

中国4省(区市)早产儿和足月儿乙型肝炎疫苗免疫应答多中心比较研究

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

【摘要】 目的 分析早产儿和足月儿乙型肝炎(乙肝)疫苗(HepB)抗体免疫应答。方法 按照多中心研究方法,以北京、山东、江苏、广西4省(区市)为研究现场,选取按照0-1-6程序、使用5 μg重组HepB(酿酒酵母)(HepB-SC)或10 μg重组HepB(汉逊酵母)(HepB-HP)完成HepB初免的7~12月龄婴儿;以其中全部早产儿作为早产儿组,按照1:1随机选择其中HepB种类、月龄、性别和居住地相同的足月儿作为足月儿组。对所有研究对象进行问卷调查,HepB免疫史根据接种卡确定;同时采集静脉血2 ml,使用化学发光微粒子免疫分析法检测血清HBV表面抗体(抗-HBs);比较两组婴儿抗体应答率和抗体水平。结果 4省(区市)共调查648对婴儿。早产儿组初免无应答率、低应答率、正常应答率和高应答率分别为1.39%、8.64%、45.83%和44.14%,足月儿组分别为1.08%、9.26%、44.91%和44.75%,两组4项指标差异均无统计学意义($P>0.05$);两组初免后抗-HBs几何平均浓度(GMT)分别为755.14和799.47 mIU/ml,差异无统计学意义($P>0.05$)。多因素条件logistic回归分析显示,排除出生体重、分娩方式、胎次、产程损伤和父母乙肝病毒表面抗原状态后,是否早产与HepB抗体应答率无关($P>0.05$)。结论 早产儿和足月儿HepB免后抗体应答无明显差异,可以按照相同的HepB免疫策略进行接种。

【关键词】 乙型肝炎疫苗;抗体应答;早产儿;多中心研究

Multi-center matching study on antibody response between preterm and full-term infants after primary immunization of hepatitis B vaccine ZHANG Li¹, ZHAI Xiang-jun², LI Yan-ping³, ZHANG Wei⁴, ZHU Feng-cai², HUANG Teng³, YAN Bing-yu¹, LIU Jia-ye¹, LI Li-qiu⁴, GONG Xiao-hong⁵, CUI Fu-qiang⁵, LIANG Xiao-feng⁵, XU Ai-qiang¹. 1 Shandong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Ji'nan 250014, China; 2 Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention; 3 Guangxi Center for Disease Control and Prevention; 4 Beijing Center for Disease Control and Prevention; 5 Chinese Center for Disease Control and Prevention
Corresponding author: XU Ai-qiang, Email: aqxuepi@163.com

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

【Abstract】 Objective To compare the antibody response between preterm and full-term infants after primary immunization of hepatitis B vaccine (HepB). **Methods** Infants who were aged 7-12 months and had completed primary immunization with 5 μg HepB made by recombinant deoxyribonucleic acid techniques in *Saccharomyces cerevisiae* (HepB-SC) or 10 μg HepB made by recombinant deoxyribonucleic acid techniques in *Hansenula polymorpha* (HepB-HP) on 0-1-6 schedule were investigated in four provinces (municipality) including Beijing, Shandong, Jiangsu and Guangxi of China. Among them, all preterm infants were selected to form the preterm group and the 1:1 matching full-term infants with the same month-age, gender and residence were randomly selected to form the full-term group. Their HepB history was determined by immunization certificate and all of their parents were interviewed with standard questionnaire to get their birth information. Blood samples were obtained from all anticipants and were tested for Anti-HBs by chemiluminescence microparticle immuno-assay (CMIA). **Results** Total anticipants were 648 pairs of infants. The rates of non-response, low-response, normal-response and high-response after the primary immunization

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.02.013

基金项目:国家“十一五”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、刘甲野、徐爱强);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);北京市疾病预防控制中心(张卫、李立秋);中国疾病预防控制中心(龚晓红、崔富强、梁晓峰)

张丽、翟祥军同为第一作者

通信作者:徐爱强, Email: aqxuepi@163.com

were 1.39%, 8.64%, 45.83% and 44.14% in the preterm group, respectively. The corresponding rates were 1.08%, 9.26%, 44.91% and 44.75% in the full-term group. The above four rates did not show significant differences between the two groups ($P>0.05$). The geometric mean concentrations (GMC) of anti-HBs in the pre-term and full-term group were 755.14 and 799.47 mIU/ml respectively. There was no significantly difference in the GMCs between the two groups ($P>0.05$). Results from multivariable conditional logistic analysis showed that preterm was not an influencing factor to the antibody response after HepB primary immunization among newborns even after debugging the other influencing factors. **Conclusion** The antibody response after HepB primary immunization were similar among the preterm and full-term infants. The preterm newborns could be immunized under the same HepB immunization strategy.

