

· 实验研究 ·

肠出血性大肠埃希菌 O157:H7 引起的溶血性尿毒综合征患者血清抗体调查

徐建国 程伯鲲 冯丽萍 景怀琦 杨晋川 赵广法 汪华 李洪卫

【摘要】 目的 对 1999 年某地出现的一批先有腹泻病症状后继发急性肾功能衰竭(肾衰)的患者进行血清学调查和诊断。方法 使用基因克隆表达纯化的肠出血性大肠埃希菌(EHEC)-溶血素(Hly)和 EHEC O157 脂多糖(LPS)为抗原,对采集自 42 例肾衰患者的血清标本进行蛋白印记试验。结果 EHEC-Hly 的检测发现 IgG 抗体阳性 21 份,阳性率 50.0%;IgM 抗体阳性 16 份,阳性率 38.1%;在 11 份标本中同时检测到 IgG 和 IgM 抗体,阳性率 26.2%;检测到 IgG 或 IgM 抗体阳性的标本 26 份,阳性率 61.9%。EHEC O157 LPS 的检测发现 24 份标本分别检测到 IgG 和 IgM 抗体,阳性率各为 57.1%;在 29 份标本中检测到 IgG 或 IgM 抗体,阳性率 69.0%;在 20 份标本中检测到 IgG 和 IgM 抗体,阳性率 47.6%。在 42 份血清标本中同时检测到 EHEC-Hly 和 O157 LPS 的特异性抗体的标本 22 份,阳性率 52.4%;检测到 EHEC-Hly 或 O157 LPS 的特异性抗体的标本 34 份,阳性率 81.0%。结论 结合细菌学和血清学诊断结果、临床症状和流行病学分析,可以认为这些患者感染了 EHEC O157:H7。在分离不到病原菌的情况下,检测患者血清标本的 EHEC-Hly 和/或 EHEC O157 LPS 的特异性抗体,不失为一种可以考虑的诊断方法。

【关键词】 大肠杆菌 O157:H7;溶血性尿毒综合征;溶血素;脂多糖

Serological investigations on patients with hemolytic uremic syndromes due to enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection XU Jianguo*, CHENG Bokun, FENG Liping, JING Huaiqi, YANG Jinchuan, ZHAO Guangfa, WANG Hua, LI Hongwei. *Institute for Infectious Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

【Abstract】 Objective To investigate the etiological agent of patients with diarrhea followed by acute kidney failure symptoms in China, 1999. **Methods** Western blot was used to detect serum specific antibodies of patients against entero-haemorrhagic *Escherichia coli* hemolysin (EHEC-Hly) and lipo-polysaccharide of *E. coli* O157. **Results** Twenty-one and 16 of 42 patients showed positive reaction of specific IgG or IgM antibodies against EHEC-Hly respectively. Eleven of 42 serum samples were positive for having both IgG and IgM antibodies while 26 of 42 samples were positive for IgG or IgM. For *E. coli* O157 LPS test, 24 and 24 of 42 samples showed positive for IgG or IgM antibodies respectively. In 42 samples, 20 were positive for IgG and IgM while 29 were positive for IgG or IgM. **Conclusions** Twenty-two of 42 samples were reacted with EHEC-Hly and *E. coli* O157 LPS, but 34 of 42 samples were positive for EHEC-Hly or *E. coli* O157. In combination of western blot results, bacterial isolation clinical symptoms and epidemiological investigation findings, it was reasonable to conclude that this cluster of patients with distinguish clinical symptoms was caused by *E. coli* O157:H7, which had never been reported in China. Hence serological methods with EHEC-Hly and *E. coli* O157 LPS are valuable for diagnosis of infections of *E. coli* O157:H7, when bacterial isolation is failed.

