

吸附精制百日咳菌苗人体接种反应及血清学效果观察报告

田效恩¹ 胡久珍¹ 何家龙¹ 宋英¹ 刁琳琪¹ 贾庆梅¹ 荆瑞芳² 陈媛²
 韩焕霞² 葛继体² 秦进才³ 侯启明³ 祖涛³ 梁亚文³ 关璞³ 何长民⁴
 杨晓明⁴ 陈平纾⁴ 陈爱荣⁴ 程夷⁴ 边淑娟⁴ 张锡云⁴ 王祖森⁴ 张蓉⁴ 高红⁴

提要 在郑州市12家省、市医院进行了所属地段内儿童国内首次吸附精制百日咳菌苗人体接种的接种反应及血清学效果观察。I期安全性观察接种8名成人及随后20名婴幼儿,均未见局部反应,仅后者有4例体温弱反应($37.6^{\circ}\text{C}\sim 38.0^{\circ}\text{C}$)。II期观察中,三次记录吸附精制百日咳菌苗组102名接种者局部中反应($2.6\sim 5.0\text{cm}$)1人次,而全细胞百日咳菌苗组100名为17人次,前者无强反应(5.1cm),而后者有3人次,前者104名接种者全身中反应为8人次,后者101名高达39人次,并且前者无强反应,后者有2人次。说明吸附精制百日咳菌苗接种反应轻微,这方面较全细胞百日咳菌苗明显优越。吸附精制百日咳菌苗组90名儿童免后1个月的血清凝集素几何平均滴度为817,全细胞菌苗85名为1422,对照制剂77名为8.79。两苗免后抗体比免前显著升高($P<0.01$);抗LPF抗体和抗FHA抗体吸附精制百日咳菌苗接种的60名儿童免后抗体分别达到 $24.17\text{EU}/\text{ml}\pm 3.9421$ (免前 $4.918\text{EU}/\text{ml}\pm 0.9282$)和 $38.850\text{EU}/\text{ml}\pm 7.2466$ (免前 $10.698\text{EU}/\text{ml}\pm 1.5304$),均呈极显著性升高($P<0.01$),与全细胞菌苗结果相似,对照剂组抗体不见升高。

关键词 吸附精制百日咳菌苗 全细胞百日咳菌苗 白细胞增多促进因子(LPFF)丝状血凝素(FHA)抗LPFF抗体 抗FHA抗体

目前世界各国除日本外仍在使用全细胞百日咳菌苗,因其对人体的毒性作用较重,异常反应发生率较高,特别对极少数儿童可引起神经系统症状,甚至严重的脑损伤以致死亡^[1~3],有的国家在全国范围内停用该菌苗,但停用后却引起百日咳发病倍增,故不得不恢复使用,但严重的副作用问题却未能解决。为此许多国家都在努力研制副作用较小的无细胞菌苗。日本研制的无细胞菌苗证明能极大降低副作用,且像常规全细胞菌苗一样有效,并于1981年秋开始用于群众性免疫接种^[2]。卫生部兰州生物制品研究所继日本后在我国率先研制成含有白细胞增多促进因子或百日咳毒素(Leucocytosis Promoting Factor, LPF; Pertussis Toxin, PT)和丝状血凝素(Filamentous, Haemagglutinin, FHA)两种主要免疫原

的新一代百日咳菌苗,并命名为吸附精制百日咳菌苗(adsorbed Purified Pertussis vaccine)。经卫生部药政局以(91)制申体04号文批准上临床研究,河南省站受药品审评委员会和中国药品生物制品检定所委托,在郑州市对该菌苗进行了现场人体接种反应和血清学效果观察研究,结果报道如下。

材料与方法

一、制品来源:

1. 吸附精制百日咳菌苗:由卫生部兰州生物制品研究所提供,8917批,其LPF和FHA含量为 $18\mu\text{gPN}/\text{ml}$ 。

1. 河南省卫生防疫站 450003 郑州市

2. 郑州市金水区防疫站

3. 中国药品生物制品检定所

4. 卫生部兰州生物制品研究所

2. 吸附全细胞百日咳菌苗：由卫生部武汉生物制品研究所提供，9101批，含百日咳杆菌菌体浓度为90亿/ml。

3. 对照制剂：由卫生部武汉生物制品研究所提供，9101批，仅含氢氧化铝吸附剂，其量为1.5mg/ml。

二、接种对象、剂量及方法：接种对象由郑州市金水区防疫站所辖地段内12家省市医院选取3~6月龄儿童309名，并由各医院计免科医生负责，按随机双盲法分为三组，即吸附精制百日咳菌苗组（简称吸）、吸附全细胞百日咳菌苗组（简称全）、对照制剂组（简称对），分别注射三针次，每针次0.5ml，间隔四周，臀部肌肉注射。

