

流脑A群多糖菌苗效果观察

卫生部北京生物制品研究所流行病学科

袁承德 连文远 苏万年 张国华 董春明

流行性脑脊髓膜炎(简称流脑)是一种冬春季常见的传染病,严重威胁儿童的生命和健康。有效的菌苗接种是预防流脑流行的一项有效措施。本所1966~73年研制了菌体菌苗和氢氧化铝吸附菌苗,因预防效果不理想,异常反应较多被淘汰。1973年开始提纯菌苗研制,1976年起与国内许多省、市协作进行连续5年的效果观察,证明其保护率在80%左右^[1],但仍有一些较重的异常反应,1979年开始用冷酚提纯A群多糖菌苗。多糖菌苗在国外虽有较多报道^[2~4],有更佳的预防效果,但在国内刚开始使用,尚缺乏足够的资料。1980~1981年本所先后与湖南、浙江等省的县、市一起,对超速离心的多糖菌苗作了观察,现将其流行病学效果、血清学效果和副反应情况报告如下:

材料与方法

一、对象:每一观察点1~15岁人群为观察对象,随机分为免疫组和对照组。分别填个体观察卡,用双盲法给免疫组注射2号菌苗(多糖菌苗),对照组接种1号菌苗(安慰剂,麻疹疫苗0.2毫升),两组均于接种后15天收集病例。

二、多糖菌苗:系本所超速离心生产的高纯度多糖菌苗,为7918-1、7918-2和8032-1等批号冻干菌苗,均符合WHO1979年标准。其中7918-1和8032-1两批为A₄菌种生产的(简称A₄株多糖菌苗),7918-2批为1792菌种制品(简称92多糖菌苗)。用本所供应之磷酸盐缓冲盐水溶解稀释,每人皮下注射0.5毫升(50微克/次)。

三、血清学效果测定:均以间接血凝法测定抗原,致敏和未致敏血球均由本所统一提供。致敏血球为79-1批和80-1批冻干血球,对80-1批诊断血清的效价为1:6,400。

用微量间接血凝法测定血清抗体,按文献^[5]进行,免疫前、后双份血清同时进行。

四、反应和血清学观察:于试点区内选择近5年内未接种流脑菌苗的小学生,亦分为观察组和对照组(观察时未接种任何制品),免前体温超过37°C者均被剔除。两组同时测温,反应判定标准参照《预防接种手册》1975年版。在多糖菌苗血清学观察中,除7918-2批观察点以7936-4批流脑吸附菌体菌苗作安慰剂外,余者均以麻疹疫苗为对照剂。观察组和对照组对象分别于接种前和接种后21天各采微量血一次,分离血清后于-20°C保存。

五、反向间接血凝:方法按文献^[7]进行,反向血凝血球由本所统一提供。

六、病例收集和诊断:于试点区内组织疫情报告网,训练“赤脚医生”。在观察期内,对疑似病人采耳血0.2毫升,并报告防疫站;住院病人在住院当天由医院或县防疫站派专人采血。确诊A群流脑病人按统一观察方案的诊断标准,即患者除具有流脑临床症状或体征外,还必须有下列三项实验室检查之一阳性者,方可确诊。即:①发病初期与恢复期双份血清的间接血凝抗体4倍以上升高者(阳性);②患者血或脑脊液,细菌培养阳性;③发病初期血清或脑脊液反向血凝阳性。

结 果

一、多糖菌苗注射后的反应观察:1980~81年共观察1,091人,其中多糖菌苗注射组545人,对照组546人,结果见表1。

表1可见,两个年度的多糖菌苗接种后6小时的全身中反应率平均为12.11%,对照组平均为5.86%,实际反应率为6.25%;接种组强

表 1 流脑多糖菌苗接种后反应观察

年 分 度 组	观 察 人 数	全 身 反 应 (体 温)										局 部 反 应 (红 晕)					
		6 小 时		24 小 时				48 小 时				24 小 时		48 小 时			
		中反应		强反应		中反应		强反应		中反应		强反应		中反应		强反应	
		人 数	%	人 数	%	人 数	%	人 数	%	人 数	%	人 数	%	人 数	%	人 数	%
80	试 验	252	32 12.70	1 0.40	11 4.37	—	—	5 1.98	—	—	11 4.37	—	—	2 0.79	—	—	—
	对 照	255	17 6.67	—	—	10 3.92	—	—	6 2.35	—	—	—	—	—	—	—	—
81	试 验	293	34 11.60	1 0.34	3 1.02	—	—	1 0.34	—	—	17 5.80	—	—	1 0.34	—	—	—
	对 照	291	15 5.15	1 0.34	4 1.37	1 0.38	2 0.69	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

