

甲型肝炎减毒活疫苗(H2株)一针接种后免疫保护效果的15年观察

庄昉成 毛子安 姜立民 吴洁 陈悦青 姜器 陈念良 柴少爱 毛江森

【摘要】 目的 评估甲型肝炎(甲肝)减毒活疫苗(H2株)一针接种后的15年血清学和流行病学保护效果。方法 在浙江省台州市椒江区选择220名免前抗甲肝抗体阴性儿童(年龄1~3岁)作为血清免疫学追踪观察对象,分别于接种H2株疫苗后的2个月、12个月、6年、10年和15年观察抗甲肝抗体阳性率和几何平均滴度(GMT)。分析该观察区1~15岁儿童组疫苗接种率和甲肝发病率之间的关系及整个人群15年流行病学效果观察。血清学检测方法采用ELISA法(用WHO标准品校正)和ABBOTT(美国)AxSYM mEIA法。结果 在血清学追踪观察人群中疫苗接种后2个月和接种后15年,抗体阳转率分别为98.6%和81.3%,抗体阳转率下降缓慢;15年后抗-HAV-IgG的GMT为128 mIU/ml,显著高于WHO专家建议的20 mIU/ml保护水平。随着疫苗接种率的逐年提高,1~15岁年龄组儿童的甲肝发病率明显下降,二者之间有非常明显的相关性(Kendall-Rank相关性检验, $\tau = -0.931, P < 0.01$)。疫苗接种者连续15年累计观察236 413人年,未发生一例甲肝;而未接种者累计观察27 206人年,发生甲肝4例,疫苗保护率为100%;儿童大规模免疫接种为整个人群建立了良好免疫屏障,甲肝发病率下降幅度达96.7%。结论 甲肝减毒活疫苗(H2株)一针接种后的血清学和流行病学保护效果持久,可达15年。

【关键词】 甲型肝炎疫苗; 免疫持久性; 流行病学效果

Long-term immunogenicity and effectiveness of live attenuated hepatitis A vaccine (H2-strain) — a study on the result of 15 years' follow up ZHUANG Fang-cheng¹, MAO Zi-an¹, JIANG Li-min¹, WU Jie¹, CHEN Yue-qing¹, JIANG Qi², CHEN Nian-liang¹, CHAI Shao-ai¹, MAO Jiang-sen¹. 1 Institute of Viral Disease, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China; 2 Jiaojiang Center for Disease Control and Prevention, Taizhou city, Zhejiang Province
Corresponding author: ZHUANG Fang-cheng, Email: fczhuang@163.com
This work was supported by a grant from the "Ninth Five-Year Science" and Technology Critical Point Program of China (No. 030101).

【Abstract】 Objective To evaluate the long-term immunogenicity and effectiveness of live attenuated hepatitis A (HA) vaccine (H2 strain) after one dose injection, through a 15 years' follow up observation. Methods A total of 220 children with negative anti-HAV antibody (aged 1-3 y) were involved and followed up in Jiaojiang district, Taizhou city, Zhejiang province. Indicators would include seroconversion and geometric mean titer (GMT) levels after inoculation the vaccine with single dose at 2 m, 12 m, 6 years, 10 years and 15 years. Epidemiological observation was carried out within the 15 years to evaluate the relationship between vaccine coverage, the incidence of HA and the overall effectiveness. In the studied population, serum was tested by ELISA (calibrated by WHO international reference) and ABBOTT AxSYM HAVAB mEIA. Results Seroconversion rates were found to be 98.6% and 81.3% after 2 months and 15 years of inoculation and slowly decreased. GMT level was 128 mIU/ml after 15 years, significantly higher than the required protective level of 20 mIU/ml, recommended by WHO experts. Effectiveness through the 15-year follow up program showed a significant correlation between vaccine coverage and incidence of HA in 1-15 years aged group (Kendall-Rank test, $\tau = -0.931, P < 0.01$). There was no HA case seen among the observed accumulated 236 413 person-year vaccines, compared to 4 HA cases discovered in the 27 206 person-year of the non-vaccinees. The overall protective rate reached 100%. Through a mass vaccination program on children, the whole population established an immune-defence to enable the incidence of HA decreased by 96.7%. Conclusion The long-term immunogenicity and effectiveness of live attenuated hepatitis A vaccine (H2 strain) after one dose injection could last as long as 15 years.

