

倍尔来福™甲、乙型肝炎联合疫苗安全性和免疫原性研究

赵玉良 陈玉国 李军 韩革新 田茶 梁金龙 李国 王志国
朱永贵 田志年 张华远 万宗举 梁争论 毕胜利

【摘要】 目的 观察倍尔来福™甲、乙型肝炎(甲、乙肝)联合疫苗的安全性和免疫原性。方法以高中一年级(成人组)和小学1~5年级(儿童组)学生为研究对象,按对甲、乙肝病毒均易感、只对甲肝病毒易感和只对乙肝病毒易感分为AB组、A组和B组,按0、1和6个月三剂程序分别接种甲、乙肝联合疫苗、灭活甲肝疫苗和重组乙肝疫苗。疫苗剂量成人组每剂含甲肝病毒抗原500 U和(或)HBsAg 10 μg,儿童组减半。疫苗接种后72 h内观察副反应,免疫后2、7个月采集血清标本检测抗-HAV和抗-HBs。结果 儿童AB组和成人AB组局部副反应发生率分别为0.58%(2/344)和2.56%(8/312),全身副反应发生率分别为9.88%(34/344)和5.45%(17/212),与对照组相比差异无显著性。局部反应主要是轻度疼痛,全身反应主要是低热。免疫后7个月,两组抗-HAV阳转率均为100%,与A组相同,抗体滴度(GMT)分别为33 910 mIU/ml和23 435 mIU/ml,显著高于A组;两组抗-HBs阳转率分别为97.30%和96.63%,GMT为103 mIU/ml和102 mIU/ml,抗-HBs阳转率及GMT均与B组差异无显著性。结论 倍尔来福™甲、乙肝联合疫苗与单价甲肝灭活疫苗和单价重组乙肝疫苗具有相同的安全性和免疫原性。

【关键词】 甲型肝炎;乙型肝炎;联合疫苗;安全性;免疫原性

Safety and immunogenicity of Bilive™ combined hepatitis A and B vaccine ZHAO Yu-liang*, CHEN Yu-guo, LI Jun, HAN Ge-xin, TIAN Cha, LIANG Jin-long, LI Guo, WANG Zhi-guo, ZHU Yong-gui, TIAN Zhi-nian, ZHANG Hua-yuan, WAN Zong-ju, LIANG Zheng-lun, BI Sheng-li. *Hebei Province Center for Disease Prevention and Control, Shijiazhuang 050021, China

【Abstract】 Objective To study the safety and immunogenicity of the Bilive™ combined hepatitis A and B vaccine produced by Sinovac Biotech Co., Ltd. **Methods** Samples were selected from first year students of a senior high school (adults group) and first to fifth grade 1-5 students of 3 primary schools (children group). Those who were susceptible to both hepatitis A virus (HAV) and hepatitis B virus (HBV), HAV only or HBV only were assigned to group AB, A and B respectively and were vaccinated with three doses (0, 1 and 6 month schedule) of Bilive™ combined hepatitis A and B vaccine, inactivated hepatitis A vaccine and recombined hepatitis B vaccine respectively. The dosage for adult group was 500 U hepatitis A antigen and/or 10 μg hepatitis B surface antigen and the dosage for children group was half the dosage of adult group. The potential adverse effects were observed within 72 hours after vaccination. Serum samples were collected for testing anti-HAV and anti-HBs at month 2 and 7 after the initial dose. **Results** The rates of local adverse effects were 0.58% and 2.56% in children AB group and adults AB group and the general adverse effects rates were 9.88% and 5.45% respectively. Both local and general adverse effect rates were not significantly different to the control group. The sero-conversion rate of anti-HAV in children and adults AB group reached 100% one month after 3 doses. The geometric mean titer (GMTs) reached 33 910 mIU/ml and 23 435 mIU/ml respectively, significant higher than that in control group (group A). The sero-conversion rates of anti-HBs were 97.30% and 96.63%, and GMTs were 103 mIU/ml and 102 mIU/ml in children and adults AB group respectively. No significant difference on sero-conversion and GMT was observed when compared with control group. **Conclusion** The Belive™ combined hepatitis A and B vaccine had good safety profile and the immunogenicity both on anti-HAV and anti-HBs was similar to that of separated components.

