

麻疹灭活疫苗一次免疫后的效果观察*

黃禎祥 賈秉义** 郭可馨 鄧裕美

(中国医学科学院病毒学研究所, 北京)

目前国内外麻疹减毒活疫苗的免疫效果是肯定的, 但是, 由于部分儿童还有高热反应, 所以还不能大规模推广应用。进一步在组织培养传代虽然有可能使病毒再进一步减毒, 但是其免疫效果也将进一步减低。Schwarz^[1]将 Edmonston 株在鸡胚细胞传 90 代后, 观察到发热反应有明显地降低, 但是抗体反应的水平亦随之下降; 我们的工作也显示了同样的结果^[2]。此外, 活疫苗的保存条件要求比较高, 将来向广大农村推广应用会受到一定的限制, 因此, 有必要同时进行灭活疫苗的研究。

麻疹灭活疫苗的研究国外已有报告^[3-14], 但是早期的报告研究效果不好。疫苗经浓缩、加佐剂后, 免疫效果较好, 但是还需要两次到三次的注射方能取得较好的效果。我们最近在灭活疫苗的研究中观察到, 注射一次不经浓缩不加佐剂的疫苗, 就能使 100% 的儿童抗体阳转。本文报告一次灭活疫苗免疫后效果的初步观察。

材料与方法

毒株 M₆₀₋₅ 株, 系我们 1960 年所分离, 先通过人胎肾细胞(HK) 6 代, 继之通过人羊膜细胞(HAM) 27 代, 后又在人胎肾细胞传 1 代。

疫苗的制备与检定 以上述 M₆₀₋₅ HK₆ HAM₂₇ HK₁ 之材料在人胎肾细胞培养中制成疫苗, 灭活前的疫苗经无菌试验(包括 PPLO 检查)、中和试验、滴度测定(本疫苗滴度为 $10^{3.5}$ TCID₅₀/0.1 毫升)以及动物安全试验后, 在应用前 48 小时以 1:3,000 的福尔马林置 4℃ 灭活, 注射前以 NaHSO₃ 中和, 以去除剩余的福尔马林的刺激性。以此方法灭活的疫苗, 经组织培养检查证实无活病毒存在。

免疫方法 灭活疫苗接种途径采用皮下, 剂量为 3,162—31,620 TCID₅₀ 不等, 本实验所用灭活疫苗剂量是以灭活前活病毒量(TCID₅₀)为根据。

抗体检查 所有儿童在接种疫苗当天及免疫后不同时间, 由耳垂采血, 以微量血凝抑制法检查抗体^[15]。

实验结果

(一) 灭活疫苗剂量与产生抗体的关系 将免疫前麻疹抗体阴性(血凝抑制抗体 <1:2)的易感儿分为四组, 第一组注射 31,620 TCID₅₀ 的疫苗, 第二组注射 18,972 TCID₅₀, 第三组注射 9,486 TCID₅₀, 第四组注射 3,162 TCID₅₀。免疫后抗体检查结果列入表 1。从表 1 可以看到, 接种的灭活疫苗剂量为 18,972 TCID₅₀ 及 31,620 TCID₅₀ 者, 免疫后 2 周抗体阳转率均为 100%, 平均抗体水平为 1:11.3 及 1:11.5。当疫苗剂量减少到 9,486 及

* 阮学珍同志参加部分技术工作。

** 河北省医学科学院。

本文 1963 年 3 月 21 日收到。

3,162 TCID₅₀ 时,免疫后抗体阳轉率分別降至 12.5% 及 8.3%,而注射 3,162 TCID₅₀ 的儿童,唯一的 1 例阳轉者抗体仅为 1:2。

表 1 麻疹灭活疫苗剂量与产生抗体的关系

疫苗剂量 (TCID ₅₀)	检查人数	免疫后 2 周 抗体						
		< 1:2	1:2	1:4	1:8	1:16	平均*	阳轉率(%)
31,620	34			2	16	16	11.5	100
18,972	12				7	5	11.3	100
9,486	16	14		1		1	1.3	12.5
3,162	12	11	1				0.2	8.3

