

流脑提纯菌苗人体免疫反应及 连续三年效果观察

河南省南阳地区卫生防疫站

魏荣泰* 包进福* 徐天增** 丁胜巧** 李群华**

流脑提纯菌苗国内自1974年研制成功以来,经过五年多人体免疫反应,血清学观察,以及安徽凤阳^[1]、江苏泰县^[2]等地百余万人的流行病学效果考核,证明人体免疫反应轻微,效果良好。流脑提纯菌苗的免疫效果,必须考虑到免疫持久性和免疫程序,目前国内未见流脑提纯菌苗免疫后连续三年效果观察的报导,为此,我们在1977年12月人群免疫的基础上,观察流脑提纯菌苗免疫后连续三年的保护效果。

为考核液体培养方法制备流脑提纯菌苗的预防效果,经过对邓县既往疫情资料的分析,选择了1978年有可能发生流脑流行的7个公社,进行了流脑提纯菌苗的流行病学效果的观察。现将结果报告如下:

材料与方法

一、流脑提纯菌苗:系卫生部生物制品研究所研制,以A群脑膜炎双球菌(1792)株经液体深层培养后,提取糖蛋白复合物(批号77-7),冻干制品,批号为7710-3。临用时以pH 7.2磷酸缓冲盐水10毫升稀释。

二、注射方法:流脑提纯菌苗按规定方法溶解,每安瓶注射20人,每人皮下注射0.5毫升(按含磷量折算,合国际标准30微克)。凡禁忌症者不予注射。

三、人体免疫反应观察:选择了元庄学校小学五年级和初中一年级学生作为观察对象。接种前问诊排除禁忌症,测体温 37°C 以下者接种,接种后6、24、48小时观察全身和局部反应。反应判定标准参照《预防接种手册》^[3]。

四、血清学试验:采用微量间接血凝法,观察对象在接种菌苗前和接种菌苗后一个月、24个月采用,用A群多糖抗原致敏的绵羊红细胞(同批干燥血球)进行血凝试验,比较接种后一个月较接种前血凝抗体几何平均滴度增长倍数和抗体4倍增长率。

五、流行病学效果观察:

1、邓县元庄等7个公社1~15岁健康儿童作为观察对象。将每个自然村或学校每个班的观察对象先登记造册,按顺序编号,再按奇偶数分为菌苗免疫组和具有可比性的空白对照组。

2、观察方法:两组儿童均于每年1月开始统计病例,观察到每年4月底止。在此期间所有流脑病人均填写流脑病例登记表,并及时采集标本送检。观察区在免疫后3年内未采取任何其它特异性预防措施,连续观察三个流行年的保护效果。

3、病例诊断:预先拟订了统一的流脑诊断标准如下:

- ①急骤发热、头痛、呕吐或伴有抽搐者;
- ②脑膜刺激征:颈部强直或有抵抗,克氏征阳性,布氏征阳性,婴儿具有前囟饱满者;
- ③皮肤、粘膜出现淤点、淤斑者;
- ④脑脊液有化脓性改变和脑压增高者;
- ⑤末梢血象总数和中性增高者。

在流脑流行季节里,凡符合上述标准中三项以上者,均临床诊断为流脑。

为保证病例诊断的可靠性,除临床诊断外,

*河南省南阳地区卫生防疫站

**河南省邓县卫生防疫站

对每个病例都进行了发病初期血清反向血凝试验；及发病初期和恢复期血清血凝抗体测定；对部分病例血、脑脊液标本做了细菌培养。所有病例除临床诊断为流脑外，反向血凝阳性；或间接血凝抗体滴度呈4倍或4倍以上增长；或细菌培养阳性等三项实验室诊断符合一项以上者统计病例。仅有临床诊断而实验室结果不支持者不作为统计病例。反向血凝试验用冻干A群流脑抗血清致敏的绵羊红细胞制剂，以微量法进行。细菌培养用加“双抗”的猪血水培养基。

结果与分析

一、流脑提纯菌苗人体免疫反应：观察104名11~13岁健康儿童，提纯菌苗接种后6、24、48小时的全身和局部反应（表1）。

从表1可见，接种提纯菌苗后，6小时全身中强反应率为36.6%，24小时下降为3.8%，48小时为1.9%。局部反应在接种后24小时中强反应率为58.7%，48小时明显减弱。

全身反应除发热外，无其他明显不适，所

表 1 提纯菌苗人体免疫反应情况

观察时间	观察人数	全 身 反 应				局 部 反 应			
		无反应	弱反应	中反应	强反应	无反应	弱反应	中反应	强反应
6	104	33	33	35	3	91	13	—	—
	%	31.7	31.7	33.7	2.9	87.5	12.5	—	—
24	104	70	30	4	—	15	28	60	1
	%	67.3	28.8	3.8	—	14.4	26.9	57.7	1.0
48	104	92	10	2	—	56	23	25	—
	%	88.5	9.62	1.9	—	53.8	22.1	24.0	—