【Key words】 Hepatitis A; Hepatitis B; Combined vaccine; Safety; Immunogenicity

作者单位:050021 石家庄,河北省疾病预防控制中心病毒病防治科(赵玉良、李军、田茶);定兴县疾病预防控制中心(陈玉国、韩革新、梁金龙、李国、王志国、朱永贵、田志年);中国药品生物制品检定所(张华远、万宗举、梁争论);中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所(毕胜利)

中国是甲型和乙型肝炎(甲、乙肝)高度流行区,甲肝疫苗和乙肝疫苗的推广使两种疾病逐渐得到有效控制。将两种疫苗合在一起制成联合疫苗可以减少接种剂次和接种成本,提高接种效率,减少接种副反应的发生,符合当今疫苗发展的方向。国外 1990 年开始已有将甲、乙肝疫苗混合进行免疫原性研究的报道^[1],目前已有成熟的联合疫苗并经大量研究证明安全、高效^[2,3]。国内在灭活甲肝疫苗和甲、乙肝联合疫苗的研制方面起步较晚,北京科兴生物制品有限公司研制成功我国第一支甲肝灭活疫苗——孩尔来福™(简称甲肝灭活疫苗)^[4,5],在此基础上制成由甲肝灭活疫苗和重组(酵母)乙肝疫苗(简称乙肝疫苗)组成的甲、乙肝联合疫苗——倍尔来福™(简称甲乙肝联合疫苗),使我国甲肝和乙肝的预防控制又向前推进了一步。为了解该疫苗的安全性和免疫原性,我们于 2002 年 6 月至 2003 年 2 月在河北省定兴县以中小学生对研究对象进行了临床试验研究,结果报告如下。

对象与方法

一、研究对象

1. 样本人群:现场设在定兴县,儿童组为天官寺、界河铺和张祖庄 3 所小学 1~5 年级学生,共 31 个班 1170 人,年龄 8~13 岁,平均(10.06±1.52)岁;成人组为定兴中学高中一年级学生,共 20 个班 1318 人,年龄 16~19 岁,平均(17.32±0.88)岁。

2. 现场调查与血样采集:设计统一的调查表,由班主任协助登记学生名单和一般项目,向每位学生发放知情同意书,由本人或其监护人签字后进行流行病学调查,每人采集静脉血标本 3~5 ml,分离血清。采血率儿童组为 95.7%(1120/1170),成人组为 97.8%(1289/1318)。

3. 血清学检测:抗-HAV 和 HBV 感染标志(HBsAg、抗-HBs、抗-HBc、HBeAg 和抗-HBe)检测采用北京万泰生物药业有限公司生产的 ELISA 试剂盒,有效期内使用,按说明书操作和判定结果。血清丙氨酸转氨酶(ALT)检测采用赖氏法,试剂由北京化工厂生产,<40 U/L 为正常。

4. 研究对象的分组:将身体健康,无肝炎病史、肝炎症状及体征,无过敏史和甲、乙肝疫苗接种史,ALT 正常,抗-HAV 和(或)HBV 感染标志阴性者为研究对象。依据检测结果分为 3 组:①抗-HAV 和 HBV 感染指标均阴性,接种甲乙肝联合疫苗(AB

组);②抗-HAV 阴性,HBV 感染指标阳性,接种甲肝灭活疫苗(A 组);③抗-HAV 阳性、HBV 感染指标阴性,接种乙肝疫苗(B 组)。由于单纯 HBV 感染指标阴性者较多,故只选其中一部分作为观察对象,儿童组选天官寺小学 1~5 年级 1 班的学生,成人组选定兴中学高中一年级 1~3 班的学生。三个组人群性别、年龄分布基本均衡。

二、疫苗

1. 甲乙肝联合疫苗:北京科兴生物制品有限公司研制生产,批号为 20010201 和 20010202。每支 1 ml,含甲肝病毒抗原 500 U,HBsAg 10 μg。接种剂量为成人组 1.0 ml/剂,儿童组为 0.5 ml/剂。

2. 对照疫苗:

(1)乙肝疫苗:北京天坛生物制品股份有限公司生产,批号 2000100302。每支 0.5 ml,含乙肝病毒表面抗原 5 μg。接种剂量成人组 1.0 ml/剂,儿童组 0.5 ml/剂。