【Key words】 Hepatitis B vaccine; Antibody response; Preterm infants; Multi-center study

乙型肝炎(乙肝)是我国重点控制的传染病。我国人群乙肝病毒表面抗原(HBsAg)携带率为 7.18%,距 2%的低流行区标准仍有较大差距^[1]。新生儿乙肝疫苗(HepB)免疫接种是我国乙肝控制的首要措施。研究显示,我国城市早产儿发生率约为 7.8%^[2]。早产儿作为一类特殊人群,其免疫系统发育未成熟的问题较足月儿更为突出^[3],出生后接种 HepB 免疫应答的影响尚无定论^[4,5]。目前我国对早产儿 HepB 免疫方法尚无明确规定,各地接种方法不同,不利于我国新生儿 HepB 免疫工作的规范开展。为此于 2009 年由中国疾病预防控制中心(CDC)牵头,在我国部分地区开展了早产儿和足月儿 HepB 抗体应答对比研究。

对象与方法

1. 研究对象:以北京、山东、江苏、广西 4 省(区)全部或部分市(区)作为研究现场。由经过培训的 CDC 专业人员根据预防接种门诊接种记录(接种卡或儿童免疫接种信息系统资料),将其辖区使用 5 μg 重组 HepB(酿酒酵母, HepB-SC)或 10 μg 重组 HepB(汉逊酵母 HepB-HP),按照 0-1-6 免疫程序完成初免的 7~12 月龄婴儿登记造册,由村医(社区医生)下发知情同意书,经监护人签署知情同意书并进行问卷调查,对其婴儿进行血标本采集。将其中所有早产儿(满 28~37 孕周分娩的婴儿)作为早产儿组,同时按照 1:1 比例随机选择其中性别、月龄、居住乡镇(街道)、接种 HepB 种类相同的足月儿(妊娠≥37 周分娩的婴儿)作为足月儿组。4 省(区市)共调查 648 对儿童。本研究经中国 CDC 伦理委员会同意。现场样本分布见表 1。

2. 问卷调查:由经过统一培训的县级 CDC 专业人员作为调查员,使用统一调查问卷,了解研究对象人口学特征,包括出生日期、性别、出生体重、孕周、胎次、父母 HBsAg 等信息;通过查阅预防接种卡获取其 HepB 接种史。

表 1 4 省(区市)研究现场样本分布

研究现场	研究对象数(对)	构成比(%)
北京	264	40.74
东城区	9	1.39
西城区	20	3.09
崇文区	10	1.54
宣武区	14	2.16
朝阳区	31	4.78
海淀区	25	3.86
丰台区	27	4.17
石景山区	11	1.70
顺义区	7	1.08
昌平区	15	2.31
门头沟区	7	1.08
通州区	13	2.01
房山区	20	3.09
大兴区	9	1.39
怀柔区	10	1.54
平谷区	6	0.93
延庆县	12	1.85
密云县	18	2.78
山东	144	22.22
济南市	29	4.48
威海市	56	8.64
潍坊市	11	1.70
烟台市	48	7.41
江苏	118	18.21
楚州区	118	18.21
广西	122	18.83
柳州市	122	18.83
合计	648	100.00

3. 标本采集和检测:对所有研究对象采集初免后静脉血标本 3 ml,分离血清后-20 ℃冷冻保存,采用化学发光微粒子免疫分析法(CMIA;美国雅培公司试剂,雅培 ARCHITECT-i2000 免疫发光检测仪)定量检测 HBV 表面抗体(抗-HBs);抗-HBs<10 mIU/ml 者采用同样方法检测 HBsAg;HBsAg 阴性者采用巢式 PCR 方法检测 HBV DNA^[6]。

