

流行性乙型脑炎病毒的变异

VII. 乙型脑炎 SA₁₄₋₅₋₃ 株减毒活疫苗 免疫后抗体持久性观察

敖坚 俞永新 武佩芬 李河民

(卫生部药品生物制品检定所, 北京)

贺适民 贾荣章

(上海生物制品研究所, 上海)

1. 1973—1978 年内于某海岛小学儿童测得乙脑抗体阳性者, 除 1978 年一例中和指数为 1,862 外, 其余中和指数均 < 10, 说明该岛乙脑隐性感染率较低, 5 年内为 12.5%。

2. 活疫苗初种后抗体阳性率为 77.6%, 一年后下降至 57.7%, 再接种一针后抗体即迅速上升至 100%。

3. 活疫苗初种后次年再接种一针, 其中和抗体水平维持较好, 五年后其阳性率仍为 70.6%。

4. 活疫苗初种后, 中和指数 > 1000 的儿童其抗体可维持较久。 < 1000 者一年后下降约 60%, 但再接种后中和指数达 > 1000 者其抗体阳性率在第五年仍维持 92.8%, < 1000 者则至第五年已降为 58.8%。考虑到其中一部分儿童仍有隐性感染, 因此活疫苗接种后五年的实际抗体阳性率可能还低些。

前已证明乙型脑炎 SA₁₄₋₅₋₃ 株减毒活疫苗(以下简称活疫苗)安全有效^[1]。广东惠阳地区接种活疫苗一针后的流行病学效果观察, 当年的保护率为 88.26%, 第二年至第五年每年的保护率分别为 90.04%、85.49%、92.98% 和 95.77%^[2]。初步表明在乙脑流行地区活疫苗一次接种后流行病学效果至少可以维持五年。为了探讨该活疫苗初次接种后免疫力持久性以及再接种的时间, 并进一步评价毒种的免疫原性和确定其免疫程序提供资料, 特别在乙脑非流行地区进行初次接种和再接种后的血清中和抗体测定。1973 年在浙江省有关卫生单位大力支持下, 选择了某海岛为点, 连续进行了五年的观察, 现将结果报告如下:

材料和方法

1. 观察点: 某海岛, 人口 3000 余人, 以渔业为主, 岛上蚊子及家畜均较少, 历年来无乙脑患者报告, 从未开展过乙脑疫苗接种。

2. 疫苗: 用乙脑 5-3 株毒种感染地鼠肾细胞制备活疫苗。病毒滴度和疫苗效价见表 1。

3. 接种对象及接种方法: 小学 2—5 年级学生。1973 年初种(皮下 0.5 毫升一次)前和接种后一个半月各采静脉血一次, 分离血清冻存待试。初种后中和指数 ≥ 1000 者, 1974 年不再接种。中和指数 < 1000 者再接种一次(皮下 0.5 毫升)。1975 年后对其中大部分儿童采血观察抗体变化。

本文于 1980 年 6 月 21 日收到。

本文工作承浙江省卫生防疫站、浙江省象山县卫生防疫站和浙江省象山县石浦区卫生办公室大力协助, 特此致谢。

表 1 病毒滴度和疫苗效价*

组别	批号	病毒滴度 TCD ₅₀ /0.2 毫升		疫苗效价 ID ₅₀ (毫升)	
		接种前	接种后	接种前	接种后
初种	3102	6.50	5.0	<0.00001	0.0003
初种	7310	8.00	6.0	<0.000001	0.0001
再种	7402	≥7.50	6.0	<0.000005	0.000004

* 活疫苗在冰壶中保存,接种后带回实验室。初种时接种前后二次测定的间隔为 2 个月 11 天,再种时二次测定的间隔为 3 个月 14 天。

另有部分未经接种的健康儿童作为对照组每年同样采血测中和抗体。

4. 中和抗体测定方法: 采用固定血清稀释病毒小白鼠脑内注射法。毒种为 P₃ 株,血清于试验前经 56℃ 30 分钟灭能。病毒血清混合后在 37℃ 水浴作用 30 分钟,每稀释度脑内注射小白鼠 4 只,每只 0.3 毫升,观察 14 天。计算 LD₅₀ 得出中和指数。