(2)甲肝灭活疫苗:北京科兴生物制品有限公司生产,成人组 1.0 ml/剂,含甲肝病毒抗原 500 U,批号为 20010210;儿童组 0.5 ml/剂,含甲肝病毒抗原 250 U,批号为 20010212。

3. 免疫程序与接种方法:上臂三角肌肌肉内注射,按 0、1、6 个月免疫程序接种。

三、研究内容与方法

1. 接种疫苗后副反应的观察:每次接种疫苗前测量基础体温,询问当时健康情况。体温正常,无任何急性感染表现者接种疫苗。对所有接种疫苗者于接种后 30 min 内、24、48、72 h 进行局部(红肿、疼痛、硬结等)及全身反应(以体温升高为主,或伴有头痛、头昏、恶寒、乏力和周身不适等自觉症状)观察。体温测量为腋下法,体温计均事先标化。副反应分级判定标准依据卫生部《生物制品接种手册》和《预防接种的反应和处理》确定。局部反应 ≤0.5 cm 为无反应,0.6~2.5 cm 为弱反应,2.6~5.0 cm 为中度反应,≥5.1 cm 为重度反应;体温 ≤37.0℃ 为无反应,37.1~37.5℃ 为弱反应,37.6~38.5℃ 为中度反应,≥38.6℃ 为重度反应。

2. 免疫原性观察:接种第一剂疫苗后 2、7 个月采静脉血,分离血清进行甲、乙肝抗体的定性和定量测定。甲、乙肝抗体试剂先用国家参考品进行标定,各项指标符合要求后再进行定性和定量测定。

(1)抗-HAV 测定:试剂同前,先按试剂盒要求进行定性测定,阳性者进行定量测定,方法为将 WHO

甲肝免疫球蛋白和样品进行倍比稀释测定,测得吸光度(A)值代入回归方程,得出样品甲肝抗体的水平(mIU/ml)。

(2)HBsAb 定量测定的方法:用北方生物技术研究所生产的 HBsAb 放射免疫定量检测试剂。用乙肝抗体参比品测定 CPM 值求得回归方程,将样品的测定 CPM 值代入回归方程,即得出 HBsAb 水平(mIU/ml)。样品 HBsAb 含量 ≥ 2.1 mIU/ml 为乙肝抗体阳性,相应的率称阳性率; ≥ 10 mIU/ml 为乙肝抗体达到保护水平,相应的率称保护水平抗体阳性率。

3. 统计学分析:所有观察者资料录入 Microsoft Excel 表,用 Epi Info 2002 统计软件进行统计学处理。多个率的比较采用卡方检验,2 个率的比较采用 Fisher exact 概率法检验。2 个均数的比较采用 t 检验。

结 果

一、安全性

1. 局部副反应:主要表现为轻微疼痛和触痛,接种后 24 h 发生率较高,48 h 明显减少,未采取任何治疗措施 72 h 基本消失。局部反应发生率以第 1 针较高,接种第 2 针和第 3 针后的局部副反应率明显降低。将 3 剂合计儿童 AB 组、A 组和 B 组的局部副反应发生率分别为 0.58%(2/344)、1.16%(2/171)和 0(0/253),差异无统计学意义;成人组中 3 个疫苗组局部副反应发生率分别为 2.56%(8/312)、2.85%(7/246)和 3.00%(11/367),差异亦无统计学意义。

2. 全身副反应:全身副反应主要是低热。儿童 B 组接种第 1 针后有 1 人发生皮疹,72 h 明显好转,未进行特别处理。未见其他全身反应。3 剂合并后

的发热情况见表 1。儿童组和成人组中 AB 和 B 组之间发热反应发生率均比较接近,儿童 A 组发热率显著低于其他两组($P < 0.05$),成人 A 组发热率明显高于其他两组,但差异无统计学意义。

二、免疫原性

1. 甲肝抗体反应:儿童 AB 组和 A 组免疫后 2 个月和 7 个月抗-HAV 阳性率基本相同,GMT 均是 AB 组高于 A 组(免疫后 2 个月: $t = 2.7371, P < 0.01$;免疫后 7 个月: $t = 2.5643, P < 0.05$)。成人组 AB 组免疫后 2 个月抗-HAV 阳转率略低于 A 组,但差异无统计学意义,GMT 显著高于 A 组($t = 3.4791, P < 0.01$);免疫后 7 个月两组抗-HAV 阳性率均达到 100%,GMT 基本相同(表 2)。

