

乙型肝炎高流行区母亲 HBsAg 阳性和阴性的儿童乙肝疫苗免疫后抗体水平动态观察

龚健 李荣成 李艳萍 杨进业 陈修荣 农艺 黄兆能 李娇 刘崇柏 庄辉

【摘要】 目的 探讨乙型肝炎(乙肝)高流行区母亲不同携带状况的新生儿乙肝疫苗免疫后抗体消长规律。方法 在广西隆安县对常规乙肝疫苗免疫并于 1 岁时证实抗-HBs 阳性的儿童,按其母亲 HBsAg 阳性与否分组。在 5~8 岁期间对每人随访 3 次,用 SPRIA 法检测 HBsAg、抗-HBs 和抗-HBc。结果 免疫儿童 5~8 岁时,母亲 HBsAg 阳性儿童和阴性儿童的随访抗-HBs 阳性率分别波动于 52.00%~78.00% 和 43.84%~54.74% 之间, GMT 为 55.36~95.66 mIU/ml 和 39.90~65.47 mIU/ml,各年龄间差异无统计学意义。同年龄组内呈现母亲 HBsAg 阳性儿童的随访抗体水平高于母亲 HBsAg 阴性儿童趋势。母亲 HBsAg 阴性的 6~8 岁儿童初次免疫(初免)抗体高滴度者,随访抗体阳性率分别是同年龄组初免抗体低滴度者的 2.29~2.84 倍。无论母亲 HBsAg 携带状况如何,儿童随访抗-HBs 滴度与初免抗体滴度比较均以下降为主,但母亲 HBsAg 阴性儿童下降率(84.91%)显著高于母亲 HBsAg 阳性儿童(61.54%)($\chi^2 = 28.7982, P = 0.000$)。随访抗体滴度较初免抗体 ≥ 4 倍增高者在母亲 HBsAg 阳性儿童中发生率(25.64%)显著高于母亲 HBsAg 阴性儿童(7.37%)(校正 $\chi^2 = 6.7661, P = 0.009$),是后者的 3.5 倍。HBsAg 阳转者均为初免抗-HBs 低滴度者。结论 免疫成功儿童在 5~8 岁期间的抗-HBs 水平下降缓慢。母亲携带 HBsAg 时,会增加免疫儿童自然感染的机会而引起自然加强免疫。初免抗-HBs 水平对预防 HBsAg 阳转极为重要。

【关键词】 乙型肝炎; 乙型肝炎疫苗; 乙型肝炎表面抗原; 乙型肝炎表面抗体

Dynamic study on the anti-HBs level of immunized children born to HBsAg-positive and HBsAg-negative mothers in hyperendemic area of hepatitis B GONG Jian*, LI Rong-cheng, LI Yan-ping, YANG Jin-ye, CHEN Xiu-rong, NONG Yi, HUANG Zhao-neng, LI Qiao, LIU Chong-bai, ZHUANG Hui.
*Guangxi Zhuang Autonomous Region Center for Disease Control and Prevention, Nanning 530028, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the dynamic changes of the anti-HBs level among immunized newborn infants born to HBsAg-positive and HBsAg-negative mothers in hyper-endemic area of Hepatitis B. **Methods** Infants who were regularly vaccinated with Hepatitis B vaccine and tested to be anti-HBs positive were divided into two groups according to HBsAg-positive or negative mothers in Long-an, Guangxi. Each subject was followed up 3 times during age 5 to 8. SPRIA was used to test HBsAg, anti-HBs and anti-HBc. **Results** During the follow-up period, positive rates of anti-HBs in children born to HBsAg-positive mothers ranged between 52.00% and 78.00%, and those with HBsAg-negative mothers was between 43.84% and 54.74%. GMT in two groups was between 55.36 mIU/ml and 95.66 mIU/ml as well as between 39.90 mIU/ml and 65.47 mIU/ml, respectively. There was no statistical significance in both positive rates and GMT between age groups. The anti-HBs level in the follow-up period of children born to HBsAg-positive mothers was higher than that of those born to HBsAg-negative mothers in the same age group. In the age group of 6-8 years with HBsAg-negative mothers, the positive rates in the follow-up period of children with high anti-HBs titers in the primary vaccination were 2.29-2.84 times of those with low titers. The anti-HBs titer of children in a follow-up period was lower than that in the primary vaccination, no matter whether they were born to HBsAg-positive mothers. However, the decline rate of children born to HBsAg-negative mothers was significantly higher than those born to HBsAg-positive mothers (84.91% vs. 61.54%; $\chi^2 = 28.7982, P = 0.000$). The incidence rate (25.64%) of a 4-fold increase in antibody titers of children born to HBsAg-positive mothers was significantly higher than that of children born to HBsAg-negative mothers (7.37%) from the primary vaccination to the follow-up period ($\chi^2 = 6.7661, P = 0.009$) with was 3.5 times of the latter. Subjects with HBsAg seroconversion were