* 平均数系血清稀释度的倒数。

(二) 灭活疫苗一次注射后抗体维持时间 本实验观察了 1 次注射 31,620 TCID₅₀ 的灭活疫苗后 2 周、4—5 周、7 周、18—20 周及 35—39 周的抗体变动情况(见表 2 及图 1)。由于不易在同一小孩继续进行观察,故此四组中之数字大部分为在不同小孩身上观察到的结果。从表 2 可以看出,平均抗体水平从 2 周到 20 周无多大改变,而 35—39 周则有明显地下降。如从抗体水平的分布来看,第 7、18—20 及 35—39 周则有部分儿童抗体下降

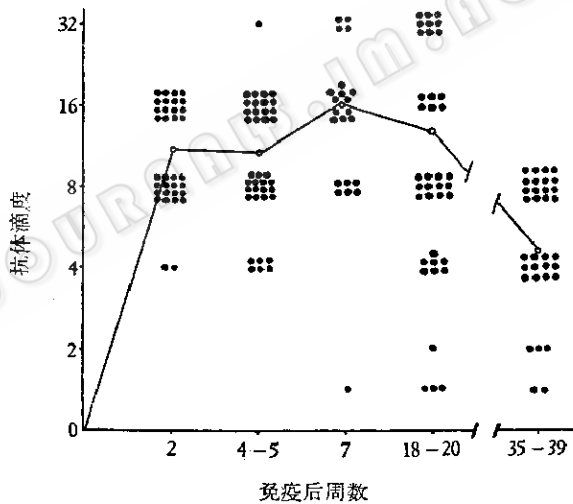


图 1 麻疹灭活疫苗一次注射后抗体维持曲线。

表 2 麻疹灭活疫苗一次注射后抗体维持时间

托儿所	免疫后周数	检查人数	抗体水平							
			< 1:2	1:2	1:4	1:8	1:16	≥ 1:32	平均*	< 1:2 者(%)
A.B.E.	2	34			2	16	16		11.5	0
A.B.D.E.	4—5	38			6	15	16	1	≥ 11.1	0
A.B.C.	7	22	1			6	11	4	≥ 16.0	4.5
A.B.C.D.	18—20	38	3	1	7	12	6	9	≥ 13.4	7.9
A.D.	35—39	33	2	3	12	16			5.5	6.1

φ 皮下注射 31,600 TCID₅₀/1 毫升。

* 见表 1。

到 <1:2; 7 及 18—20 周組之抗体水平在 $\geq 1:32$ 者占 21.7%, 較免疫后 2 及 4—5 周組的 1.4% 为高。应当指出, 免疫后 18—20 周組的抗体水平 <1:2 的 3 例及 1:2 的 1 例在免疫后 4 周时, 抗体水平均为 1:8—1:16, 說明部分儿童的抗体是下降了。但另外 4 例 $\geq 1:32$ 抗体水平的小孩, 曾在免疫后 4 周检查抗体, 其中 2 例为 1:16, 2 例为 1:8, 說明有部分儿童之抗体可能是升高了。从表中可以看出, 注射 1 次灭活疫苗的抗体維持時間是相当滿意的。

