

## · 国家重点课题总结 ·

# 甲型肝炎减毒活疫苗保护效果与应用策略研究

项目名称:甲型肝炎减毒活疫苗的现场预防效果考核及提高疫苗产量与质量的研究、  
规范化甲型肝炎减毒活疫苗保护效果及免疫策略的研究

项目来源:国家“八五”科技攻关项目(85-916-01-01)、  
国家“九五”科技攻关项目(96-906-03-01)

项目负责人:徐志一(200032 上海,复旦大学公共卫生学院流行病学教研室)

起止时间:1992~2000 年

项目获奖:2001 年度国家科技进步二等奖

本研究课题旨在应用流行病学、免疫学及应用数学的原理及技术,考核我国自行研制的、国际上所独有的甲型肝炎(甲肝)减毒活疫苗的免疫原性及保护效果,并研究符合我国国情的甲肝免疫预防策略。

通过课题协作组近 10 年的努力,我们确定了疫苗的规范化滴度,规范化甲肝减毒活疫苗的免疫原性,预防发病、感染与暴露后预防效果,对比了活疫苗与国外灭活疫苗的免疫原性以及单剂免疫与加强免疫的免疫原性,测定了活疫苗免疫后抗体持久性,改进了活疫苗滴度的测定方法,确定了甲肝疫苗的初免年龄,成人免疫效果,与免疫球蛋白联合免疫效果,测算了不同免疫方案的成本效果,根据流行病学调查结果,初步建立了甲肝数学模型,并用于预测各种免疫方案的远期效果,提出了我国甲肝免疫策略。

国外采用甲肝灭活疫苗,并未研究甲肝减毒活疫苗的实际应用。国内其他单位对甲肝活疫苗免疫效果与免疫策略的研究很少,且不系统。作为国家攻关课题的负责单位,我们对甲肝减毒活疫苗免疫效果与免疫策略进行了多方面的系统的研究。

### 一、初期甲肝减毒活疫苗效果评价

1992 年开始考核国产甲肝减毒活疫苗效果,当时该疫苗已获准上市,不能使用安慰剂对照,遂以儿童出生月份单双数为标准,将河北省正定农村 1 010 名甲肝抗体阴性的易感儿童,随机分为接种组(单月出生 535 人)或对照组(双月出生 475 人)。但单月出生者 52 人(9.7%)拒种,双月出生者 89 人(18.7%)误种。3 个月后,该现场甲肝爆发性流行。单月出生组甲肝发病率 6.9%(37/535),双月出生组 13.7%(65/475),单月出生组发病率比双月出生组下降 49.7%( $P < 0.01$ )。在不破坏随机分组条件下,两组发病率仍有统计学差异,显然应归功于单月出生组多数人接种过疫苗,因此认为接种甲肝减毒活疫苗有效。进一步分析,拒种组甲肝发病率为 15.5%(8/52),误种组发病率为 4.5%(4/89),分别同双月出生的非接种组发病率 15.8%(61/386)和单月出生接种组发病率 6.0%(29/483)相似,因而分别将接种组与非接种组合

并,得到接种组发病率 5.8%(33/572),非接种组 15.8%(69/438),接种组发病率下降 63.3%(95% CI:48.9%~77.9%)。由于拒种组与误种组发病率同非接种组与接种组相似,这项开放性现场试验得以成立,并由此得出疫苗接种效果不高的结论。接种者甲肝抗体阳转率 38%,疫苗滴度为  $10^{5.5}$ TCID<sub>50</sub>(表 1)<sup>[1]</sup>。

表 1 河北省正定农村儿童接种甲肝减毒活疫苗  
各种观察对象甲肝发病率

项 目	单月出生儿童		双月出生儿童	
	接种组	漏种组	对照组	误种组
观察对象数	483	52	386	89
发病人数	29	8	61	4
发病率(%)	6.0	15.4	15.8	4.5

