

# 乙型肝炎病毒通过泪液传播的研究进展

荆大兰, 苏捷, 王薇

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81670821)

作者单位: (100191) 中国北京市, 北京大学第三医院眼科

作者简介: 荆大兰, 在读硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 白内障、糖尿病视网膜病变。

通讯作者: 王薇, 毕业于北京医科大学, 硕士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 视网膜神经保护、老年性眼病. puh3\_ww@bjmu.edu.cn

收稿日期: 2018-01-02 修回日期: 2018-06-01

## Research advances of hepatitis B virus transmission through tears

Da-Lan Jing, Jie Su, Wei Wang

Foundation item: Natural Science Foundation of China (No. 81670821)

Department of Ophthalmology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China

Correspondence to: Wei Wang, Department of Ophthalmology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China. puh3\_ww@bjmu.edu.cn

Received: 2018-01-02 Accepted: 2018-06-01

### Abstract

• China has a large number of Hepatitis B virus carriers. Though hematogenous dissemination is the main transmission route, much remains unknown about the way the virus spreads. It is doubted that people may get the disease through various body fluids in daily activity. Some routine examinations in ophthalmology department such as Goldmann applanation tonometry could not avoid contact with patients' ocular surface and may cause virus spread due to the residual tears on the instrument. So it is quite necessary to inspect the tear infectiousness of Hepatitis B virus. This review summarized recent studies about hepatitis B virus transmission *via* tears.

• KEYWORDS: hepatitis B virus; tears; iatrogenic infection; contact inspections

Citation: Jing DL, Su J, Wang W. Research advances of hepatitis B virus transmission through tears. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2018;18(7):1219-1222

### 摘要

我国乙肝病毒携带者较多, 人群中乙肝患者通过血液传播的比例较大, 但目前仍有部分传播方式不明确。怀疑与日

常生活密切接触的各种体液有关。在眼科日常检查中, 仍有部分检查无法采用非接触的方法, 这就为病毒等通过眼科接触性检查上的残留泪液进行传播带来风险。因此在眼科中, 对于乙肝患者泪液传染性的研究是十分有必要的。本文将针对乙型肝炎病毒通过泪液传播的研究进展进行综述。

关键词: 乙型肝炎病毒; 泪液; 医源性传播; 接触性检查

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2018.7.12

引用: 荆大兰, 苏捷, 王薇. 乙型肝炎病毒通过泪液传播的研究进展. *国际眼科杂志* 2018;18(7):1219-1222

### 0 引言

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 是一种由乙肝病毒引起的、以肝脏炎性病变为主, 并可引起多器官损害的一种疾病。乙肝病毒感染呈世界性的分布, 全世界有 20 亿人曾受感染<sup>[1-2]</sup>。虽然大多数携带者不会发展成慢性乙型肝炎, 但是其中 15% ~ 40% 的乙肝病毒携带者将在其一生中发生严重并发症<sup>[3]</sup>。HBV 的全球流行差异率很大, 根据 2006 年我国第 3 次乙型肝炎病毒感染的血清流行病学调查结果显示, 经过医务工作者的努力, 我国的 HBV 感染已从高流行地区变为中等流行地区<sup>[4-5]</sup>。但是, 在我国, 一些高危人群 HBV 感染患病率仍可能高于全民, 如血液透析患者、艾滋病患者等<sup>[6]</sup>。

### 1 HBV 的传播途径

乙肝病毒的传染源是乙肝患者和人群中广泛存在的乙肝病毒携带者 (AsC), 其中最重要的是 AsC, 其次是慢性乙肝患者 (chronic hepatitis B, CHB) 及急性乙肝患者 (acute hepatitis B, AHB)。乙肝病毒性肝炎传播途径包括血源、母婴、父婴、性接触、日常生活接触、医源、社会接触及其他方式, 由体内带有 HBV 者传染给 HBV 易感者 (人群普遍易感)。由 AsC 及 HB 患者构成的传染源数量庞大, 分布甚广<sup>[1]</sup>。