反应为0.37%，对照组0.34%，24和48小时的平均反应率与对照组相似，故多糖菌苗发热反应到24小时一般已降到正常人群发热率的水平。24小时局部反应率平均为5.14%，48小时下

降到0.55%，未见异常反应。

二、血清学结果：A₄株以及92株多糖菌苗7918-2批血清学结果见表2。其对照组系7918-1和8032-1、2批观察点的对照组(表2)。

表 2 A群流脑多糖菌苗免疫前、后血清血凝抗体动态

批号 菌株	时间	人数	血清血凝抗体滴度(倒数)												几何平均 滴度 (GMT)	增长倍数
			<2	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024			
7918-1	免前	350	90	39	63	75	53	20	9		1			4.5405	14.14	
8032-1、2 A ₄	免后	350	2	2	1	7	30	76	96	82	27	16	11	69.9655		
对照组	免前	353	75	30	69	88	59	21	6	2	2	1		5.2863	0.87	
	免后	353	40	17	50	8	73	56	21	4	6	3		9.8899		
7918-2	免前	66	14	10	12	10	13	2	5					5.1467	4.72	
92	免后	66			5	10	14	8	21	5	2	1		29.4213		
7936-4	免前	67	10	16	16	7	10	4	4					4.8689	0.24	
对照组	免后	67	6	11	20	12	7	7	4					6.0503		

表2所见，A₄株菌苗免疫后21天的几何平均滴度(GMT)为69.9655，比免疫前增长14.14倍(t=31.39, P<0.001)。A₄株菌苗组四倍增高307人(87.71%)；对照组88人，4倍增长率为24.93%；前者与后者有显著差异(t=21.69, P<0.001)。A₄菌苗免疫后的GMT和4倍增长率，比吸附菌体菌苗(7936-4)的6.0503和10.45%、提纯菌苗29.66 [1]和80.00% (1976~79年血清学观察中最高的4倍增长率)以及92株多糖菌苗的29.42和78.00%均高,t值分别为16.42和18.71;9.73和

2.52以及5.78和1.8。且免疫后的GMT增长倍数也比前者为高。

三、流行病学效果：4批高纯度菌苗2年来共观察274,725人,双份血清间接血凝阳性患者49例，其中细菌培养阳性26例，反向血凝阳性46例。三者均阴性的流脑病例排除在外。由于7918-2是以吸附菌苗作对照，又是用92菌种生产的，故分别予以统计(表3)。

机率按二项分配公式计算：

$$BP = \sum_{r=0}^n \frac{n!}{r!(n-r)!} \cdot \left[\left(\frac{N_1}{N_1+N_2} \right)^r \cdot \left(\frac{N_2}{N_1+N_2} \right)^{n-r} \right]$$

表 3

A群流脑多糖菌苗流行病学效果观察结果

菌 株	批 号	免 疫 组			对 照 组			保护率 %	效果指数
		观察人数	病人数	发病率	观察人数	病人数	发病率		
A ₄	7918-1 8032-1、2	90,945	2	2.20/10万	83402	36	43.16/10万	94.91	1:19.62
92	7918-2	49,465	3	6.06/10万	50913	8	15.71/10万	61.43	1:2.59

A₄菌种生产的菌苗直接求得机率BP

为0.0000000027, <0.001

1792菌种的菌苗BP为0.12, >0.05

表 3 可见, A₄株多糖菌苗免疫组, 发病率为2.20/10万, 对照组为43.16/10万, 保护率为94.91%, 95%可信限为94.69%, 效果指数1:19.62。而92株多糖菌苗免疫组发病率为6.06/10万, 对照组(吸附菌苗组)发病率为15.71/10万, 保护率61.43%, 效果指数为1:2.59。两组相比差异显著($t=104.97$, $P<0.001$); 亦比菌体菌苗、提纯菌苗以及一般的多糖菌苗均好。