those with low anti-HBs titers in primary vaccination. **Conclusion** The anti-HBs level decreased slowly in successfully immunized children from age 5 to 8. The chance of natural booster yielded by natural infection increased in immunized children born to HBsAg-positive mothers. The anti-HBs level in the primary vaccination played an important role in prevention of seroconversion of HBsAg.

[Key words] Hepatitis B; Hepatitis B vaccine; HBsAg; Anti-HBs

已有研究发现,新生儿乙型肝炎(乙肝)疫苗免疫后,刺激产生的抗-HBs滴度呈先快后慢下降趋势^[1,2],也有观察在乙肝疫苗免疫后抗体水平并非呈下降趋势^[3]。为了解乙肝高流行区不同携带状况母亲的新生儿乙肝疫苗免疫后抗体消长规律,探讨影响抗体持久性的因素,对广西隆安县乙肝疫苗免疫成功的儿童于免疫后第5-8年进行了随访。

对象与方法

1. 研究对象:在乙肝高流行区隆安县(自然人群 HBsAg 携带率为 16.0%~19.2%,HBV 感染率为 74.7%^[4])选择出生经乙肝血源疫苗(北京生物制品研究所生产)10 μg×3 剂量按常规程序(0,1,6)免疫并在 1 岁时采血检测抗-HBs滴度≥10 mIU/ml 且 HBsAg 和抗-HBc 均阴性的儿童为研究对象,同时对其母亲采血,按母亲检测 HBsAg 阳性与否将儿童分组。在研究对象 5~8 岁时每人随访 1~3 次,其中母亲 HBsAg 阳性儿童 107 人,5~8 岁随访人数分别为 26 人、66 人、67 人、44 人,完成 3 次随访者 39 人;母亲 HBsAg 阴性儿童 206 人,5~8 岁随访人数分别为 31 人、152 人、140 人、118 人,完成 3 次随访者 95 人。研究对象在全程初次免疫(初免)后均未乙肝疫苗加强接种史。

2. 研究方法:随访采血检测 HBsAg、抗-HBs 和抗-HBc,采用固相放射免疫试验(SPRIA),试剂购自北京生物制品研究所。检测工作人员不了解分组情况。HBsAg 以 S/N 值≥10.0 并重复检测 S/N 值均≥2.1 为阳性,抗-HBc 抑制率≥75.0% 为阳性。抗-HBs 以 S/N 值≥2.1 为阳性,从抗-HBs 阳性标本的各滴度组中每组随机抽取 1/3 标本用 Abbott 试剂检测,根据检测结果建立方程,推算其余阳性标本结

果,用 Hollinger 公式计算毫国际单位/毫升(mIU/ml)值,以≥10 mIU/ml 为阳性,10~99 mIU/ml 为低滴度,100~999 mIU/ml 为中滴度,≥1000 mIU/ml 为高滴度,随访抗-HBs<10 mIU/ml 为阴转。将每次随访的抗-HBs滴度组别与其本人初免时抗-HBs滴度组别比较,若高于初免滴度组别则判定为本次抗体水平上升,若低于初免滴度组别则判定为抗体水平下降,若与初免滴度组别相同则判定为本次抗体水平稳定,在任一次随访中抗-HBs滴度(mIU/ml)增高达到其本人初免抗-HBs滴度≥4 倍者,作为随访抗-HBs滴度高于其本人初免抗-HBs滴度≥4 倍。

