

· 现场调查 ·

新生儿5 μg 和10 μg 重组酵母乙型肝炎疫苗初免后抗体免疫应答比较

张丽 张卫 翟祥军 李艳萍 黎健 颜丙玉 李燕婷 朱凤才 黄腾 李立秋
龚晓红 崔富强 梁晓峰 徐爱强

【摘要】 目的 比较新生儿接种5 μg 和10 μg 重组酵母乙型肝炎(乙肝)疫苗后抗-HBs血清应答状况。**方法** 以山东、江苏、上海、广西、北京5省(自治区、直辖市)为研究现场,采用5 μg 重组啤酒酵母乙肝疫苗(HepB-SC)和10 μg 重组汉逊酵母乙肝疫苗(HepB-HP),按照“0-1-6”免疫程序完成初免的7~12月龄健康婴儿。调查对象采用问卷调查并采集静脉血,应用化学发光微粒子免疫分析法(CMIA)定量检测抗-HBs。抗-HBs<10 mIU/ml者采用CMIA检测HBsAg,HBsAg阴性者采用巢式PCR方法检测HBV-DNA。比较不同HepB初免后的抗体应答率和抗体水平,采用多因素分析方法确定HepB种类对抗体阳转率和抗体水平的影响。**结果** 共观察8947名5 μg HepB-SC初免(5 μg 组)和4576名10 μg HepB-HP初免(10 μg 组)婴儿。5 μg 组无应答、低应答、正常应答和高应答率分别为1.88%、15.18%、61.42%和21.52%,10 μg 组分别为0.15%、2.16%、29.42%和68.26%;5 μg 组无应答、低应答和正常应答率高于10 μg 组,高应答率低于10 μg 组,各应答率之间差异均有统计学意义($P<0.01$)。5 μg 组和10 μg 组初免后抗-HBs几何平均浓度分别为354.81 mIU/ml(95%CI: 338.84~363.08 mIU/ml)和1778.28 mIU/ml(95%CI: 1698.24~1819.70 mIU/ml),差异有统计学意义($F=4517.17, P<0.001$)。多因素分析显示,排除采血月龄、性别、出生体重、早产、母亲分娩前HBsAg状态等因素影响,两种HepB初免后抗体阳性率和抗体水平的差异仍有统计学意义。**结论** 新生儿使用10 μg HepB-HP初免抗体应答优于5 μg HepB-SC。

【关键词】 新生儿; 基因重组乙型肝炎疫苗; 免疫剂量; 抗体应答

Comparison on the antibody response after primary immunization of 5 μg and 10 μg hepatitis B vaccine made by recombinant DNA techniques among newborns ZHANG Li¹, ZHANG Wei², ZHAI Xiang-jun³, LI Yan-ping⁴, LI Jian⁵, YAN Bing-yu¹, LI Yan-ting⁵, ZHU Feng-cai³, HUANG Teng⁴, LI Li-qiu², GONG Xiao-hong⁶, CUI Fu-qiang⁶, LIANG Xiao-feng⁶, XU Ai-qiang¹. 1 Shandong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Ji'nan 250014, China; 2 Beijing Center for Disease Control and Prevention; 3 Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention; 4 Guangxi Center for Disease Control and Prevention; 5 Shanghai Center for Disease Control and Prevention; 6 Chinese Center for Disease Control and Prevention

Corresponding author: XU Ai-qiang, Email: aqxuepi@163.com

This work was supported by a grant from the National Science and Technology Support Projects for the "Eleventh Five-Plan" of China (No. 2008ZX10002-001, 2009ZX10002-028).