讨 论

自Gotschlich等^[6]研制多糖抗原成功后, 许多学者相继报告了A、C群多糖菌苗接种后的人体反应、血清学和流行病学效果^[2,3], 均认为是一种预防流脑的理想菌苗。本文报告了A₄和92两种超速离心生产的高纯度菌苗的2年内现场考核结果, 菌苗仅为一般反应; 全身中强反应6小时的发热率为6.25%, 24、48小时的发热率与对照组相似。表明这3批多糖菌苗的发热率以6小时为高, 24小时以后即恢复正常。局部红晕(未见浸润反应)24、48小时的中强反应率分别为5.14%和0.55%, 与Monto的报道及本所1978年用Merieux研究所赠送的A、C混合多糖菌苗的反应相似。这3批菌苗每人的接种剂量为50微克/人, 较常规使用量(25~30微克/人)要高, 但反应却比菌体菌苗、提纯菌苗和一般多糖菌苗^[1]为低, 共接种100多万人, 未见异常反应。这与该3批菌苗的纯度高, 内毒素含量低一致。而一般多糖菌苗在3年内注射的3,312万人中, 总共观察到10例难

以排除与菌苗有关的异常反应, 其中5例为过敏性休克。2个菌种生产的菌苗间反应无差别。

多糖菌苗免疫后的血清学结果(表3)所示, A₄多糖菌苗免疫后血清抗体的GMT达到69.97, 较免疫前增长14.14倍, 4倍增长率为87.1%; 上述结果均比对照组和92株菌苗组高, 比国内同类制品的血清学效果^[1]要好, 亦高于1978年本所提纯菌苗与法国Merieux研究所惠赠的R020204-7批A、C群混合多糖菌苗同时观察的血清抗体之GMT(27.75、5.04倍和84.62%)。

A₄多糖菌苗的流行病学效果如表3, 其保护率为94.91%, 效果指数为1:19.62, 与国外报告^[4]相似; 比国内曾报告的流脑菌苗^[1]及本所92株多糖菌苗均好。因吸附菌体菌苗在散发流行时保护率为50~60%, 如92株菌苗的对照组(吸附菌体菌苗)的保护率为55%, 换算成严格对照组, 则理化推算有 $8 \times \frac{100}{55} = 14.55$ 例病人, 其发病率为28.57/10万, 保护率则为78.79%, 效果指数为1:4.72, 与流脑提纯菌苗的保护效果(亦系1792株生产)相似, 仍低于A₄株多糖菌苗的保护效果。此2种高纯度多糖菌苗除菌株不同外, 在生产工艺和检定合格程度方面均相同, 但血清学和流行病学效果却差异很显著, 是否与2菌株产生多糖抗原的稳定性有关, 尚待进一步探讨。

摘 要

本文介绍用随机、双盲和安慰对照的流脑A群多糖菌苗的现场观察结果。总共观察1~15岁儿童274,725人, A₄菌苗组发病率2.20/10万, 安慰剂组发病率43.16/10万, 菌苗保护率为94.91%。对1,091人观察了注射后的反应。注射后6小时的发热率为6.25%, 24小时降至正常儿童的发热水平, 局部反

应, 24小时仅有红晕, 其发生率5.14%, 48小时为0.55%, 未见异常反应。菌苗免疫人体后的抗体应答, 免后三周GMT达69.97, 比免前增长14.14倍, 四倍增长率87.71%与安慰剂组的自然增长率24.93%比较, $P < 0.001$ 。其GMT、四倍增长率和保护率均比菌体、提纯菌苗高, 而副反应更低。

ABSTRACT

The efficacy of meningococcus group A Polysaccharide vaccine was studied in Placebo-controlled, randomized, double-blind trials in 274,725 children aged 1-15. The incidence rate of epidemic cerebrospinal meningitis per 100,000 A4 strain vaccine recipients was 2.20 VS 43.16 for the placebo group. Side reactions were observed among 6.25% of the 1091 vaccine recipients including fever and transient local erythemas. Fever was observed at the sixth hour after vaccination, but the fever rate fell into the same level of that of the nonvaccinated children.