乙肝病毒主要感染灵长类动物, 在肝细胞内复制, 目前乙肝病毒进入肝脏细胞的机制尚不完全清楚。Breiner 等<sup>[7]</sup>在 2000 年应用原代肝细胞, 已证明鸭乙型肝炎病毒 (duck hepatitis B virus, DHBV) 是通过内吞作用被摄取进入肝细胞内。感染的肝细胞分泌完整的病毒颗粒 (病毒体) 进入血液循环。病毒滴度在全血和浆液性渗出物中最高, 皮肤或黏膜暴露于感染 HBV 的全血或浆液性体液可引起人类 HBV 感染<sup>[8]</sup>。尽管乙肝病毒通过血液传播占的比例很大, 但是 10% ~ 50% 的散发性成人 HBV 感染并没有血液暴露史<sup>[9]</sup>。对于这些患者, 学者们怀疑传播途径为日常生活的密切接触传播, 其传染源可能为其他的体

液,如唾液、精液、乳汁、汗液、尿液、泪液等。对于这些体液在HBV传播过程的作用,随着研究逐渐深入,研究方法也更加先进。

## 2 HBV 通过体液传播的可能性

关于初乳,相关学者<sup>[10-12]</sup>分别运用放射性免疫法、Southern印迹杂交的聚合酶链反应、荧光定量PCR分别论证HBV感染者的母乳具有传播乙肝病毒的可能性,He等<sup>[12]</sup>提出了HBV感染者的母乳中HBV-DNA的浓度高于 $1.0 \times 10^3$  U/mL时,应避免母乳喂养。Heathcote等<sup>[13]</sup>在1974年运用高度敏感的放射免疫测定技术在血清HBsAg阳性男性患者的唾液和精液中检测到HBsAg,同年Villarejos等<sup>[14]</sup>通过放射免疫法和反相电泳法检测CHB和AHB的尿液和唾液中HBsAg的存在,认为唾液可能是HBV通过非肠胃途径获得性感染的主要载体。在1977年Alter等<sup>[15]</sup>通过将血清HBsAg阳性者获得的唾液和精液分别接种到黑猩猩的静脉内,第一次运用体外接种的方法验证了HBsAg阳性者唾液和精液可能含有感染性病毒,可作为乙肝传播的重要机制。而Karayiannis等<sup>[16]</sup>在1985年通过分子杂交检查CHB的唾液、尿液和精液浓缩样品中HBV DNA的存在。在2004年时van der Eijk等<sup>[17]</sup>运用HBV DNA TaqMan法第一次精确定量检测唾液中HBV DNA水平,并证明唾液与血清中HBV DNA具有显著相关性,认为唾液是HBV传播途径之一。Zhang等<sup>[18]</sup>在2008年通过荧光定量PCR检测血清和唾液中HBV DNA,提出精确检测唾液中HBV DNA水平可评价病毒在体内复制程度,进而判断患者的传染力度。

由于乙肝患者的初乳、汗液、唾液、精液、尿液等都检测出HBV DNA,因此可以认为在日常生活中,接触乙肝患者的这些体液有传播HBV的可能性。它们均为外分泌腺产生的体液,其分泌物通过导管排放到体表或体腔,这个过程称为外分泌<sup>[19]</sup>。

## 3 HBV 通过泪液传播的可能性

泪腺作为外分泌腺的重要组成部分,其泪腺细胞具有外分泌腺细胞的一般特征——腺细胞的分泌物的液体部分大多是以组织液为介导从血液中获得<sup>[19]</sup>。因此血液中存在的某些物质,同样也存在于泪液中<sup>[20]</sup>。由此推测,乙肝患者血清中HBV DNA可能存在于泪液中。泪腺分泌与眼科密切相关的泪液,部分研究表明泪液具有传播HBV的可能性<sup>[21-27]</sup>。