【Key words】 Hepatitis A vaccine; Long-term immunogenicity; Epidemiological effectiveness

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.12.002

基金项目: "九五" 国家科技攻关课题(030101)

作者单位: 310013 杭州, 浙江省医学科学院病毒病研究所/浙江省医学微生物工程疫苗研发重点实验室(庄昉成、毛子安、姜立民、吴洁、陈悦青、陈念良、柴少爱、毛江森); 台州市椒江区疾病预防控制中心(姜器)

通信作者: 庄昉成, Email: fczhuang@163.com

甲型肝炎(甲肝)减毒活疫苗(H2株)自1992年已广泛应用于预防甲肝暴发与流行^[1-4],迄今在我国和其他国家应用已逾1亿人份,其中对该疫苗的安全性和免疫原性已有许多报道^[5-7]。为了评估活疫苗长期的血清学和流行病学效果,进一步完善免疫策略,本研究在浙江省台州市椒江区选择一个固定人群,并追踪15年进行血清学效果观察及对该区内1~15岁儿童长期流行病学保护效果观察。

对象与方法

1. 研究对象:选择浙江省东部沿海甲肝高发地区的台州市椒江区。该区2007年人口为102 989人,1990年以前甲肝年平均发病率为267.3/10万,1992年开始在1~15岁儿童中大规模接种甲肝活疫苗,该年龄组人口数为14 707人(1990年)和11 169人(2007年)。疫苗接种率从1991年的零逐年提高到2007年的87.51%。在大规模接种甲肝活疫苗前,选择符合条件的220名儿童作为固定人群队列,其中男性124人,女性96人,年龄1~3岁,均无肝炎史和肝病史,免疫前血清检测抗甲肝抗体阴性,肝功能正常,接种甲肝活疫苗后2个月、12个月、6年、10年和15年采血检测抗体阳转率和抗体水平(系列血清)。固定研究对象在随后的观察期12个月、6年、10年和15年的失访人数分别为1、38、55和71人,其原因主要是上学、随父母工作外迁失访;另据以往研究,在15年观察期间研究对象中抗体大幅度升高者(抗-HAV-IgG>10 000 mIU/ml),可能为隐性感染而无任何临床症状,在接种后6、10和15年抗体水平>10 000 mIU/ml者分别为6、10和15人,未记入血清检测计算人数。

2. 研究方法:流行病学效果观察是通过接种卡联系、专职人员随访、肝炎病例调查分型等方法,连续15年追踪观察所有疫苗接种者的免疫效果,以及疫苗接种率和甲肝发病率之间的关系。所有研究对象自愿和征得家长或监护人同意。在1992年大规模接种的基础上,每年对1周岁儿童组的人群和遗漏人群进行补种。所有接种者一针免疫。采集血样后分离血清,冰冻保存。

3. 血清学检测:所有血清样品用ELISA法检测,试剂盒由浙江省医学科学院生物工程所提供,ELISA法检测下限为50~80 mIU/ml,特异度为97%~100%^[8,9]。检测中每个试剂盒用WHO提供的标准品做校正(W1041,CLB,荷兰国际红十字会)^[10]。部分血清样品以随机原则抽取,用ABBOTT(美国)公司

提供的AxSYM mEIA法检测(批号:89212LU00,86123HP01,88341HP00)用以再确认和再定量。AxSYM mEIA法检测下限为20 mIU/ml,特异度100%。

4. 甲肝诊断标准:依据国家1997年颁发的甲肝诊断标准(GB 17010-1997),临床表现为急性肝炎(黄疸、厌食、呕吐、腹部不适等),血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)升高及抗-HAV-IgM阳性。所有甲肝病例由当地疾病预防控制中心和县级医院报告,并经专业技术人员随访。

5. 疫苗:甲肝减毒活疫苗(浙江普康生物技术股份有限公司生产)是在不同的细胞培养条件下32℃或35℃^[2,3],经过一系列传代减毒而成。本次研究中所有易感儿童接种一针剂量,上臂三角肌附近皮下注射。疫苗滴度为10^{6.4} CCID₅₀/ml。所有疫苗在整个研究过程中都保存在2~8℃。