中和指数 <10 为阴性,11—49 为弱阳性,50 以上为阳性。以弱阳性与阳性者一并计算阳性率。接种前抗体阴性(中和指数 <10)者作为抗体持久性观察对象。

结 果

(一) 儿童乙脑隐性感染率调查

免疫前对该岛小学 1—5 年级学生取静脉血检测乙脑中和抗体。在 99 人中,抗体阴性 82 人,弱阳性 8 人,阳性 9 人,阳性率为 17.2% (表 2)。选择部分未经活疫苗接种而中和抗体阴性的学生为对照组,每年取静脉血观察乙脑隐性感染率。从表 3 中看出,在 1973—1978 年内测出乙脑抗体阳性者,除 1978 年一例中和指数为 1862

表 3 对照组乙脑抗体阳性率

年份	人数	中和指数			阳性数	阳性率 (%)
		<10	11—	50—		
1973	12	12	0	0	0	0
1974	8	8	0	0	0	0
1975	7	7	0	0	0	0
1976	6	6	0	0	0	0
1977	6	6	0	0	0	0
1978	8	6	0	1	1	12.5

外,其余均阴性,表明隐性感染率较低。

(二) 活疫苗初种及再种后的中和抗体反应

从表 4 中看出,接种前中和抗体阴性的 49 名儿童,经活疫苗一针接种后一个半月采血检测中和抗体,其阳转率为 77.6%,GMT 为 100,说明活疫苗在该地区初次接种是成功的。但在一年后抗体阳性率降至 57.7%,GMT 下降到 31,表明该活疫苗初种后抗体持久性较差。但当用活疫苗再种一针后,抗体全部转为阳性,其 GMT 由 31 显著上升到 363。说明经过该活疫苗初种后的阴性和阳性阴转儿童,次年再接种一针,全部抗体反应良好。

(三) 活疫苗接种后中和抗体持久性观察

经活疫苗初种后的 49 名儿童,对其中和抗体水平在 1,000 以下者,于次年进行一次再种,一个月后原来已阴转者全部阳转。再接种后一年阳性率为 91.7%,接种后二年为 78.8%,接种后四年为 70.6%。其 GMT 由再种后的 363 经过四年又降至

表 2 免疫前乙脑中和抗体水平

人 数	中 和 指 数						阳 性 数	阳 性 率 (%)
	<10	11—	50—	100—	1,000—	10,000—		
99	82	8	2	3	4	0	17	17.2

表 4 乙脑活疫苗初种及再种后的抗体阳转率

年 份	抗体测定时间	人数	中 和 指 数						阳性率 (%)	GMT (中和指数)
			<10	11—	50—	100—	1,000—	10,000—		
1973	初种后 1.5 月	49	11	12	3	12	8	3	77.6	100
1974	初种后一年	26	9	9	1	3	4	0	57.7	31
	再种后 1.5 月	38	0	5	1	14	17	1	100	363

表 5 乙脑活疫苗再种后中和抗体持久性

年 份	抗体测定时间	人数	中 和 指 数						阳性率 (%)	GMT 中和指数
			<16*	11—	50—	100—	1,000—	10,000—		
1974	再种后 1.5 月	38	0	5	1	14	17	1	100	363
1975	再种后 1 年	36	3	5	3	14	9	2	91.7	275
1976	再种后 2 年	33	7	8	4	9	5	0	78.8	66
1977	再种后 3 年	26	7	8	2	4	5	0	73.1	74
1978	再种后 4 年	34	10	5	8	10	1	0	70.6	40