【Key words】 *Escherichia coli* O157:H7; Hemolytic uremic syndrome; Hemolysin; Lipo-poly polysaccharide

肠出血性大肠埃希菌(enterohemorrhagic

Escherichia coli, EHEC)O157:H7 可引起出血性结肠炎(hemorrhagic colitis, HC)、溶血性尿毒综合征(hemolytic uremic syndrome, HUS)和血栓性血小板减少性紫癜。HUS 可对患者肾脏造成不可恢复性的损伤和死亡,病死率较高^[1]。在 HC 的早期,粪便标本的 EHEC O157:H7 的分离率比较高。而 HUS 往往发

基金项目 国家自然科学基金资助项目(39770043)

作者单位 102206 北京,中国疾病预防控制中心传染病预防控制所卫生部医学分子细菌学重点实验室(徐建国、程伯鲲、冯丽萍、景怀琦);江苏省疾病预防控制中心(汪华);徐州市疾病预防控制中心(杨晋川、赵广法、李洪卫)

生在腹泻症状消失以后,病原菌的分离率很低,如果使用了抗生素,病原菌的分离就更加困难^[2]。1999 年我国某地出现了一批先有腹泻病症状后继发急性肾功能衰竭(肾衰)的患者。我们对收集的 42 例患者的血清标本,使用 EHEC O157 的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和溶血素(hemolysin, Hly)为抗原,用蛋白印迹试验进行血清抗体调查,现将结果报道如下。

材料与方 法

一、材料

1. 菌种来源:国内 EHEC O157:H7 标准菌株 88/2364,1988 年原徐州市卫生防疫站从一腹泻病患者的粪便标本分离^[3],用于提取诊断用 O157 LPS 和克隆 Hly 基因。受体菌为 *E. coli* C600。

2. 血清来源:血清标本由当地卫生防疫站采集自 1999 年夏季我国南方某地先有腹泻病症状后继发急性肾衰入院进行治疗的患者。

3. 试验材料:硝酸纤维素膜 0.45 μm。电泳槽使用 BIRO-RAD MINI-III 系统,电转移仪使用 BIRO-RAD 公司产品,EHEC Hly 和 O157 LPS 抗原由本实验室制备。

4. 试剂和溶液的配制:30% 丙烯酰胺、10% 十二烷基磺酸钠(SDS)、10% 过硫酸铵、转移电泳缓冲液等按照常规方法配制。用于免疫学检测的溶液为 PBS(往 PBS 中加入 0.05% 的吐温 20)。I 抗为病人血清,II 抗为辣根过氧化物酶标记羊抗人 IgG、IgM。显色液包括 A 液和 B 液。10 ml PBS 中加入 6 μl 30% 双氧水为 A 液,2 ml 冷甲醇中加入 6 mg 四氯-萘酚为 B 液。将 A、B 溶液混匀,现配现用。

二、试验方 法

1. 蛋白印迹试验:基本原理是将提纯的 LPS 或 Hly 用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离后,通过转移电泳转移到硝酸纤维素膜上,然后用抗原抗体反应进行免疫检测。包括 SDS-PAGE、转移电泳、免疫检测三部分。操作步骤如下。

(1) SDS-PAGE:①根据所使用电泳槽的玻璃板的尺寸确定所需凝胶的体积。按比例配制 14% 的分离胶。加入 TEMED 后聚合马上开始,应立即将凝胶混匀,迅速灌胶。检测 LPS(14%)和检测 Hly(10%)的分离胶(总量各 10 ml)成分及用量分别为:三蒸水 2.6、4.0 ml;30% 丙烯酰胺 4.7、3.3 ml;1.5 mol/L Tris(pH 8.8)2.5、2.5 ml;10% SDS 0.1、

0.1 ml;尿素 2.4 g(检测 Hly 不使用尿素);10% 过硫酸铵 0.1、0.1 ml;TEMED 0.004、0.004 ml。②制备浓缩胶(总量 4 ml)浓缩胶成分:三蒸水 2.7 ml,30% 丙烯酰胺 0.67 ml,1.0 mol/L Tris(pH 8.8)0.5 ml,10% SDS 0.04 ml,10% 过硫酸铵 0.04 ml,TEMED 0.004 ml。③在两块玻璃板的间隙灌注分离胶溶液,留出灌注浓缩胶和梳子的空间,在分离胶表面轻轻加盖一层三蒸水,防止氧气扩散进入凝胶抑制聚合。将凝胶垂直放置于室温下,聚合。④分离胶聚合后清除覆盖的三蒸水,用滤纸条的边缘吸尽残留液体。⑤按比例配制合适体积的浓缩胶,在已聚合的分离胶上直接灌注浓缩胶溶液,并立即在浓缩胶溶液中插入梳子,小心排尽气泡,将凝胶垂直放置于室温下,令其聚合。⑥在浓缩胶聚合时,将提纯的 LPS 或 Hly 2 μl(0.5 mg/ml)加入对倍的 2 × SDS 凝胶加样缓冲液,100℃加热 3 min。⑦当浓缩胶聚合后小心拔出梳子,用注射器吸取电泳缓冲液冲洗上样孔,以除去未聚合的丙烯酰胺。⑧按顺序上样,90 V 恒压电泳 3 h,至溴酚蓝跑到凝胶边缘。跑好的胶可用于银染检查,也可用于转膜。

