

不同国家液体型脊髓灰质炎疫苗的热稳定性及免疫原性

孔建¹ 丁一新² 张连芝² 赵月萍² 柳燕² 周秀英³ 董春明¹
李方军² 杜桂枝¹ 迮文远¹

摘要 本文报道了中国、南斯拉夫、比利时三国生产的脊髓灰质炎疫苗(TOPV)的热稳定性试验的结果,以及用它们免疫2月龄儿童后的血清学效果。在37℃放置48小时或反复冻融5次后,各国TOPV总滴度降低的幅度均在0.5Log TCID₅₀/0.1ml之内。免疫三次后,血清抗各型脊髓灰质炎病毒抗体的阳转率都达到了95%以上,各组间抗同型病毒抗体阳转率/GMT的差异无统计学上的显著性,与第二次免后一个月时相比,阳转率/GMT均无显著性增高。

关键词 脊髓灰质炎疫苗 GMT

自脊髓灰质炎疫苗问世以来,脊髓灰质炎发病率已出现了大幅度地下降^[1~3]。我国政府提出了1995年消灭本土脊髓灰质炎病例的行动目标。目前,我国对婴儿的免疫程序为:出生后的第2、3、4个月接种三价脊髓灰质炎活疫苗(TOPV)糖丸。由于婴儿较小,服用糖丸疫苗有诸多不便,因此,生产液体型TOPV,以便于实施免疫接种,势在必行。1991年年初,北京生物制品研究所生产了部分液体型TOPV,为考证本所液体型TOPV的免疫学效果,我们在安徽省马鞍山市进行了人体血清学效果观察,另外,还同时用两种进口液体型TOPV做为对照,以便考证本所生产的TOPV的免疫学效果是否与其它国家生产的TOPV的效果有差异。

材料与方 法

一、疫苗:

1. 中国北京生物制品研究所(简称北京生研所)生产的TOPV,批号:911-1, PV I、PV II、PV III的标示滴度分别为6.0、5.0和5.5LogTCID₅₀/0.1ml。

2. 比利时生产的TOPV,批号:

S1619A4A, PV I、PV II、PV III的标示滴度分别为6.0、5.0和5.8LogTCID₅₀/0.1ml。

3. 南斯拉夫生产的TOPV,批号:S295/1, PV I、PV II、PV III的标示滴度分别为6.0、5.0和5.5LogTCID₅₀/0.1ml。

二、接种人群及采血:选择马鞍山市均未接种过TOPV的2月龄婴儿,随机分为三组,分别于2、3、4月龄时接种TOPV 0.1ml/人。血清标本采集用指端采血法。免前采集1次,第1、2、3次免疫后一个月时再各采集一次。采血量为0.3ml,分离血清后冻存-20℃直到测定为止。

三、中和抗体测定及阳转标准:中和抗体的测定采用微孔板法,所用细胞为Hep-2c。实验前血清经56℃灭活30分钟。血清稀释度从1:4到1:4096,连续4倍稀释,以50%孔病变的稀释度为终点。方法按《传染病免疫预防—计划免疫》一书中的方法进行^[4]。抗体滴度以 $\geq 1:4$ 为阳性。免前未测到抗体,免后抗体滴度 $\geq 1:4$,或免前测到抗体,免后抗体滴度有4倍以上增长的为阳转。

1. 北京生物制品研究所 100024

2. 安徽省卫生防疫站 3. 马鞍山市卫生防疫站

结 果

各国生产的液体型TOPV的滴度及其稳定性试验结果见表1。从此表可以看出, 在各种条件下, 三种疫苗滴度的降低幅度均在 $0.5 \text{LogTCiD}_{50}/0.1\text{ml}$ 之内。北京生研所的TOPV的稳定性与国外TOPV的相似。试验中还发现比利时的TOPV融化后, 很难再冻起来, 而该所的及南斯拉夫的疫苗再冻较易。