HBsAg于1965年首次在血清中发现,Blumberg等<sup>[28]</sup>认为血清中HBsAg的存在代表HBV的感染。Richard等在1978年运用放射性免疫法,发现血清HBsAg阳性患者泪液中存在HBsAg,且阳性率高达55.6%,首次提出了乙肝患者的泪液可能具有传染性<sup>[29]</sup>。尽管HBsAg可在泪液检测出来,但是由于HBsAg是存在于HBV病毒的包壳中,同样也存在于非传染性病毒颗粒的包壳中,所以通过检测泪液中HBsAg的存在而证明其具有传染性并不可靠。因此,Will等<sup>[30]</sup>在1982年通过4种不同来源的克隆HBV DNA肝内注射接种于黑猩猩,黑猩猩于潜伏期内出现典型的AHB,证明HBV DNA具有传染性。血清中的HBV DNA的存在和HBeAg/抗HBeAg状态被认为是病毒

复制标志<sup>[31]</sup>。通过检测体液HBV DNA的存在,可以证明其具有传染性。目前HBV DNA的检测是确诊乙肝病毒感染的金标准。Corden等<sup>[32]</sup>通过试验表明,血浆中HBV DNA水平达到 $4 \times 10^4$  copies/mL时,具有传染性。血清中HBV DNA水平和传染性之间存在相关性<sup>[33]</sup>。因此类比血清中HBV DNA的水平,可以认为当泪液中HBV DNA达到这个水平时,具有传染性。Gastaud等<sup>[27]</sup>在1989年通过同位素标记核酸探针技术在HBsAg阳性患者泪液中首次检测到HBV DNA,阳性率为30%,认为乙肝患者泪液的感染性很高,应采取预防措施。Ulrich等<sup>[33]</sup>发现PCR是一种特异快速的体外检测HBV DNA的方法,其比生物接种HBV体内感染性滴定更敏感。PCR提供了一种能从少量样本检测感染性病原体的高敏感性、特异性、快速性、可依赖的方法,是目前检测HBV DNA的最敏感方法<sup>[34]</sup>。Charles等在1994年运用巢式PCR的重复测定方法证明了HBV DNA存在于50%的HBV携带者泪液中,包括无症状携带者<sup>[20]</sup>。无HBV感染的临床症状者也可能将病毒排泄到泪液中。值得注意的是,试验结果中血清和泪液中HBV DNA的阳性率并不平行,泪液中能检测出HBV DNA时,血清中并未检测出。可以猜想,HBV可聚集于泪腺中。但仍需较大样本量验证此假设。Kidd-Ljunggren等<sup>[22]</sup>在2006年运用实时定量PCR方法定量和定性测定了慢性HBV携带者泪液中存在HBV DNA,阳性率为23.5%,虽然泪液中HBV DNA的滴度低于血清,但仍有高度可能传播HBV的可能性。Komatsu等<sup>[35]</sup>在2012年将来自慢性HBV感染的幼儿的泪液标本静脉内注射入2只人肝细胞移植的嵌合小鼠中。接种后1wk,2只嵌合小鼠对HBV DNA均具有血清阳性,认为幼儿泪液样本中HBV DNA水平较高,第一次运用动物学实验证明了泪液的传染性。上述研究表明,乙肝患者泪液具有传染性,我们应采取相应的预防措施。

## 4 泪液中HBV的传播途径和消毒方式

目前,在眼科日常检查中仍存在部分接触性检查,如Goldmann眼压计、眼科A/B型超声、超声活体显微镜(ultrasound biomicroscope,UBM)等。这些检查有造成医源性传播的可能性,原因主要有两点:(1)接触性器械与眼表直接接触且其可能损伤人体皮肤、黏膜的防御屏障,为病原微生物侵入人体提供了通路;(2)接触性器械使用结束后会有泪液残留,采用常规消毒方法后,可能有病原微生物残留;因此通过眼科接触性检查的残留泪液可能造成病毒等的医源性传播<sup>[36]</sup>。Richard等提出了HBV易感人群通过结膜黏膜或角膜途径接触被HBsAg污染的接触性眼压计或软性隐形眼镜传播乙肝病毒的可能性<sup>[29]</sup>。Bond等<sup>[37]</sup>通过将血清HBsAg阳性患者的血液接种到黑猩猩的眼睛上,直接证实了乙型肝炎患者眼睛接种血液可能导致易感个体感染的假说。因此泪液中HBsAg通过结膜黏膜或角膜可能是HBV的传播途径<sup>[38]</sup>。在眼科,通过接触性检查会导致泪液中HBsAg传播的可能性。