(2) 转移电泳:①将分离胶从玻璃板上转移到转移缓冲液中浸泡 20 min。②严格按照分离胶的大小剪裁一张硝酸纤维素膜和 12 张滤纸,并浸泡在转移缓冲液中。③在电转移仪的底板上铺 6 层浸湿的滤纸,用玻棒赶出各层之间的气泡。④将浸湿的硝酸纤维素膜铺在滤纸上,赶出各层之间的气泡,并做好标记,以待试验结束后判断样品的位置和顺序。⑤将分离胶铺在硝酸纤维素膜上,赶出气泡,在胶上铺 6 层浸湿的滤纸,赶出气泡。注意不能让上层的滤纸直接接触到凝胶下的硝酸纤维素膜及滤纸,以防短路。⑥盖上转移仪的电极板及外盖,根据凝胶的面积按 4 mA/cm² 计算电流,恒流 50 min(转移时间是根据 BIRO-RAD 转移仪使用情况提供的,可根据不同的仪器设置时间)。⑦转移完成后,关闭电源,取出硝酸纤维素膜,浸在 5% 的脱脂奶粉溶液中,室温震荡封闭 2 h,或 4℃过夜。

(3) Hly 的提取^[4]:活化的克隆子接种于 Luria-Bertan(LB)肉汤,37℃振荡过夜至对数生长期。4℃ 8 000 g 离心 20 min 取上清,经饱和硫酸铵沉淀过夜,4℃ 10 000 g 离心 30 min。然后将沉淀溶解于缓冲液中。

(4) Hly 抗体的免疫检测:将封闭好的硝酸纤维素膜按梳子齿的宽度剪成每一个泳道一条,依次编

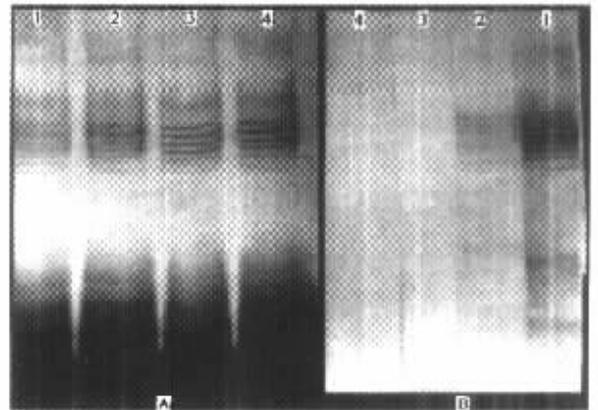
号。每条加入 1 ml 用 PBS 稀释的 I 抗,室温震荡 2 h,同时设阳性对照和阴性对照;用 2.5 ml/条 PBST 震荡洗涤 3 次,每次 5 min,加入 1 ml 用 PBS 稀释的 II 抗,室温震荡 1 h;用 2.5 ml/条 PBST 震荡洗涤 2 次,每次 5 min,再用 PBS 洗涤 1 次;将膜放入 12 ml 显色液中显色,室温震荡 15~30 min,至满意的蓝紫色条带出现为止(初次试验,要随时观察);将膜放入蒸馏水中终止显色反应,照相。只有显色的条带和 Hly 的分子量或 O157 LPS 的条带谱一致时,才有诊断意义。