* 积累阴转率。

表 6 乙脑活疫苗初种及再种后不同中和指数持久性观察

接种次数	血清 中和指数	人数	中 和 指 数						阳性率 (%)	GMT (中和指数)
			<10*	11—	50—	100—	1,000—	10,000—		
1973 (初种)	<1,000	13	0	0	3	10	0	0	100	177
1974 (未再种)		13	8	3	1	1	0	0	38.5	8
1973 (初种)	>1,000	11	0	0	0	0	8	3	100	3,890
1974 (未再种)		11	0	5	0	2	4	0	100	195
1975 (未再种)		6	1	0	0	1	3	1	83.3	660
1976 (未再种)		8	2	1	0	1	4	0	75.0	186
1977 (未再种)		8	4	0	0	1	3	0	50.0	83
1978 (未再种)		10	4	1	1	0	2	2	60.0	109
1974 (再种)	<1,000	21	0	5	1	15	0	0	100	134
1975 (未再种)		18	3	3	2	9	0	1	83.3	85
1976 (未再种)		18	5	7	3	3	0	0	72.2	25
1977 (未再种)		13	5	5	0	1	2	0	61.5	35
1978 (未再种)		17	7	4	3	3	0	0	58.8	20
1974 (再种)	>1,000	17	0	0	0	0	16	1	100	1,660
1975 (未再种)		15	0	2	2	5	6	0	100	602
1976 (未再种)		14	1	3	1	6	3	0	92.8	128
1977 (未再种)		11	1	2	2	4	2	0	90.9	166
1978 (未再种)		14	1	2	4	6	1	0	92.8	75

* 积累阴转数。

43(表5)。这说明活疫苗初种一针后次年再种一针,五年内其抗体虽有所下降,但下降较缓慢,仍可维持在一定水平。

(四) 活疫苗初种和再种后不同水平的中和抗体持久性观察

选择初种后和再种后抗体阳转的儿童,分别观察中和指数 $<1,000$ 者和 $>1,000$ 者中和抗体持久性。从表6中看出,初种后中和指数 $<1,000$ 的13名儿童,一年后其阳性率由100%下降到38.5%。中和指数 $>1,000$ 的11名儿童,四年后的阳性率为75%,五年后仍为60%,其GMT保持在100左右。再种后中和指数 $<1,000$ 的21名儿童,五年后的抗体阳性率为58.8%,GMT为20。中和指数 $>1,000$ 的17名儿童,五年后的抗体阳性率在90%以上,GMT为75。这说明经活疫苗初种后其中和指数 $>1,000$ 者才有较好的抗体持久性。 $<1,000$ 者一年后已有明显下降必须给予再接种。在再接种后也是以 $>1,000$ 者抗体持久性较好。同时可以说明,儿童之间个体免疫反应有显著差异。

讨 论

国外对某些虫媒病毒活疫苗的研究结果,认为免疫持久性较长,如黄热病疫苗的免疫持久性可达10年^[3]。Ilenko氏等^[4]对壁蝨脑炎活疫苗的人体抗体测定三年内仍维持88%阳性,Mayer氏^[5]对另一株壁蝨脑炎活疫苗的观察二年内抗体全部维持阳性。

我国的乙型脑炎活疫苗自问世以来已肯定其安全有效。但仅有个别连续性的流行病学效果观察报道,而且还缺乏血清学资料。由于开展大规模人群免疫效果观察,往往受到发病率高、诊断技术准确性的影响而不易得出正确结论,因此疫苗接种后血清抗体的消长应是一项判断免疫效果