Smith等<sup>[39]</sup>认为Goldmann眼压计是医源性感染的主要途径,特别是病毒感染,原因主要有:(1)与细菌感染相比,只需暴露于少量病毒感染颗粒的接种物即可导致感

染;(2)大多数病毒对于常见的消毒剂,如乙醇、过氧化氢等具有抵抗性,特别是缺乏脂质包膜的病毒;(3)许多病毒在非理想生活条件下,仍可存活较长时间。部分学者经实验表明,通过眼科接触性检查(如 Goldmann 眼压计)可以导致病毒医源性传播,如人类免疫缺陷病毒(HIV)、疱疹病毒、乙肝病毒、丙肝病毒和腺病毒<sup>[39-45]</sup>。

为了对 Goldmann 眼压计进行彻底消毒,美国疾病预防控制中心<sup>[39]</sup>的建议是用肥皂水清洗眼压计尖端,然后在稀释的漂白剂、3%过氧化氢或70%异丙醇中浸泡5min。但是通过浸泡眼压计的尖端会导致棱镜的损坏,在操作过程中容易划伤角膜,且残留的消毒剂具有潜在的角膜毒性<sup>[46]</sup>。在繁忙的诊疗环境中,需要短时间检查患者的眼压,很难确保眼压计尖端每次使用之前进行5min浸泡。Goldmann 眼压计作为眼压测量金标准目前仍无可替代。因此,我们需要找到一种安全、高效的消毒方法用于 Goldmann 眼压计等眼科接触性检查,以期消除残留泪液中的致病微生物。

## 5 展望

对于乙肝患者泪液传染性的研究是十分有必要的,眼科医生将面临越来越多的乙肝患者<sup>[29,47]</sup>,使乙肝病毒通过泪液传播的机会增加。在日常接触患者和手术过程中,体液通过破损的皮肤或黏膜,均有感染乙肝病毒的可能性。我们必须寻找一种可靠的消毒方法,彻底清除污染的 HBV DNA,防止医源性传播。与乙肝患者生活在一起的易感人群,接触到泪液污染的毛巾、角膜接触镜等,均增加了感染乙肝的可能性。对于这种日常生活的密切传播,我们也必须寻找可靠的预防方法。

对于泪液中 HBV DNA,目前最好的方法为定量 PCR,但文献报道多局限于证明泪液具有感染的可能性,指出在眼科中要采取相关措施预防 HBV 通过泪液的传播,对于乙肝患者泪液中 HBV DNA 达到什么滴度时可能造成传播,并未进一步研究。泪液中 HBV DNA 具体是通过哪种传播途径,并未给出明确结论,且对于预防乙肝通过泪液传播的具体措施并未提及。而且,对于不同的文献报道,获得泪液的方法及泪液分析方法不尽相同,对于其结果是否具有可比性表示疑问。此外,这些文献中泪液标本的数目较少,导致结果的类比性较差。

在今后的研究中希望能找到一种统一的、无创的、可靠的、便利的提取泪液的方法,并且确定一个参考标准,泪液中 HBV DNA 的量达到或者超过参考标准时,传播可能性大大增加。是否有必要采取预防措施,如在手术操作过程中配戴防护眼镜、日常接触患者时佩戴手套、眼科接触性检查器械要寻找一种能彻底清除泪液中残留 HBV 的消毒方法等许多方面值得我们进一步研究。通过研究能进一步预防乙肝通过日常生活的密切接触,如泪液等的传播,保护易感人群,减轻国家的经济负担,保护人类健康。

## 参考文献

- 1 史书鸣,闵建荣. 乙型病毒性肝炎. 北京:人民军医出版社 2009: 60-72
- 2 McMahon JB. Epidemiology and Natural History of Hepatitis B. *Semin Liver Dis* 2005;25(S1):3-8