有发热儿童均到校上课，未有缺勤。局部反应除红晕疼痛外，不影响活动。

此次菌苗免疫反应高于1974年在德州〔4〕和1977年在凤阳等地观察结果。可能与注射抗原剂量不同有关。在观察区范围内，注射流脑提纯菌苗近六万人，未发现特殊的异常反应病例。

二、血清学结果：对11~13岁57名儿童接种提纯菌苗前和免疫后一个月，采集双份血清同时测定血凝抗体；于免疫后24个月对30名儿童采血，了解血凝抗体消长情况（表2）。

表 2 提 纯 菌 苗 免 疫 后 血 凝 抗 体 变 化 情 况

采血时间	观察人数	血 凝 滴 度 (倒 数) 分 布										GMT
		< 2	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
免前	57	1	—	10	20	18	5	3	—	—	—	10.71
免后1月	57	—	—	—	4	15	12	18	6	2	—	37.50
免后24月	30	9	—	12	6	1	2	—	—	—	—	3.65

从表2可见，提纯菌苗接种前几何平均滴度为10.71，免疫后1个月其相应A群抗体几何平均滴度为37.50，免疫后较免疫前增长3.5倍。免疫后24个月降为3.65，比免疫前低。

免疫后一个月较免疫前血凝抗体4倍或4倍以上增长者占64.9%。

三、流行病学结果：邓县总人口为1,150,724人，每个流行年为前一年11月至当年元月发生首例流脑病人，2月病例陆续上升，3月达到发病高峰，4月疫情平稳下降，观察到4月底止1978、79、80年发生流脑分别为374人、327人、80人。发病率分别为32.50/十万、

27.30/十万、6.67/十万。

提纯菌苗观察区所属7个公社，总人口为321,078人。观察到4月止，1978、79、80年发生流脑分别为80人、90人、29人。发病率分别为24.92/十万、28.03/十万、9.03/十万。

1、提纯菌苗免疫后不同年限流行病学效果见表3。

从表3结果看出，每人一次皮下注射0.5毫升30微克流脑提纯菌苗，总的看来，在3年内保护效果是比较理想的。

2、提纯菌苗免疫后不同年龄组儿童流行病学效果见表4。

表 3 不同年限流行病学效果

观察时间	组别	观察人数	病例数	发病率 (/10万)	效果指数	保护率 %	显著性测定
一年	免疫	54,780	1	1.83	1:42.39	97.64	t = 6.26
	对照	54,137	42	77.58			p < 0.001
二年	免疫	54,780	6	10.95	1: 4.89	79.56	t = 3.91
	对照	54,137	29	53.57			p < 0.01
三年	免疫	54,778	4	7.30	1: 3.04	67.07	t = 2.02
	对照	54,136	12	22.17			p < 0.05

从表 4 可见, 提纯菌苗接种后第一年, 1~5、6~10岁免疫组未发病。11~15岁免疫组只发病1人, 保护率为94.04%。第二年1~5岁免疫组的保护率为57.35% (P=18.01, P>0.05)。两组无显著性差异。6~10、11~15岁组的保护率分别为79.49%; 90.47%。两组均有非常显著性差异。第三年1~5岁免疫组未发病, 6~10、11~15岁组的保护率分别为28.21%;

表 4 提纯菌苗对不同年龄组儿童的免疫效果

观察时间	年龄组 (岁)	免 疫 组			对 照 组			效果指数	保护率 (%)	二项分布测定
		观察人数	发病人数	发病率 (/10万)	观察人数	发病人数	发病率 (/10万)			
一 年	1~5	16288	0	—	17370	8	46.06	—	100.00	—
	6~10	20783	0	—	19899	18	90.46	—	100.00	—
	11~15	17709	1	5.65	16868	16	94.85	1:16.79	94.04	p < 0.001
二 年	1~5	16288	2	12.28	17370	5	28.79	1:2.34	57.35	p > 0.05
	6~10	20783	3	14.43	19899	14	70.36	1:4.88	79.49	p < 0.01
	11~15	17709	1	5.65	16868	10	59.28	1:10.49	90.47	p < 0.01
三 年	1~5	16287	0	—	17369	7	40.30	8	100.00	8
	6~10	20782	3	14.43	19899	4	20.10	1:1.39	28.21	p > 0.05
	11~15	17709	1	5.65	16868	1	5.93	1:1.05	4.72	p > 0.05

4.72%, 两组均无显著性差异。

3、第一年观察时, 对16例流脑患者作脑脊液等细菌培养分离出 5 株 A群脑膜炎双球菌; 第三年观察, 对 6 例流脑患者作脑脊液等细菌培养, 分离出 3 株 A群脑膜炎双球菌, 说明所用的菌苗与当地流行的菌群是一致的。