的重要指标。在流行地区进行血清学观察会受隐性感染的干扰,因此在隐性感染率低的非流行地区进行是较适宜的。

从本次观察结果来看,乙脑活疫苗初种后抗体阳转率为77.6%,一年后大部阴转(表4)。但对初种后抗体阴性和接种后阳转而一年后又阴转的儿童进行再种,则抗体即显著增高,其阳转率达100%,以后逐渐平稳下降,五年仍保持70.6%的阳性,而对照组的隐性感染率则为12.5%(表3,5)。可见,5-3株活疫苗仅接种一次尚不能使大多数人产生较稳定的抗体水平,而需次年再接种一针才能获得较好的效果。但其中亦有22.4%的儿童,仅接种一次即可使抗体达到高水平(中和指数1,000以上),而且能维持较长时间,在三年内有75%的儿童保持阳性,在五年内保持阳性者仍有50—60%(表6),似乎说明不同个体对乙脑活疫苗免疫反应性差异很大。然而在初种儿童中虽有22.4%未阳转,但次年再接种一针后亦全部转为阳性。这又说明这些儿童血清中虽测定不出中和抗体,但机体接触抗原后已发生了反应,即有了基础免疫,所以再次接受抗原刺激后能迅速引起抗体反应即免疫回忆反应。1970年我们在济南市^[1]对抗体阴性儿童免疫一针后阳转率高达94.7%,中和指数 ≥ 50 者达78.9%,似乎说明在流行区以常规小鼠脑内中和试验法测得抗体为阴性(指数 <10)的儿童实际上有一部分已有基础免疫。因此,仅一次免疫后亦可引起较强的抗体反应。在广东惠阳地区^[2]以5-3株活疫苗接种一针后,人群较好的保护效果至少达五年,似乎说明一次接种以后即使有自然野毒感染,但并不引起临床症状,而不断地起了加强免疫的作用。

减毒活疫苗产生的免疫强弱与一般病毒滴度和其在机体内繁殖能力有关。从我

们的实验来看, 5-3 株液体活疫苗对于大多数中和抗体阴性者能产生明显的免疫效果, 但初种后一年抗体阳性率即显著下降, 显示病毒进入机体后在神经外组织中的繁殖力较弱, 不足以引起牢固的免疫。因此, 有必要进一步改进毒种的特性, 在嗜神经毒力基本不变的前提下, 提高其在神经外组织中的有限繁殖力和疫苗内病毒滴度的稳定性, 从而提高其初种后的免疫效果, 以利于活疫苗推广使用。

在本次观察中也用乙脑灭活疫苗进行了比较, 其结果为灭活疫苗加强免疫后的抗体阳性率为 100%, 二年后下降至 57.1%, 四年后为 63.6%。而活疫苗加强

免疫后的抗体阳性率也是 100%。二年后下降至 78.8%, 四年后为 70.6%。似乎活疫苗的免疫持久性优于灭活疫苗, 但由于灭活疫苗观察人数较少 (7—14 人), 而且年龄组较活疫苗为高, 因此, 尚难下结论, 有待进一步在工作中加以探讨。

参 考 文 献

- [1] 俞永新等: 微生物学报, **13**(1):16—24, 1973。
- [2] 广东省惠阳地区卫生防疫站: 生物制品通讯, **7** (3): 111—114, 1978。
- [3] Fenner, F.: *Medical virology*, 2nd Ed., Academic Press, 1976, P. 238.
- [4] Ilenko et al.: *Bull. WHO.*, **39**: 425—431, 1968.
- [5] Mayer, V.: *Acta Virol.*, **20**: 215—225, 1976.

STUDIES ON MUTATION OF JAPANESE B ENCEPHALITIS VIRUS

VII. AN OBSERVATION ON PERSISTENCE OF IMMUNITY IN CHILDREN INOCULATED WITH JBE ATTENUATED LIVE VACCINE (SA₁₄₋₅₋₃ MUTANT)

Ao Gian Yu Yongshin Wu Peifeng Li Hemin

(National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing)

He Shimin Jia Rongzhang

(Shanghai Institute of Biological Products, Shanghai)

In 1973 49 children living in a JBE non-epidemic island were vaccinated with JBE live vaccine SA₁₄₋₅₋₃, and serological survey was carried out in the following five years to determine the persistence of immunity.

In this surveillance, all the children vaccinated were antibody negative before vaccination. For every vaccinee one dose of vaccine was given in the first year and a booster injection in the second year.

It was found that neutralization Index (NI) tested on sera obtained 1½

months after one single dose of vaccine showed a positive conversion rate of 77.6% but dropped down to 57.7% at the end of 12 months. However, following a booster injection the positive rate rose to 100% and maintained at a level of 71—91.7% within 5 years running without further revaccination. Besides, for some children producing high antibody level (NI 1,000) by primary vaccination, a certain range of virus neutralizing titer (GMT 186—660) could still be observed for 4 years even without any boosting.