

口服痢疾活菌苗的现场试验

赵德彬¹ 刘明欣¹ 张敏² 任守礼² 傅炳南³ 姜红³

近20年来,不少研究者试图用活菌苗控制菌痢的流行,结果证明只有依链株(SmD)菌苗取得了较好的效果[1-6,9,14]。

我们这次试验的目的是观察两价依链株口服痢疾活菌苗能否在不加服链霉素的情况下,用三剂较小剂量菌苗和一年后用一剂加强剂免疫;以在人群中建立抗菌痢屏障。

材料和方法

现场试验场所:选择生活习惯、居住条件、卫生状况相同、菌痢发病率很高的一个村庄为观察现场,并在试验观察之前即1976年底和1977年初进行了流行菌型调查,以保证菌苗菌型与当地流行菌型一致。

免疫组和对照组:凡3~60岁无禁忌症的健康男女,按农户逐人登记、顺序编号,单号为服苗组、双号为对照组。两组在年龄构成和性别分布上是均衡的(表1)。

表1 免疫和对照组成员的年龄、性别分布

组别	年龄组 (岁)						总人数		
	3-6		7-12		13-60		男	女	合计
	男	女	男	女	男	女			
免疫	97	95	181	148	403	479	681	722	1,403
对照	111	109	162	183	435	451	708	743	1,451
总计	208	204	343	331	838	930	1,389	1,465	2,854

前一年全程免疫者,选为第二年加强免疫对象。

免疫接种:1977和78年用武汉生物制品研究所生产的依链株福氏1b和2a浓缩液体活菌苗。发酵罐中培养的菌苗经羧甲基纤维素沉淀浓缩后供使用。

新生产的单价浓缩菌苗立即冷藏运至现场,按需要剂量以10%蔗糖水配成活菌数相等

的两价菌苗(F1b和F2a),加适量食用香精校味,同时以注板法测定活菌数,并以其结果修正实服菌苗数。液体菌苗的活菌率均在20%左右。第三年未在现场作活菌计数。

口服免疫时不加服链霉素,服前10分钟先服1克速溶苏打片或10%苏打水10毫升,以中和胃酸。对照组给物理性状与菌苗类似的10%糖水安慰剂。1979年免疫组未服苏打,对照组未给安慰剂。

1977年口服免疫三次,每次间隔3天,1b和2a菌苗均按表1所列剂量给予。1978和79年口服加强剂一次,两型剂量见表2、3。

表2 1977年口服免疫剂量*

年龄组 (岁)	第一剂	第二剂	第三剂	总计
3~	1.3×10^{10}	2.0×10^{10}	2.7×10^{10}	6×10^{10}
7~	2.7×10^{10}	4.0×10^{10}	5.3×10^{10}	12×10^{10}
13-60	4.0×10^{10}	6.0×10^{10}	8.0×10^{10}	18×10^{10}

* 两型菌苗均按表列活菌数免疫。

表3 1978、1979年口服免疫剂量*

年龄组 (岁)	1978 ^①	1979 ^②	
		福氏1b	福氏2a
3~	2.6×10^{10}	3.5×10^{10}	4.0×10^{10}
7~	5.4×10^{10}	7.0×10^{10}	8.0×10^{10}
13-60	8.0×10^{10}	9.0×10^{10}	12.0×10^{10}

