

· 现场调查 ·

肾综合征出血热疫苗免疫后血清学监测

龚震宇 翁景清 赵芝雅 陈毓土 祝阿根 傅桂明 方春福
朱智勇 陈恩富 汪垂章 王玮 雷林海 王臻

【摘要】 目的 监测肾综合征出血热(HFRS)疫苗免疫接种人群血清抗体水平变化并评价疫苗血清学效果。方法 以村为单位,16~60岁健康者(删除既往患HFRS者、外出>9个月及疫苗禁忌症者)为观察对象,按接种和对照各半的原则随机分组,接种组共10460人,对照组16159人。采用间接免疫荧光法测特异性IgG荧光抗体,用微量细胞病变中和试验测中和抗体。结果 接种前血清抗体阴性者全程接种后2周荧光抗体阳转率为100.0%(67/67,95%CI:96.3~100.0),中和抗体阳转率为44.4%(8/18,95%CI:22.0~69.0),几何平均滴度分别为72.1和4.6。1年后进行加强免疫,加强免疫前、免疫后2周、免疫后1年、1.5年、2年、3年和5年,荧光抗体阳性率分别为28.6%、83.3%、75.0%、53.1%、22.6%、10.0%、55.0%;中和抗体阳性率分别为14.8%、55.6%、35.0%、31.3%、26.0%、10.0%、50.0%。免疫(感染)增强反应需要进一步研究。结论 HFRS疫苗免疫效果良好,血清抗体持续时间较长。

【关键词】 肾综合征出血热;灭活疫苗;血清学;监测

Serological surveillance on hemorrhagic fever renal syndrome after vaccination GONG Zhen-yu*, WENG Jing-qing, ZHAO Zhi-ya, CHEN Yu-tu, ZHU A-gen, FU Gui-ming, FANG Chun-fu, ZHU Zhi-yong, CHEN En-fu, WANG Chui-zhang, WANG Wei, LEI Lin-hai, WANG Zhen. *Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Province, Hangzhou 310009, China

【Abstract】 Objective To observe the serological and epidemiological efficacy of hemorrhagic fever renal syndrome (HFRS) vaccine in Zhejiang province. **Methods** Immunofluorescent antibody assay and Micro-CPE method were used to test specific IgG antibody and the titer of neutralizing antibody. **Results** Two weeks after the injection of the third dose, the sero-conversion rates by both immunofluorescent antibody test (IgG) and neutralization test were 100.0% (67/67) (95% CI: 96.3-100.0) and 44.4% (8/18) (95% CI: 22.0-69.0) with geometric mean titers (GMTs) 72.1 and 4.6 respectively. The rates of seroconversion of immunofluorescent antibody by immunofluorescence antibody assay (IFA) were 28.6%, 83.3%, 75.0%, 53.1%, 22.6%, 10.0% and 55.0% before reinforcement, two weeks, one year, one year and a half years, two years, three years and five years after reinforcement. The rates of neutralizing antibody seroconversion by the Micro-CPE method were found as 14.8%, 55.6%, 35.0%, 31.3%, 26.0%, 10.0% and 50.0% respectively. We found some antibody dependent immunization enhancement phenomenon among the inoculated population, but further observation was needed. **Conclusion** HFRS vaccine was immunologically effective and the duration of serous antibody last long.

【Key words】 Hemorrhagic fever renal syndrome; Inactivated vaccine; Serology; Surveillance

肾综合征出血热(HFRS)是我国重点防治的传染病之一,我国已经研制成功HFRS灭活疫苗,人群保护率在90%以上^[1]。为进一步观察高发疫区人群接种疫苗后的血清抗体变化,我们对鼠脑纯化灭活(I型)疫苗开展了长达6年的血清学监测,现将结果报告如下。

对象与方法

1. 疫苗:采用卫生部兰州生物制品研究所研制生产的HFRS乳鼠脑纯化(I型)灭活疫苗,批号950201,按冷链要求运输和保存。1995年8月基础免疫,1996年8月加强免疫。