6. 统计学分析:人口和年龄别资料来自台州市统计局,甲肝病例资料来自县级医院和疾病预防控制中心的报告系统,并经专家确证和核实。统计方法使用t检验和Kendall-Rank相关检验法。

结 果

1. 血清学追踪观察:疫苗接种后12个月研究对象抗-HAV-IgG阳转率为93.6%,GMT为226 mIU/ml;15年后抗体阳转率仍保持在较高水平(81.3%),GMT为128 mIU/ml。15年间抗体水平下降缓慢(表1)。

表1 研究对象接种甲肝活疫苗后抗-HAV-IgG血清学追踪观察

疫苗接种后观察时间	入组人数	失访人数	感染后抗体>10 000 mIU/ml人数	检测人数*	抗-HAV-IgG(mIU/ml)		
					阳性例数	阳转率(%)	GMT(1:)
2个月	220	0	0	220	217	98.6	287
12个月	220	1	0	219	205	93.6	226
6年	220	38	6	176	146	83.3	173
10年	220	55	10	155	124	80.0	145
15年	220	71	15	134	109	81.3	128

注:*因接种者失访或抗体>1:10 000 mIU/ml而删除

2. 疫苗接种率与甲肝发病率之间的相关性:椒江区人群在1989年前无甲肝疫苗接种史,1990-1991年在该试点人群做H2株甲肝疫苗临床Ⅲ期考核,1992年后在1~15岁儿童中开展大规模免疫接种。随着疫苗接种率逐年提高,该年龄组儿童甲肝发病率明显下降,二者间有非常明显的相关性。在1990年以前,椒江区年发生甲肝病例21~87例(年

均 38 例)。在开展大规模接种的早期(1994 年),疫苗接种率已达到 88.73%,以后一直保持在较高水平(84.75%~92.44%)。该年龄组人群经疾病预防控制中心专职人员对所有报告疑似甲肝病例专访和血清学检测鉴别确证,1994—2007 年 14 年中无甲肝病例发生(表 2)。经 Kendall-Rank 相关性检验($\tau = -0.931, P < 0.01$),疫苗接种率与甲肝发病率间存在显著负相关性。

表 2 浙江省台州市椒江区 1~15 岁儿童疫苗接种率与甲肝发病率的关系

年份	年均人口	疫苗接种人数	接种率 (%)	疑似例数*	确诊例数*	发病率 (/10 万)
1983—1989 平均	15 159	0	0.00	32	213.57	
1990	14 707	0	0.00	19	12	81.59
1991	14 438	6 467	44.79	9	5	34.63
1992	14 048	11 318	80.57	3	0	0.00
1993	14 334	12 509	87.27	4	1	6.98
1994	14 275	12 666	88.73	1	0	0.00
1995	14 249	12 076	84.75	2	0	0.00
1996	13 577	12 126	89.31	0	0	0.00
1997	13 623	12 197	89.53	0	0	0.00
1998	13 646	12 322	90.30	2	0	0.00
1999	13 639	12 480	91.50	1	0	0.00
2000	13 325	12 027	90.26	1	0	0.00
2001	12 890	11 762	91.25	0	0	0.00
2002	12 661	11 608	92.06	0	0	0.00
2003	12 404	11 396	91.87	2	0	0.00
2004	12 184	11 224	92.12	2	0	0.00
2005	11 647	10 766	92.44	1	0	0.00
2006	11 563	10 404	89.98	0	0	0.00
2007	11 169	9 774	87.51	1	0	0.00

注: * 疑似甲肝病例主要依据临床症状,经血清学检测为其他肝炎; † 均为未接种疫苗者

3. 流行病学效果观察: 15 年间 1~29 岁(1992 年大规模接种时儿童组年龄为 1~15 岁)甲肝疫苗接种者 20 661 名,累计观察 236 413 人年,未发生一例甲肝;而相对应年龄组未接种者 2745 人,累计观察 27 206 人年,发生甲肝 4 例(2002 年 2 例,2007 年 2 例,均经血清学检测确诊),发病率为 14.70/10 万,疫苗保护率达 100%。由于儿童中大规模免疫接种,为整个人群建立了良好免疫屏障,椒江区全人口甲肝发病率显著下降,从 1990 年的 88.04/10 万下降到 2007 年的 2.91/10 万,下降幅度达 96.7%(图 1)。