表1 各国生产的液体型TOPV的滴度及其稳定性

	中国	南斯拉夫	比利时
使用前滴度	$10^{6.38}$	$10^{6.25}$	$10^{5.75}$
回滴滴度	$10^{6.00}$	$10^{5.90}$	$10^{5.72}$
冻融5次后	$10^{6.13}$	$10^{6.25}$	$10^{5.50}$
37°C48小时后	$10^{6.13}$	$10^{5.88}$	$10^{5.25}$

免前采集到血液标本的人数及第一、二、三次接种TOPV后一个月采集到血液标本的人数、以及血清抗体阳转率见表2。免前各组间血清抗各型病毒抗体阳性率无显著性差异 ($P > 0.05$)。第一次免疫后一个月时, 服比利时TOPV组血清抗各型病毒抗体的阳转率均超过了80%, 服中国的TOPV后, 除抗PV I外, 其它两型的阳转率也超过了80%; 服南斯拉夫TOPV后, 抗PV III的阳转率较低, 只有51%, 与其它两种TOPV相比, 差异有极显著性 ($P < 0.001$)。第二次服TOPV后一个月时, 除服国产TOPV后抗PV I 阳转率低于90%外, 其它的都超过了90%; 服比利时TOPV后抗PV I 的阳转率明显地高于服中国及南斯拉夫TOPV的。第三次服TOPV后一个月时, 血清抗各型病毒抗体的阳转率, 各国TOPV间的

表2 免前血清抗体阳性率及接种 TOPV 后血清抗体阳转率 (%)

国别	抗体型别	免 前			第1次免后			第2次免后			第3次免后		
		人数	阳性人数	阳性率	人数	阳转人数	阳转率	人数	阳转人数	阳转率	人数	阳转人数	阳转率
中 国	PV I	57	16	28	56	44	79	57	50	88*	55	52	95
	PV II	57	12	21	56	54	96	57	56	98	55	55	100
	PV III	57	6	11	56	46	82**	57	56	98	55	54	98
南 斯 拉 夫	PV I	53	23	43	51	43	84	52	48	92*	49	48	98
	PV II	53	18	34	51	46	90	52	51	98	49	48	98
	PV III	53	8	15	51	26	51	52	48	92	49	47	96
比 利 时	PV I	58	20	34	56	48	86	56	56	100	53	53	100
	PV II	58	15	26	56	49	88	56	56	100	53	53	100
	PV III	58	5	9	56	47	84**	56	54	96	53	52	98

* 与比利时生产的苗相比, $P=0.013$ (Fisher 精确概率算法)

* 与比利时生产的苗相比, $P=0.048$ (Fisher 精确概率算法)

** 与南斯拉夫生产的苗相比, $P < 0.001$ (Mantel-Haenszel卡方)。

差异无显著性; 与第二次服TOPV后一个月时相比, 阳转率亦无显著性增高。

接种 TOPV 后的血清抗体几何平均滴度 (GMT) 见表3。免前抗各型脊灰病毒抗体的 GMT 各接种组间的差异无显著性。第一次免后, 南斯拉夫TOPV产生的血清抗PV III的 GMT 明显地低于北京及比利时生产的 TOPV 的 ($P < 0.01$), 其它两型无显著性差异。第

二次免后, 血清抗各型脊灰病毒抗体的 GMT 均显著性高于免后第一次血时的 GMT, 与比利时的TOPV相比, 北京生研所TOPV免后产生的血清抗PV I的 GMT 明显地偏低 ($P < 0.05$)。第三次免后, 各种TOPV免后产生的血清抗各型脊灰病毒抗体的 GMT 间无显著性差异, 与第二次免后的 GMT 相比, 抗各型脊灰病毒的 GMT 均无显著性增高。

表3 接种不同国家的TOPV后血清抗体几何平均滴度(GMT)