(三) 病毒悬液保存時間对免疫效果的影响 本实验观察了同一批活疫苗保存不同時間后再灭活的疫苗 1 次免疫的效果。保存不同時間的活疫苗于灭活前进行病毒滴定, 以便观察当疫苗滴度降低时再灭活对免疫的影响。各組所用的剂量不論灭活前滴度降低多少, 均为不稀释的疫苗原液 1 毫升(即相当于原来活病毒 31,620 TCID₅₀)。实验結果見表 3。从表 3 可以看出, 当疫苗保存 3 及 4 个月时, 灭活前病毒滴度均为 10^{3.5} TCID₅₀/0.1 毫升, 免疫后 7 及 5 周抗体阳性率分別为 95.5% 及 100%; 抗体水平亦近似, 平均抗体水平分別为 $\geq 1:16.0$ 及 $\geq 1:15.3$ 。到 20 周及 18 周均有部分儿童的抗体下降, <1:2 者分別占 11.7% 及 8.3%, 但平均抗体水平差別不大(分別为 $\geq 1:15.4$ 及 $\geq 1:10.6$)。免疫后 39 周及 35 周, 抗体 <1:2 者分別为 6.7% 及 5.6%, 平均抗体水平下降到 1:5.2 及 1:5.8。当疫苗保存到 5 个月时, 灭活前病毒滴度降到 10^{2.0} TCID₅₀/0.1 毫升, 免疫后 2 周抗体虽然全部阳轉, 平均抗体水平为 $\geq 1:25.6$, 但免疫后 4 周則降到 1:4.2, 12 周为 1:4.6, 抗体阴性者分別占 20% 及 10%, 到 31 周时平均抗体水平仅为 1:1.2, 抗体阴性者占 60%, 抗体水平最高者仅为 1:4。說明当活疫苗滴度降低时再进行灭活, 虽然免疫后 2 周抗体很好, 但是抗体下降很快。

表 3 麻疹活疫苗保存不同時間灭活后一次免疫抗体产生及变动情况

活疫苗 保存 月数	灭活前活 疫苗滴度 (TCID ₅₀ /0.1 毫升)	免疫后 周数	检查 人数	抗 体 水 平							<1:2 者(%)
				<1:2	1:2	1:4	1:8	1:16	$\geq 1:32$	平 均*	
3	10 ^{3.5}	7	22	1			6	11	4	≥ 16.0	4.5
		20	17	2	1	1	4	4	5	≥ 15.4	11.7
		39	15	1	3	4	7			5.2	6.7
4	10 ^{3.5}	5	12				3	8	1	≥ 15.3	0
		18	12	1		4	4	1	2	≥ 10.6	8.3
		35	18	1		8	9			5.8	5.6
5	10 ^{2.0}	2	10					4	6	≥ 25.6	0
		4	10	2	3	3	1	1		4.2	20.0
		12	10	1	1	5	3			4.6	10.0
		31	5	3	1	1				1.2	60.0

* 見表 1。

(四) 对带有少量麻疹抗体的儿童进行一次灭活疫苗注射的抗体变动情况 在滅毒活疫苗的研究中, 不同学者曾观察到, 免疫前有麻疹抗体的儿童, 用小量的活疫苗免疫后, 抗体不增加^[16,17]。同样, 带有抗体的儿童与麻疹患者接触后抗体亦不上升^[28]。但是对带有少量麻疹抗体的儿童, 用大剂量 (31,620 TCID₅₀) 的灭活疫苗免疫后能否使之抗体升高

是值得探討的。本实验观察了 11 例儿童, 免疫前抗体水平为 1:2 者 10 例, 1:4 者 1 例, 免疫后 2—4 周抗体水平全部有不同程度的升高, 在 1:8— \geq 1:16 之間, 平均为 \geq 1:12.0。

(五) 灭活疫苗一次免疫后流行病学效果的观察 对接种一次灭活疫苗(剂量为 31,620 TCID₅₀) 的 71 例免疫前抗体 < 1:2 的儿童, 进行了 6—9 个月的观察, 与麻疹患者有密切接触史者共 18 例, 其中 3 例系用保存 5 个月的免疫效果不好的疫苗, 2 例患不典型麻疹, 1 例未得病, 在接种有效疫苗有密切接触史的 15 例中, 11 例未得病, 3 例患不典型麻疹(其中 2 例未經医师诊断, 未能除外风疹, 1 例系在接种疫苗后第 10 天接触患者, 第 22 天患病), 1 例于免疫后 5 个月患典型麻疹, 此时检查抗体已 < 1:2。同班的 8 例未注射疫苗的易感儿, 接触后全部患典型麻疹。