【Abstract】 Objective To compare the antibody response induced by primary immunization with 5 μg and 10 μg hepatitis B vaccine made by recombinant DNA techniques among the newborns. **Methods** Healthy infants who had completed primary immunization with 5 μg hepatitis B vaccine made by recombinant deoxyribonucleic acid techniques in *Saccharomyces* (Hep-SC) or 10 μg hepatitis B vaccine made by recombinant deoxyribonucleic acid techniques in *Hansenula polymorpha* (HepB-HP) were included in the study. Kids under study were 7-12 months of age and had been on 0-1-6 schedule. Standardized questionnaire was used and blood samples were collected. The titer of

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.03.013

基金项目:“十一五”国家科技重大专项(2008ZX10002-001, 2009ZX10002-028)

作者单位:250014 济南,山东省疾病预防控制中心(张丽、颜丙玉、徐爱强);北京市疾病预防控制中心(张卫、李立秋);江苏省疾病预防控制中心(翟祥军、朱凤才);广西壮族自治区疾病预防控制中心(李艳萍、黄腾);上海市疾病预防控制中心(黎健、李燕婷);中国疾病预防控制中心(龚晓红、崔富强、梁晓峰)

张丽、张卫同为第一作者

通信作者:徐爱强, Email: aqxuepi@163.com

antibody to hepatitis B surface antigen (anti-HBs) was detected by Chemiluminescence Microparticle Immunoassay (CMIA). If anti-HBs happened to be under 10 mIU/ml, HBV DNA was further detected by nested-PCR to distinguish occult hepatitis B virus infection. Sero-conversion rate and titer of anti-HBs were compared between the two kinds of hepatitis B vaccines. Multivariate analysis was used to find the relationship between the kind of hepatitis B vaccine as well as the antibody response after debugging the other influencing factors including month-age, gender, birth-weight, premature birth and mother's HBsAg status. **Results** 8947 infants vaccinated with 5 μ g HepB-SC and 4576 infants vaccinated with 10 μ g HepB-HP were investigated. In the 5 μ g group, the rates of non-, low-, normal- and high-response were 1.88%, 15.18%, 61.42% and 21.52% respectively. In the 10 μ g group, the corresponding rates were 0.15%, 2.16%, 29.42% and 68.26% respectively. The non-, low-, normal-response rates were all higher in 5 μ g group than in 10 μ g group ($P < 0.01$), while the high-response rate was much higher in 10 μ g group than in 5 μ g group ($P < 0.01$). The geometric mean concentration (GMC) of anti-HBs were 354.81 mIU/ml (95% CI: 338.84–363.08 mIU/ml) and 1778.28 mIU/ml (95% CI: 1698.24–1819.70 mIU/ml) in the 5 μ g group and 10 μ g group respectively. The GMC was statistically higher in the 10 μ g group than in the 5 μ g group ($P < 0.001$). The sero-conversion rate and GMC were significantly different between the two groups even after debugging the other influencing factors. **Conclusion** Better anti-HBs response could be achieved by primary immunization with 10 μ g HepB-HP than with 5 μ g HepB-SC among newborns.

【Key words】 Newborns; Hepatitis B vaccine; Immunization dosage; Antibody response

新生儿乙型肝炎(乙肝)疫苗(HepB)免疫是阻断乙肝病毒(HBV)母婴传播和预防控制乙肝最有效的措施。我国自1992年开始在新生儿中普种HepB,儿童乙肝病毒表面抗原(HBsAg)携带率显著下降^[1]。目前国内大部分地区为新生儿免费提供的是5 μ g(剂次)HepB。有学者认为我国新生儿HepB接种剂量偏低,导致免疫后抗-HBs未阳转或达不到保护水平,仍对HBV易感^[2]。是否增加新生儿HepB免疫剂量已成为关注焦点。本研究通过大样本、多中心研究,比较新生儿全程接种5 μ g重组HepB(酿酒酵母)(HepB-SC)和10 μ g重组HepB(汉逊酵母)(HepB-HP)后的免疫应答,以期完善我国新生儿HepB免疫策略提供科学依据。

材料与方法

1. 研究对象:从山东、江苏、广西、北京和上海5省(自治区、直辖市)选择按照“0-1-6”程序(即首针在出生后24 h内接种,第2、3针分别在满1、6月龄时接种),使用5 μ g HepB-SC或10 μ g HepB-HP完成全程免疫的7~12月龄健康婴儿(分别为5 μ g组和10 μ g组)。婴儿HepB免疫史及疫苗种类根据其预防接种卡(证)确定。5 μ g HepB-SC为深圳康泰公司产品,10 μ g HepB-HP为大连汉信生物制药有限公司产品;由各地自行采购后免费提供给研究对象。本研究经中国疾病预防控制中心伦理委员会同意,每名研究对象监护人均需填写知情同意书。