2. 试验区选择:选择领导重视、当地医疗卫生人员熟悉HFRS诊断与治疗、人口流动性小、群众生活习惯等基本相同、卫生防疫保健网较健全、交通方便的野鼠型HFRS高发区——浙江省龙游县的溪口镇为疫苗试点区,本试验区HFRS I型患者占

基金项目:国家九五医学科技攻关课题资助项目(96-906-03-13)

作者单位:310009 杭州 浙江省疾病预防控制中心(龚震宇、翁景清、赵芝雅、傅桂明、朱智勇、陈恩富、王臻);龙游县疾病预防控制中心(陈毓土、祝阿根、雷林海);衢州市疾病预防控制中心(方春福、汪垂章、王玮)

84.38% ,开展试验前的1990~1994年年均发病率高达104.52/10万。

3.对象与方法:以村为单位,选择16~60岁男女健康人群,删除既往患HFRS、外出>9个月及疫苗禁忌症者,按接种和对照各半的原则随机分组,登记造册,年龄、性别、职业构成基本均衡。接种组于0、7、28天上臂三角肌内注射HFRS疫苗1ml。1年后加强一针,方法同上。对照组未采取任何干预措施。两组都加强观察和随访。

4.健康人群隐性感染率:试前用滤纸采健康人群耳垂血,用免疫荧光抗体试验(IFAT)法检测特异性IgG抗体,计算隐性感染率。

5.血清学效果评价:疫苗接种前、全程接种后14天、加强针接种前和接种后14天以及加强针接种后1年、1.5年、2年、3年、5年,对固定人群(第一次按照行政村分布均衡、年龄组分布均衡、男女各半、不长期外出、依从性良好、便于观察等原则按照全国统一的方案并考虑失访率,随机选择了86人,此86人各方面的分布与接种组基本一致,以后每年都在这86人中采血监测)无菌采集静脉血3~5ml。分离血清,每份分成二管,一管用IFAT法测特异性IgG荧光抗体,另一管冷藏送中国药品生物制品检定所用微量细胞病变中和试验(MCPENT)测中和抗体(前4次因样本量大,根据全国方案只送了一部分检测中和抗体)。对非固定人群采耳垂微量血检测特异性IgG荧光抗体。荧光抗体以 $\geq 1:10$ 为阳性,中和抗体滴度 $\geq 1:5$ 为阳性。

6.免疫(感染)增强反应观察:

(1)接种组和对照组患者进行血清学分型,并比较临床分型的轻重。

(2)流行高峰前、后,对同一名疫苗接种者分别采血,检测特异性IgG荧光抗体滴度,具体方法是在流行前和流行后(包括加强免疫前后)分别采取耳垂微量全血100 μ l(相当于50 μ l血清),现场将血标本放到装有0.5ml抗凝剂的PBS中,使成1:10血清,用IFA法定性,阳性者再测定抗体滴度。

7. IFAT试剂和操作由浙江省疾病预防控制中心提供并完成。

结 果

1.疫苗接种组和对照组年龄、性别、职业分布:第一次接种10460人,完成全程接种10178人,占97.30%。对照组16203人,全程观察16159人,占

99.73%。接种和对照组在年龄、性别、职业分布上基本相同。

2.健康人群隐性感染率:采集健康人群耳垂血1016人份,HFRS特异性抗体阳性58例,隐性感染率为5.7%。

3.隐性感染者血清学效果观察:40名隐性感染者全程免疫2周后,有10人免疫荧光抗体滴度1:320,占总观察人数的25%,1:80和1:160各5人。几何平均滴度(GMT)为1:57.5。与普通人群比较差异无统计学意义($\chi^2=3.7, P>0.05$)。接种反应轻微。