3. 统计学分析:应用 SPSS 软件对数据统计分析。

结果

1. 免疫后 5-8 年的抗体水平:在免疫儿童 5~8 岁期间,母亲 HBsAg 阳性儿童随访抗体阳性率为 52.00%~78.00%,阳性者 GMT 为 55.36~95.66 mIU/ml;母亲 HBsAg 阴性儿童随访抗体阳性率为 43.84%~54.74%,GMT 为 39.90~65.47 mIU/ml。年龄组间差异无统计学意义(表 1)。在同年龄组内,呈现母亲 HBsAg 阳性儿童的随访抗体水平高于母亲 HBsAg 阴性儿童趋势。

将儿童初免抗体水平分组比较,可见母亲 HBsAg 阴性的儿童在 6 岁、7 岁、8 岁组,随访抗体阳性率与初免抗体水平有密切相关,初免抗体高滴度者的随访抗体阳性率分别是同年龄组初免抗体低滴度者的 2.84 倍($\chi^2 = 12.3067, P = 0.0004$)、2.84 倍($\chi^2 = 12.3067, P = 0.0004$)和 2.29 倍($\chi^2 = 4.7157, P = 0.0298$);母亲 HBsAg 阳性的初免抗体低滴度儿童的随访抗体阳性率在 5 岁、6 岁和 7 岁时均高于母亲 HBsAg 阴性的初免抗体低滴度的同

表 1 母亲 HBsAg 阳性和阴性的免疫儿童 5~8 岁时的随访抗-HBs 水平动态变化

年龄组(岁)	母亲 HBsAg(+)				母亲 HBsAg(-)				阳性率比较		GMT 比较	
	调查人数	阳性例数	阳性率 ^a (%)	GMT ^b	调查人数	阳性例数	阳性率 ^c (%)	GMT ^d	χ^2 值	P 值	t 值	P 值
5	14	11	78.00	81.42	22	10	45.45	65.47	-	0.0833	0.3489	0.7310
6	39	25	64.10	95.66	95	48	50.53	43.01	2.0549	0.1513	3.0693	0.0030
7	39	28	71.79	74.92	95	52	54.74	39.90	3.3440	0.0672	2.1981	0.0331
8	25	13	52.00	55.36	73	32	43.84	40.20	0.4999	0.4788	0.9011	0.3725

注:^a $\chi^2 = 3.8038, P = 0.2833$; ^b $F = 0.6508, P = 0.5850$; ^c $\chi^2 = 2.1511, P = 0.5412$; ^d $F = 0.5895, P = 0.6229$

龄儿童 [分别为 $P = 0.0361$ (直接概率法); $\chi^2 = 4.4920, P = 0.0339$; $\chi^2 = 7.7778, P = 0.0053$], 差异有统计学意义 (表 2)。

2. 随访抗体滴度与初免抗体滴度的比较: 母亲 HBsAg 阳性的儿童初免抗体滴度组构成 (低滴度、中滴度、高滴度分别占 53.85%、33.33%、12.82%) 与母亲 HBsAg 阴性儿童的初免抗体滴度组构成 (低、中、高滴度分别占 36.84%、46.32%、16.84%) 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 3.2938, P = 0.193$)。

共随访母亲 HBsAg 阳性儿童 39 人 117 人次, 母亲 HBsAg 阴性的儿童 95 人 285 人次。无论母亲 HBsAg 携带状况如何, 儿童随访抗-HBs 滴度与初免抗体滴度比较均以下降为主, 但母亲 HBsAg 阴性儿童下降检出率 (84.91%, 242 人次/285 人次) 显著高于母亲 HBsAg 阳性儿童 (61.54%, 72 人次/117 人次) ($\chi^2 = 28.7982, P = 0.000$); 而抗体滴度上升率和稳定率则是母亲 HBsAg 阳性的儿童高于母亲阴性的儿童, 上升率分别为 17.09% 和 10.53% ($\chi^2 = 8.2551, P = 0.004$), 稳定率分别为 21.37% 和 4.56% ($\chi^2 = 17.2902, P = 0.000$)。由表 3 可见, 母亲 HBsAg 阳性儿童抗-HBs 滴度下降检出率在 5 岁为 35.71%, 到 8 岁迅速上升到 80.00%, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 7.6488, P = 0.006$); 母亲 HBsAg 阴性儿童抗体下降检出率在 5 岁时已达 77.27%, 到 8 岁时为 89.04%,