討 論

本文报告了用福尔馬林灭活的麻疹 M₆₀₋₅ 株疫苗 1 次注射后的免疫效果, 結果較其他作者的一次免疫效果好(表 4)。目前灭活疫苗較好的結果是用濃縮加佐剂的疫苗, 但是是一次免疫后抗体阳轉率也不甚好, Karelitz 等^[8]所做的为 66.8%; Frankel 等^[5]用不濃縮的疫苗一次免疫的抗体阳轉率为 16.6%, 3 次免疫后亦仅为 83.3%; 而我們在 71 例免疫前抗体 < 1:2 的儿童, 一次于皮下注射 31,620 TCID₅₀ 的未經濃縮不加佐剂的灭活疫苗后, 抗体阳轉率为 100%, 这种差別是否与毒株不同或者制备条件不同有关, 是值得探討

表 4 国际麻疹灭活疫苗免疫效果一覽表

疫苗来源		疫苗加工情况	接种剂量及次数	抗体阳轉率(%)	作 者
組 織	毒 株				
猴 腎	Edmonston	不濃縮	3	36	Kempe ^[4]
鸡 胚	Edmonston	不濃縮	1 毫升 × 1	16.6	Frankel 等 ^[5]
			1 毫升 × 2	58.3	
			1 毫升 × 3	83.3	
猴 腎	Ch-3	不濃縮	1 毫升 × 3	100	Solovycv 等 ^[15]
猴 腎	Edmonston	{ 不濃縮 濃縮加佐剂 濃縮加佐剂	0.5 毫升 × 3	0	Carter 等 ^[6]
			0.5 毫升 × 3	71	
			0.5 毫升 × 1	0	
			0.5 毫升 × 2	55	
			0.5 毫升 × 3	83—100	
			2 毫升 × 1	44	
猴 腎	Edmonston	濃縮加佐剂	0.5 毫升 × 1	4	Feldman 等 ^[7]
			0.5 毫升 × 2	53	
			0.5 毫升 × 3	72	
鸡 胚	Edmonston	濃縮加佐剂	1 毫升 × 1	66.8	Karelitz 等 ^[8]
			1 毫升 × 2	98.9	
			1 毫升 × 3	100	
人 胎 腎	M ₆₀₋₅	不濃縮	1 毫升 × 1	100	本報告

的。

灭活疫苗 1 次免疫后的抗体维持情况尚未见有报告, Frankel 等^[5] 报告了 3 次免疫后的抗体维持情况, 免疫后抗体阳性率为 83.3%, 免疫后 16 周抗体阳性者占 54.6%, 24 周时为 18.1%。Karelitz 等^[8] 3 次免疫后抗体阳转率为 100%, 但到 6—9 个月后有 28.6% 的儿童查不到抗体。本文报告了 1 次注射 31,620 TCID₅₀ 的灭活疫苗后, 在 2—39 周观察抗体的维持情况, 免疫后 35—39 周查不到抗体者仅 6.1%; 从抗体水平来看, 平均抗体水平在 20 周内未见降低, 反而稍有增高, 但在 35 周到 39 周则显著地下降。从抗体范围来看, 在 18 周及 20 周有部分儿童抗体下降, 亦有部分儿童上升, 上升者是否与不显性感染有关是值得进一步观察的。应当指出, 免疫后 20 周内正当 1—5 月份, 尚为麻疹流行的季节, 而 35—39 周抗体水平全部下降之际, 正是麻疹患者最少的季节 (5—9 月份)。

根据 Karelitz 等^[8] 的报告, 1 次免疫者有 5 例接触麻疹患者后全部患了轻型麻疹, 而 2 次及 3 次免疫者, 通过流行病学观察, 无 1 例患麻疹者, 但是作者未提及观察的时间。我们的初步流行病学效果观察还不能对疫苗免疫效果做评价, 因在 18 例与麻疹患者有密切接触者, 患不典型麻疹的 5 例中, 有 2 例是用不好的疫苗免疫的, 2 例未经医师诊断, 因此, 进一步大量观察 1 次免疫后流行病学效果, 并同时进行 2 次免疫后的观察是必要的。

我们将活疫苗保存 5 个月, 其滴度下降到 $10^{2.0}$ TCID₅₀/0.1 毫升, 此时用福尔马林灭活, 1 次免疫剂量仍为 1 毫升疫苗原液; 在免疫后 2 周, 抗体阳转率虽然仍为 100%, 但抗体水平下降很快; 免疫后 4 周已有 20% 转为阴性; 31 周转为阴性者占 60%。这种现象是值得进一步观察的。

