

· 现场调查 ·

孩尔来福甲型肝炎灭活疫苗 0, 12 个月免疫程序研究

任银海 陈江婷 吴文婷 公雪杰 张玉成 薛伟华 任一丰
韩连军 康文学 李胜平 刘崇柏

【摘要】 目的 对孩尔来福(Healive[®])甲型肝炎(甲肝)灭活疫苗的安全性、免疫原性及适宜儿童的剂量进行研究。方法 在某山区两个农村筛选4~10岁甲肝病毒抗体(抗-HAV)阴性的85名易感儿童。以自然村随机分为两组,按0,12个月免疫程序分别接种北京科兴生物制品有限公司生产的每剂250 U/0.5 ml和500 U/1 ml甲肝灭活疫苗,观察免疫后局部反应和全身反应,检测初次免疫(初免)后21天、12个月及全程免疫后1个月抗-HAV阳转率和抗体几何平均滴度(GMT)。结果 两组均未见严重局部反应和全身反应,250 U/0.5 ml组和500 U/1 ml组初免后21天,抗-HAV阳转率分别为94.4%和100.0%,GMT分别为195 mIU/ml和370 mIU/ml;初免后12个月抗-HAV全部阳转,GMT分别达361 mIU/ml和456 mIU/ml($P>0.05$);全程免疫后1个月,GMT分别达14 893 mIU/ml和21 696 mIU/ml。结论 孩尔来福甲肝灭活疫苗的安全性和免疫原性好;每剂250 U/0.5 ml适宜儿童,0,12个月免疫程序更适宜中国儿童。

【关键词】 甲型肝炎灭活疫苗;免疫原性;安全性;免疫程序

The study on the 0, 12 month vaccination schedule of Healive inactivated hepatitis A vaccine in children
REN Yin-hai*, CHEN Jiang-ting, WU Wen-ting, GONG Xue-jie, ZHANG Yu-cheng, XUE Wei-hua, REN Yi-feng, HAN Lian-jun, KANG Wen-xue, LI Sheng-ping, LIU Chong-bai. *Health and Anti-epidemic Station of Pingshan County, Pingshan 050400, China

【Abstract】 Objective To evaluate the safety, immunogenicity and fit dosage of Healive inactivated hepatitis A vaccine(HAV) in children. **Methods** A total of 85 susceptible aged 4-10 years with HAV seronegative children, had been enrolled from two adjacent villages in a county. The volunteers were randomized allocated into two groups and to receive a priming dose of 250 U/0.5 ml/dose or 500 U/1.0 ml/dose of Healive vaccine, produced by Sinovac Biotech Co, Ltd. A booster of the same dose was given at 12th month. Local and systemic side effects were examined and seroconversion rate as well as geometric mean titers of anti-HAV antibody were tested at 3-week, 12-month after the primary dose and at 1 month after the booster dose. **Results** The vaccine was well tolerated in both groups. At 21 days after the primary dose, the seroconversion rates were 94.4%, 100.0% and geometric mean titers(GMT) were 195 mIU/ml and 370 mIU/ml in 250 U and 500 U groups respectively. At 12 months after the primary dose, the seroconversion rate of anti-HAV was 100.0%, and GMT raised to 361 mIU/ml, 456 mIU/ml ($P>0.05$) respectively. One month after the booster dose, GMT raised to 14 893 mIU/ml, 21 696 mIU/ml. **Conclusion** GMT of the 0, 12 month schedule was higher than other schedule after the booster vaccination. The Healive[®] inactivated vaccine can be used for emergency vaccination. The Healive[®] inactivated vaccine produced by Sinovac Company Ltd was safe and highly immunogenic. Two hundred and fifty U/dose was considered appropriate for children.