2. 乙肝抗体反应:儿童 AB 组免疫后 2 个月抗-HBs 阳转率、保护水平抗体阳性率、免疫后 7 个月保护水平抗体阳性率及两次结果的 GMT 均略低于 B 组,但差异均无统计学意义。成人组免疫后 2 个月

表1 儿童组和成人组接种甲乙肝联合疫苗后发热反应发生率(%)

组别	接种人次	弱反应 (37.1~37.5℃)		中反应 (37.6~38.5℃)		合 计	
		人数	发生率 (%)	人数	发生率 (%)	人数	发生率 (%)
儿童							
AB 组	344	30	8.72	4	1.16	34	9.88
A 组	171	7	4.09	0	0.00	7	4.09
B 组	253	24	9.49	1	0.40	25	9.88
成人							
AB 组	312	17	5.45	0	0.00	17	5.45
A 组	246	18	7.32	0	0.00	18	7.32
B 组	367	15	4.09	1	0.27	16	4.36

注:儿童 AB 组比儿童 A 组: $\chi^2 = 5.22, P = 0.0224$;成人 AB 组比成人 A 组: $\chi^2 = 0.82, P = 0.3666$;儿童 AB 组比儿童 B 组: $\chi^2 = 0.00, P = 0.9993$;成人 AB 组比成人 B 组: $\chi^2 = 0.43, P = 0.5111$

表2 儿童组和成人组接种甲乙肝联合疫苗后抗体反应

分组	免疫后观察时间(月)	检测人数	抗-HAV				抗-HBs										
			阳性例数	阳性率 (%)	GMT (mIU/ml)	95% CI (mIU/ml)	分组	接种人数	阳转		保护水平		GMT (mIU/ml)	95% CI (mIU/ml)			
									例数	阳转率 (%)	人数	阳转率 (%)					
儿童	AB 组	2	55	51	92.73	4	264	369~49	321	AB 组	55	41	74.55	31	56.36	40	9~172
	A 组		42	39	92.86	2	155	270~17	222	B 组	73	57	78.08	44	60.27	50	11~222
	AB 组	7	74	74	100.00	33	910	5 585~166	146	AB 组	74	73	98.65	72	97.30	103	22~480
	A 组		39	39	100.00	20	806	2 713~159	582	B 组	72	72	100.00	72	100.00	111	36~337
成人	AB 组	2	82	79	96.34	1	124	243~5	188	AB 组	82	52	63.41	37	45.12	71	10~522
	B 组		73	72	98.63	666		84~5	276	B 组	118	84	71.19	60	50.85	42	11~157
	AB 组	7	89	89	100.00	23	435	3 372~162	887	AB 组	89	88	98.88	86	96.63	102	19~468
	B 组		73	73	100.00	23	311	2 356~230	620	B 组	115	115	100.00	112	97.39	97	29~329

AB 组抗-HBs 阳转率和保护水平抗体阳性率均低于 B 组, 差别无统计学意义, 免疫后 7 个月两个率比较接近。GMT AB 组高于 B 组, 免疫后 2 个月差异有统计学意义($t = 3.0462, P < 0.01$), 免疫后 7 个月无统计学意义(表 2)。

讨 论

本研究首次对倍尔来福™甲乙肝联合疫苗进行了临床研究, 证明该疫苗具有良好的安全性和免疫原性。联合疫苗组局部和全身副反应发生率与单价甲、乙肝疫苗组相比差异无统计学意义。联合疫苗组抗体阳转率与单价疫苗组相比差异无统计学意义。抗-HAV 和抗-HBs GMT 联合疫苗显著高于或接近单价疫苗组。