在比较不同剂量灭活疫苗对抗体产生的关系中观察到, 用 18,972 TCID₅₀ 以上者, 抗体阳转率均为 100%, 当减到 9,486 或 3,162 TCID₅₀ 时, 抗体阳转率则大幅度地下降, 分别为 12.5% 及 8.3%。这就提出, 灭活疫苗免疫的成功率与接种剂量有很大关系, 国外学者一次免疫效果不好可能与抗原量低有关, 是否也与病毒株不同或病毒细胞系统不同有关, 是值得探讨的。

在 11 例带有 1:2—1:4 的麻疹抗体的儿童, 用 1 毫升 (31,620 TCID₅₀) 灭活疫苗能使抗体升高, 这与不同学者在用少量麻疹减毒活疫苗的研究中观察到的免疫前有中和抗体、免疫后抗体则不再增加的现象不同, 可能是其他学者所用的活疫苗注射剂量小而我们所用的灭活疫苗的抗原剂量大有关。这与 Frankel 等^[5] 的工作是一致的。这对利用灭活疫苗来有效地进行再度免疫是有实际意义的。

结 论

1. 用 M₆₉₋₅ 株麻疹病毒通过人胎肾细胞 6 代, 人羊膜细胞 27 代, 又人胎肾细胞 2 代制备的疫苗, 用 1:3,000 福尔马林灭活, 一次免疫后能产生良好的抗体反应, 有一定的免疫效果。

2. 一次免疫的灭活疫苗剂量与免疫效果有密切关系。当用 18,972 TCID₅₀ 及 31,620 TCID₅₀ 的剂量时, 抗体阳转率为 100%, 平均抗体水平为 1:11.3 及 1:11.5; 当把剂量减到 9,486 及 3,162 TCID₅₀ 时, 抗体阳转率分别为 12.5% 及 8.3%, 平均抗体水平为 1:1.3 及 1:0.2。

3. 注射 31,620 TCID₅₀ 灭活疫苗后, 在第 7、18—20 及 35—39 周, 抗体阳性者分别从 2—4 周的 100% 降到 95.5%、92.1% 及 93.9%。说明绝大部分儿童免疫后 9 个月还有一定的免疫力。