2. O157 LPS 的制备及血清 LPS 抗体的检测方法^[5] 脂多糖的制备使用酚水法或酚-氯仿-石油醚法。提纯后使用 SDS-PAGE 银染后观察^[5]。使用免疫印迹方法,包括 SDS-PAGE、转移电泳、抗原抗体反应进行免疫检测三部分。SDS-PAGE 和转移电泳使用上述方法,主要介绍 LPS 抗体的检测方法:加入用 PBS 稀释的 I 抗,室温震荡 2 h;用 PBST 震荡洗涤 3 次,每次 5 min,加入用 PBS 稀释的 II 抗,室温震荡 1 h,使用 PBST 震荡洗涤 3 次,每次 5 min;将膜放入显色液中显色,室温震荡 15~30 min,至满意的蓝紫色条带出现为止,将膜放入蒸馏水中终止显色反应,照相。I 抗的浓度一般可为 1:50,也可根据患者血清的抗体浓度进行调整。II 抗的浓度根据试剂盒的说明进行测试、调整。

结 果

根据已经发表的 DNA 序列分析,EHEC O157:H7 的 Hly 基因 *hly CABD* 大约 10 kb,位于其 60×10^6 大质粒上。质粒酶切图谱分析发现,一个 12 kb 的 *Bam*HI 酶切片段恰好含完整的 Hly 基因 *hly CABD*。将该片段分离纯化后克隆入 pACYC184 的 *Bam*HI 位点,获得 Hly 基因克隆子。使用兔血琼脂发现,该克隆子的 Hly 基因能够高效地表达,表达量超过出发菌株。我们将此克隆子用于提纯 Hly 抗原。

使用基因克隆表达纯化的 EHEC 特异性 Hly 和纯化的 O157 LPS 为抗原,对 42 例肾衰患者的血清标本进行了蛋白印迹试验。检测结果见表 1。Hly 和 O157 LPS 的蛋白印迹试验结果见图 1 和图 2。Hly 特异性抗体的检测结果发现,在 42 份肾衰患者血清标本中,IgG 抗体阳性 21 份,阳性率 50.0%;IgM 抗体阳性 16 份,阳性率 38.1%;在 11 份标本中检测到 IgG 和 IgM 抗体,阳性率 26.2%;IgG 或 IgM 抗体阳性 26 份,阳性率 61.9%。O157 LPS 特异性抗体的检测结果发现,在 42 份标本中,24 份标本分别检测到 IgG 抗体和 IgM 抗体,阳性率各为 57.1%;在 29 份标本中检测到 IgG 或 IgM 抗体,阳性率为 69.0%;在 20 份标本中检测到 IgG 和 IgM 抗体,阳性率 47.6%。综合分析,检测到 EHEC Hly 和 O157 LPS 的特异性抗体的标本 22 份,阳性率为 52.4%;检测到 Hly 或 O157 LPS 的特异性抗体的标本 34 份,阳性率可达 80.9%。图 3 是 42 例不同年龄组肾衰患者血清标本的 EHEC Hly 和 O157 LPS 特异性抗体检测结果。



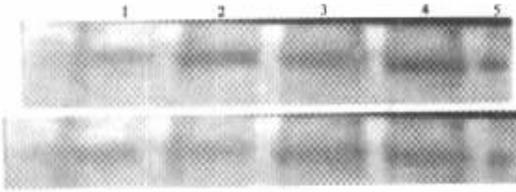
左图为大肠埃希菌 O157 LPS 的 PAGE 电泳结果,
右图为患者血清的蛋白印迹试验结果
1. 肾衰病人血清 IgG; 2. 肾衰病人血清 IgM;
3. 正常人血清 IgG; 4. 正常人血清 IgM

图1 HUS 患者血清标本的 O157 LPS 检测结果

表1 42 例 HUS 患者的 O157 LPS 和 Hly 血清抗体的蛋白印迹试验检测结果(阳性例数/检测例数)