【Key words】 Inactivated hepatitis A vaccine; Immunogenicity; Safety; Immunization-schedule

甲型肝炎(甲肝)灭活疫苗免疫程序灵活,国外除0,6个月免疫程序^[1]外,尚有0,12个月免疫程序或

两针间隔超过24个月进行加强免疫的报告^[2],且均产生良好的免疫应答,证明了甲肝灭活疫苗免疫程序的灵活性。孩尔来福(Healive[®])甲肝灭活疫苗小剂量(250 U/0.5 ml)也有0,1,0.3,0.6个月免疫程序的研究报告^[3]。为观察该疫苗的儿童适宜剂量和免疫原性,给该疫苗的实际应用提供更广泛的实用空间,2001~2002年我们又对不同剂量Healive[®]甲肝灭活

基金项目:国家“九五”医学科技攻关项目资助(96-906-03-04)

作者单位:050400 河北省平山县卫生防疫站(任银海、吴文婷、张玉成、薛伟华、任一丰、韩连军、康文学、李胜平);北京科兴生物制品有限公司(陈江婷、公雪杰);中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所(刘崇柏)

疫苗 0, 12 个月免疫程序进行了比较观察, 现报道如下。

材料与方 法

1. 疫苗: Healive[®] 甲肝灭活疫苗(北京科兴生物制品有限公司产品, 批号 20010212) 每剂含病毒抗原 250 U/0.5 ml 或 500 U/1 ml。

2. 接种对象: 在河北山区农村筛选 4~10 岁甲肝病毒抗体(抗-HAV) 阴性, 丙氨酸转氨酶(ALT) 正常, 无过敏史的健康儿童 85 人, 随机按自然村分为 A、B 两组, 分别接种 250 U/0.5 ml 和 500 U/1 ml 甲肝灭活疫苗。

3. 接种方法: 上臂三角肌肌内注射, 接种第 1 剂疫苗为初次免疫(初免), 间隔 12 个月接种第 2 剂为全程免疫(0, 12 个月程序)。

4. 血标本采集: 第 1 剂免疫后 21 天、12 个月及全程免疫后 1 个月, 分别采集静脉血 3 ml, 无菌分离血清后 -20℃ 冻存储备。

5. 抗-HAV 检测:

(1) 抗-HAV 标准品: 世界卫生组织(WHO) 提供冻干品, 批号 011107, 每安瓿加 1.0 ml 蒸馏水溶解, 抗-HAV 含量为 98.6 IU/ml。

(2) 抗-HAV 定性检测: 用酶联免疫吸附试验(ELISA) 竞争抑制法(试剂盒为 Abbott 公司产品, 批号 8045DM200, 灵敏度为 22 mIU/ml)。样品竞争抑制率 > 50% 判为抗-HAV 阳性。

(3) 抗-HAV 定量检测: 标化甲肝抗体试剂(ELISA) 测定(唐山怡安生物工程有限公司提供, 批号 021105, 灵敏度为 55 mIU/ml), 在适当稀释范围内将抗-HAV 的标准品抗体水平的稀释度和吸光度(A) 值进行直线回归统计, 求得回归方程曲线。根据样品的稀释度和测定的 A 值代入回归方程, 在标准品 A 值的直线范围内, 计算抗体含量(mIU/ml)。

6. 肝功能检查: ALT 测定采用赖氏法, ≤ 40 U 为正常(北京北化康泰临床试剂有限公司产品, 批号 010622)。

7. 副反应观察: 每次接种后 8、24、48 和 72 h 分别测量体温、观察接种局部及全身反应, 接种副反应的标准判定参照文献[4]。

8. 统计学分析: 抗体阳转率比较用 χ^2 检验, 抗体水平用 mIU/ml 表示, 两组间比较用 *t* 检验。

结 果

1. 安全性: 初免和全程免疫甲肝灭活疫苗后, 接

种不同剂量的 A、B 两组, 均未见局部副反应, 仅见 1 例初免后 8 h 体温 37.2℃, 在 24 h 观察时, 恢复正常。未见 ALT 异常者。

2. 甲肝灭活疫苗免疫后甲肝抗体反应:

(1) 初免后 21 天抗体反应: A 组(250 U) 初免 21 天, 抗-HAV 阳转率为 94.4% (34/36), 抗体几何平均滴度(GMT) 为 195 mIU/ml; 初免后 12 个月检测, 抗-HAV 阳转率 100.0% (36/36), GMT 达 360 mIU/ml。B 组(500 U) 初免后 21 天抗-HAV 全部阳转(49/49), GMT 为 370 mIU/ml; 初免后 12 个月检测, 接种对象仍全部保持抗体阳性(49/49), GMT 为 456 mIU/ml。初免后 21 天 A、B 两组抗体阳转率 $\chi^2 = 1.19$, $P > 0.05$; 初免后 12 个月抗体水平比较 $t = 1.18$, $P > 0.05$, 差异均无显著性。