### 二、甲肝减毒活疫苗滴度与抗体反应的剂量效应关系

我们认为疫苗效果不佳可能是由于剂量不足。1994 年在正定易感儿童中进行随机分组观察疫苗剂量与抗体效应关系。46、52 和 39 名学龄前儿童分别接受剂量为  $10^{6.83}$ TCID<sub>50</sub>(A)、 $10^{6.5}$ TCID<sub>50</sub>(B)或  $10^{6.17}$ TCID<sub>50</sub>(C)甲肝减毒活疫苗。我们又设想,活疫苗以  $10^{5.5}$ TCID<sub>50</sub>剂量,尚且不足以预防甲肝,疫苗效果可能同大剂量抗原刺激亦有关系,于是又将  $10^{6.83}$ TCID<sub>50</sub>剂量疫苗以 60℃ 3 h 灭活,对第四组(D)易感儿童 23 人免疫,考验大剂量疫苗灭活后效果。免疫后甲肝抗体阳转率为 A 组 95.7%(44/46),B 组 90.4%(47/52),C 组 79.5%(31/39),D 组 73.9%(17/23)。可见剂量效应关系成立,并提出规范化活疫苗剂量应在  $10^{6.5}$ TCID<sub>50</sub>以上。这项结论当即被卫生部采纳。活疫苗 60℃ 3 h 灭活后抗体阳转率虽降低(D 组),仍在 73.9%,表明大量抗原刺激与病毒有限增殖同为疫苗免疫机制组成部分,并推论近期内加强免疫可能有效<sup>[2]</sup>。

### 三、甲肝减毒活疫苗滴度测定方法的研究

规范化甲肝减毒活疫苗需有规范化的滴度检定方法,以确保疫苗滴度在  $10^{6.5}$ TCID<sub>50</sub>/ml 以上。目前常规使用的 ELISA 终点滴定法,系将样品以 10 倍系列稀释,每个稀释度

接种 4 个细胞瓶。我们经过实验表明,由此测得的滴度的 95% CI 在  $\pm 10^{0.77} \text{TCID}_{50}$  范围内。换言之,滴度为  $10^{6.0} \text{TCID}_{50}$  疫苗有大于 5% 的机会被判为  $10^{6.5} \text{TCID}_{50}$  以上。由此造成失误的例子是有的。如某次用现行滴定方法测得疫苗滴度为  $10^{6.5} \text{TCID}_{50}$ , 但抗体阳转率仅为 57%。我们建议采用 2 倍系列稀释,每个稀释度接种 8 个细胞瓶,实验表明,其 95% CI 为  $\pm 10^{0.18} \text{TCID}_{50}$ , 如疫苗按此法以  $10^{7.0} \text{TCID}_{50}$  滴度通过检定,则实用中将几无失误之虞<sup>[3]</sup>。

#### 四、甲肝减毒活疫苗预防效果考核

1996 年在上海、河北、广西等地 43 万余儿童中,对 H<sub>2</sub> 与 LA-1 两株甲肝活疫苗,用个体或整群随机法(以学校或村为群单位)进行随机分组,两组各 12 万~13 万人。在 3 年观察期间,对照组出现 115 例,疫苗组仅出现 3 例,保护率为 97.5%。个体随机分组试验中,2 株疫苗保护率均为 95%。其中 LA-1 株个体随机分组试验保护率 95.0%,95% CL 下限为 87.1%。整群随机分组试验保护率 100.0%,95% CL 下限为 86.3%。H<sub>2</sub> 株个体随机分组试验保护率为 94.9%,95% CL 下限为 73.6%。整群随机分组试验保护率 100%,95% CL 下限为 97.1%。

为考验这项开放性试验中的偏差,我们对 H<sub>2</sub> 株试验对象同时观察了急性甲肝与急性乙肝发病率,结果在个体与整群随机试验中,均发现接种组与对照组之间乙肝发病率相似,而甲肝发病率差异有显著性(表 2)。本次试验中,疫苗接种由卫生防疫站人员完成,病例发现与报告由医院按常规进行。由于干预措施同病例发现分别由两个系统执行,虽未采用安慰剂作双盲试验,两组急性乙肝发病率相似,所造成的偏差似不明显<sup>[4]</sup>。

