

· 现场调查 ·

连续三批甲型肝炎灭活疫苗在儿童中应用的免疫原性和安全性研究

姜维平 王亚龙 陈文字 徐文国 陈江婷 王旭 刘研 尹卫东

【摘要】 目的 考核连续三批甲肝灭活疫苗孩尔来福®临床应用的免疫原性和安全性及质量的稳定性、批间一致性。方法 采用随机双盲设对照的临床试验设计, 试验用疫苗为连续三批次的孩尔来福®和进口对照疫苗。受试者为 400 名 1~8 岁抗-HAV 阴性健康儿童, 随机分配到四个试验组, 每组 100 人, 孩尔来福®剂量为每支 250 U/0.5 ml, 对照疫苗剂量为每支 720 Elu/0.5 ml, 按照 0 和 6 个月程序接种疫苗。接种后进行 30 min 即时反应观察以及 24、48、72 h 的随访观察, 并在第一针免疫后 1、6、7 个月采血检测甲肝抗体。结果 四个试验组免疫后 7 个月抗体阳转率均为 100%; 三批孩尔来福®的 GMT 为 3237.06~3814.14 mIU/ml, 差异无统计学意义; 对照疫苗 GMT 为 1467.49 mIU/ml。接种疫苗后孩尔来福®和对照疫苗组不良反应发生率在 1%~5% 之间, 以轻度和中度发热为主, 未见严重不良反应发生。结论 孩尔来福®质量稳定, 批间一致性和安全性良好。

【关键词】 甲型肝炎灭活疫苗; 免疫原性; 安全性

Immunogenicity and safety of three consecutive lots on a inactivated hepatitis A vaccine: a double-blind, randomized and controlled trial in children JIANG Wei-ping*, WANG Ya-long, CHEN Wen-yu, XU Wen-guo, CHEN Jiang-ting, WANG Xu, LIU Yan, YIN Wei-dong. *Changzhou Center for Disease Control and Prevention, Changzhou 213003, China

【Abstract】 Objective To evaluate the immunogenicity, safety, stability and consistency of three consecutive lots of a inactivated hepatitis A vaccine (Healive®). **Methods** A double-blind, randomized and controlled clinical trial was conducted in healthy volunteers aged from 1 to 8 years. Totally, 400 subjects were enrolled and assigned into four groups, each receiving one of the three lots of Healive® or an licensed control vaccine in 0 and 6th month. Safety was assessed through a 30 minutes and three days observation, thereafter. Anti-HAV titers were determined on the 1st, 6th and 7th month after the vaccination. **Results** Seroconversion rate of four groups were all 100% by the end of the schedule while GMTs of Healive® were 3237.06-3814.14 mIU/ml but were not significantly different. GMT of control vaccine was 1467.49 mIU/ml. Healive® and control vaccine were well tolerated with 1%-5% incidence of overall adverse reactions in which most of them were mild and moderate. No severe adverse reaction was reported. **Conclusion** The three consecutive lots of Healive® were well consistent as indicated by immunogenicity and safety while immunogenicity was better than the vaccine used as control.

【Key words】 Hepatitis A inactivated vaccine; Immunogenicity; Safety

甲肝是由甲肝病毒引起的急性传染病, 全球不同地区流行率在 15%~100% 之间^[1]。我国每年报告的 120 万例急性病毒性肝炎中有 50% 为甲肝^[2]。通过近十年甲肝疫苗的应用已使甲肝发病率显著降低, 但局部暴发还时有发生^[3,4], 2006 年全国病毒性肝炎报告病例数中甲肝占 5.14%^[5]。因此, 提高甲肝疫苗接种率, 建立免疫屏障是预防和控制甲肝最

有效的措施。本次研究的目的是评价连续三批甲肝灭活疫苗孩尔来福®在临床应用的安全性、免疫原性, 以及不同批次疫苗的均一性和质量的稳定性, 为制定甲肝免疫策略提供依据。