2. 问卷调查:由经过培训的调查人员,按照统一的调查问卷,通过询问监护人,记录研究对象月龄、性别、出生体重、是否早产和母亲HBsAg状态等

信息。

3. 血标本采集及检测:所有研究对象采集静脉血2~3 ml,分离血清后-20 $^{\circ}$ C冷冻待检。采用化学发光微粒子免疫分析法(CMIA)定量检测抗-HBs, ARCHITECT[®] i2000型全自动发光检测仪器和试剂为美国雅培公司产品。检测值超过标准曲线上限(>1000 mIU/ml)者,15倍稀释后测定;检测值<10 mIU/ml者采用CMIA检测HBsAg, HBsAg阴性者采用巢式PCR方法检测HBV-DNA。血清学检测委托有资质的第三方承担;分子生物学检测由各相关省(自治区、直辖市)疾病预防控制中心病毒性肝炎实验室负责。

4. 判定标准:抗-HBs<10 mIU/ml且HBsAg及HBV DNA均阴性者为无应答,10 mIU/ml \leq 抗-HBs<100 mIU/ml者为低应答,100 mIU/ml \leq 抗-HBs<1000 mIU/ml者为正常应答, \geq 1000 mIU/ml者为高应答^[3]。早产是指28~37孕周分娩;低出生体重指出生时体重<2500 g。

5. 统计学分析:使用EpiData 3.1软件建立数据库,调查数据进行双录入和比对,不一致者对照调查问卷进行审核和修订。利用Stata 11.0软件进行单因素和多因素分析;抗-HBs应答率影响因素分析采用多分类logistic回归分析,几何平均浓度(GMC)影响因素分析采用协方差分析。研究结果判定中, P 值取双侧概率,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结 果

1. 基本情况:5 μ g组共调查8947人,其中上海674人、江苏2325人、山东3983人和广西1965人,分

别占调查对象的7.53%、25.99%、44.52%和21.96%；10 μg组共调查4576人，其中北京4413人、上海163人，分别占调查对象的96.44%和3.56%。两组新生儿采血月龄、性别、出生体重、早产和母亲HBsAg状态等构成见表1。

表1 两组新生儿HepB初免效果观察的人口学特征

变量分类及赋值 ^a	5 μg组		10 μg组	
	人数	构成比(%)	人数	构成比(%)
合计	8947	100.00	4576	100.00
月龄				
7月龄=7	1152	12.88	340	7.43
8月龄=8	1842	20.59	904	19.76
9月龄=9	1795	20.06	962	21.02
10月龄=10	1656	18.51	969	21.18
11月龄=11	1419	15.86	892	19.49
12月龄=12	1083	12.10	509	11.12
性别				
男=0	4865	54.38	2383	52.08
女=1	4082	45.62	2193	47.92
出生体重				
正常出生体重=0	8733	97.61	4498	98.30
低出生体重=1	215	2.40	78	1.70
早产儿				
是=0	370	4.14	469	10.25
否=1	6730	75.22	3944	86.19
不详=2	1847	20.64	163	3.56
母亲HBsAg状态				
阳性=0	221	2.47	202	4.41
阴性=1	7147	79.88	3870	84.57
不详=2	1579	17.65	504	11.01

注：^a多因素分析的变量赋值

2. 抗-HBs应答率：5 μg组抗-HBs<10 mIU/ml者184人，其中HBsAg阳性16人，HBsAg阴性者HBV-DNA均阴性；另168人为无应答者，无应答率为1.88%(168/8931)。10 μg组抗-HBs<10 mIU/ml者8人，其中HBsAg阳性1人，HBsAg阴性者HBV-DNA均阴性；另7人判定为无应答者，无应答率为0.15%(7/4575)。两组新生儿HepB初免低应答、正常应答和高应答情况见表2。