升幅不大 ($\chi^2 = 1.9822, P = 0.159$)。5 岁、6 岁、7 岁时母亲 HBsAg 阳性儿童的抗体下降检出率均低于母亲阴性儿童, 差异有统计学意义 (均为 $P \leq 0.01$), 第 8 年时则差异无统计学意义 (表 3)。

随访抗-HBs 滴度 (mIU/ml) 高于其本人初免抗-HBs 滴度 ≥ 4 倍的发生率, 在母亲 HBsAg 阳性儿童为 25.64% (10/39), 显著高于 HBsAg 阴性母亲的儿童 (7.37%, 7/95) (校正 $\chi^2 = 6.7661, P = 0.009$), 是后者的 3.5 倍。

3. HBsAg 阳转情况: 随访中, 母亲 HBsAg 阳性的儿童有 1 例发生 HBsAg 阳转, 6 岁时发现, 并呈持续 3 年阳转, HBsAg 阳转率为 9‰ (1/107)。母亲 HBsAg 阴性的儿童亦有 3 例发生 HBsAg 阳转, 阳转者均在 7 岁时发生或发现, 其中 1 例呈持续 2 年阳转, HBsAg 阳转率为 14‰ (3/206), 与阳性母亲儿童阳转率的差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.0198, P = 0.888$); 无论母亲 HBsAg 阳性或阴性, 发生阳转者均为初免抗-HBs 低滴度者 (19.0~94.1 mIU/ml)。

讨 论

乙肝疫苗初免后抗-HBs 峰值一般在第 3 针后 1 个月, 即首针后第 7 个月, 但观察证明首针后第 12 个月时抗-HBs 滴度较 7 个月时下降不明显 (约下降 12.6%)^[5], 因此本文中观察对象的初免抗体水平接近峰值。

表 2 不同母亲 HBsAg 携带状况、不同初免抗体滴度者不同年龄时随访抗-HBs 阳性情况

母亲携带情况	初免抗-HBs 滴度	总随访人数	随 访 抗 体 水 平															
			5 岁				6 岁				7 岁				8 岁			
			随访人数	阳性例数	阳性率 (%)	GMT	随访人数	阳性例数	阳性率 (%)	GMT	随访人数	阳性例数	阳性率 (%)	GMT	随访人数	阳性例数	阳性率 (%)	GMT
HBsAg (+)	低	21	10	8	80.00	97.97	21	12	57.14	120.92	21	14	66.67	80.75	11	5	45.45	77.98
	中	13	4	3	75.00	58.81	13	10	76.92	61.85	13	10	76.92	58.60	9	4	44.44	27.50
	高	5	-	-	-	-	5	3	60.00	160.30	5	4	80.00	106.49	5	4	80.00	72.61
HBsAg (-)	低	35	13	4	30.77	96.06	35	10	28.57	50.10	35	10	28.57	43.64	22	6	27.27	129.03
	中	44	9	6	66.67	50.70	44	25	56.82	46.55	44	29	65.91	41.81	35	16	45.71	33.61
	高	16	0	-	-	-	16	13	81.25	32.85	16	13	81.25	33.58	16	10	62.50	26.60

注: 5 岁组为低、中滴度组比较, 母亲 HBsAg (+) 的儿童 $P = 1.0000$, 母亲 HBsAg (-) 的儿童 $P = 0.1099$; 6~8 岁组为各滴度组比较: 6 岁组依次为 $\chi^2 = 1.4072, P = 0.4948$; $\chi^2 = 13.4877, P = 0.0012$; 7 岁组依次为 $\chi^2 = 0.6078, P = 0.7379$; $\chi^2 = 16.4279, P = 0.0003$; 8 岁组依次为 $\chi^2 = 1.9652, P = 0.3743$; $\chi^2 = 4.7654, P = 0.0923$