对象与方法

1. 研究对象: 于 2006 年 3 月在江苏省常州市两个乡镇, 选取 400 名 1~8 岁身体健康儿童, 无慢性肝炎病史, 抗-HAV 和 HBsAg 阴性, 丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 正常。受试儿童家长或其监护人均签署知情同意书。对疫苗成份过敏或有任何过敏史, 有其

作者单位: 213003 江苏省常州市疾病预防控制中心 (姜维平、王亚龙、陈文字、徐文国); 北京科兴生物制品有限公司 (陈江婷、王旭、刘研、尹卫东)

他慢性病、血液病以及精神病史,或体温超过37.0℃的儿童被排除在外。受试儿童在研究期间不允许参加其他任何药物临床试验,研究开始前1个月和研究期间不允许接受免疫球蛋白和免疫抑制剂。

2. 疫苗: 试验用疫苗为连续三个批次的甲肝灭活疫苗孩尔来福[®], 由北京科兴生物制品有限公司生产, 疫苗选用 TZ84 毒株含甲肝抗原250 U, 有效期为2007年6月, 疫苗批号分别为2004120804、2004120902、2005020301。连续三批疫苗的定义是从病毒培养至完成成品灌装为一个批次, 这样连续三个批次产品。对照疫苗为葛兰素史克公司生产的甲肝灭活疫苗, 含有720 Elu甲肝抗原, 有效期为2007年12月。采用SPSS 13.0统计软件按照2:2:2:2的比例编制疫苗随机表, 对疫苗进行设盲, 疫苗编号为A001~A400。

3. 研究设计: 本研究为单中心、随机双盲设对照的临床试验设计。将三批孩尔来福[®]和一批对照疫苗按随机表进行随机编号, 一个编号有2支相同疫苗。400名受试儿童被随机分配到四个试验组, 按照0.6个月程序接种相同编号的2支疫苗, 试验期间研究者和受试儿童及其监护人均不知道接种的为何种疫苗。在第一针免疫后第1、6和7个月(全程免疫后1个月)采集受试儿童静脉血标本, 分离血清于-20℃冻存, 集中检测抗-HAV。临床试验方案经常州市疾病预防控制中心(CDC)伦理委员会审核批准同意, 并在SFDA备案后, 按照GCP要求实施。

4. 免疫学评价: 抗-HAV检测方法为微粒子酶免疫法(MEIA)。采用ABBOTT公司生产的HAVAB 2.0[®]甲肝抗体检测试剂在AXSYM[®]操作系统下进行甲肝抗体定量检测, 批号为43581LU00。定标液为该公司按照WHO标准品标化的专门用于甲肝抗体定量检测的六点定标液, 批号为36114HN00, 六点滴度分别为0、5、10、20、50、100 mIU/ml。抗-HAV滴度 ≥ 20 mIU/ml确定为抗体阳转。系统检测阈值为5~100 mIU/ml之间, <5 mIU/ml按照2.5 mIU/ml计算; 样本滴度超过100 mIU/ml, 采用

专用稀释液稀释后进行复测, 稀释后结果>20 000 mIU/ml, 按照20 000 mIU/ml计算。

5. 安全性评价: 受试儿童接种疫苗后进行30 min的即时反应观察并进行记录, 在接种后24、48和72 h对受试儿童进行随访观察, 观察其接种部位和全身不良反应, 并记录于日志卡上。参考美国国立卫生研究院(NIH)过敏和传染病研究所(NIAID)临床评估分级的参考资料“儿童及婴幼儿副反应及毒性分级表”, 进行安全性评估^[6]。