表2 两组新生儿HepB初免抗体应答

免疫观察组	观察人数 ^a	抗-HBs水平(mIU/ml)							
		<10 (无应答)		10~99 (低应答)		100~999 (正常应答)		≥1000 (高应答)	
		人数	率(%)	人数	率(%)	人数	率(%)	人数	率(%)
5 μg	8931	168	1.88	1356	15.18	5485	61.42	1922	21.52
10 μg	4575	7	0.15	99	2.16	1346	29.42	3123	68.26
χ ² 值		70.64		533.45		1238.89		2824.52	
P值		<0.01		<0.01		<0.01		<0.01	

注：^a不包括HBsAg和/或HBV DNA阳性者

运用多分类logistic回归分析，在控制了月龄、性别、出生体重、是否早产和母亲HBsAg状态等混杂因素后，10 μg组无应答率和低应答率均显著低于5 μg组，而高应答率显著高于5 μg组，差异均有统计学意义(Z值分别为-5.03、-12.41和46.33，P值均<0.001)，见表3。

表3 新生儿不同HepB初免后抗体应答影响因素多分类logistic回归分析

抗体应答及变量	Z值	P值	OR值(95%CI)
无应答			
5 μg组=0, 10 μg组=1	-5.05	<0.001	0.14(0.06~0.30)
月龄	0.77	0.44	1.04(0.94~1.14)
性别	2.43	0.02	1.45(1.07~1.95)
早产	-2.68	0.01	0.73(0.58~0.92)
出生体重	1.58	0.11	1.99(0.85~4.67)
母亲HBsAg状态	0.63	0.53	1.06(0.88~1.28)
低应答			
5 μg组=0, 10 μg组=1	-12.41	<0.001	0.26(0.21~3.17)
月龄	9.00	<0.001	1.19(1.15~1.24)
性别	1.76	0.08	1.11(0.99~1.25)
早产	-5.75	<0.001	0.77(0.71~0.84)
出生体重	0.26	0.27	1.26(0.84~1.88)
母亲HBsAg状态	2.68	0.01	1.11(1.03~1.19)
高应答			
5 μg组=0, 10 μg组=1	46.33	<0.001	8.73(7.97~9.57)
月龄	-21.61	<0.001	0.73(0.71~0.75)
性别	-1.55	0.12	0.94(0.86~1.02)
早产	8.35	<0.001	1.29(1.22~1.37)
出生体重	1.28	0.20	1.20(0.91~1.58)
母亲HBsAg状态	-3.38	0.00	0.90(0.84~0.96)

注：以正常应答为对照

3. 抗-HBs水平：5 μg组初免后抗-HBs的GMC为354.81 mIU/ml(95%CI:338.84~363.08 mIU/ml)，10 μg组初免后抗-HBs的GMC为1778.28 mIU/ml(95%CI:1698.24~1819.70 mIU/ml)，10 μg组高于5 μg组，差异有统计学意义(F=3998.37, P<0.001)。协方差分析表明：在校正月龄、性别、出生体重、早产和母亲HBsAg状态后，10 μg组抗-HBs的GMC高于5 μg组，差异有统计学意义(F=4517.170, P<0.001)，见表4。

表4 新生儿不同HepB初免后GMC的比较方差分析

变量	平方和	均方差	F值	P值
疫苗剂量	1601.298	1601.298	4517.170	<0.001
月龄	215.290	215.290	607.320	<0.001
性别	0.425	0.425	1.198	0.274
早产	0.103	0.103	0.291	0.590
母亲HBsAg状态	1.061	1.061	2.992	0.084
出生体重	1.652	1.652	4.661	0.031

讨 论

目前我国多数省(市)新生儿初免使用的是5 μg HepB-SC,但北京、上海等地已将新生儿常规免疫HepB初免剂量从每剂次5 μg 提高到10 μg ,所采用的疫苗为HepB-HP;是否需要提高我国新生儿HepB常规免疫剂量已成为研究的热点问题。