讨 论

甲肝减毒活疫苗接种一针后机体保护水平能维持多久,始终是活疫苗免疫策略中必须解决的问题。从活病毒疫苗的免疫机制来看,H2 株具有完整

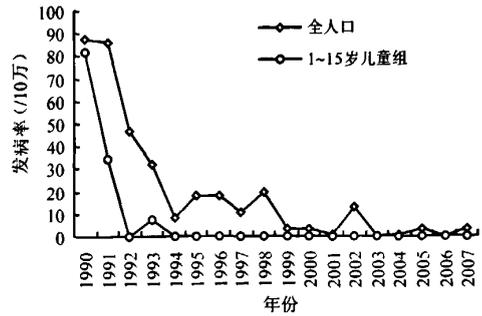


图 1 1990—2007 年浙江省台州市椒江区甲肝发病率与 1~15 岁儿童组发病专率

的病毒颗粒,不仅能诱导产生中和抗体(抗-HAV-IgG),且能诱导产生细胞免疫反应^[8],理论上活疫苗诱导的免疫反应是持久的。以免疫保护持久性而言,其指标主要是 IgG 抗体水平,此点也在本研究中得到证实。根据国内以往报道,H2 株活疫苗接种后 2 个月诱导的抗体 GMT 水平用 ELISA 竞争法检测通常在 1:4 和 1:16 之间^[9]或用 WHO 标准品标化约在 80~1200 mIU/ml 之间^[10]。本研究中疫苗接种后 2 个月和 15 年的抗体阳转率分别为 98.6% 和 81.3%,GMT 分别为 287 mIU/ml 和 128 mIU/ml。结果显示在 15 年观察期间,抗体阳转率和抗体水平有所下降,但下降速度缓慢;15 年后的保护性抗体仍显著高于 WHO 专家组建议的 >20 mIU/ml 水平。

本次研究显示,在易感人群(1~15 岁儿童)中疫苗接种率与甲肝发病率间有显著的负相关。当疫苗接种率 >80% 时,该年龄组人群可建立一种群体免疫屏障^[11,12]。在 15 年观察期间,无论观察者是否接种过活疫苗都会在环境中感染甲肝病毒(或隐性感染),接种活疫苗者由于活疫苗诱导的免疫回忆反应而获得保护作用^[13]。在实际观察中很难区分哪些观察对象的阳性抗体是接种活疫苗诱导的,哪些是自然隐性感染。总体而言,疫苗接种后 15 年观察对象抗体阳性率为 81.3% 和 1~15 岁儿童组连续 14 年无甲肝病例发生也证实了这一点。椒江区人群甲肝发病率下降 96.7%,所有的疫苗接种者未发生甲肝。说明活疫苗体液免疫和细胞免疫的双重保护起到了作用^[14]。

应该指出,某一地区甲肝发病率的下降也与当地卫生意识、居住和卫生条件的提高,供应洁净饮用水等因素有关。另一方面,在现代化城市和发展中国家随着卫生条件的提高和个人卫生的改善,使接触甲肝病毒及其感染的机会减少,在青少年中甲肝自然感染率也在下降^[15,16],这样就存在着大量易感

人群;而一旦环境中引入甲肝病毒后,有可能在该人群引起暴发疫情^[17]。在椒江区接种甲肝活疫苗后,使整个人群建立了免疫屏障,未发生甲肝暴发,这在很大程度上归于疫苗大规模的预防接种。