6. 统计学分析: 统计分析采用SPSS 13.0软件。统计学显著性检验均采用双侧检验, 以 $P \leq 0.05$ 作为判断标准。对于服从正态分布的定量资料选用参数检验法; 若试验数据非正态分布, 则选用非参数检验法, 如Wilcoxon秩和检验等。如通过数据变换, 非正态性资料可转为正态性资料, 可用参数检验方法。对于定性资料, 一般采用 χ^2 检验, 当表中理论频数<5的格子数超过全部格子数的1/5时, 用Fisher's检验; 对于单向有序 $R \times C$ 表资料采用秩和检验分析。

结 果

1. 人口学特征: 400名1~8岁儿童, 平均年龄为5.5岁, 其中男童203人, 女童197人, 男女比例为1:0.97, 随机分配到四个试验组。按照基本指标分析, 各组从年龄、身高、体重三项指标比较差异均无统计学意义, 表明四组资料的基本情况一致性、均衡性、可比性良好, 见表1。受试者中有14人脱落, 其中有6例在接种1针疫苗后失访, 8例在完成全程免疫后自愿退出, 总脱落率为3.5%, 受试者依从性良好, 试验数据有较好的可信性。

2. 免疫原性:

(1) 总体免疫原性结果: 共有391名儿童完成全部2针疫苗接种, 且符合方案要求, 进行免疫原性分析。免疫后1个月三批孩尔来福[®]抗-HAV阳转率为69.4%~80.9%, GMT为25.96~32.66 mIU/ml; 对照疫苗抗-HAV阳转率为51.5%, GMT为

表1 400名儿童接种疫苗的人口学信息

分组	2004120804	2004120902	2005020301	贺福立适	统计量	P值
人数	100	100	100	100		
性别(男/女)	1:0.82(55/45)	1:1.27(44/56)	1:0.92(52/48)	1:0.97(52/48)	$\chi^2 = 2.671$	0.445
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	3.8 \pm 1.6	3.8 \pm 1.7	3.5 \pm 1.6	3.7 \pm 1.7	-	0.546
身高(cm, $\bar{x} \pm s$)	100.4 \pm 13.0	101.2 \pm 13.2	98.6 \pm 12.6	100.6 \pm 12.6	$F = 0.747$	0.525
体重(kg, $\bar{x} \pm s$)	17.3 \pm 3.9	17.4 \pm 3.9	16.6 \pm 3.7	17.4 \pm 3.8	$F = 0.964$	0.410

注: 性别分析采用 χ^2 检验; 身高和体重经检验呈正态分布, 采用方差分析; 年龄不符合正态分布, 应用非参数检验

20.43 mIU/ml, 经比较孩尔来福[®]抗-HAV 阳转率和 GMT 均高于对照疫苗, 差异有统计学意义。免疫后 6 个月三批孩尔来福[®]抗-HAV 阳转率为 95.9%~98.0%, GMT 为 92.19~144.33 mIU/ml; 对照疫苗抗-HAV 阳转率为 87.8%, GMT 为 46.49 mIU/ml, 孩尔来福[®]抗-HAV 阳转率和 GMT 均高于对照疫苗, 差异有统计学意义。免疫后 7 个月(全程免疫后 1 个月)四个试验组抗-HAV 阳转率全部为 100%, GMT 孩尔来福[®]为 3237.06~3814.14 mIU/ml, 对照疫苗为 1467.49 mIU/ml, 孩尔来福[®]抗-HAV GMT 高于对照疫苗, 差异有统计学意义。

进行孩尔来福[®]组间比较, 除 6 个月 2005020301 批抗体 GMT 水平显著高于另两组外, 其他各观察时间点抗体 GMT 和阳转率间差异均无统计学意义; 详见表 2。

(2)不同年龄组免疫原性比较: 将 293 名接种孩尔来福[®]的儿童分为 1~3 岁和 4~8 岁两组进行比较, 抗体 GMT 和阳转率差异均无统计学意义。对 98 名接种对照疫苗的儿童按两组进行抗体 GMT 和阳转率比较, 差异无统计学意义。两组孩尔来福[®]抗体 GMT 和阳转率均高于对照疫苗, 见表 3。