4. 判定标准:低出生体重:出生体重<2500 g;正常出生体重:出生体重≥2500 g。初免后血清学检测抗-HBs<10 mIU/ml 且 HBsAg、HBV DNA 均阴性判断为无应答;10 mIU/ml≤抗-HBs<100 mIU/ml 判断为低应答,100 mIU/ml≤抗-HBs<1000 mIU/ml 判

定为正常应答;抗-HBs ≥ 1000 mIU/ml 判定为高正常应答。抗体阳转指抗-HBs ≥ 10 mIU/ml。

5. 统计学分析:采用 EpiData 3.1 软件进行数据双录入和比对,双录入不符者对照原始调查表进行核对和修订。所有数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析;不同组间应答率比较采用配对 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法;不同组间抗-HBs 几何平均浓度(GMC)比较采用配对 t 检验;以初免后血清抗-HBs 应答作为因变量,以早产、出生体重、分娩方式、母亲 HBsAg、父亲 HBsAg 等可能影响 HepB 抗体应答的因素作为自变量,拟合多因素条件 logistic 回归模型,各变量赋值见表 2。

表 2 logistic 回归分析主要变量及赋值

变量	赋值
抗体应答	1=无应答, 2=低应答, 3=正常应答, 4=高应答
早产	1=否, 2=是
出生体重(g)	1= < 2500 , 2= ≥ 2500
分娩方式	1=顺产, 2=剖宫产
胎次	1=1, 2=2, 3=3 或不详
产程损伤	1=否, 2=是
母亲 HBsAg	1=阳性, 2=阴性, 3=不详
父亲 HBsAg	1=阳性, 2=阴性, 3=不详

结 果

1. 一般情况:4 省(区市)648 对婴儿中 5 μ g HepB-SC 初免婴儿 294 对, 10 μ g HepB-HP 初免婴儿 354 对;7~12 月龄分别为 71、137、145、127、107 和 61 对。早产儿组和足月儿组在胎次、产程损伤、母亲和父亲 HBsAg 状态等方面差异无统计学意义($P>0.05$),但早产儿中剖宫产者、低出生体重者所占比例分别为 57.25%、10.65%;均高于足月儿,分别为 51.08%、0.62%;差异均有统计学意义($\chi^2=4.91$, $P=0.03$; $\chi^2=59.51$, $P<0.01$)。见表 3。

2. 初次免疫后抗-HBs 比较:早产儿组中 9 人免疫后抗-HBs < 10 mIU/ml,且其 HBsAg 和 HBV DNA 均为阴性,判断为无应答,无应答率为 1.39%;低应答率、正常应答率以及高应答率分别为 8.64%(56/648)、45.83%(297/648)和 44.14%(286/648)。足月儿组 7 人免后抗-HBs < 10 mIU/ml,且其 HBsAg 和 HBV DNA 均为阴性,判断为无应答,无应答率为 1.08%;低应答率、正常应答率和高应答率分别为 9.26%(60/648)、44.91%(291/648)和 44.75%(290/648)。早产儿组和足月儿组无应答率、低应答率、正常应答率和高应答率间差异均无统计学意义(χ^2 值分别为 0.09、0.06 和 0.04, P 值均 >0.05)。早产儿组和足月儿组免后抗-HBs GMC 分别为 755.14 和

表 3 4 省(区市)648 对早产儿和足月儿特征均衡性比较

变 量	早产儿 (n=648)	足月儿 (n=648)	χ^2 值	P 值
胎次				
1	198	209	4.03	0.26
2	60	51		
3	3	0		
不详	387	388		
分娩方式				
顺产	277	317	4.91	0.03
剖宫产	371	331		
产程损伤				
有	5	4		1.00 ^a
无	248	250		
出生体重(g)				
< 2500	69	4	59.51	< 0.01
≥ 2500	579	644		
母亲 HBsAg				
阳性	23	21	0.26	0.88
阴性	523	530		
不详	102	97		
父亲 HBsAg				
阳性	19	16	1.27	0.53
阴性	409	427		
不详	187	172		