4.血清学效果观察:共全程接种10178人,对固定人群连续观察,其中第1次接种前血清荧光抗体阴性的86人全程基础免疫后第14天采血67人,特异性IgG抗体阳转率达100.0%,GMT为72.1。接种前血清中和抗体阴性的18人全程基础免疫后阳转8份,阳转率为44.4%,GMT为4.6。1年后加强免疫前荧光抗体阳性率只有28.6%,显著低于基础免疫后14天的抗体水平($\chi^2=73.2, P<0.01$),中和抗体阳性率也低于基础免疫后14天的抗体水平($\chi^2=4.9, P<0.05$)。加强免疫后14天荧光抗体阳性率比加强免疫前显著上升($\chi^2=30.2, P<0.01$),GMT比加强免疫前上升了1.77倍;中和抗体阳性率也比加强免疫前显著上升($\chi^2=9.8, P<0.01$),GMT比加强免疫前上升了1.76倍。基础免疫后2年(即加强免疫后1年),血清荧光抗体阳性率和中和抗体阳性率都与加强免疫后14天差不多($P>0.05$)。基础免疫后3年,荧光抗体下降明显($P<0.05$),而中和抗体下降不明显($P>0.05$),基础免疫后第5年没有采血,而第6年阳性率反而达50%以上(表1)。

表1 接种HFRS疫苗人群免疫后不同时间
荧光抗体和中和抗体滴度

接种时间	IFAT			MCPENT		
	人数	阳性率(%)	GMT(倒数)	人数	阳性率(%)	GMT(倒数)
基础免疫前	86	0.0	0.0	18	0.0	0.0
基础免疫后14d	67	100.0	72.1	18	44.4	4.6
1年	63	28.6	7.6	27	14.8	2.8
加强免疫后14d	42	83.3	13.5	27	55.6	4.9
1年	40	75.0	18.0	40	35.0	3.2
1.5年	32	53.1	4.3	32	31.3	2.1
2年	31	22.6	2.5	31	26.0	2.0
3年	10	10.0	5.4	10	10.0	1.2
5年	20	55.0	5.8	20	50.0	2.3

还对非固定人群进行了血清学动态观察,加强

免疫后 1 年(即流行前)采集了 319 份耳垂微量血, 荧光抗体阳性率为 38.7%; 加强免疫后 1.5 年(即流行后)采集了 337 份耳垂微量血, 荧光抗体阳性率为 24.6%; 加强免疫后 2 年, 299 份耳垂微量血荧光抗体阳性率为 10.9%; 加强免疫后 3 年采集了 122 份耳垂微量血, 荧光抗体阳性率为 32.5%; 加强免疫后 4 年采集了 150 份耳垂微量血, 荧光抗体阳性率为 48.0%, 可见, 该疫苗加强免疫后 4 年仍然保持了较高的抗体阳性率。

5. 免疫(感染)增强研究:

(1) 本试验区接种组无发病, 对照组 26 例病例进行血清学分型有 24 例为姬鼠(I)型病例, 2 例为家鼠(II)型, 与疫苗接种前一致, 临床分型轻型病例 17 例, 中型病例 5 例, 重型 1 例, 危重型 3 例。

(2) 隐性感染者接种疫苗后也没有发现免疫(感染)增强病例。

(3) 疫苗接种者再自然感染 HV 情况: 在每年 HFERS 发病高峰前和后分别对疫苗接种者采血检测抗体, 1995~2000 年共采血 432 份, 发现流行高峰后 185 人中共有 98 人抗体滴度阴转, 9 人抗体从阴转阳, 2 人抗体滴度呈 2 倍增高, 9 人抗体滴度呈 4 倍或 4 倍以上增高, 但都无临床表现。

本试区至今没有发现免疫(感染)增强病例, 需要进一步研究。

讨 论

张军等^[2]研究发现接种疫苗 1 年后血清抗体阳性率降至 18.3%, 加强免疫后抗体阳性率回升到 90.1%; 罗兆庄等^[3]发现接种疫苗 180 天后血清抗体阳性率降至 36.4%, 360 天后降至 4.6%, GMT 只有 10.0; 田君喜等^[4]也有类似发现, 与本文结果类似。说明 HFERS 疫苗全程接种后血清抗体持续时间较短, 加强免疫十分必要。我们建议 HFERS 疫苗的加强免疫时间应在 1 年内。因为 HFERS 单价疫苗 3 针全程基础免疫群众接受性较差, 而双价 HFERS 疫苗基础免疫程序已经从 3 针改为 2 针, 因此建议鼠脑 I 型疫苗生产单位要改进和纯化生产工艺, 加紧基因工程疫苗研究, 提高疫苗的免疫原性, 减少针次, 提高单价疫苗的卫生经济学价值, 有利于疫苗的推广使用。