表 3 母亲 HBsAg 阳性和 HBsAg 阴性的儿童免疫后 5~8 年随访抗体滴度变化

年龄组 (岁)	母亲携带情况	检查人数	抗体滴度下降		抗体滴度稳定		抗体滴度上升		下降检出率比较	
			人数	检出率 (%)	人数	检出率 (%)	人数	检出率 (%)	χ^2 值	P 值
5	HBsAg (+)	14	5	35.71	5	35.71	4	28.57	6.2176	0.0126
	HBsAg (-)	22	17	77.27	3	13.64	4	9.10		
6	HBsAg (+)	39	24	61.54	8	20.51	7	17.95	8.1794	0.0040
	HBsAg (-)	95	80	84.21	13	13.68	2	2.11		
7	HBsAg (+)	39	23	58.97	9	23.08	7	17.95	9.9024	0.0020
	HBsAg (-)	95	80	84.21	10	10.53	5	5.26		
8	HBsAg (+)	25	20	80.00	3	12.00	2	8.00	1.3230	0.2495
	HBsAg (-)	73	65	89.04	4	5.48	4	5.48		

国内外在乙肝高、中、低流行区的研究报道显示^[1,2,6-8],乙肝疫苗免疫新生儿后抗-HBs水平在达到峰值后头几年会明显下降,然后趋于稳定。本文中,母亲 HBsAg 阳性和阴性儿童的抗体阳性率和 GMT 在各年龄组间的差异无统计学意义。提示在乙肝高流行区的隆安县,无论母亲是否 HBsAg 阳性,儿童乙肝疫苗免疫后抗体水平随免疫年限而变化的规律与上述报道的观察结果相似。

通过定人随访母亲 HBsAg 阳性儿童和阴性儿童进行研究乙肝疫苗免疫后抗体水平变化的报告少见。Lcc 等^[3]报道,乙肝疫苗免疫后,抗体水平在随访中并非总呈下降趋势,对母亲 HBsAg 和 HBeAg 双阳性日本人乙肝疫苗免疫后 HBsAg 阴性的儿童随访 5 年,发现在间隔 1 年的 548 对血清标本中,抗-HBs后一次较前一次 ≥ 4 倍增高者 58 人,增高率 11%,由于无对照组因此不能确定此现象是否因自然感染引起的自然加强免疫。有研究资料显示^[6]:在乙肝疫苗初免 18 年后,母亲 HBsAg 阳性儿童中抗-HBs阳性率(48.84%)显著高于母亲 HBsAg 阴性儿童(27.86%)。本文对乙肝免疫成功儿童在免疫后第 5-8 年定人随访,发现母亲 HBsAg 阳性儿童随访抗体滴度下降的检出率(61.54%)低于母亲 HBsAg 阴性儿童(84.91%),上升的检出率(17.09%)和稳定的检出率(21.37%)均高于母亲 HBsAg 阴性儿童(4.56%和 10.53%);随访抗体滴度较初免抗体 ≥ 4 倍增高者在母亲 HBsAg 阳性儿童中发生率(25.64%)显著高于母亲 HBsAg 阴性儿童(7.37%),是后者的 3.5 倍。证实母亲携带 HBsAg 时,会增加免疫儿童自然感染的机会而引起自然加强免疫^[6]。

我们曾在该地区的另一项研究中发现^[9],母亲 HBsAg 阴性的乙肝免疫儿童 13 年中乙肝累积发病率为 4.0/10 万(2/49 698),远低于母亲 HBsAg 阳性的乙肝免疫儿童(29.8/10 万,2/6713)。但本文中,母亲 HBsAg 阳性儿童与母亲 HBsAg 阴性儿童的 HBsAg 累计阳转率(分别为 9‰和 14‰)的差异无统计学意义,这可能与本研究观察例数较少或随访时间较短有关。但无论母亲 HBsAg 阳性或阴性,发生阳转者均为初免抗-HBs低滴度者,提示初免抗-HBs水平对预防 HBsAg 阳转极为重要。对爱斯基摩人群的随访研究报告^[1]和在台湾的研究报告^[3]均提示初免抗体水平是影响乙肝抗体持久性的重要因素。本文中也观察到,初免抗-HBs滴度对随访抗