三、观察项目：

1. I期人体接种反应观察：局部反应观察其各组注射后24、48小时局部红晕反应情况，并于注射后4周观察局部有无硬结、无菌化脓淋巴结肿疼等现象。全身反应观察其注射后6~8、24、48小时体温反应（肛温），并询问家长有关婴幼儿的健康状况，观察有无异常反应。

2. II期人体接种反应和血清学效果观察：

① II期人体接种反应观察内容同I期。

② 血清学效果测定：各组于免前和全程免疫后4周，分别采取手指末端血，分离血清后贮于2℃~8℃备用。

③ 血清凝集素测定：采用微量凝集试验法进行^[4]，百日咳I相诊断菌液和标准诊断血清，来自中国药品生物制品检定所。

④ 抗LPF抗体和抗FHA抗体测定：采用抗LPF-ELISA和抗FHA-ELISA法进行^[5]。精制LPF（JNIH-5），精制FHA（JNIH-4）及碱性磷酸酶抗人IgG（羊）（JNIH-10）等标准品和参考品，系由日本国立预防卫生研究所Dr. Yuji Sato惠赠。Sumilon微量滴定板系日本S. B. Medical. co, LTD出品，抗LPF-ELISA和FHA-ELISA单位（EU/ml）采用平行线数组法计算^[6]，各组观察结果采用

WHO流行病学微机程序处理分析。

结 果

一、I期人体反应观察局部及全身反应：8名成人的局部及全身反应结果：吸组接种后24、48小时局部及全身反应均为无反应（ $\leq 0.5\text{cm}$ ； $\leq 37^\circ\text{C}$ ），结果满意；20名婴幼儿局部及全身反应：吸组接种后24、48小时局部反应均为无反应（ $\leq 0.5\text{cm}$ ）；全身反应中仅于接种后6~8小时有4例弱反应（ $37.6^\circ\text{C} \sim 38^\circ\text{C}$ ），余为无反应，结果良好。

二、II期人体反应观察的局部及全身反应：见表1、2。三针注射后24、48小时局部反应的中反应（2.6~5.0cm）中，吸组（102名）仅1例，对组（98名）为0例，而全组（100名）为20例，其中有3例强反应（ $\geq 5.1\text{cm}$ ）。

三针次注射后6~8、24、48小时全身反应的中反应中，吸组（104名）为8例，对组（100名）为9例，而全组（101名）则达41例，其中强反应有2例。

三、II期人体接种血清学效果：

1. 血清凝集素滴定：表3结果表明，三种制剂免疫前的水平均很低，GMT为9.35~10.2，吸组（90名）免疫后1个月的抗体滴度为817，免后较免前的抗体水平有显著增高（ $P < 0.01$ ），全组（85名）免后的抗体滴度为1422，免后较免前的抗体水平有显著升高（ $P < 0.01$ ）；对组（77名）免后的抗体滴度为8.79，免后较免前的抗体水平为低，差别无显著意义（ $P < 0.05$ ），吸苗免疫后凝集素增长水平 $\geq 1:320$ 者为76例，占84.4%，全苗为77例占90.56%，根据百日咳菌苗免疫后凝集素滴度在1:320以上即有完全保护作用可抗感染来说^[10]，结果甚好。

2. 抗LPF抗体和抗FHA抗体水平：吸组（60人份）免前抗LPF抗体水平平均值4.918EU/ml \pm 0.9282，免后为24.17EU/ml \pm 3.9421，t值为9.141， $P < 0.01$ ，免后较免前抗体水平升高有极显著性差异；免疫前抗

表1 吸附精制百日咳菌苗、全细胞百日咳菌苗与对照制剂注射后局部反应

针次	观察时间(小时)	观察项目	无反应(0.5cm)			弱反应(0.5~2.5cm)			中反应(2.6~5.0cm)			强反应(≥5.1cm)			观察人数		
			全	对	吸	全	对	吸	全	对	吸	全	对	吸	全	对	吸
1	24	红晕	89	95	103	10	3	1	1	0	0	0	0	0	100	98	104
		硬结	84	98	104	12	0	0	4	0	0	0	0	0	100	98	104
	48	红晕	96	98	102	2	0	0	0	0	0	0	0	0	98	98	102
		硬结	88	98	102	7	1	0	3	0	0	0	0	0	99	99	102
2	24	红晕	93	96	100	7	2	1	0	0	1	0	0	0	100	98	102
		硬结	92	97	100	7	1	2	1	0	0	0	0	0	100	98	102
	48	红晕	100	98	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	98	102
		硬结	92	98	102	8	0	0	0	0	0	1	0	0	100	98	102
3	24	红晕	85	93	95	7	3	4	4	0	0	1	0	0	97	96	99
		硬结	84	96	92	10	0	6	2	0	0	1	0	0	97	96	98
	48	红晕	95	94	99	1	0	0	1	0	0	0	0	0	97	94	99
		硬结	91	94	97	5	0	2	1	0	0	0	0	0	97	94	99
合计			1 089	1 154	1 198	76	10	16	17	0	1	3	0	0	1 185	1 164	1 209