本研究发现, HFERS 疫苗全程接种后血清荧光抗体阳性率高, 而中和抗体总体阳性率不高, 加强免疫后, 两者持续时间都较长。因为采血要求是同一

人, 反复多次采血非常困难, 所以导致免疫后第 3 年采血人数下降, 为了保证加强免疫后第 5 年的采血人数, 除了第 3 年采血的人群外, 还对另外一部分全程接种的人群采血, 第 5 年的采血人群与第 2 年和第 3 年的采血人群不完全一致, 但选择的标准是一致的, 得出的血清学监测结果偏高, 可能有人群、试剂和实验操作等因素影响, 但说明该疫苗在加强免疫后 5 年仍然有较高的抗体阳性率, 而现场实际的防病效果也很好。我们将对本试区疫苗接种人群继续观察疫苗的长期效果。

本研究对隐性感染者全程免疫, 抗体反应和接种反应都与一般人群无差异, 阮玉华等^[5]研究认为, 未发现 HFERS I 型灭活疫苗对接种人群隐性感染的发生有增强作用, 鉴于 HFERS 隐性感染率不到 6%, 我们认为在大面积推广使用 HFERS 疫苗时, 可以不做抗体筛检。

朱匡纪等^[6,7]研究发现, 实行以疫苗接种为主的综合性防治措施可以显著降低 HFERS 的发病率, 同时他认为疫苗接种小年龄组安全性和免疫效果较好。郑贵明等^[8]也认为 HFERS I 型灭活疫苗对小年龄儿童有较高的安全性和可靠的免疫效果。我们认为, 可以在高发疫区大规模推广接种 HFERS 疫苗, 同时考虑群众接受性, 可以适当降低年龄组, 以点带面, 先易后难, 辅以科学灭鼠和健康教育, 进一步控制 HFERS 的流行。

参 考 文 献

- 1 陈化新, 罗兆庄, 张家驹, 等. 肾综合征出血热疫苗预防效果和免疫策略研究. 中国公共卫生, 1999, 15:561-568.
- 2 张军, 童政, 周联娣, 等. 肾综合征出血热 I 型灭活疫苗加强免疫后抗体反应及流行病学效果. 中国媒介生物学及控制杂志, 1997, 8:342-344.
- 3 罗兆庄, 刘红, 王以银, 等. 安徽省肾综合征出血热 I 型灭活疫苗的安全性、免疫性及其流行病学效果考核. 中国媒介生物学及控制杂志, 1996, 7:257-262.
- 4 田君喜, 邢爱华, 范根蔚, 等. 陕西省肾综合征出血热疫苗中期效果评价及免疫增强研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 1997, 8:330-332.
- 5 阮玉华, 徐校平, 邵守坤, 等. 肾综合征出血热 I 型灭活疫苗接种和对照人群隐性感染的比较. 中华预防医学杂志, 1999, 33:308-310.
- 6 朱匡纪, 吴赛萍, 傅桂明. 实施以疫苗接种为主的综合性防治措施控制肾综合征出血热效果研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 1999, 10:371-373.
- 7 朱匡纪. 肾综合征出血热疫苗推广使用及防制效果评价. 中国公共卫生, 1999, 15:602.
- 8 郑贵明, 冯学灵, 阮孝连, 等. 儿童接种肾综合征出血热 I 型灭活疫苗效果. 中华预防医学杂志, 1998, 32:379.

(收稿日期 2003-03-28)

(本文编辑:尹廉)