Transient local erythemas was also observed 5.14% of the recipients within 24 hours after inoculation. The 4 fold antibody increasing rate in 87.71% of the vaccinated group with a Geometric Mean Titre (GMT) of 69.97, 14 fold higher than the Pre-vaccination level, was significantly higher than the 24.93% in the placebo group. Group A polysaccharide vaccine (Compared with bacterial vaccine and purified vaccine) induced much higher antibody response and gave higher protection rate and less side reaction.

参考文献

1. 卫生部生物制品研究所: 中华微生物学和免疫学杂志, 1(1): 17, 1981。
2. Wandan MA et al: Bull WHO, 48: 667, 1973.
3. Ev Wa HH et al: Bull WHO, 49: 301, 1973.
4. WHO tech Rep Ser, 588, 1976.
5. Edwards EA: Proc Exp Biol Med, 126: 876, 1967.
6. Gotschlich EC et al: J Exp Med, 129: 1349, 1969.
7. 袁承德等: 中华流行病学杂志, 2(4): 227, 1981。

从胸腔穿刺液分离出一株猪伤寒沙门氏菌

大连医学院附属医院检验科 潘玉兰 殷峰

1982年3月16日, 辽宁省新金县磨盘公社社员董××, 男性、36岁, 咳嗽、发冷、发热, 咳大量黄痰(200~300毫升/日), 一周后出现胸痛, 不能右侧位卧。

查体: 气管左移, 右胸隆起, 右第二前肋以下呼吸音弱。叩诊: 浊。白细胞计数48,000/毫米³, 血红蛋白: 8.5克%。

X线所见: 第二前肋以下, 右侧液气胸。

3月17日在病房处置室, 经严格消毒和无菌操作下, 由右侧腋后线第十肋间抽出咖啡色血性脓汁约410毫升, 用无菌试管留取小量, 送检验室培养; 又于3月19日在手术室做胸腔引流手术, 同时取引流液再次送培养。两次均划线接种血液琼脂平板、伊红美蓝琼脂平板, 37°C孵育24小时。培养结果: 血液琼脂平板上, 生长中等大小, 约2~3毫米, 圆形、表面光滑、边缘整齐、湿润灰白色菌落。伊红美蓝琼脂平板: 生长1~2毫米, 圆形、表面光滑、边缘整齐和无色透明的小菌落。

从伊美琼脂平板挑取菌落, 接种双糖斜面, 经37°C孵育24小时, 底层葡萄糖产酸产气, 动力不明显、不产生H₂S。上层斜面乳糖不分解。经染色为革兰氏阴性

球杆菌, 约1~2×1~4微米。

生化反应结果: 发酵麦芽糖、甘露醇、木糖、阿拉伯糖、鼠李糖、山梨醇及蕈糖(迟缓); 不分解乳糖、蔗糖、侧金盏花醇、肌醇、卫矛醇; 甲基红试验阳性; 不产生靛基质、不分解尿素、V-P试验阴性、不液化明胶、不利用枸橼酸盐和丙二酸盐。

玻片凝集试验: 沙门氏菌A-F多价O血清呈(++)凝集, O₇因子血清呈(++)凝集。Vi(-)、He因子血清呈(±), 鞭毛第二相因子血清(-)。

用1%琼脂斜面和肉汤传代, 最后并用沙门氏鞭毛第一、二相抗血清诱导和恢复鞭毛抗原, 终在第17代时与He和H₁₂呈(++)凝集。传代后菌体形态部分恢复为杆菌, 仍有部分球菌杆菌, 其动力恢复明显。

用17代肉汤菌液腹腔接种4只小白鼠, 阴性对照4只。接种菌液4只小白鼠, 2小时呼吸加快, 背毛竖立, 18小时后死亡。

根据血清学鉴定和生化特性分析, 符合沙门氏菌定义, 符合猪伤寒沙门氏菌生化特性。

(本文承蒙大连市防疫站检验科协助菌株鉴定, 大连医学院流行病学教研组康白副教授审阅, 一并致谢)