表 2 开放性试验中两组甲肝、乙肝发病率(10 万)

组别	接种组			对照组			P 值
	观察数	病例数	发病率	观察数	病例数	发病率	
个体随机法							
甲肝	27 668	1	3.6	31 224	22	70.5	<0.001
乙肝	27 668	1	3.6	31 224	2	6.4	>0.050
整群随机法							
甲肝	84 412	0	0.0	79 254	20	25.2	<0.001
乙肝	84 412	9	10.7	79 254	10	12.6	>0.050

#### 五、甲肝减毒活疫苗预防甲肝感染效果

对随机分入接种组与对照组各 802 名与 758 名甲肝易感者连续观察 3 年,无症状甲肝新感染率(甲肝总抗体滴度  $\geq 1:100$ ) 各为 3.12% 与 3.56%, 感染后甲肝抗体滴度各为 1:348 (1:242~1:501) 与 1:565 (1:411~1:777), 均差异无显著性,接种两针活疫苗或史克灭活疫苗滴度均为 1:20 左右,表明活疫苗免疫后不久即可发生隐性感染,刺激抗体上升,抗体滴度远远超过疫苗免疫<sup>[4]</sup>。

#### 六、甲肝减毒活疫苗暴露后预防效果

在一次小学生甲肝爆发的中后期,进行甲肝疫苗免疫,

共采血 3 次,测定甲肝总抗体。第一次采血在接种疫苗之际,得到易感者与感染者名单,作为背景资料。第二次在免疫后 18 d 相当于最短潜伏期,这一期间发病的可视为疫苗接种前感染者。第三次采血在最后一例发病后 1 个月,期望获得流行全期发病与感染人数。

结果接种组与非接种组在免疫后 18 d,甲肝新感染率分别为 5.4%(5/92) 与 7.4%(13/175)。18 d 至流行结束,两组感染率分别为 2.4%(2/83) 与 3.2%(5/156); 甲肝发病率分别为 1.2%(1/83) 与 1.3%(2/156), 均无统计学差别。甲肝活疫苗似不能提供暴露后预防<sup>[5]</sup>。

在苏州地区进行的一项随机对照试验中,使用 H<sub>2</sub> 株与 LA-1 株( $10^{5.5} \text{TCID}_{50}$ ) 免疫后 60 d 内,接种组与对照组发病率无区别,以后才显现疫苗预防效果,可见活疫苗用于暴露后预防效果不明确。

#### 七、甲肝减毒活疫苗加强免疫研究

对既往低剂量( $10^{5.5} \text{TCID}_{50}$ ) 疫苗随机对照试验对象进行加强免疫研究。54 名既往接种组儿童与 69 名既往对照组儿童于既往免疫后 24 个月再各给予一剂  $10^{5.5} \text{TCID}_{50}$  活疫苗,作为加强与初免。加强免疫组初免后 3 个月、24 个月(加强免疫前),加强免疫后 2 周与 3 个月共采血测定甲肝抗体 4 次。既往对照组则于本次免前、免后 2 周与 3 个月采血 3 次。

加强免疫组甲肝抗体阳性率在初免后 3 个月为 29.6% (16/54), 24 个月(加强前)为 14.8% (8/54), 加强免疫 2 周后为 59.2% (32/54), 加强免疫 3 个月为 64.8% (35/54)。加强免疫前与加强免疫 2 周与 3 个月后的抗体几何平均滴度分别为 57.5、166.3 和 126.5 mIU/ml, 可见加强免疫 2 周与 3 个月后的抗体阳性率与抗体几何平均滴度均相似,为典型的二次性抗体反应,显然是抗原刺激所致,因病毒增殖需 2 周以上。初免组抗体阳性率在免疫后 2 周为 5.8% (4/69), 免疫后 3 个月为 29.0% (20/69), 同免后 24 个月加强免疫组免后 3 个月抗体反应相同,是为明确的原发性抗体反应<sup>[6]</sup>。