体水平和持续性产生重要影响,呈现初免抗-HBs滴度越高则随访抗体阳性率越高且持续时间越长的趋势,尤其在母亲 HBsAg 阴性儿童中影响明显;而在母亲 HBsAg 阳性的儿童中不同初免抗-HBs滴度儿童的随访抗体阳性率差异未达到统计学意义,可能与母亲阳性的初免抗体低滴度儿童在成长过程中自然感染机会更多而导致自然加强免疫后抗体水平升高有关,也可能与本文中母亲阳性儿童的样本量较少有关,有待进一步观察。无论母亲 HBsAg 阴性或阳性,初免抗体高滴度儿童到 8 岁时的抗-HBs阳性率仍有 62.50%~80.00%,而初免抗体低滴度儿童同期的抗-HBs阳性率仅有 27.27%~45.45%,显著低于前者抗体水平。因此,对乙肝免疫后初免抗体滴度低于 100 mIU/ml 者,可建议加强免疫,以提高抗体持久性,减少 HBsAg 阳转风险。

本文观察到,母亲 HBsAg 阳性的初免抗体低滴度儿童的随访抗体阳性率在 5 岁、6 岁和 7 岁均高于母亲 HBsAg 阴性的初免抗体低滴度的同龄儿童,但初免抗体为中、高滴度和 8 岁时,母亲 HBsAg 阴性与阳性的儿童的差异无统计学意义,提示在不同初免抗体滴度的情况下和不同免疫年限时,母亲 HBsAg 携带状况对儿童抗体阴转率的影响亦不同。类似研究和结果目前尚罕见,原因有待进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Wainwright RB, Bulkow LR, Parkinson AJ, et al. Protection provided by hepatitis B vaccine in a Yupik Eskimo population—results of a 10-year study. *J Infect Dis*, 1997, 175:674-677.
- [2] 安建会, 邢秀生, 闫以让, 等. 重组乙型肝炎疫苗(酵母)免疫后 10 年的抗体持久性及免疫记忆观察. *中国计划免疫*, 2005, 11(6):470-472.
- [3] Lcc PI, Lee CY, Huang LM, et al. Long-term efficacy of recombinant hepatitis B vaccine and risk of natural infection in infants born to mothers with hepatitis B e antigen. *J Pediatr*, 1995, 126(5):716-721.
- [4] 广西壮族自治区卫生防疫站, 隆安县卫生防疫站, 南宁地区卫生防疫站, 等. 广西隆安乙肝疫苗纳入计划免疫的实施及其覆盖率 and 预防效果的比较研究//中国科学技术协会学会工作部. 病毒性肝炎防治研究. 北京:中国科学技术出版社, 1991:81-87.
- [5] Hieu NT, Kim KH, Janowicz Z, et al. Comparative efficacy, safety and immunogenicity of hepa-vax-gene and engerix-B, recombinant hepatitis B vaccines, in infants born to HBsAg and HBeAg positive mothers in Vietnam: an assessment at 2 years. *Vaccine*, 2000, 20:1803-1808.
- [6] 吴维寿, 孙超美, 姜铭波, 等. 乙型肝炎免疫预防持续效果探讨(18 年随访结果). *中国计划免疫*, 2005, 11(3):204-207.
- [7] Zuckerman JN. Protective efficacy, immunotherapeutic potential, and safety of hepatitis B vaccines. *J Med Virol*, 2006, 78:169-177.
- [8] European Consensus Group on Hepatitis B Immunity. Are booster immunizations needed for lifelong hepatitis B immunity? *Lancet*, 2000, 355:561-565.
- [9] 龚健, 李荣成, 杨进业, 等. 乙肝疫苗对乙肝高发区儿童的保护效果. *中国公共卫生*, 2003, 19(9):1047-1048.

(收稿日期:2007-06-21)

(本文编辑:张林东)