全：全细胞百日咳菌苗；对：对照制剂；吸：吸附精制百日咳菌苗

表2 吸附精制百日咳菌苗、全细胞百日咳菌苗与对照制剂注射后人体体温反应(肛温)

针次	时间(小时)	无反应(≤37.5°C)			弱反应(37.6°C~38°C)			中反应(38.1°C~39°C)			强反应(>39°C)			观察人数		
		全	对	吸	全	对	吸	全	对	吸	全	对	吸	全	对	吸
1	6~8	73	86	86	22	12	16	4	2	3	2	0	0	101	100	105
	24	51	82	89	45	15	14	4	0	0	0	0	0	100	97	103
	48	85	86	87	10	9	14	3	3	0	0	0	0	98	99	101
2	6~8	68	80	85	27	16	16	5	1	0	0	0	0	100	97	101
	24	65	90	84	22	7	14	11	1	2	0	0	0	98	98	102
	48	95	96	98	4	1	4	1	0	0	0	0	0	100	97	102
3	6~8	81	90	90	16	6	9	0	0	0	0	0	0	97	96	99
	24	58	90	90	29	3	6	10	1	2	0	0	0	97	94	96
	48	89	92	95	7	1	2	1	1	1	0	0	0	97	94	98
合计		665	792	804	182	70	95	89	9	8	2	0	0	888	872	908

全：全细胞百日咳菌苗；对：对照制剂；吸：吸附精制百日咳菌苗

FHA抗体平均值为10.698EU/ml ± 1.5304, 免疫后为38.85EU/ml ± 7.2466, t值为11.4317, P<0.01, 免后较免前抗体水平升高有极显著差异。全组(60人份)免疫前抗

LPF抗体平均值为4.485EU/ml ± 0.7976, 免疫后为34.88EU/ml ± 6.4392, t值为9.695, P<0.01, 免后较免前抗体水平升高有极显著性差异; 免疫前抗FHA抗体水平平均值为

表3 吸附精制百日咳菌苗、全细胞百日咳菌苗与对照制剂血清微量凝集试验检测结果

免疫时间	菌苗号	观察人数	凝集素滴度												GMT	
			<10	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240		1:20480
免前	全	91	1	86	3		1									10.2
	对	93	3	89	1											9.35
	吸	101	3	96	1	1										9.53
免后	全	85	1			3	2	3	3	15	22	13	19	4	1	1422.1
	对	77	10	57	6	2		1	1							8.79
	吸	90	1	2		1	6	4	10	16	23	16	5	5	1	817

统计学分析：吸附精制百日咳菌苗：免后与免前抗体水平比较 $P < 0.01$ ；
 全细胞百日咳菌苗：免后与免前抗体水平比较 $P < 0.01$ ；
 对照制剂：免后与免前抗体水平比较 $P > 0.05$ ；
 吸附精制百日咳菌苗与全细胞百日咳菌苗免疫后抗体水平比较 $P > 0.05$ ；
 吸附精制百日咳菌苗与对照制剂免疫后抗体水平比较 $P < 0.01$ ；
 全细胞百日咳菌苗与对照制剂免疫后抗体水平比较 $P < 0.01$ 。

10.273EU/ml ± 1.4965，免疫后为49.85EU/ml ± 11.5998，t值为12.9526， $P < 0.01$ ，免后较免前抗体水平升高有极显著性差异。对组（52人份）免疫前抗LPF抗体平均值为4.796EU/ml ± 0.8807，免疫后为5.705 ± 2.44323，t值0.642， $P > 0.05$ ，免疫后为5.705 ± 2.44323，t值0.642， $P > 0.05$ ，免后较免前抗体水平无显著性差异，免疫前抗FHA抗体平均值为12.98EU/ml ± 2.0842，免疫后为14.0EU/ml ± 2.5831，t值为0.532， $P > 0.05$ ，免后较免前抗体水平升高无显著性差异。

以上结果表明，卫生部兰州生物制品研究所研制的新一代吸附精制百日咳菌苗，在其人体接种抗体反应上和全细胞百日咳菌苗相接近，在其安全性上则较全细胞百日咳菌苗明显地毒副作用少，用于人群预防百日咳计划免疫可期待有效满意结果。