用规范化活疫苗免疫 2 次,间隔 12 个月,抗体反应与史克灭活疫苗相似,但国产疫苗价格低廉,为其优点。活疫苗间隔 12 个月再次免疫,效果优于间隔 6 个月、2 个月或 1 个月。间隔愈短,效果愈差。近期内活疫苗再次免疫得以成功,是活疫苗的一个特征<sup>[7]</sup>。规范化活疫苗是否以及何时需要再次免疫,需要进一步研究。

#### 八、母传抗体对活疫苗免疫的干扰

母传甲肝抗体于出生 6 个月后快速下降,但 16 月龄时仍有 3.8% 儿童持有母传甲肝抗体。对 54 名 2~4 月龄婴儿用活疫苗免疫,其中 36 名婴儿母亲甲肝抗体为阳性,18 名为阴性。免后 2 个月,54 名婴儿甲肝抗体全部阳性,无法鉴别该抗体是否由疫苗所诱导。3 周岁时,母传抗体消失,发现母亲甲肝抗体阳性组儿童抗体阳性率仅为 13.8% (5/36), 母亲抗体阴性组儿童抗体阳性率为 66.7% (12/18), 有统计学差异 ( $P < 0.01$ )。婴儿免疫时,母亲甲肝抗体滴度愈高,婴儿免疫成功率愈低。当母亲抗体滴度分别为 1:1、1:10、1:100、

1:1 000 时, 婴儿免后 3 年甲肝抗体阳性率分别为 40.0%(2/5)、37.5%(3/8)、5.0%(1/20) 和 0%(0/5), 有着明显的剂量效应关系( $\chi^2_{\text{trend}} = 6.28, P = 0.012$ )。因此, 儿童免疫年龄应在 18 月龄以上<sup>[8]</sup>。

#### 九、甲肝预防策略研究

预防甲肝与其他肠道传染病的根本措施在于提高卫生水平, 切断传播途径。但改善卫生状况与提高经济水平并非一朝一夕之功, 因此疫苗预防, 势在必行。然而, 大规模疫苗免疫虽得以迅速控制甲肝, 但一旦疫苗有效期终止, 并停止接种时, 疾病传播将恢复如故。如在一次模拟研究中<sup>[9]</sup>, 假定人群中 80% 因疫苗免疫获得保护, 保护期 10~15 年后接种群体发病率反高于不接种者, 且因人工免疫消失后易感率高出数倍, 发病人数剧增。

目前, 实际存在两种免疫策略:

- (1) 对高危人群实施免疫接种;
- (2) 将甲肝疫苗纳入儿童常规免疫。

两种方案的选择取决于发病率高低与发病危险因素。当采用后一种策略时, 应有远期规划, 对初免儿童经过适当间隔期予以加强接种, 以保证终身免疫。

#### 十、待进一步研究的问题

- (1) 规范化甲肝减毒活疫苗的远期保护效果;
  - (2) 甲肝活疫苗加强免疫时机与剂量;
  - (3) 甲肝活疫苗与灭活疫苗远期免疫效果的比较;
  - (4)  $10^{6.5} \text{TCID}_{50}$  免疫一次以及  $10^{6.0} \text{TCID}_{50}$  免疫二次的远期免疫原性比较;
  - (5) 甲肝活疫苗免疫后隐性感染者远期转归的研究;
  - (6) 甲肝活疫苗远期保护效果的免疫学指标研究;
  - (7) 规范化滴度活疫苗与免疫球蛋白联合免疫的研究;
  - (8) 甲肝活疫苗与其他疫苗联合免疫的研究;
  - (9) 甲肝活疫苗与灭活疫苗成本-效果比较;
  - (10) 甲肝活疫苗大规模使用后甲肝流行特征变化的研究。
- 本研究协作单位及主要参加人员: 复旦大学公共卫生学