* 活菌数。①两型菌苗均按表列活菌数免疫。②制造者标定的活菌数。

观察方法:免疫接种、疾病的诊断和治疗、副反应的观察和处理、以及标本的收集等,每生产队由一名医生和一名赤脚医生负责。

最后一剂免疫或加强免疫后20天到120天,

1 长葛县防疫站

2 许昌地区防疫站

3 河南省防疫站

即一个菌痢流行高峰期作为菌苗效果观察期。所有受试者均受到严密的临床和细菌学监测。

1977年逐日观察了全部受试者的服苗后反应。

有胃肠道症状的所有病人的粪便标本均在治疗前收集，立即接种SS琼脂和EMB琼脂平板，可疑菌落转种克氏双糖管并按常规方法作进一步检定。

为保证及时发现病人和粪便标本能在治疗前收集，我们负担全部治疗费用并负责治疗和观察，还制定了奖励制度以鼓励工作人员认真工作。

1977年末次免疫后，观察了41名服苗者两型菌苗株的粪便排出期。粪便标本接种含400

微克链霉素/毫升的EMB平板，分离的菌苗株转种不含链霉素的EMB平板，以检查其依链特性。并在第二剂免疫后，检查了24名对照组成员的粪便，以检察菌苗的人间传递。

结果和讨论

口服免疫的效果：连续三年现场试验的结果见表3。用不加服链霉素的二价福氏依链株菌苗，以较小的剂量口服免疫三次，以及一年后用一剂加强免疫时，福氏1b菌痢的发病率，免疫组和对照组间有显著性差异 ($P < 0.01$)，但福氏2a菌苗则无 ($P > 0.05$)，第三年，两型菌苗均未显示出保护作用 ($P > 0.05$) (表4)。

表4 菌苗保护效果

年 别	组 别	观察 人数	总病 例数	不 同 菌 型 病 例 数														
				福 氏		志 贺 氏 II						宋 内 氏		包 氏		未 定		
				1b	2a	1a	2b	3	4	5	6	y						
1977	免疫	1403	68 (4.85)*	6 (0.42)	26 (1.85)	—	4	2	7	—	8	1	8	5	—	—	—	1
	对照	1451	111 (7.65)	26 (1.79)	37 (2.55)	1	2	1	4	1	10	1	12	16	—	—	—	—
1978	免疫	1398	36 (2.58)	8 (0.57)	9 (0.44)	3	3	—	4	—	1	—	4	1	3	—	—	—
	对照	1456	78 (5.36)	27 (1.85)	16 (1.09)	2	4	1	13	—	—	—	11	4	—	—	—	—
1979	免疫	1178	21 (1.78)	9 (0.76)	6 (0.51)	—	—	1	1	—	—	—	2	—	2	—	—	—
	对照	1593	47 (2.95)	20 (1.26)	2 (0.13)	1	6	4	2	—	—	—	7	1	4	—	—	—

* 括号内为发病率 (%)。

现场试验早已证明抗痢疾杆菌自然感染的高保护效果可用依链株菌苗获得，但受免疫者需接受总活菌数高达 50×10^{10} ，四至五次口服免疫，且需加服链霉素。如用 6.7×10^{10} 活菌的小剂量免疫剂则无效 [1, 9, 13]。然而我们发现抗福氏1b免疫保护不但可用 $1.3-4 \times 10^{10}$ ， $2-6 \times 10^{10}$ 和 $2.7-8 \times 10^{10}$ 活菌的三剂小剂量口服免疫获得。而且也可能在前一年接受三剂免疫的人群中用一剂加强剂取得。但前一年初次免疫未见保护作用时，加强免疫也无效。Dupont

等认为：现场条件下依链株菌苗效果优于志愿者实验，可能与前已存在的免疫力有关，这种免疫性可因多次与痢疾菌抗原接触而获得，所以口服免疫的过程可能只是对已有低免疫性的加强 [5, 8]。选为试验现场的村庄是菌痢高发流行区，这可能是菌苗免疫有效的原因之一。然而，福氏1b菌痢虽然在该村有相当高的比率，但1977年底前优势流行菌型为福氏1b(表3)，且前已证明菌苗或自然感染所产生的抗福氏菌痢免疫性具有血清型特异性 [1, 9, 10, 13]。为