年龄组 (岁)	O157 LPS 和 EHEC-Hly (IgG 和 IgM)	O157 LPS 或 EHEC-Hly (IgG 或 IgM)	O157 LPS				EHEC-Hly			
			IgG	IgM	IgG + IgM	IgG 或 IgM	IgG	IgM	IgG + IgM	IgG 或 IgM
<30	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	0/2	1/2	0/2	1/2
40~	3/6	6/6	5/6	4/6	4/6	5/6	3/6	3/6	2/6	4/6
50~	4/6	6/6	4/6	1/6	1/6	4/6	5/6	3/6	2/6	6/6
60~	10/13	11/13	7/13	11/13	8/13	11/13	8/13	8/13	6/13	10/13
≥70	4/15	10/15	7/15	7/15	6/15	8/15	5/15	1/15	1/15	5/15
合计	22/42 (52.4)	34/42 (80.9)	24/42 (57.1)	24/42 (57.1)	20/42 (47.6)	29/42 (69.0)	21/42 (50.0)	16/42 (38.1)	11/42 (26.2)	26/42 (62.0)

注 表中括号内数字为构成比(%)



上图 of IgM 抗体检测, 下图为 IgG 抗体检测
1~4 为患者; 5 为阳性对照

图2 HUS 患者血清标本的 EHEC-Hly 蛋白印迹试验结果

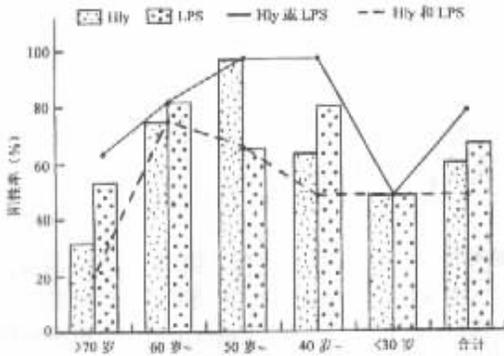


图3 42 例 HUS 患者的 EHEC-Hly 和 O157:H7 LPS 特异性抗体蛋白印迹试验检测结果的年龄组分析

讨 论

EHEC O157:H7 感染的诊断主要依靠病原菌的分离和鉴定,在疾病的早期阶段,病原菌的分离率比较高。在患者出现腹泻症状的后期,或者出现急性肾衰症状以后,病原菌的分离就比较困难。EHEC O157:H7 的毒力因子主要包括志贺毒素、LEE 毒力岛编码的基因和质粒编码的 Hly 等^[6]。志贺毒素属于蛋白毒素,应该具有较好的抗原性,但针对志贺毒素的血清学检测结果却不能令人满意,可能是因为志贺毒素对 B 淋巴细胞有毒性作用。只有少数 HUS 患者的血清中可以检测到针对志贺毒素的抗体^[7]。EHEC O157:H7 的 LEE 毒力岛编码的紧密素、Tir、EspA 及 EspB 这四种蛋白质可表现出强的抗原性,可作为血清学诊断的候选因子,局限性是只能检测携带 LEE 毒力岛的菌株引起的感染,携带 LEE 毒力岛的 EHEC 菌株感染的病人可产生交叉反应^[8]。血清学诊断方法应用最广泛的抗原是 EHEC O157 的 LPS。Chart Jenkins^[9]报道,在 60 例诊断为 HUS 患者中,只有 23% 的粪便标本能够检测到产生志贺毒素的 EHEC,而 73% 的血清标本可以检测到 EHEC O157 LPS 的 IgM 抗体。对经过细菌学确诊病人的研究发现,检测 O157 LPS 的 IgG 抗体的特异性和敏感

性可达 90% 以上。但是, O157 的 LPS 难以制备,与 EHEC O111 和 O55 血清型的 LPS 以及沙门菌、小肠结肠炎耶尔森菌、布鲁氏菌、非 O1 群霍乱弧菌部分菌株有相同的抗原表位,可能会发生交叉反应^[9]。EHEC O157:H7 的质粒编码的 Hly 基因,作为 EHEC 的特异性诊断探针,在全世界得到了广泛的应用,特异性和敏感性均在 90% 以上。有报道认为,可以将检测患者血清标本中的 EHEC-Hly 抗体作为诊断 EHEC O157:H7 感染方法。在一项对 20 例 HUS 患者的血清学调查中,19 例检出针对 Hly 的抗体。但是,没有进一步的报道支持这个结论^[10],而且在我们的试验中发现在一些对照人群中也可以出现阳性反应。对于诊断没有能够分离到病原菌的 EHEC O157:H7 感染患者,迄今仍然没有一种敏感性和特异性均令人满意的血清学方法。