全程免疫后, 成人联合疫苗组和儿童联合疫苗组甲肝抗体阳转率均为 100%, GMT 分别为 33 910 mIU/ml 和 23 435 mIU/ml, 高于国外 3 剂程序研究的有关报道^[2, 6, 7]。达到保护水平的 HBsAb 阳转率为 97% 左右, GMT 儿童组和成人组分别为 103 mIU/ml 和 102 mIU/ml, 与单价乙肝疫苗 GMT 111 mIU/ml 和 97 mIU/ml 无差异, 低于国外有关报道 2000 mIU/ml 以上的水平^[2, 6, 7]。HBsAb GMT 差异的主要原因是检测试剂不同和测定方法不同, 与含量也有一定关系。如国外研究史克 20 μg/剂抗体滴度一般较 MERCK 10 μg/剂为高, 但我国研究结果与国外的差异原因主要为国产试剂(RIA)应用中国药品生物制品检定所的改良公式计算结果滴度偏低, 或应用标准品测定, 高于测定标准的未加以稀释后测定, 因此与国产单价疫苗的免疫效果比较更有意义。

国外临床试验甲乙肝联合疫苗的免疫程序有

0、1、6 个月三剂程序^[2, 6]和 0、6(或 0、12)两剂^[3]两种程序^[8], 免疫效果基本相同。目前孩尔来福™甲肝灭活疫苗的免疫程序为 0、6 个月或 0、12 个月两剂程序^[9], 乙肝疫苗的常规免疫程序为 0、1、6 个月三剂程序^[10], 从成本效益和方便的角度考虑应开展两剂程序免疫效果的研究。

参 考 文 献

- 1 Flehmig B, Heinrich U, Pfister M. Simultaneous vaccination for hepatitis A and B. *J Infect Dis*, 1990, 161:865-868.
- 2 Peter AC, Norbert B, Ute W. Hepatitis A and hepatitis B vaccinations: immunogenicity of combined vaccine and of simultaneously or separately applied single vaccines. *Vaccines*, 2000, 18:1074-1080.
- 3 Margaret AB, Alison JR, Sharon AW, et al. Comparative immunogenicity and safety of two dosing schedules of a combined hepatitis A and B vaccine in healthy adolescent volunteers: an open, randomized study. *Vaccines*, 2001, 19:4835-4841.
- 4 Ren EG, Feng FM, Ma JR, et al. Immunogenicity and safety of a new inactivated hepatitis A vaccine in young adults: a comparative study. *Chinese Medical Journal* 2002, 115:1483-1485.
- 5 刘崇柏, 任银海, 张玉成, 等. 国产甲型肝炎灭活疫苗在小学中应用的安全性免疫原性和免疫程序研究. *中国计划免疫*, 2002, 8:1-3.
- 6 Ronald WJ, Mark B, Betsy A, et al. A prospective, randomized, comparative US trial of a combination hepatitis A and B vaccine (Twinrix) with corresponding monovalent vaccines (Havrix and Engerix-B) in adults. *Vaccines* 2001, 19:4710-4719.
- 7 Tsai IJ, Chang MH, Chen HL, et al. Immunogenicity and reactogenicity of the combined hepatitis A and B vaccine in young adults. *Vaccines* 2001, 19:437-441.
- 8 Levie K, Beran J, Collard F, et al. Long term (24 months) follow-up of a hepatitis A and B vaccine, comparing a two and three dose schedule in adolescents aged 12-15 years. *Vaccines* 2002, 20:2579-2584.
- 9 刘崇柏, 任银海, 吴文婷, 等. 孩尔来福甲型肝炎灭活疫苗不同免疫程序的评价. *中国计划免疫*, 2003, 9:219-221.
- 10 刁连东, 何勇革. 计划免疫实施. 见: 连文远, 主编. 计划免疫学. 第 2 版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2002. 62-103.

(收稿日期: 2003-11-13)

(本文编辑: 尹廉)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊有关论著中、英文摘要的书写格式

论著须附中、英文摘要, 内容包括目的、方法、结果(应给出主要数据)、结论四部分, 各部分冠以相应的标题。采用第三人称撰写, 不用“本文”、“作者”等作主语。中文摘要可精炼些(400 字左右), 英文摘要则应相对详细具体些(500 个实词左右)。英文摘要应包括文题、作者姓名(汉语拼音, 其姓的字母均大写)、单位名称、所在城市名及邮政编码, 其后加列国名, 作者姓名应全部列出; 不属同一单位时, 在第一作者姓名右上角加“*”, 同时在第一作者单位名称首字母左上角加“*”。例如: LIN Xian-yan*, WU Jian-ping, QIN Jiong. *Department of Pediatrics, First Hospital, Beijing Medical University, Beijing 100034, China.