(2) 全程免疫后抗体反应: 全程免疫后 1 个月检测, GMT 大幅度升高, A、B 两组 GMT 分别为 14 893 mIU/ml 和 21 696 mIU/ml (表 1)。

表 1 甲肝灭活疫苗全程免疫后 1 个月抗体反应

组别	例数	阳性例数	阳性率 (%)	GMT (mIU/ml)	95% CI (mIU/ml)
A	36	36	100.0	14 893	18 159~12 209
B	49	49	100.0	21 696	24 243~19 417

讨 论

Healive[®] 甲肝灭活疫苗初免和全程免疫后均未见局部副反应, 仅见 1 例体温轻微升高, 且于 24 h 内恢复正常, 亦未见 ALT 异常, 证明 Healive[®] 甲肝灭活疫苗安全性好。

初免后 21 天两组抗体阳转率分别为 94.4% 和 100.0%, GMT 达 195 mIU/ml 和 370 mIU/ml, 抗体滴度值最低者为 65 mIU/ml, 为保护阈值的 3 倍。既往报告该疫苗(250 U/0.5 ml) 初免后 14 天抗体阳转率达 97.0%^[3], 本次初免后 21 天为 94.4%, 说明 Healive[®] 甲肝灭活疫苗接种后快速产生了很强的中和性抗体。甲肝的平均潜伏期是 28 天, 可认为该疫苗能使儿童在甲肝感染的潜伏期内获得对甲肝病毒的保护。因此, 在甲肝病毒暴露之后, 尽快注射甲肝灭活疫苗, 也许可以成功地预防发病, 即有可能用于应急接种, 建议进一步开展此类研究。

初免后 12 个月两个剂量组的甲肝抗体阳转率均为 100.0%, GMT 分别为 361 mIU/ml 和 456 mIU/ml, 统计学处理差异无显著性, 说明 250 U/0.5 ml 作为儿童免疫的剂量是适宜的。同时表明, 注射 1 剂(250 U/0.5 ml) Healive[®] 甲肝灭活疫苗后全部儿童抗体阳转,

GMT 达保护阈值的 18 倍。按照对数线性数学模型推算, 免疫后若 GMT 超过 200 mIU/ml, 可期望持续 25 年以上^[5]。有文献报道对 9~18 岁的易感者, 单剂疫苗免疫接种程序或许很适合^[6]。本研究观察到接种 1 剂甲肝灭活疫苗(250 U)12 个月后抗体 GMT 仍达 361 mIU/ml, 但是否可获持久的保护, 建议进一步对一针法的免疫效果进行观察。

0, 12 个月程序全程免疫后 1 个月, 250 U/0.5 ml GMT 为 14 893 mIU/ml, 这比其他程序的 GMT 高出许多^[3]。可能与初免和加强接种时间间隔长有关, 特别是含有吸附剂的疫苗^[7]。

本研究旨在评价 Healive[®] 甲肝灭活疫苗 0, 12 个月免疫程序的安全性、免疫原性和适宜儿童的免疫剂量。本研究显示: 250 U/0.5 ml 0, 12 个月免疫程序的抗体阳转率和 GMT 在初免后与其他程序无差异。但在全程免疫后, 出现了更加明显的抗体加强反应, GMT 显著高于其他程序, 因此认为: Healive[®] 甲肝灭活疫苗安全性好; 抗体阳转率高;

250 U/0.5 ml 是儿童的适宜剂量; 0, 12 个月免疫程序可能更适用于中国儿童。

(康健婷、高栓景、崔联云、李海军、刘中林等同志参加部分工作, 一并致谢)