国别	抗体型别	免前			第1次免后			第2次免后			第3次免后		
		人数	GMT	S	人数	GMT	S	人数	GMT	S	人数	GMT	S
中国	PV I	57	2.0	3.22	56	88.2	11.82	57	428.4	11.25	55	780.6	11.13
	PV II	57	1.5	2.32	56	175.9	7.39	57	340.4	4.95	55	454.9	6.62
	PV III	57	1.3	1.89	56	74.4**	13.59	57	295.9	5.21	55	304.9	7.39
南斯拉夫	PV I	53	3.1	4.01	51	177.7	12.81	52	897.8	8.08	49	962.9	11.82
	PV II	53	2.0	2.92	51	202.4	7.54	52	578.3	5.31	49	403.4	9.39
	PV III	53	1.4	2.22	51	17.8	19.29	52	249.6	8.33	49	320.5	11.70
比利时	PV I	58	2.1	3.12	56	169.0	15.18	57	1199.9*	5.36	53	1352.9	11.13
	PV II	58	1.9	3.56	56	160.8	11.25	57	561.2	3.94	53	589.9	9.49
	PV III	58	1.2	1.77	56	80.6**	12.43	57	343.8	8.08	53	544.6	10.80

* 与北京生物制品研究所生产的疫苗相比, $P < 0.05$

** 与南斯拉夫生产的疫苗相比, $P < 0.01$.

讨 论

本研究对三个国家生产的TOPV的稳定性及血清学效果进行了试验和观察。TOPV热稳定性试验的结果表明,三个国家生产的TOPV的热稳定性是相似的,滴度下降的幅度与国外报道的一致^[5, 6]。比利时的TOPV化冻后再冻较难,这可能与疫苗中所加的保护剂有关。冻融对疫苗总滴度的影响不大,对此,国外曾有人做过反复冻融180次的试验,结果表明,冻融对疫苗的滴度影响很小^[7]。

由于免前血清标本是在2月龄时采集的,此时婴儿体内的胎传抗体未完全消失,因此在一些婴儿的免前血清中检测出了抗体,但抗体的滴度较低,最高的为1:32。

第二次服TOPV后一个月时,服中国产TOPV组血清抗脊灰病毒I型抗体的阳转率及GMT均低于服比利时TOPV组的,而与服南斯拉夫TOPV组的无显著性差异。中国和南斯拉夫两国的TOPV中所加的保护剂是相同的,均为氯化镁,疫苗中I、II、III型病毒量的配比均为10:1:3。比利时的TOPV其保护剂除氯化镁外,还加入了不饱和脂肪酸,I、II、III型病毒量的配比为10:1:6。从表1的结果

可以看出,中国和南斯拉夫TOPV的滴度均稍高于比利时TOPV的,一般来说,服前两种TOPV后,其阳转率及GMT均不应低于比利时TOPV的。此点可能是中国及南斯拉夫产TOPV中I型病毒的滴度降低所致,因为在I、II、III型病毒中,I型病毒的热稳定性最差,比利时的疫苗中加入的保护剂可能增加了I型病毒的稳定性^[8],当然也可能是10:1:6的配比好于10:1:3。服比利时TOPV二次后的阳转率及GMT与服中国和南斯拉夫TOPV三次后的结果相似(差异无显著性),各型的阳转率均超过了96%。

服TOPV三次后,各疫苗组间抗各型病毒的血清抗体阳转率、GMT间的差异均无显著性。阳转率亦都达到了95%或以上。因此,按我国现行的免疫程序免疫儿童,国产TOPV的效果与国外两厂家疫苗的效果是相似的。服国产TOPV三次后所达到的群体免疫水平足以能阻断脊髓灰质炎病毒野毒株在人群中的传播。本结果与董德祥等人报道的相似^[9, 10]。与其它一些第三世界国家报道的结果相比,服国产TOPV的阳转率和GMT均是较高的^[11~13]。

表3 接种不同国家的TOPV后血清抗体几何平均滴度(GMT)