4. 福尔马林灭活时活疫苗的病毒滴度与免疫有密切的关系, 当活疫苗存放时间长, 活病毒滴度下降时, 再用福尔马林灭活的疫苗免疫效果不好。

5. 带有少量麻疹抗体(1:2—1:4)的儿童, 用 31,620 TCID₅₀ 的灭活疫苗一次免疫, 能使抗体再升高(抗体滴度在 1:8—1:16 之间)。

参 考 文 献

- [1] Schwarz, A. F.: *Am. J. Dis. Child.*, **103**(3):386, 1962.
- [2] 黃禎祥、郭可馨、賈秉义: 微生物学报, **10**(3): 344—349, 1964.
- [3] Arakawa, S., Nagashima, H. and Kaneko, T.: *Yokohama Med. Bull.*, **10**:304, 1959.
- [4] Kempe, C. H.: Presented at 30th Annual Meeting Society of Pediatric Research, Swampscott, Mass., May 3—4, 1960.
- [5] Frankel, J. W., Wilton, E. A., Potkonski, L. and Boger, W. P.: *P. S. E. B. M.*, **110**(1):154, 1962.
- [6] Carter, C. H., Conway, T. S., Cornfeld, D., Iezzoni, D. G., Kempe, C. H., Moscovici, C., Ranh, L. M., Vignec, A. J. and Warren, J.: *J. A. M. A.*, **179**(11):848, 1962.
- [7] Feldman, H. A., Novack, A., Syracuse, N. Y. and Warren, J.: *J. A. M. A.*, **179**(6):391, 1962.
- [8] Karelitz, S., Berlinc, B. C., Orange, M., Penbarkkul, S., Ramos, A. and Muenboon, P.: *J. A. M. A.*, **184**(9):673, 1963.
- [9] Karelitz, S. and Peck, F. B.: *Am. J. Dis. Child.*, **103**(3):427, 1962.
- [10] Karelitz, S.: *J. Indian Ped. Soc.*, **1**(12):403, 1962.
- [11] Enders, J. F., Kempe, C. H., Krugman, S. and Stokes, J.: *J. A. M. A.*, **108**(8):680, 1962.
- [12] Feldman, H. A.: *Am. J. Dis. Child.*, **103**(3):423, 1962.
- [13] Novack, A., Feldman, H. A. and Warren, J.: *Am. J. Dis. Child.*, **102**:757, 1961.
- [14] Solovyev, V. D. and Lozovskaya, L. B.: *J. Hyg. Epid. Microbiology and Immunology*, **5**:454, 1961.
- [15] 曾毅、邓裕美: 中华医学杂志, **47**(6):355, 1961.
- [16] Stokes, J., Reilly, C. M., Hilleman, M. R. and Buynak, E. B.: *New Engl. J. Med.*, **263**:230, 1960.
- [17] Reilly, C. M., Stokes, J., Buynak, E. B., Goldner, H. and Hilleman, M. R.: *New Engl. Med.*, **265**: 165, 1961.
- [18] Bech, V.: *J. Immunol.*, **33**:267, 1959.

STUDIES ON THE IMMUNOLOGIC RESPONSE AFTER A SINGLE INJECTION OF INACTIVATED MEASLES VACCINE

HUANG, C. H., CHIA, P. Y., KUO, K. C. AND TENG, Y. M.

(Institute of Virology, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking)

Immunization with a single dose of inactivated measles vaccine in 82 children was studied. Vaccine was prepared in human kidney cell cultures with measles virus, M₆₀₋₅ strain (isolated by us in 1960), which had undergone 6 passages through human renal cells and 31 passages in human amnion cells. The infectious titer of the vaccine was $10^{4.5}$ TCID₅₀/ml. The virus was inactivated by formalin in a final concentration of 1:3,000 and kept at 4°C for 48 hours before use. One ml of undiluted vaccine without adjuvant was injected subcutaneously into susceptible children whose prevaccinated antibody titer were < 1:2. Two to 4 weeks after immunization, all children showed a rise in antibody titer. The mean antibody titers 2 and 4 weeks after inoculation were 1:11.5 and 1:11.1 respectively which were maintained at about the same level up to 20 weeks. During this period, a decline in antibody titer was seen in some individuals and an increase, in others. The latter phenomenon was considered to be due to inapparent infection. By 35–39 weeks, the average antibody titer dropped to 1:5.5, and 6.1% of the subjects tested no longer had detectable antibody in their blood.

The relation between the dosage of vaccine and its antibody response was also studied. It was found that above a dose of 18,972 TCID₅₀ (in terms of pre-inactivation titer), the antibody response was 100% positive in conversion rate and an average titer of 1:11.3 in antibody level, but below 9,486 TCID₅₀, not only the positive conversion rate but also the antibody titer after vaccination were markedly reduced.

The quality of live vaccine before inactivation on the immunologic response was then studied. Same batches of live vaccine kept at 4°C were formalinized at different periods after storage and 1 ml of undiluted vaccine was given subcutaneously to susceptible subjects. The results show that when live vaccine whose virus titer dropped on storage at 4°C for 5 months was inactivated and given to susceptibles, the antibody so formed dropped very rapidly as compared to those stored for 3 or 4 months but whose virus titer before inactivation was the same as originally prepared.

18 vaccinated children were found to have intimate contacts with measles patients 10 days to 5 months after immunization. Among these, 3 were immunized with the poor quality vaccine (kept for 5 months) and 2 of them came down with the disease. The remaining 15 children were immunized with good quality vaccine, 11 did not contract the disease, 3 came down with modified measles (2 were not diagnosed by physician) and 1, typical measles.

11 children having a low pre-existing measles antibody titer of 1:2–1:4 were injected with 1 ml inactivated vaccine. The post vaccinated antibody titer increased to an average of 1:12.