- 3 Bosch FX, Ribes J, Cleries R, et al. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis* 2005;9(2):191-211
- 4 Gish RG, Gadano AC. Chronic hepatitis B: current epidemiology in the Americas and implications for management. *J Viral Hepat* 2006;13(12):787-798
- 5 Liang X, Bi S, Yang W, et al. Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China--declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination. *Vaccine* 2009;27(47):6550-6557
- 6 Cui Y, Jia J. Update on epidemiology of hepatitis B and C in China. *J Gastroenterol Hepatol* 2013;28 Suppl 1:7-10
- 7 Breiner KM, Schaller H. Cellular receptor traffic is essential for productive duck hepatitis B virus infection. *J Virol* 2000;74(5):2203-2209
- 8 Thomas HC, Zuckerman S(编),牛俊奇(译). 病毒性肝炎. 天津:天津出版传媒有限公司 2013:168-169
- 9 Blumberg BS, Sutnick AI, London WT. Australia antigen as a hepatitis virus. Variation in host response. *Am J Med* 1970;48(1):1-8
- 10 Boxall EH, Flewett TH, Dane DS, et al. Letter: Hepatitis-B surface antigen in breast milk. *Lancet* 1974;2(7887):1007-1008
- 11 Lin HH, Hsu HY, Chang MH, et al. Hepatitis B virus in the colostrum of HBeAg-positive carrier mothers. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993;17(2):207-210
- 12 He JY, Zhang YH, Zhang YL, et al. Instructional significance of HBV-DNA load in maternal milk on breastfeeding of postpartum women infected with HBV. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2011;45(11):1004-1006
- 13 Heathcote J, Cameron CH, Dane DS. Hepatitis-B antigen in saliva and semen. *Lancet* 1974;1(7847):71-73
- 14 Villarejos VM, Visona KA, Gutierrez A, et al. Role of saliva, urine and feces in the transmission of type B hepatitis. *N Engl J Med* 1974;291(26):1375-1378
- 15 Alter HJ, Purcell RH, Gerin JL, et al. Transmission of Hepatitis B to Chimpanzees by Hepatitis B Surface Antigen-Positive Saliva and Semen. *Infect Immun* 1977;16(3):928-933
- 16 Karayiannis P, Novick DM, Lok AS, et al. Hepatitis B virus DNA in saliva, urine, and seminal fluid of carriers of hepatitis B e antigen. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985;290(6485):1853-1855
- 17 van der Eijk AA, Niesters HG, Gotz HM, et al. Paired measurements of quantitative hepatitis B virus DNA in saliva and serum of chronic hepatitis B patients: implications for saliva as infectious agent. *J Clin Virol* 2004;29(2):92-94
- 18 Zhang YL, Pan HY, Chen CR, et al. The roles of saliva testing for preventing hepatitis B virus spreading. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2008;42(8):596-598
- 19 陈小章,王子栋. 外分泌生理学基础与临床. 北京:科学出版社 2012:1-7
- 20 朱志忠. 实用眼表病学. 北京:北京科学技术出版社 2001:36-44
- 21 Su CS, Bowden S, Fong LP, et al. Detection of Hepatitis Virus DNA in Tears by Polymerase Chain Reaction. *Arch Ophthalmol* 1994;112(5):621-625
- 22 Kidd-Ljunggren K, Holmberg A, Blackberg J, et al. High levels of hepatitis B virus DNA in body fluids from chronic carriers. *J Hosp Infect* 2006;64(4):352-357
- 23 Pflugfelder SC, Crouse C, Pereira I, et al. Amplification of Epstein-Barr virus genomic sequences in blood cells, lacrimal glands, and tears from primary Sjogren's syndrome patients. *Ophthalmology* 1990;97(8):976-984