院 徐志一、汪萱怡、欧阳佩英、赵守军、刘翌、李新华、田美英、周联娣; 浙江省医学科学院 柴少爱、庄成、毛江森; 卫生部长春生物制品研究所 王鹏富、刘景晔; 中国医学科学院昆明医学生物学研究所 褚嘉佑、胡云章、侯宗柳、董德祥; 中国药品生物制品检定所 万宗举; 广西壮族自治区卫生防疫站 杨进业、李荣成、龚健、李艳萍、罗东、黄全诚、江世平、李可刚、黄兆能; 河北医科大学 张勇、马景臣、陈吉朝、邢占春、韩常全、张英林; 河北省卫生防疫站 孟宗达、赵玉良、刘洪斌; 上海市疾病预防控制中心 李燕婷、吴寰宇、沈荣明、张爱香

(徐志一、汪萱怡、赵守军 整理)

#### 参 考 文 献

- 1 Xu ZY, Wang XY, Zhang Y, et al. A review of studies on efficacy and immunogenicity of two live attenuated hepatitis A vaccine. Chinese Medical Sciences Journal, 1999, 14(suppl): 1-4.
- 2 汪萱怡, 马景臣, 张勇, 等. 不同剂量甲型肝炎减毒活疫苗免疫原性与免疫持久性观察. 中华流行病学杂志, 2001, 22: 111-113.
- 3 汪萱怡, 徐志一, 田美英, 等. 甲型肝炎减毒活疫苗检定方法精确度的探讨. 中国生物制品学杂志, 2001, 14: 168-170.
- 4 徐志一, 汪萱怡, 李荣成, 等. 甲型肝炎减毒活疫苗免疫原性与保护效果的研究. 中华医学杂志, 2002, 82: 678-681.
- 5 汪萱怡, 马景臣, 徐志一, 等. 甲型肝炎减毒活疫苗暴露后预防效果观察. 中华医学杂志, 2002, 82: 955-957.
- 6 刘翌, 徐志一, 欧阳佩英, 等. 甲型肝炎减毒活疫苗再免疫的研究. 中华预防医学杂志, 1998, 32: 162-164.
- 7 汪萱怡, 孟宗达, 李荣成, 等. 甲型肝炎减毒活疫苗与灭活疫苗免疫效果的比较. 中华医学杂志, 2000, 80: 422-424.
- 8 Xu ZY, Zhang Y, Ouyang PY, et al. Interference of maternal antibody with live attenuated hepatitis A vaccine. Chinese Medical Sciences Journal, 1999, 14(suppl): 5-7.
- 9 徐志一, 赵守军, 欧阳佩英, 等. 甲型肝炎疫苗预防效果与应用策略. 中华预防医学杂志, 1996, 30(增刊): 3-5.

(收稿日期 2002-06-21)

(本文编辑 张林东)

## · 消息 ·

### 《中华流行病学杂志》2003 年改月刊及征订启事

《中华流行病学杂志》2003 年改为月刊。本刊是由中华医学会主办的流行病学及其相关学科的高级专业学术期刊、国内预防医学和基础医学核心期刊、国家科技部中国科技论文统计源期刊, 并被美国国立医学图书馆医学文献联机数据库收录。读者对象为预防医学、临床医学、基础医学及流行病学科研与教学工作者。征稿内容: 重点或新发传染病现场调查与控制, 慢性非传染病的病因学及流行病学调查(含社区人群调查), 干预与评价, 环境污染与健康, 食品安全与食源性疾病, 流动人口与疾病, 行为心理障碍与疾病, 分子流行病学、基因学与疾病控制, 我国西部地区重点疾病的调查与控制等。本刊设有述评、重点原著、现场调查、实验研究、临床流行病学、疾病控制、基础理论与方法、国家重点课题总结、文献综述、问题与探讨等重点栏目。

本刊为大 16 开本 72 页, 全年出版 12 期, 每期定价 9.00 元(含邮费), 全年 108.00 元, 由全国各地邮局统一订阅, 邮发代号 2-73。本刊编辑部常年办理邮购, 漏订者可直接汇款至我部。地址: 北京昌平流字五号《中华流行病学杂志》编辑部, 邮编: 102206, 电话(传真) (010) 61739449, Email: lxbonly@public3.bta.net.cn 欢迎广大读者踊跃投稿, 积极订阅。