3. 安全性结果: 400 名儿童接种疫苗后总体不良反应发生率为 1%~5%, 仅发生 1 例接种部位皮肤发红的局部不良反应, 全身反应 10 例, 以轻度发热为主, 体温未超过 39℃, 未见严重不良反应(SAE)和接种后即时反应发生, 各试验组间不良反应发生率差异无统计学意义, 见表 4。

讨 论

传染性疾病对个人和社会造成的经济负担是人所共知的, 甲肝亦是如此。在美国 CDC 2006 年的报告中, 美国每年有 2.2 万~3.6 万例甲肝患者, 其中仅成年人患甲肝造成的直接及间接经济损失就在 3 亿~5 亿美元^[7], 平均每例为 1.1 万~1.8 万美元。尽管我国对此未有明确的报道, 但根据发病率推算, 我国因甲肝造成的经济损失应超过此数。

甲肝灭活疫苗孩尔来福[®]由北京科兴生物制品有限公司生产, 该疫苗于 2001 年在中国批准上市, 到目前为止已使用了超过 500 万余支^[8]。新药临床试验和上市后的临床试验结果充分证明了疫苗在儿童和成年人中应用的安全性和免疫效果^[9-11]。本次试验结果可以看到三批孩尔来福[®]免疫后 7 个月抗-HAV 阳转率均为 100%, GMT 为 3237.06~3814.14 mIU/ml, 表明孩尔来福[®]质量稳定、批间一致性好, 使儿童接种疫苗均产生了较高的甲肝保护性抗体, 与上市前新药临床试验结果一致^[9]。本次试验选择的两种疫苗均为出厂 1 年疫苗, 结果表明同期产品孩尔来福[®]免疫原性优于对照疫苗。

孩尔来福[®]前期未在 3 岁以下儿童中进行研究^[10,11], 本次试验对 1~3 岁和 4~8 岁两个年龄组进行了比较研究, 结果 1~3 岁组免疫后 7 个月抗体阳转率为 100%, GMT 达 3104.99 mIU/ml, 两年龄组间差异无统计学意义, 高于对照疫苗。这一结果证明该疫苗在小年龄组儿童中使用同样能够产生良好的免疫原性, 灭活疫苗适于儿童计划免疫使用。

表2 400 名儿童接种甲肝疫苗临床试验总体免疫原性结果

时间	结果	2004120804	2004120902	2005020301	三组比较	贺福立适	四组比较
1 个月	观察人数	98	97	94		97	
	阳性例数	68	72	76		50	
	阳转率(%)	69.4	74.2	80.9	$\chi^2 = 3.360$	51.5	$\chi^2 = 21.198$
	95% CI	(60.30~78.50)	(65.50~82.90)	(73.00~89.00)	$P = 0.186$	(41.60~61.40)	$P = 0.000$
	GMT	28.21	25.96	32.66	$H = 4.351$	20.43	$H = 31.311$
6 个月	95% CI	(23.35~34.09)	(22.91~29.40)	(28.09~38.86)	$P = 0.114$	(17.34~24.04)	$P = 0.000$
	观察人数	98	98	97		98	
	阳性例数	94	96	94		86	
	阳转率(%)	95.9	98.0	96.9	$\chi^2 = 0.686$	87.8	$\chi^2 = 12.561$
	95% CI	(92.00~99.80)	(95.20~100.00)	(93.50~100.00)	$P = 0.710$	(81.30~94.30)	$P = 0.000$
7 个月	GMT	92.19	98.64	144.33	$H = 20.609$	46.49	$H = 78.780$
	95% CI	(77.45~110.03)	(81.60~119.26)	(120.74~175.41)	$P = 0.000$	(38.72~55.83)	$P = 0.000$
	观察人数	96	96	95		95	
	阳性例数	96	96	95		95	
	阳转率(%)	100.0	100.0	100.0		100.0	
7 个月	95% CI	-	-	-		-	
	GMT	3237.06	3268.27	3814.14	$H = 2.032$	1467.49	$H = 50.218$
	95% CI	(2616.03~4005.51)	(2646.87~4035.55)	(3132.79~4762.59)	$P = 0.362$	(1214.51~1773.37)	$P = 0.000$