参 考 文 献

- 1 Van Damme P, Mathei C, Thoelen S, et al. Single dose inactivated hepatitis A vaccine: rationale and clinical assessment of the safety and immunogenicity. *J Med Virol* 1994; 44:435-441.
- 2 Landry P, Tremblay S, Darioli R, et al. Inactivated hepatitis A vaccine booster given ≥ 24 months after the primary dose. *Vaccine* 2000; 19:399-402.
- 3 任银海, 吴文婷, 张玉成, 等. 国产甲型肝炎灭活疫苗小剂量免疫效果研究. *中国计划免疫* 2003; 9:114-116.
- 4 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 2001. 106.
- 5 Van Herck K, Beutels P, Van Damme P, et al. Mathematical models for assessment of long-term persistence of antibodies after vaccination with two inactivated hepatitis A vaccines. *J Med Virol* 2000; 60:1-7.
- 6 Lee SD, Chan CY, Yu MI, et al. Single dose-inactivated hepatitis A vaccination schedule for susceptible youngsters. *Am Gastroenterol* 1996; 91:1360-1362.
- 7 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 2001. 64.

(收稿日期: 2003-03-06)

(本文编辑: 尹廉)

· 疾病控制 ·

深圳市 2002 年肠道病毒 71 型的监测

杨洪 何雅青 丰素娟

肠道病毒 71 型(enterovirus 71, EV71)是肠道病毒的一个血清型, 我们于 2002 年对疑似肠道病毒感染者进行了 EV71 的监测。

1. 材料与方法: 收集深圳市有手足口病和无菌性脑炎、脑膜炎、心肌炎、脑干脑炎等疑似肠道病毒感染症状的儿童粪便标本 121 份, 保存于 -80°C 。毒株采用 EV71-SHZH98, 其全基因组已提交国际核酸与蛋白数据库(GenBank, AF302996)。病毒 RNA 提取使用宝灵曼 High Pure Viral RNA 试剂盒。RT-PCR 利用一个共用的上游和两个不同的下游 EV-71 病毒特异性引物, 序列分别为 5'-AAGGGGTG-GTACTGGTACTGGAAGTTC-3'; 5'-TGACAGAAACCGGAGTCTTTG-3' 和 5'-GGCACTGTGTTTCATATATGGC-3'。以病毒 RNA 为模板, 在逆转录酶和 TaqDNA 聚合酶作用下进行 RT-PCR 反应, 反应条件为 94°C 40 s, 50°C 40 s, 72°C 40 s, 40 个循环, 72°C 延伸 10 min。反应结束后取 $10\ \mu\text{l}$ 扩增产物进行 2% 琼脂糖电泳, 观察结果。

2. 结果: ① EV71 的检测情况: 以 EV71-SHZH98 作为标准对照, 用 RT-PCR 法扩增 121 份粪便标本的核酸样品, 结果有 31 份样品为阳性, 阳性率为 25.62%。深圳除盐田区外,

其他五个行政区均有 EV71 感染者。② 1、3 及 11 月各检出 1 例, 2 及 12 月未检出, 4 月检出 5 例, 5 及 7 月各检出 4 例, 6 月检出 6 例, 8、9、10 月份各检出 3 例, 4~7 月份为发病高峰。③ 5 岁以下儿童是 EV71 感染的高危人群(31 例患者中 5 岁以下占 28 例), 不同性别间 EV71 的感染率差异无显著性(男 23/77, 女 8/44, $P > 0.05$)。④ 121 例肠道病毒感染者中, 手足口病 71 例, EV71 阳性 21 例; 疱疹性咽峡炎 9 例, EV71 阳性 2 例; 脑炎 9 例, 阳性 4 例; 心肌炎 4 例(无阳性); 肌肉抽搐 3 例, 阳性 1 例, 其他 25 例中阳性 3 例。

3. 结论: 本次监测说明 EV71 主要侵犯抵抗力较差的婴幼儿, 且不同性别间 EV71 的感染率差异无显著性。除 2 月及 12 月份外, 其他各月份均有 EV71 病例, 4~7 月份为发病高峰。EV71 的感染可导致手足口病、无菌性脑膜炎、脑炎和脊髓灰质炎样的麻痹性疾病。2002 年深圳地区 EV71 感染者的临床表现多为手足口病, 也有些表现为中枢神经系统受损症状, 主要为脑炎、肌肉抽搐等。鉴于 EV71 以上的流行病学特点, 特别要加强对儿童尤其是 5 岁以下婴幼儿 EV71 的监测, 一旦发现阳性病例, 及时采取消毒、隔离措施, 防止该类传染病的爆发。

(收稿日期: 2003-01-20)

(本文编辑: 尹廉)