何福氏2a菌苗未见保护作用呢？这究竟是两型间的拮抗作用，还是免疫时机不适所致尚不清楚。Horsfall等曾发现：很低水平的循环IgG抗霍乱抗体，即可抑制随后口服免疫的整体和局部免疫反应，并认为应避免给有循环抗体的个体进行口服免疫^[16]。如果这一反馈控制也存在于菌痢，这或许是在优势流行菌型正由F2a变为F1b时，两价菌苗口服免疫的效果F1b优于F2a的原因之一。此外，Mel等认为：多价菌苗两型间不存在拮抗作用^[9, 13]。但是我们发现：虽然服用的二价菌苗在服前以等量活菌数混合的，但福氏1b菌苗的粪便排出期和排出率均高于福氏2a菌苗(表5)。且两型菌苗随粪便排出期均短于一周，这种排出模式与非致病性大肠菌K12相似^[15]，说明这两个菌苗株均不能在肠粘膜表面定居，而仅仅是通过胃肠道。然而与Levine的发现一样^[7]，我们也观察到福氏1b菌苗的人间传递现象(24名对照组成员，有二人粪便中检出1b菌苗株)。看来福氏1b菌苗在人肠道中可能有某种程度的繁殖。这可能有助于刺激肠道淋巴组织以产生局部免疫性，但也可能因此而干扰了福氏2a菌苗，并导致其无效。这究竟是型间拮抗的结果，还是Walker等^[17]和Andre^[18]所发现的免疫机体对特异性抗原的肠道排斥作用呢？也不得而知。但作为一种现象，看来菌苗在肠道的时间和数量与菌苗效果有一定关系。

表5 两型菌苗的粪便排出期

菌苗 观察 型别 人数	服 菌 苗 后 天 数							
	1	2	3	4	5	6	7	8
f1b 41	41	41	31	6	4	0	0	0
f2a 41	16	3	1	0	0	0	0	0

Mel等认为依链株菌苗所产生的免疫具有型特异性。本次试验发现其他型的发病率在免疫组也低于对照组(无统计学差异)，这是一种巧合还是型间的交叉保护呢？Levine用带有福氏2a群、型抗原的大肠菌免疫志愿者，不能保护福氏2a毒菌的感染^[6]，王秉瑞等认为血

清型抗原与免疫力之间的关系并不完全平行，而似与同源菌株有关^[19]，Hale等发现福氏2a耐热表面抗原在侵入上皮细胞过程中，并不起决定作用^[20]，看来痢菌的保护性抗原究为何物，尚难确定。因此很难解释上述现象。

我们最感兴趣的是，第二年用一剂加强剂取得抗福氏1b菌痢保护效果。用这种剂量作初次免疫是不可能有效的^[1, 10]，或许肠道免疫记忆可因菌苗抗原刺激而迅速活化。如无其它因素参与这一过程，这种免疫记忆可维持一年。第三年，肠溶衣丸菌苗加强免疫无效的重要原因可能是活菌数太低，不能刺激肠道免疫组织产生足够的免疫力或使局部免疫记忆活化。事实上据另一使用同一菌苗现场的测定得知，活菌数只有出厂时是符合标定数的，其后逐渐下降。

安全性：1977年我们系统地观察了所有受试者对菌苗和安慰剂的反应(表6)，主要是不经任何治疗即可很快消失的胃肠道反应，反应发生率在第二、三剂免疫时明显下降。虽然少数有反应者不愿接受再次免疫可使反应率稍稍下降，但多数有反应者均接受再次免疫，未

表6 1977年口服免疫后反应

观察 人数	第一剂		第二剂		第三剂	
	免疫组	对照组	免疫组	对照组	免疫组	对照组
恶心	65 (4.0) ^①	9 (0.6)	45 (3.0)	7 (0.5)	27 (1.9)	3 (0.2)
呕吐	3 (0.2)	0	2 (0.1)	0	0	0
腹泻	7 (0.4)	2 (0.1)	7 (0.5)	5 (0.3)	0	0
腹痛	25 (1.6)	8 (0.5)	19 (1.3)	11 (0.7)	4 (0.3)	0
腹胀	16 (1.0)	1 (0.06)	5 (0.3)	0	5 (0.4)	1 (0.07)
肠鸣	4 (0.2)	0	4 (0.3)	0	1 (0.07)	0
头晕	2 (0.1)	0	2 (0.1)	0	0	0
皮疹	2 (0.1)	0	2 (0.1)	0	0	0
脓血便	2 (0.1)	0	0	0	0	0

①出现反应例数，括号内为发生率(%)。

接受全程免疫者多因其它原因。据笔者自身体验以及对照组也有类似反应发生，看来部分反应可能与菌苗的特殊臭味和心理状态有关。

值得注意的是，服苗后12~24小时，有二例发生一过性血便，一例没有任何不适，且未经治疗很快康复，另一例给予抗菌素后也迅速痊愈。原因不清，两例粪便中均未检出痢疾杆菌和菌苗返祖株。还有两例，在第一、二次服苗后1~2小时内均出现全身性粟粒样红疹，未服第三剂，经抗过敏治疗康复。还有一例在服苗12小时后出现会阴部搔痒，继而阴茎水肿，我们认为与菌苗无关，而是巧合。