注: GMT: 三组间比较抗体滴度经对数转换后呈非正态分布, 采用非参数检测方法; 各组间阳转率比较采用 χ^2 检验

表3 400 名儿童不同年龄组甲肝疫苗免疫原性结果

时间	结果	孩尔来福®			贺福立适		
		1~3岁	4~8岁	两组比较	1~3岁	4~8岁	两组比较
1个月	观察人数	122	167		38	59	
	阳转例数	91	125		17	33	
	阳转率(%)	74.6	74.9	$\chi^2 = 0.003$	44.7	55.9	$\chi^2 = 1.160$
	95% CI	(66.90~82.30)	(68.30~81.50)	$P = 0.960$	(28.90~60.50)	(43.20~68.60)	$P = 0.281$
	与贺福立适两组比较	$\chi^2 = 11.771, P = 0.001$	$\chi^2 = 7.418, P = 0.006$		-	-	
	GMT(mIU/ml)	28.36	29.07	$Z = 0.301$	18.12	22.07	$Z = 1.589$
	95% CI	(24.57~32.75)	(25.75~32.82)	$P = 0.763$	(13.58~24.17)	(18.12~26.88)	$P = 0.112$
与贺福立适两组比较	$Z = 3.948, P = 0.000$	$Z = 3.459, P = 0.000$		-	-		
6个月	观察人数	125	168		39	59	
	阳转例数	121	163		31	55	
	阳转率(%)	96.8	97.0	$\chi^2 = 0.012$	79.5	93.2	$\chi^2 = 2.942$
	95% CI	(93.70~99.90)	(94.40~99.60)	$P = 0.963$	(66.80~92.20)	(86.80~99.60)	$P = 0.086$
	与贺福立适两组比较	$\chi^2 = 13.138, P = 0.000$	$\chi^2 = 1.659, P = 0.198$		-	-	
	GMT(mIU/ml)	118.46	103.09	$Z = 1.274$	45.11	47.43	$Z = 0.330$
	95% CI	(99.34~141.26)	(90.36~117.63)	$P = 0.203$	(31.27~65.09)	(39.05~57.60)	$P = 0.741$
与贺福立适两组比较	$Z = 4.890, P = 0.000$	$Z = 6.051, P = 0.000$		-	-		
7个月	观察人数	121	166		39	56	
	阳转例数	121	166		39	56	
	阳转率(%)	100	100	-	100	100	-
	95% CI	-	-	-	-	-	-
	GMT(mIU/ml)	3104.99	3685.70	$Z = 1.319$	1544.10	1416.39	$Z = 0.257$
	95% CI	(2572.13~3748.25)	(3153.82~4307.28)	$P = 0.187$	(1127.31~2114.99)	(1111.21~1805.38)	$P = 0.797$
	与贺福立适两组比较	$Z = 3.689, P = 0.000$	$Z = 5.963, P = 0.000$		-	-	

表4 400 名儿童接种甲肝疫苗后安全性观察结果

结果	2004120804	2004120902	2005020301	贺福立适	P值 ^a
总体不良反应率	2.0(2/100)	5.0(5/100)	1.0(1/100)	3.0(3/100)	0.430
局部反应					
发生率	1.0(1/100)	0.0(0/100)	0.0(0/100)	0.0(0/100)	1.000
皮肤发红	1.0(1/100)	0.0(0/100)	0.0(0/100)	0.0(0/100)	1.000
全身反应					
发生率	1.0(1/100)	5.0(5/100)	1.0(1/100)	3.0(3/100)	0.298
发热	1.0(1/100)	5.0(5/100)	1.0(1/100)	2.0(2/100)	0.330
呕吐	0.0(0/100)	0.0(0/100)	0.0(0/100)	1.0(1/100)	1.000