本研究结果说明甲肝减毒活疫苗一针接种后的血清学和流行病学保护效果持久可达 15 年之久。

参 考 文 献

- [1] Mao JS, Dong DX, Zhang HY, et al. Study of attenuated live hepatitis A vaccine (H2 strain) in humans. *J Infect Dis*, 1989, 159:621-624.
- [2] Mao JS, Dong DX, Zhang HY, et al. Development of live attenuated hepatitis A vaccine (H2 strain). *Vaccine*, 1990, 8: 523-524.
- [3] The Committee for Standardization of Biologics of the China. Requirements for Biologics of the People's Republic of China. Beijing: Chemical Industry Press, 2000.
- [4] Expert Committee on Biological Standardization, World Health Organization. Texts of Requirements for Biological Substances. BS/90.1637. Geneva, 1990.
- [5] Zhang SY, Mao JS, Huang HY, et al. Observation of safety of live attenuated hepatitis A vaccine (H2 strain). *Chin Med Sci J*, 1990, 70(12):682-684. (in Chinese)
张淑雅,毛江森,黄海鹰,等.甲型肝炎减毒活疫苗(H2减毒株)在人体接种的安全性观察. *中华医学杂志*, 1990, 70(12):682-684.
- [6] Mao JS, Chai SA, Xie RY, et al. Further evaluation of the safety and protective efficacy of live attenuated hepatitis A vaccine (H2 strain) in humans. *Vaccine*, 1997, 15(9):944-947.
- [7] Xu ZY, Wang XY, Li RC, et al. Preliminary results of a randomized and controlled trail of live attenuated hepatitis A vaccine. *Chin Med Sci J*, 1999, 14 Suppl: S8-10.
- [8] Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al. *Fields Virology*. 3rd ed. Lippincott-Raven Publishers, 1996: 697-698.
- [9] Liu Y, Ouyang PY, Xu ZY. Quantity assay the anti-HAV using ELISA method//Liu XG, ed. *Laboratory diagnostics of viral hepatitis*. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1999: 355-357. (in Chinese)
- 刘源,欧阳佩英,徐志一.酶标法定量检测甲型肝炎抗体//刘锡光. *病毒性肝炎实验室检测技术*. 2版.北京:人民卫生出版社, 1999: 355-357.
- [10] Midthun K, Ellerbeck E, Gershmen K, et al. Safety and immunogenicity of a live attenuated hepatitis A virus vaccine in seronegative volunteers. *J Infect Dis*, 1991, 163: 735-739.
- [11] Zhuang FC, Jiang Q, Gong YP, et al. Epidemiological effects of live attenuated hepatitis A vaccine (H2 strain): results of a 10-year observation. *Chin J Epidemiol*, 2001, 22(3): 188-190. (in Chinese)
庄昉成,姜器,龚岳平,等.甲型肝炎减毒活疫苗(H2株)10年流行病学观察. *中华流行病学杂志*, 2001, 22(3): 188-190.
- [12] Jiang SP, Huang QC, Chen JM, et al. Epidemiological efficacy of live attenuated hepatitis A vaccine in Liuzhou city after mass vaccination. *Chin J Epidemiol*, 1995, 16: 140-142. (in Chinese)
江世平,黄全诚,陈俊民,等.柳州市大规模人群甲型肝炎减毒活疫苗流行病学效果考核. *中华流行病学杂志*, 1995, 16: 140-142.
- [13] Xin YJ, He YH, Zhuang FC, et al. Cellular immune responses to humans by inoculation of Freeze-dried live attenuated hepatitis A vaccine (H2 strain). *Chin J Vaccine Immunizat*, 2008, 14(3): 246-249. (in Chinese)
忻亚娟,贺义惠,庄昉成,等.冻干甲型肝炎减毒活疫苗(H2株)诱导的人体特异性细胞免疫应答. *中国疫苗和免疫*, 2008, 14(3): 246-249.
- [14] Havens WP Jr, Marck RE. The leukocytic response of patient with experimentally induced infectious hepatitis. *Am J Med Sci*, 1946, 212: 129-138.
- [15] Dienstag JL, Poper H, Purcell RH. The pathology of viral hepatitis types A and B in chimpanzees. *Am J Pathol*, 1976, 83: 131-148.
- [16] Gust ID, Lehmann NI, Dimitrakakis M. A seroepidemiologic study of antibody to hepatitis A antigen and age: a cohort effect? *J Infect Dis*, 1978, 138: 425-426.
- [17] Iwarson S, Frosner G, Lindholm A, et al. The changed epidemiology of hepatitis A infection in Scandinavia. *Scand J Infect Dis*, 1978, 10: 155-156.

(收稿日期:2010-03-18)

(本文编辑:张林东)