讨 论

本次现场观察的实施方案经过了有关专家的多次研究审议，在完成该项研究的过程中，始终按照全国药审评批件的要求进行，实行了

随机、双盲和对照的原则。参与工作的医疗单位是郑州市省、市医院，人员素质较好，工作质量可靠。

兰州生物制品研究所研制的吸附精制百日咳菌苗的I期人体反应观察，不论是8名成人和20名婴幼儿，局部和全身反应均无中强反应。II期观察，其全身反应和对照组相似，远低于全细胞百日咳菌苗组；在局部反应方面，48小时观察期内，未发现皮肤红晕和硬结的强反应，仅1例中反应，而全细胞百日咳菌苗组则引起中反应17例和强反应3例。在安全性方面，新研制菌苗优越。

吸附精制百日咳菌苗在血清抗体方面，显示出很好的免疫原性。血清凝集素免疫后水平达到GMT817（免疫前9.15），超出有关文献报道的水平〔2,7,8〕；其水平达到效价1:320保护水平以上者占84.4%。免疫后血清抗FHA抗体水平达38.85EU/ml，抗LPF抗体水平达24.17EU/ml与Dr. Yuji Sato所报道相近〔2〕，以百日咳菌苗预防接种后人体血清抗LPF和抗FHA抗体达20~30EU/ml就足以预防疾病感染来说〔9〕，该菌苗质量上乘。

An Observation on Immunization Reaction and Serological Effect of Adsorbed Purified Pertussis Vaccine *Tian Xiaoen, et al., Henan Provincial Hygiene and Epidemic Prevention Station, Zhengzhou 450003*

An observation on immunization reaction and serological effect of adsorbed purified pertussis vaccine for the first time in China had been carried out in Zhengzhou. Phase I field trial had been conducted on 8 adults and 20 children in whom there was no local reaction and temperature reaction in adults and only mild temperature reaction ($37.6^{\circ}\text{C}\sim 38^{\circ}\text{C}$) in 4 children. Phase II field trial showed that the adsorbed purified pertussis vaccine manifested trivial reaction, none developed severe temperature reaction (39.1°C), and 8 person-times of moderate temperature reaction ($38.1^{\circ}\text{C}\sim 39.1^{\circ}\text{C}$) occurred in 100 children after 3 doses. Whereas 2 person-times of severe reaction and 39 person-times of mild reaction occurred in 101 children after receiving the whole cell pertussis vaccine. None showed local severe reaction (5.1cm) and 1 person-time of mild local reaction appeared at 48 hours after each of 3 doses of adsorbed purified pertussis vaccine (102, 102, 98 children, respectively); Whereas, 3 person-times of severe local reaction and 17 person-times of mild local reaction occurred after each of 3 doses of whole cell pertussis vaccine (97, 100, 97 children, respectively). Satisfactory immunogenicity of the adsorbed purified pertussis vaccine was confirmed. The high serum hemagglutinin titer was achieved in 90 children, the GMT reached 817 (9.16 for preimmunization), and titers reaching 1:320 and over (a level protecting human from being infected) accounted for 84.4 percent. The average levels of anti-LPF and anti-FHA antibodies in 60 and 53 persons attained to 24.17 ± 3.9421 EU/ml and 38.85 ± 7.2466 EU/ml, respectively.

Key words Adsorbed purified pertussis vaccine Whole cell pertussis vaccine Anti-LPE antibody Anti-FHA antibody hemagglutinin

参 考 文 献

- 1 Davis M, et al. Safety of pertussis vaccine. *The Lancet* 1990, 335: 655.
- 2 Sato Y, et al. Development of a pertussis component vaccine in Japan. *The Lancet*, 1984, 1: 122.
- 3 Developments in pertussis vaccine: Memorandum from a WHO meeting. *Bulletin of the world health organization*, 1985, 63: 241.
- 4 中华人民共和国卫生部. 预防接种手册第3版. 北京人民卫生出版社, 1975年.
- 5 Sato Y, et al. Role of antibody to filamentous haemagglutinin and to leukocytosis promoting factor-haemagglutinin in immunity to pertussis. In: Robbins JB, et al. eds. *Seminars in Infectious Disease*. 1982; 4 (bacterial vaccine): 380.
- 6 Masami Kurokawa, et al. *Textbook for statistical methods in medical science*. Japan international cooperation agency 1987.
- 7 Elizabeth Miller, et al. Phase II trial of whole cell pertussis vaccine vs an acellular vaccine containing agglutinogens. *The Lancet* 1991, 337: 70.
- 8 Ashworth LAE, et al. Antigens in whooping cough vaccine and antibody levels induced by vaccination of children. *The Lancet* 1983; October 15, 878.
- 9 Sato Y and Sato H. Anti-pertussis toxin IgG and antifilamentous hemagglutinin IgG production in children immunized with pertussis acellular vaccine and comparison of these titers with the sera of pertussis convalescent children. *Develop. biol. Standard*. 1985, 61: 367.
- 10 卫生部科学委员会. 传染病免疫预防——计划免疫1984, p225.

(收稿: 1992-12-07 修回: 1993-02-03)