注: ^a配对四格表确切概率法

799.47 mIU/ml,早产儿组略低于足月儿组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

表 4 4 省(区市)648 对早产儿和足月儿乙肝疫苗初免后抗体应答率

分组	调查人数	无应答	低应答	正常应答	高应答	GMC (mIU/ml)
早产儿	648	9(1.39)	56(8.64)	297(45.83)	286(44.14)	755.14
足月儿	648	7(1.08)	60(9.26)	291(44.91)	290(44.75)	799.47
合计	1296	16(1.23)	116(8.95)	588(45.37)	576(44.44)	776.96
χ^2 值			0.09	0.06	0.04	0.79 ^a
P 值		0.80 ^a	0.84	0.85	0.89	0.43 ^b

注: 括号外数据为应答人数,括号内数据为应答率(%); ^a配对四格表的确切概率法; ^b配对 t 检验

3. 多因素分析:多因素条件 logistic 回归分析显示,在排除出生体重、分娩方式、胎次、产程损伤、母亲 HBsAg、父亲 HBsAg 等因素影响后,早产对新生儿 HepB 初免后抗体应答水平的影响差异无统计学意义($P=0.94$)。见表 5。

讨 论

新生儿接种 HepB 是我国乙肝控制最重要的措施,其效果已得到证实。早产儿是一类特殊群体,其 T 细胞、辅助性 T 细胞及 B 细胞数量一般均较足月儿低, T 细胞表面受体抗原结合区在胎儿期构型的分化程度低于足月儿,降低了受体与外来抗原发生特异性应答和相互作用的能力;早产儿 B 细胞具有发育未成熟表型,缺少成熟的表面吸附分子,可能影响

表 5 早产儿和足月儿 HepB 初免后抗体应答多因素条件 logistic 回归分析

变量	β	s_e	Wald χ^2 值	P 值	OR 值(95% CI)
早产	-0.01	0.07	0.01	0.94	1.00(0.87 ~ 1.13)
出生体重	-0.01	0.20	0.01	0.98	0.99(0.67 ~ 1.48)
分娩方式	-0.08	0.09	0.76	0.39	0.93(0.78 ~ 1.10)
胎次					
2	0.01	0.18	0.01	0.94	1.01(0.71 ~ 1.45)
3 或不详	-0.11	0.83	0.02	0.90	0.90(0.18 ~ 4.54)
产程损伤	-0.44	0.65	0.46	0.50	0.64(0.18 ~ 2.30)
母亲 HBsAg					
阴性	-0.35	0.27	1.74	0.19	0.71(0.42 ~ 1.19)
不详	-0.36	0.31	1.36	0.24	0.70(0.38 ~ 1.28)
父亲 HBsAg					
阴性	0.13	0.27	0.21	0.65	1.13(0.66 ~ 1.94)
不详	0.11	0.29	0.14	0.71	1.11(0.63 ~ 1.96)

到疫苗接种效果^[7-9],但目前我国对于早产儿 HepB 免疫方法尚无明确规定。

本研究显示,早产儿 HepB 初免后低、无应答率分别为 8.64% 和 1.39%。郑徽等^[10]在北京、浙江、广东等(省市)开展的研究显示,106 名早产儿使用 5 μ g 重组 HepB(酵母)初免后低、无应答率分别为 16.98%、0.94%,低应答率高于本研究结果,而无应答率略低于本研究结果。邵晓萍等^[11]报道广东省 76 名早产儿使用 5 μ g 重组 HepB(酵母)初免后低、无应答率分别为 27.63% 和 5.26%,显著高于本研究和郑徽等的研究结果。各研究结果间的差异可能与样本含量、接种技术、接种剂量、抗体检测方法等有关。本研究通过配对分析显示,早产儿和足月儿按照 0-1-6 程序完成 HepB 全程免疫后,两组间抗体反应率和免后抗体水平间的差异均无统计学意义,这与郑徽等^[10]、邵晓萍等^[11]研究结果具有一致性。为排除混杂因素的影响,本研究多因素分析显示早产对新生儿 HepB 初免后抗体应答水平的影响差异无统计学意义。