注：^a 精确概率法；括号外数据为发生率(%)，括号内数据为反应例数/接种人数

本次试验孩尔来福组不良反应发生率为1%~5%，均在72 h自行恢复，未见严重不良反应发生。回顾孩尔来福®上市4年的不良反应监测情况，在使用的546余万支疫苗中仅发生47例不良反应报告^[8]。从本次试验和上市后不良反应监测结果可以看到，该疫苗无论对于医生、受种者和他们的家长都是易于接受的。连续批次疫苗临床试验在国外已有广泛报道^[12-14]，多是在新药临床阶段开展。本次试验选用上市后产品进行临床考核，能够更为客观地评价产品在长期使用中的效果和质量的稳定性。为验证疫苗长期的免疫效果有必要继续进行免疫持久性研究。

参 考 文 献

[1] WHO. Hepatitis A vaccines. WER, 2000, 75(5):37-44.
 [2] 庄辉. 病毒性肝炎的流行病学. 中国计划免疫, 2004, 10(3):

180-181.
 [3] 卫生部公布 2006 年全国法定传染病疫情附件. 卫生部公布 2006 年全国法定传染病疫情, 2007 [OL]. <http://www.chinacdc.net.cn/n272442/n272530/n272757/appendix>.
 [4] 徐建荣, 叶众, 杨存军, 等. 应用甲型肝炎灭活疫苗控制甲型肝炎暴发的研究. 中国计划免疫, 2007, 13(1):66-68.
 [5] 苏美芳, 刘灿磊, 王自若. 一起甲型肝炎暴发的调查报告. 中国计划免疫, 2005, 11(2):95.
 [6] International Clinical Studies Support Center. Division of Microbiology and Infectious Diseases(DMID) Pediatric Toxicity Table (greater than 3 months of age), 2003[OL]. <http://www.icssc.org/index.htm>.
 [7] CDC. Prevention of hepatitis A through active or passive immunization: recommendations of the advisory committee on immunization practices(ACIP). MMWR, 2006, 55(RR-7):1-23.
 [8] 北京科兴生物制品有限公司上报不良反应监测中心(ADR)资料. 全国药品不良反应检测网络. 药品不良反应/事件报告, 2002-2006.
 [9] Ren AG, Feng FM, Ma JR, et al. Immunogenicity and safety of a new inactivated hepatitis A vaccine in young adults: a comparative study. Chinese Med J, 2002, 115(10):1483-1485.
 [10] 任银海, 吴文婷, 张玉成, 等. 孩尔来福甲型肝炎灭活疫苗小剂量免疫效果研究. 中国计划免疫, 2003, 9(2):114-116.
 [11] 任银海, 陈江婷, 吴文婷, 等. 儿童用甲型肝炎灭活疫苗不同免疫程序免疫原性研究. 中国计划免疫, 2003, 9(4):219-221.
 [12] Frey S, Dagan R, Ashur Y, et al. Interference of antibody production to hepatitis B surface antigen in a combination hepatitis A/hepatitis B vaccine. J Infect Dis, 1999, 180:2018-2022.
 [13] Theilmann L, Kallinowski B, Gmelin K, et al. Reactogenicity and immunogenicity of three different lots of a hepatitis A vaccine. Vaccine, 1992, 10 Suppl:S132-134.
 [14] Kenneth Z, Jessica D, Paul K, et al. Prospective, randomized, placebo-controlled evaluation of the safety and immunogenicity of three lots of intranasal trivalent influenza vaccine among young children. Pediatr Infect Dis J, 2001, 20:740-746.

(收稿日期:2007-08-30)

(本文编辑:尹廉)