除了人间传递之外，我们还发现福氏1b菌苗株在生产过程和通过肠道后出现抗菌素不依赖返祖。理论上，依链株的选育途径可防止在缺乏链霉素时苗株的繁殖，而且即使出现抗菌素不依赖返祖株，它仍保持原有的不侵入上皮细胞特性。虽然我国服用这型菌苗的17,000余人中未见由返祖株造成的病例；该村福氏1b和2a菌痢的发病率逐年下降；人间传递有助于通过密切接触而扩大免疫面；且低度的抗菌素不依赖性返祖可能有助于刺激局部免疫组织，但也可能由于肠道传代使遗传不稳定的细菌经历一个毒性选择的过程。

菌痢的控制是目前世界许多地方期待解决的一个卫生问题，其控制有可能通过活菌苗来实现。依链株菌苗虽有一定效果，但由于需服用多次大剂量菌苗，并需用碳酸氢钠作予处理，其实际应用很受限制。我们期待着一种不能侵入上皮细胞，但能在肠粘膜表面定居，以提供

足够的抗原刺激产生局部免疫的安全、有效的痢疾活菌苗。

小 结

本文报告了两价依链株菌苗(F1b和F2a)的现场试验结果，F1b菌苗可产生至少三个月的保护，这种保护可在来年用一剂加强剂而再次获得。但F2a菌苗无效。讨论了所发现的一些问题。

参 考 文 献

1. Mel DM et al: Bull WHO, 32: 647, 1965.
2. Белая ЮА и др: Acta Microbiol Acad Sci Hung, 21: 63, 1974.
3. Levine MM et al: Am J Epidemiol, 96: 40, 1972.
4. Levine MM et al: J Infect Dis, 127: 261, 1973.
5. Dupont HL et al: Ibid, 125: 12, 1972.
6. Levine MM et al: Ibid, 136: 577, 1977.
7. Levine MM et al: Ibid, 131: 704, 1975.
8. Thorne GM et al: Ibid, 136: 601, 1977.
9. Mel DM et al: Bull WHO, 39: 375, 1968.
10. 河南省防疫站等: 痢疾依链株口服活菌苗的现场研究, 内部资料, 1980.
11. Intestinal Immunity and Vaccine Development: A WHO Memorandum. Bull WHO, 57: 719, 1979.
12. Report of the First Meeting of the Scientific Working Group on Bacterial Enteric Infections: Microbiology, Epidemiology, Immunology and Vaccine Development. (WHO/CDD/BEI/80.2)
13. Mel DM et al: Bull WHO, 45: 457, 1971.
14. Levine MM et al: Am J Epidemiol, 104: 88, 1976.
15. Smith HW Nature, 255: 500, 1975.
16. Horsfall DJ et al: Aust J Exp Biol Med Sci, 57: 271, 1979.
17. Walker WA et al: Science, 177: 608, 1972.
18. Ander C et al: Eur J Immunol, 4: 701, 1974.
19. 王秉瑞、江丽君: 中华微生物学和免疫学杂志, 1: 191, 1981.
20. Hale TL et al: Infect Immun, 24: 879, 1979.

从蝙蝠分离出一株钩端螺旋体

云南省红河州防疫站 张丕顺

1980年，我们在个旧市蛮耗地区开展钩端螺旋体带菌动物调查。捕获马铁菊头蝠(*Rhinolopnus ferrumequinum schreber*)65只，经以钩体常规检验，从其中1只分离出1株钩体。经以成都生物制品所13群15型标准血清鉴定，该株属流感伤寒群，效价

为 $r: 1,600$ 。

用该株培养物0.5毫升，接种幼年豚鼠，仅呈轻度发病指征。接种后14日剖验，仅有肺少许出血、肾上腺皮质轻度肿胀，未见其它病变。从该豚鼠肾组织分离出相应的钩体菌株。据此，确认本菌为弱毒株。