国别	抗体 型别	免前			第1次免后			第2次免后			第3次免后		
		人数	GMT	S	人数	GMT	S	人数	GMT	S	人数	GMT	S
中国	PV I	57	2.0	3.22	56	88.2	11.82	57	428.4	11.25	55	780.6	11.13
	PV II	57	1.5	2.32	56	175.9	7.39	57	340.4	4.95	55	454.9	6.62
	PV III	57	1.3	1.89	56	74.4**	13.59	57	295.9	5.21	55	304.9	7.39
南斯拉夫	PV I	53	3.1	4.01	51	177.7	12.81	52	897.8	8.08	49	962.9	11.82
	PV II	53	2.0	2.92	51	202.4	7.54	52	578.3	5.31	49	403.4	9.39
	PV III	53	1.4	2.22	51	17.8	19.29	52	249.6	8.33	49	320.5	11.70
比利时	PV I	58	2.1	3.12	56	169.0	15.18	57	1199.9*	5.36	53	1352.9	11.13
	PV II	58	1.9	3.56	56	160.8	11.25	57	561.2	3.94	53	589.9	9.49
	PV III	58	1.2	1.77	56	80.6**	12.43	57	343.8	8.08	53	544.6	10.80

* 与北京生物制品研究所生产的疫苗相比, $P < 0.05$

** 与南斯拉夫生产的疫苗相比, $P < 0.01$.

讨 论

本研究对三个国家生产的TOPV的稳定性及血清学效果进行了试验和观察。TOPV热稳定性试验的结果表明,三个国家生产的TOPV的热稳定性是相似的,滴度下降的幅度与国外报道的一致^[5, 6]。比利时的TOPV化冻后再冻较难,这可能与疫苗中所加的保护剂有关。冻融对疫苗总滴度的影响不大,对此,国外曾有人做过反复冻融180次的试验,结果表明,冻融对疫苗的滴度影响很小^[7]。

由于免前血清标本是在2月龄时采集的,此时婴儿体内的胎传抗体未完全消失,因此在一些婴儿的免前血清中检测出了抗体,但抗体的滴度较低,最高的为1:32。

第二次服TOPV后一个月时,服中国产TOPV组血清抗脊灰病毒I型抗体的阳转率及GMT均低于服比利时TOPV组的,而与服南斯拉夫TOPV组的无显著性差异。中国和南斯拉夫两国的TOPV中所加的保护剂是相同的,均为氯化镁,疫苗中I、II、III型病毒量的配比均为10:1:3。比利时的TOPV其保护剂除氯化镁外,还加入了不饱和脂肪酸,I、II、III型病毒量的配比为10:1:6。从表1的结果

可以看出,中国和南斯拉夫TOPV的滴度均稍高于比利时TOPV的,一般来说,服前两种TOPV后,其阳转率及GMT均不应低于比利时TOPV的。此点可能是中国及南斯拉夫产TOPV中I型病毒的滴度降低所致,因为在I、II、III型病毒中,I型病毒的热稳定性最差,比利时的疫苗中加入的保护剂可能增加了I型病毒的稳定性^[8],当然也可能是10:1:6的配比好于10:1:3。服比利时TOPV二次后的阳转率及GMT与服中国和南斯拉夫TOPV三次后的结果相似(差异无显著性),各型的阳转率均超过了96%。

服TOPV三次后,各疫苗组间抗各型病毒的血清抗体阳转率、GMT间的差异均无显著性。阳转率亦都达到了95%或以上。因此,按我国现行的免疫程序免疫儿童,国产TOPV的效果与国外两厂家疫苗的效果是相似的。服国产TOPV三次后所达到的群体免疫水平足以能阻断脊髓灰质炎病毒野毒株在人群中的传播。本结果与董德祥等人报道的相似^[9, 10]。与其它一些第三世界国家报道的结果相比,服国产TOPV的阳转率和GMT均是较高的^[11~13]。

Thermostability and Immunogenicity of Trivalent Oral Poliovirus Vaccine Produced by Different Countries Kong Jian, et al., National Vaccine and Serum Institute, Beijing 100024

Hep-2 cell-based microtiter assay system was used to test the titer of TOPV(Sabin strain). Before immunization, the overall potency results of TOPV produced by China, Yugoslavia, and Belgium were 6.33, 6.25, and 5.75 log TCID₅₀/0.1ml, respectively. After storage at 37°C for 2 days or after 5 cycles of freezing and thawing, the overall titer of each TOPV reduced less than 0.5 log TCID₅₀/0.1ml.