本研究证实,新生儿接种3剂次5 μg HepB-SC后,抗-HBs无/低应答率高达17.16%(分别为1.88%和15.18%),与郑徽等^[4]研究结果(16.89%)相近,提示使用5 μg HepB-SC全程免疫后较大比例儿童仍有感染HBV的可能性^[2];10 μg HepB-HP全程免疫后无/低应答率仅为2.31%,其中无应答率仅为0.15%,而高应答率达到68%,其免后抗体阳转率显著优于5 μg HepB-SC。既往研究表明,接种HepB后的抗体水平与保护性抗体持续时间有关^[5,6];即使抗-HBs滴度下降至 <10 mIU/ml时,原为高滴度抗-HBs者,其B淋巴细胞的免疫记忆也远高于原低滴度者^[7]。本研究中,5 μg 组和10 μg 组初免后GMC分别为354.81 mIU/ml和1778.28 mIU/ml,后者显著高于前者,提示新生儿接种10 μg HepB-HP可获得更长期的免疫保护。新生儿接种HepB后的抗体应答可能与采血时间、性别、出生体重、早产、母亲HBsAg状态等多种因素有关。本研究通过多因素分析,发现排除以上因素影响后,新生儿使用5 μg HepB-SC和10 μg HepB-HP初免后,其抗体应答率和抗体水平仍有显著差异,从而进一步证实了HepB抗体应答和疫苗剂量之间的关系。

本研究尽管有多项优势,但仍有不足。由于婴儿期采血困难,为保证足够的样本量,采取了多中心研究形式,研究现场包括5个省(自治区、直辖市),虽然各现场均按照统一的研究方案同步开展工作,但仍可能由于现场工作由不同研究者负责而导致信息采集标准不一致。研究设计时未调查新生儿出生后乙肝免疫球蛋白注射情况,母亲产前HBsAg状态也仅依靠回忆获得,其HBeAg和HBV DNA等未知,故难以对两种疫苗的HBV母婴阻断效果进行有效评价。此外,本研究使用的两种酵母疫苗表达体

系不同,其免后抗体水平的差异可能只部分归因于两者不同的抗原含量。

总之,本研究结果显示,新生儿接种较高剂量HepB可以获得更高的抗体应答率和抗体水平。鉴于我国属于乙肝中流行地区,建议调整免疫规划中HepB免疫策略,新生儿常规免疫应使用每剂次10 μg 替代目前的5 μg ,以进一步提高HepB免疫效果。

参 考 文 献

- [1] Liang XF, Bi SL, Yang WZ, et al. Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China — Declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccine. *Vaccine*, 2009, 27: 6550–6557.
- [2] Liao XY, Zhuang H. Progress on hepatitis B immunization among children. *Chin Prev Med*, 2010, 11(3): 323–324. (in Chinese)
廖雪雁, 庄辉. 儿童乙型肝炎疫苗预防进展. *中国预防医学杂志*, 2010, 11(3): 323–324.
- [3] Isolani AP, Sversuti CS, Sell AM, et al. Protection against hepatitis B by the Butang recombinant vaccine in newborn children in South Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2006, 101(5): 551–553.
- [4] Zheng H, Wang FZ, Chen YS, et al. Infants non-and-low response after recombinant yeast derived hepatitis B vaccinated and influencing factors analysis. *Chin J Vaccines Immun*, 2007, 13(4): 303–305. (in Chinese)
郑徽, 王富珍, 陈园生, 等. 新生儿接种重组乙型肝炎疫苗(酵母)后低无应答率及影响因素分析. *中国计划免疫*, 2007, 13(4): 303–305.
- [5] Zhou JJ, Wu WS, Sun CM, et al. Long-term evaluation of immune efficacy among newborns 16 years after HBV vaccination. *Chin J Vaccines Immun*, 2003, 9(3): 129–132. (in Chinese)
周建军, 吴维寿, 孙超美, 等. 新生儿乙型肝炎疫苗免疫16年效果观察. *中国计划免疫*, 2003, 9(3): 129–132.
- [6] Gong XH, Wang FZ, Li H, et al. Observation on effects of hepatitis B vaccine immunization for 12 years in children in Beijing. *Chin J Prev Med*, 2005, 39(4): 265–268. (in Chinese)
龚晓红, 王富珍, 李辉, 等. 北京市儿童乙型肝炎疫苗接种12年后免疫效果观察. *中华预防医学杂志*, 2005, 39(4): 265–268.
- [7] European Consensus Group on Hepatitis B immunity. Are booster immunizations needed for lifelong hepatitis B immunity? *Lancet*, 2000, 355: 561–565.

(收稿日期: 2011-10-09)

(本文编辑: 张林东)