讨 论

1、国内研制的流脑提纯菌苗经过几年来在各地进行人体免疫反应、血清学和流行病学效果现场考核, 表明了提纯菌苗的良好前景。但是, 过去制备的提纯菌苗采用固体的培养方法, 限制了产量。为了适应大量生产, 改用液体深层培养方法, 仍用过去的提纯工艺, 大大节省了人力, 提高了产量。本次观察液体培养制备的提纯菌苗在接种后, 人体免疫反应明显高于过去的报告, 还出现了强反应。在德州、凤阳等地使用的固体培养提纯菌苗注射后, 6 小时全身中反应一般不超过15% (德州的中反应仅 3 %), 无强反应。追溯过去固体培养提纯菌苗注射抗原量按含磷量折算约为15微克, 而本次观察的液体培养提纯菌苗实际注射量约 30微克。由于抗原量的增加而加重了全身的反应, 从大面积使用来看, 在较严格掌握禁忌症的情况下, 注射近六万人未出现异常反应, 表明流脑提纯菌苗基本上是安全的。

2、血清学部分, 用间接血凝法测定接种流脑提纯菌苗前后抗体水平的变化。接种前几何平均滴度为10.71, 免后一个月其相应 A群抗体几何平均滴度为37.50, 免后较免前增长3.5 倍。而免后24个月 A 群抗体几何平均滴度为 3.65, 比免前还低[5]。其原因与间接血凝法主要测IgM, 接种提纯菌苗后IgM产生快, 但抗体滴度下降也快有关。表明间接血凝法测定流脑抗体水平不全面。

3、1977年前国内几个固体培养提纯菌苗效

果观察点, 现场考核结果第一年保护率为80%左右。而本次观察在严格的对照条件下, 第一年保护率高达97%; 第二年保护率近80%; 第三年保护率为67%。保护率的变化与抗原量的增加似成平行关系。

4、国外有人观察到C群多糖体菌苗对小儿免疫反应低, 认为两岁以下儿童无保护力, 2~6岁儿童保护率只有75%^[6]。本次观察表明, A群提纯菌苗免疫后一年, 对不同年龄儿童免疫效果没有发现明显差别; 而免疫后第二年小年龄组免疫效果明显低于大年龄组儿童, 且年龄愈小, 免疫效果下降愈快。免疫后第三年观察, 因病例较少, 缺乏实际意义。表明提纯菌苗免疫后第二、三年与第一年相比, 虽有下降趋势, 但仍具有一定的保护效果, 说明提纯菌苗是目前预防流脑较好的安全有效制品。

5、关于免疫程序问题, 我们认为对1~2岁小儿作一次流脑提纯菌苗基础免疫; 预测流脑在流行前, 对1~15岁儿童加强注射一次, 以后不再注射, 三年内大多数儿童即可得到保护。本次从邓县7个公社的效果观察情况看, 能够大大降低流脑自然发病率。

小 结

1、液体深层培养A群流脑提纯菌苗接种后, 观察11~13岁104名儿童的全身和局部反

应均较固体培养提纯菌苗的反应为重, 在近六万人的接种中未见异常反应。

2、提纯菌苗接种前较接种后一月的血凝滴度平均增长3.5倍。抗体4倍增长率为64.9%, 而免后24个月比免疫前还低, 其原因与间接血凝法测定流脑抗体不全面有关。

3、提纯菌苗免疫后第一年保护率为97.64% $\pm$ 2.36; 第二年为79.56% $\pm$ 9.10; 第三年为67.07% $\pm$ 29.11。免后第一年没有发现小年龄组免疫效果不好的现象; 而免后第二年1~5、6~10、11~15岁组的保护率分别为57.35%、79.49%、90.47%。

(此次效果观察, 在卫生部生研所苏万年、连文远、董春明同志指导下进行, 并承河南省防疫站张鹏云同志大力协助, 特此致谢)

参 考 文 献

1. 卫生部生物制品研究所等: 流脑提纯菌苗人体免疫反应、血清学及流行病学效果观察, 内部资料, 1977。
2. 江苏省卫生防疫站等: 流脑提纯菌苗流行病学效果观察报告, 内部资料, 1977。
3. 《预防接种手册》, 人民卫生出版社, 1975。
4. 卫生部生物制品研究所等: 流脑提纯菌苗中量人群接种反应与血清学免疫效果观察, 内部资料, 1976。
5. 卫生部生物制品研究所: 流脑提纯菌苗免疫后血清学观察内部资料, 1978。
6. WHO Study Group: Technical Report Series, 588: 5, 1976。

出 版 动 态

《防疫检验手册》, 本书编写组编写, 32开, 平装, 定价1.25元。本书正在排印中, 预计于1982年第二季度中期, 由人民卫生出版社出版, 届时可在当地新华书店选购, 如当地书店无此书, 可与北京市东单北大街92号人民卫生出版社门市部联系邮购。

内容: 本书由军事医学科学院会同沈阳、昆明等大军区军事医学研究所共同编写, 为中级参考书。全书共五篇12章, 有附录。本书从微生物检验的一般方法谈起, 着重介绍检验手段和一些烈性传染病病原检验的介绍, 尤其对大规模的烈性病原体的采样、送检、培养、鉴定等方法阐述较详, 对广大防疫检验人员是一本较详细的参考书。

读者对象: 各级防疫站、科研单位的流行病和细菌检验人员以及其他生物检验工作者。