本研究对象来自我国南、北不同省(区市),其结果具有良好的代表性和稳定性。同时,采用研究效率较高的配比研究设计,配比因素包括月龄、性别、居住地、接种 HepB 种类等可能影响到免后抗体应答的主要变量,消除了以上变量对两组抗体水平的影响;虽然两组研究对象出生体重、分娩方式等分布不同,但通过多因素分析进一步消除了以上变量的影响。本研究抗-HBs 检测采取了 CMIA 方法,该方法灵敏度高,是目前国际公认的金标准;检测使用全自动仪器及配套试剂,使人为因素减至最低,提高了方法的稳定性和结果的重复性;应答水平分级也采用了国际通用标准,无应答判断考虑了隐匿性感染的影响,便于与其他研究结果进行比较。但是,本研究未将早产儿根据不同孕周进行分组研究,无法说明不同孕周

出生新生儿 HepB 免疫应答的差异;未对接种后不良反应发生情况进行调查,且由于时间原因也未对早产儿和足月儿接种后的免疫持久性和保护率进行观察。虽然各现场均按照统一的研究方案进行调查,但由于研究现场由各省研究者自行确定且未明确规定各省样本量,导致研究样本在各研究现场中分布不均衡,北方地区(北京和山东 408 对)研究对象多于南方地区(江苏和广西 240 对);但本研究以研究对象居住地(乡镇或街道)为配对变量,消除了地区分布对研究结果的影响。

本研究结果表明,早产儿和足月儿 HepB 初免后无论其反应率还是免后抗体水平均无明显差异,早产儿可以与足月儿使用相同的 HepB 免疫方法。为完善我国新生儿 HepB 免疫策略提供了重要的参考依据。

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 vaccination. *Vaccine*, 2009, 27(47): 6550-6557.
- [2] Chinese Society of Pediatrics Newborn Young Branch. An initial epidemiologic investigation of preterm infants in cities of China. *Chin J Contemporary Pediatr*, 2005, 7(1): 25-28. (in Chinese) 中华医学会儿科学分会新生儿学组. 中国城市早产儿流行病学初步调查报告. *中国当代儿科杂志*, 2005, 7(1): 25-28.
- [3] Carl TD, Angio. Active immunization of premature and low birth-weight infants: a review of immunogenicity, efficacy, and tolerability. *Pediatr Drugs*, 2007, 9(1): 17-32.
- [4] Zhou JL, Shao XH, Zhang SY, et al. Immunogenicity of recombinant hepatitis B vaccine in preterm infants. *J Clin Pediatr*, 2008, 26(1): 48-50. (in Chinese) 周金莉, 邵新环, 张示渊, 等. 不同孕周早产儿接种乙肝疫苗后的免疫反应性. *临床儿科杂志*, 2008, 26(1): 48-50.
- [5] Thomas N. Saari and committee on infectious diseases. Immunization of preterm and low birth weight infants. *Pediatrics*, 2003, 112: 193-198.
- [6] Luo KX. Hepatitis B basic biology and clinical science. Second edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003: 327-341. (in Chinese) 骆抗先. 乙型肝炎基础和临床. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 327-341.
- [7] Berrington JE, Barge D, Fenton AC, et al. Lymphocyte subsets in term and significantly preterm UK infants in the first year of life analysed by single platform flow cytometry. *Clin Exp Immunol*, 2005, 140(2): 289-292.
- [8] Gavin MA, Bevan MJ. Increased peptide promiscuity provides a rationale for the lack of N regions in the neonatal T cell repertoire. *Immunity*, 1995, 3(6): 793-800.
- [9] Rimsza LM, Douglas VK, Tighe P, et al. Benign B-cell precursors (hematogones) are the predominant lymphoid population in the bone marrow of preterm infants. *Biol Neonate*, 2004, 86(4): 247-253.
- [10] 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.
- [11] Shao XP, Zhu JQ, Zheng XL, et al. Evaluation of non-and low-response after hepatitis B vaccination in infants and the effect of re-vaccination. *South China J Prev Med*, 2009, 35(4): 14-17. (in Chinese) 邵晓萍, 朱建琼, 郑晓丽, 等. 新生儿接种乙肝疫苗后无(低)应答率及再免效果分析. *华南预防医学*, 2009, 35(4): 14-17. (收稿日期: 2011-09-19) (本文编辑: 尹廉)