- 24 Ma JX, Wang LN, Zhou RX, *et al.* Real-time polymerase chain reaction for the diagnosis of necrotizing herpes stromal keratitis. *Int J Ophthalmol* 2016;9(5):682-686
- 25 Chernakova GM, Kleshcheva EA, Semenova TB. Clinical presentations of Herpes Zoster Ophthalmicus (diagnosis and therapy). *Vestn Oftalmol* 2016;132(5):75-80
- 26 Nakano S, Sugita S, Tomaru Y, *et al.* Establishment of Multiplex Solid-Phase Strip PCR Test for Detection of 24 Ocular Infectious Disease Pathogens. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58(3):1553-1559
- 27 Gastaud P, Baudouin C, Ouzan D. Detection of HBs antigen, DNA polymerase activity, and hepatitis B virus DNA in tears: relevance to hepatitis B transmission by tears. *Br J Ophthalmol* 1989;73(5):333-336
- 28 Blumberg BS, Alter HJ. A "new" antigen in leukemia sera. *Jama* 1965;191(7):541-546
- 29 Darrell RM, Jacob GB. Hepatitis B Surface Antigen in Human Tears. *Arch Ophthalmol* 1978;96(4):674-676
- 30 Will H, Cattaneo R, Koch HG, *et al.* Cloned HBV DNA causes hepatitis in chimpanzees. *Nature* 1982;299(5885):740-742
- 31 Larzul D, Chevrier D, Thiers V, *et al.* An automatic modified polymerase chain reaction procedure for hepatitis B virus DNA detection. *J Virol Methods* 1990;27(1):49-60
- 32 Corden S, Ballard AL, Ijaz S, *et al.* HBV DNA levels and transmission of hepatitis B by health care workers. *J Clin Virol* 2003;27(1):52-58
- 33 Ulrich PP, Bhat RA, Seto B, *et al.* Enzymatic amplification of hepatitis B virus DNA in serum compared with infectivity testing in chimpanzees. *J Infect Dis* 1989;160(1):37-43
- 34 Saiki RK, Scharf S, Faloona F, *et al.* Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Biotechnology* 1992;24:476-480
- 35 Komatsu H, Inui A, Sogo T, *et al.* Tears from children with chronic hepatitis B virus (HBV) infection are infectious vehicles of HBV transmission: experimental transmission of HBV by tears, using mice with chimeric human livers. *J Infect Dis* 2012;206(4):478-485
- 36 沈红兵,齐秀英. 流行病学. 北京:人民卫生出版社 2013:167-177
- 37 Bond WW, Peterson NJ, Favero MS, *et al.* Transmission of Type B Viral Hepatitis Via Eye Inoculation of a Chimpanzee. *J Clin Microbiol* 1981;15(3):533-534
- 38 Kew MC. Possible Transmission of Serum (Australia - Antigen - Positive) Hepatitis Via the Conjunctiva. *Infect Immun* 1972;7(5):823-824
- 39 Smith CA, Pepose JS. Disinfection of tonometers and contact lenses in the office setting: are current techniques adequate? *Am J Ophthalmol* 1999;127(1):77-84
- 40 Warren D, Nelson KE, Farrar JA, *et al.* A large outbreak of epidemic keratoconjunctivitis; problems in controlling nosocomial spread. *J Infect Dis* 1989;160(6):938-943
- 41 Koo D, Bouvier B, Wesley M, *et al.* Epidemic keratoconjunctivitis in a university medical center ophthalmology clinic; need for re-evaluation of the design and disinfection of instruments. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1989;10(12):547-552
- 42 Moniz E, Feldman F, Newkirk M, *et al.* Removal of hepatitis B surface antigen from a contaminated applanation tonometer. *Am J Ophthalmol* 1981;91(4):522-525
- 43 Segal WA, Pirnazar JR, Arens M, *et al.* Disinfection of Goldmann tonometers after contamination with hepatitis C virus. *Am J Ophthalmol* 2001;131(2):184-187
- 44 Li ZN. Detection of HBV DNA in human tears and its contamination of the tonometer. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 1993;29(5):290-292
- 45 Su CS, Bowden S, Fong LP, *et al.* Current tonometer disinfection may be inadequate for hepatitis B virus. *Arch Ophthalmol* 1994;112(11):1406-1407
- 46 Levenson JE. Corneal damage from improperly cleaned tonometer tips. *Arch Ophthalmol* 1989;107(8):1117
- 47 Busek SU, Baba EH, Tavares Filho HA, *et al.* Hepatitis C and hepatitis B virus infection in different hemodialysis units in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002;97(6):775-778