我们对采集的 42 份腹泻病患者的血清标本进行 EHEC O157 和 EHEC-Hly 抗体检测和 O157 LPS 特异性抗体的检测,综合分析, EHEC-Hly 和 O157 LPS 均阳性的比例为 52.4%, Hly 或 O157 LPS 阳性的比例为 81.0%, 结果表明,这些患者是由 EHEC O157:H7 感染引起的。此外还从一些患者的粪便标本分离到 EHEC O157:H7 菌株。分离到病原菌的患者血清标本的 O157 LPS 和 EHEC-Hly 的特异性抗体也呈阳性反应,细菌学诊断的结果和血清学诊断的结果相吻合。结合上述资料和其他一些研究报道,可以认为我国的 EHEC O157:H7 感染的情况已经发生很大变化,应该引起重视。同时,在分离不到病原菌的情况下,检测患者血清标本的 EHEC-Hly 和/或 O157 LPS 的特异性抗体,也不失为一种可以信赖的诊断方法。结合血清学诊断资料、流行病学资料和临床症状,可以做出诊断^[9]。

参 考 文 献

- 徐建国, 祁国明. 肠出血性大肠杆菌的临床、检测方法和流行病学特征. 中华流行病学杂志, 1996, 12: 367-369.
- Bennett AR, Macphree S, Betts RP. Evaluation of methods for the isolation and detection of *Escherichia coli* O157 in minced beef. Lett Appl Microbiol, 1995, 20: 375-379.
- Xu JG, Quan TS, Xiao DL, et al. Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 strains in China. Curr Microbiol, 1990, 20: 299-303.
- Schmidt H, Maier E, Karch H, et al. Pore-forming properties of the plasmid-encoded hemolysin of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. Eur J Biochem, 1996, 241: 594-601.
- Westerman RB, He Y, Keen JE, et al. Production and characterization of monoclonal antibodies specific for the lipopolysaccharide of *Escherichia*

- coli* O157. J Clin Microbiol, 1997, 35: 679-684.
- 6 Karch H, Bielaszewska M, Bitzan M et al. Epidemiology and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. Diagn Microbiol Infect Dis, 1999, 34: 229-243.
- 7 Tarr PI. *Escherichia coli* O157: H7: clinical, diagnostic, and epidemiological aspects of human infection. Clin Infect Dis, 1995, 20: 1-8.
- 8 Kaper JB. The locus of enterocyte effacement pathogenicity island of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 and other attaching and effacing *E. coli*. Jpn J Med Sci Biol, 1998, 51(suppl): s101-s107.
- 9 Chart H, Jenkins C. The serodiagnosis of infections caused by Verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. J Appl Microbiol, 1999, 86: 731-740.
- 10 Schmidt H, Beutin L, Karch H. Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157: H7 strain EDL 933. Infect Immun, 1995, 63: 1055-1061.

(收稿日期 2001-11-10)

(本文编辑:尹廉)

· 短篇报道 ·

乙型肝炎病毒基因重组疫苗阻断母婴传播的进一步观察

韩秀兰 林惠芳 孟宗达 杜敏 侯通 杨翠丽 董永辉
赵玉良 刘洪斌 曹惠霖 刘崇柏

“七五”和“八五”计划期间,我国对第一代乙型肝炎(乙肝)疫苗(血源疫苗)的新生儿免疫效果进行了近期和远期效果考核,均证明效果良好。“九五”期间又对第二代乙肝疫苗(基因工程疫苗)效果进行考核,以最后取代血源疫苗。本文报道对我国研制的在哺乳动物细胞中高效表达的基因工程疫苗(CHO疫苗)阻断母婴传播的初步结果。