A randomized study was conducted in Anhui Province to test the serological difference among the TOPV which were produced by China, Yugoslavia and Belgium. The formulations of the TOPV produced by China and Yugoslavia were 6.0, 5.0, and 5.5 logTCID₅₀/0.1ml of Sabin types 1, 2, and 3, respectively. All of the children in this study were divided into three groups, and children in group A, B, and C received TOPV produced by China, Yugoslavia, and Belgium, respectively. Three doses of TOPV were given to the children in the group at 2, 3, and 4 months of age. The seroconversion rates and geometric mean titers had no significant differences among these groups before immunization. At the end of one month following the 2nd dose, the rates of seroconversion to type 1~3 poliovirus in group A, B, and C were 88%, 98%, 98%; 92%, 98%, 92%; 100%, 100% and 96%, respectively. The rate of seroconversion to type 1 poliovirus in group C was higher than those in group A and B. At the end of one month after the third dose, the rates of seroconversion to type 1~3 poliovirus in group A, B, and C were 95%, 100%, 98%; 93%, 98%, 96%; 100%, 100% and 98%, respectively; no significant differences were found among these groups, and there was no significant increase in seroconversion rates and geometric mean titers as compared with those at one month after the second dose.

Key words TOPV GMT

参 考 文 献

- 1 Kim-Farly RJ, Bart KJ, Schonberger LB et al. Poliomyelitis in the USA: virtual elimination of disease caused by wild virus. *Lancet* 1984; 2: 1315.
- 2 Sutter RW, Brink EW, Cochi SL et al. A new epidemiologic and laboratory classification system for paralytic poliomyelitis cases. *Am J Public Health* 1989; 79: 495.
- 3 董德祥, 关于脊髓灰质炎三价活疫苗的免疫效果. *中华流行病学杂志*, 1990; 11(特刊2号): 7.
- 4 卫生部医学科学委员会, 计划免疫专题委员会. *传染病免疫预防-计划免疫*. 第二版, 1986: 335.
- 5 Sokhey J, Gupta CK, Sharma B, et al. Stability of oral polio vaccine at different temperature. *Vaccine* 1988; 6: 12.
- 6 Mauler R, Gruschkau H. On stability of oral poliovirus vaccines *Dev Biol Stand* 1978; 41: 267.
- 7 Expanded programme on Immunization. Stability of oral polio vaccine after repeated freezing and thawing. *Weekly Epidemiological Record* 1990; 65: 207.
- 8 Dorval BL, Chow M, Klibanov AM, et al. Stabilization of poliovirus against heat inactivation. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 159: 1177.
- 9 山东省卫生防疫站, 等. 脊髓灰质炎三价疫苗免疫效果观察, *中华流行病学杂志*, 1990; 11(特刊2号): 25.
- 10 De-xiang D, xi-min H, Wan-jun L, et al. Immunization of neonates with trivalent oral poliomyelitis vaccines (Sabin) *Bull world Health Organ* 1986; 64: 853.
- 11 John TJ, Jayabal P. Oral polio vaccination of children in the tropics I. The poor seroconversion rates and the absence of viral interference. *Am J Epidemiol* 1972; 96: 263.
- 12 Metselaar D, McDonald K, Gemert W, et al. Poliomyelitis: epidemiology and prophylaxis. 5. Results of a two-and three-dose vaccination experiment. *Bull World Health Organ* 1977; 55: 755.
- 13 Ghosh S, Kumari S, Balaya S, et al. Antibody response to oral polio vaccine in infancy. *Indian Pediatr* 1970; 7: 78.

(收稿: 1992-10-05 修回: 1992-11-10)