^{8.5}$  ID/ml 后, HBeAg 阴性 HBsAg 携带者已不能成为传染源, 而 HBeAg 阳性 HBsAg 携带者仍有 3.23% 可成为传染源, 需要采取加强防护措施。可见, 筛查传染源是两种方法的共同之处, 而区别在于确定传染源的标准不同。

### 3.2 切断传播途径

屏障隔离是手术中切断 HBV 传播途径的基本措施。我国对手术患者采取分级防护的方法, 即对非传染源采取一般屏障隔离措施, 而对传染源采取加强防护措施, 这种方法可节约医疗资源。HBsAg 监控法将 HBeAg 阳性和阴性的 HBsAg 携带者都视为传染源, 采取同样的加强防护措施; HBeAg 监控法只对具有高度传染性的 HBeAg 阳性的 HBsAg 携带者采取加强防护措施, 而将 HBeAg 阴性的 HBsAg 携带者视为非传染源而不予隔离。这是因为即使医护人员不接种乙肝疫苗、也不使用双层手套, 也只有 3.20% 的 HBeAg 阴性的 HBsAg 携带者可经手术传播, 最大传染性为感染低限的 10 倍, 使医护人员发生感染并转变成慢性肝病的危险性 < 1/5 000 000, 在医护人员进行乙肝疫苗有效免疫之后, 这种危险性可下降为零<sup>[5]</sup>。可见, 分级防护是两种方法的共同之处, 而区别在于需加强防护者的传染性程度不同。

### 3.3 保护易感者

使用特异性免疫方法保护易感者是 HBeAg 监控法的特点, 也是两种方法的差别所在。HBsAg 监控法制定于乙肝疫苗紧缺时期, 有限的乙肝疫苗首先用于阻断母婴传播, 未能顾及高危

成人,因此未考虑外科医生接种乙肝疫苗后对防护能力的影响,而是将所有 HBV 传染源都处于监控之下。本资料显示,19.23% HBsAg 阳性携带者可经手术传播,其中 18.59% 在乙肝疫苗有效免疫者的防护范围之内,剩余 0.64% 超过了防护范围,超过者均为 HBeAg 阳性的 HBsAg 携带者。HBeAg 监控法对这些具有高度传染性的 HBeAg 阳性的 HBsAg 携带者采取加强防护措施后,剩余的 HBeAg 阴性的 HBsAg 携带者传染性就处于医护人员的 HBV 免疫防护范围之内,不能经手术传播。可见,HBeAg 监控法也属于零危险性的防护标准。

#### [ 参 考 文 献 ]

[1] 杨双旺,杨岁虎,孙佩,等.乙型肝炎 e 抗原作为乙型肝炎病毒围术期传播监控指标的可行性研究[J].中华医院感染学杂志,2000,10(4):244-246.

- [2] 杨岁虎,杨双旺,孙佩,等.套式 PCR 极量稀释法评价外科 HBsAg 携带者血液的传染性[J].中华医院感染学杂志,2000,10(5):396-399.
- [3] Gunson RN, Shouval D, Roggendorf M, et al. Hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) infections in health care workers (HCWS): guidelines for prevention of transmission of HBV and HCV from HCW to patients [J]. J Clin Virol, 2003, 27(3): 213-230.
- [4] Pavette PJ, Ma X, Weeratna RD, et al. Testing of CpG-optimized protein and DNA vaccines against the hepatitis B virus in chimpanzees for immunogenicity and protection from challenge [J]. Intervirology, 2006, 49(3): 144-151.
- [5] Jaffray CE, Flint LM. Blood-borne viral diseases and the surgeon [J]. Curr Probl Surg, 2003, 40(4): 195-251.

[文章编号] 1000-2200(2010)06-0629-02

· 检验医学 ·

## 银染法鉴定铜绿假单胞菌生物膜

姚慧琳,刘培明,陆士海,庄楠

**[摘要]**目的:观察银染法鉴定铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)生物膜的效果。方法:体外平板法制备 PA 生物膜模型,用银染法及扫描电镜进行观察鉴定。结果:银染后普通光学显微镜和扫描电镜对生物膜观察结果相符。结论:可以用银染法观察细菌生物膜,方法简单、可靠。

**[关键词]** 铜绿假单胞菌;生物膜;银染法

**[中国图书资料分类法分类号]** R 378 **[文献标识码]** A

细菌生物膜(biofilm, BF)是近年来引起国内外学者高度重视的一种细菌群体生物学特性,是指由附着于惰性或者活性实体表面的细菌细胞和包裹着细菌的水合性基质所组成的结构性细菌菌落<sup>[1]</sup>,也是细菌在生长过程中为了适应生存环境而形成的一种与游走细胞相对应的存在形式<sup>[2]</sup>。据统计,80%以上的感染性疾病是由细菌生物膜引发的。由于细菌在生物膜状态抗药性比游走态大大增强,BF 在临床更易引发难治性慢性感染,严重威胁人类健康<sup>[3]</sup>。因此,明确 BF 的存在对了解细菌耐药性有重要意义。目前一般使用扫描电镜(SEM)或激光共聚焦显微镜研究 BF,但以上方法均存在操作复杂,需要特殊设备,不易推广等缺点。本实验通过银染法观察 BF 简单、易行,易于在普通实验室推广使用,现作报道。

### 1 材料与方 法

1.1 材料 (1)载体:24 mm×24 mm 盖玻片,经浓硫酸浸泡过夜后,用蒸馏水反复冲洗,再浸入 75% 乙醇。用前取出晾干,高压消毒后备用。(2)菌株:试验菌株为临床分离的黏液型铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)。(3)试剂和器材:5% AgNO<sub>3</sub>、CaCl<sub>2</sub>、对苯二酚、Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、2.0% 戊二醛、乙醇均为国产分析纯,MH 肉汤为杭州天和微生物有限公司产品,SEM (JSM-6700F),BX51 型 OLYMPAS 显微照相系统,普通光学显微镜(日本 OLYMPAS)。

#### 1.2 方 法

1.2.1 制备 BF 在直径 9 mm 的玻璃培养皿内放入一块 24 mm×24 mm 的盖玻片,取过夜培养的含有 PA 肉汤,比浊仪调定为 0.5 麦氏浊度,用生理盐水稀释 50 倍后取 20 ml 加入培养皿中,37℃ 培养,2 天更换 1 次生理盐水,培养 7 天即得到 BF。每株样本同时做 2 份,分别进行银染法和 SEM 观察。

1.2.2 银染法 按文献[4]取培养物经灭菌生理盐水多次充分漂洗去掉浮游菌;在 2.0% 戊二醛

[收稿日期] 2009-04-30

[基金项目] 安徽省淮北市科技局自然科学研究资助项目(090160)

[作者单位] 淮北矿工总医院 检验科,安徽 淮北 235000

[作者简介] 姚慧琳(1969-),女,副主任检验师。