1. 材料与方法 (1)疫苗及乙肝免疫球蛋白:CHO疫苗, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 卫生部长春生物制品研究所生产,批号 961205-7。乙肝免疫球蛋白, 100 IU/支, 卫生部成都生物制品研究所生产,有效期内使用。(2)对象及分组:选母亲 HBsAg 和 HBeAg 双阳性所生儿为观察对象,分为 A、B 两组。A 组为单纯疫苗组,于新生儿出生后 0、1、6 个月各注射 1 次 CHO 疫苗,每次 10 μg ; B 组为疫苗加乙肝免疫球蛋白组,疫苗同上注射 3 次,但于 0 个月时同时注射乙肝免疫球蛋白 50 IU。第一针于出生后 24 h 内接种。两组各完成 50 名。(3)采血及检测:留母亲分娩前血 1 份,婴儿于全程接种后 2~6 个月采第一次血, 12~24 个月采第二次血,分离血清, -20 $^{\circ}\text{C}$ 冻存。待血清收齐后,一并与母亲血同时检测。检测指标为 HBsAg、抗-HBs 和抗-HBc,均采用固相放射免疫法检测,试剂由卫生部北京生物制品研究所提供。(4)结果判定标准:HBsAg 和抗-HBs 以 S/N 值 ≥ 2.1 、抗-HBc 以 CO/S ≥ 2.0 判为阳性,对可疑阳性标本均经重复试验确证。保护率以母亲 HBsAg 和 HBeAg 双阳性所生子女不接种疫苗一年自然 HBsAg 阳转率为 80% 计算。

2. 结果 (1)疫苗的安全性:两组共接种新生儿 120 名,

未发现明显全身及局部不良反应。(2)HBsAg、抗-HBs 和抗-HBc 阳性率及保护率:本组进一步观察了乙肝病毒 CHO 疫苗对 HBsAg 和 HBeAg 双阳性母亲所生婴儿的阻断效果,全程免疫各完成 50 名。全程免疫后 2~6 个月 A 组随访采到血者 31 名, HBsAg 阳性 4 名(占 12.90%), 抗-HBs 阳性 26 名(83.87%), 抗-HBc 阳性 12 名(38.71%), 保护率为 83.87%; B 组随访采到血者 39 名, HBsAg 阳性 2 名(5.13%), 抗-HBs 阳性 36 名(92.31%), 抗-HBc 阳性 9 名(23.08%), 保护率为 93.59%。全程免疫后 12~24 个月 A 组随访采到血者 41 名, HBsAg 阳性 4 名(9.76%), 抗-HBs 阳性 33 名(80.49%), 抗-HBc 阳性 1 名(2.40%), 保护率为 87.80%; B 组随访采到血者 40 名, HBsAg 阳性 4 名(10.00%), 抗-HBs 阳性 33 名(82.50%), 抗-HBc 阳性 6 名(15.00%), 保护率为 87.50%。A 组、B 组全程免疫各完成 50 名,在 2 年随访中,只要检出 HBsAg 即判为阳性, A 组累积检出 HBsAg 阳性 7 名(14.00%), 保护率为 82.50%, B 组累积 HBsAg 阳性 5 名(10.00%), 保护率为 87.50%。

3. 讨论:CHO 疫苗是我国自行研制的基因工程疫苗,有人对每剂 20 μg 的阻断效果已做过观察,对双阳性母亲所生新生儿的保护率为 86.1%, 优于血源疫苗 30 μg 0、1、6 个月程序注射 3 针乙肝疫苗的保护率(82.3%)。我们观察的结果为单用 10 μg 0、1、6 个月程序注射 3 针 CHO 疫苗,免疫后 2~6 个月保护率与免疫后 12~24 个月累积保护率等于 30 μg 血源疫苗的保护效果。如果第一针同时注射 50 IU 乙肝免疫球蛋白,则保护效果免疫后 2~6 个月与免疫后 12~24 个月累积保护率效果更佳。因此,目前市场供应的 10 μg CHO 疫苗,完全可用于新生儿的免疫,对母亲也无需做 HBsAg 筛查。如果已知母亲为 HBsAg 和 HBeAg 双阳性,为提高保护效果,也可在出生时加注 50 IU 乙肝免疫球蛋白。

(收稿日期 2001-07-26)

(本文编辑:杨莲芬)

基金项目:国家“九五”科技攻关项目(96-90603)

作者单位:050011 石家庄市卫生防疫站检验中心(韩秀兰、杜敏、侯通、董永辉);石家庄市第六人民医院澳产科(林惠芳、杨翠丽);河北省卫生防疫站病毒科(孟宗达、赵玉良、刘洪斌);中国疾病预防控制中心病毒预防控制所肝炎室(曹惠霖、刘崇柏)