

流行性腮腺炎活疫苗喷鼻和气雾免疫的血清学反应

北京生物制品研究所
中国人民解放军302医院 腮腺炎疫苗免疫协作组
(北 京)

以喷鼻和气雾免疫法用流行性腮腺炎(简称流腮)活疫苗对人群进行预防接种,已获得显著的保护效果^[1]。我们在实际工作中,对喷鼻和气雾两种免疫途径,以及不同疫苗用量,进行了一系列血清中和和抗体反应的比较试验,现将试验结果简报如下。

材 料 和 方 法

(一) 毒株和疫苗

使用鸡胚减毒疫苗病毒 ME 株^[2]和 M56-1 株^[3]制备流腮鸡胚尿液疫苗^[1]。

(二) 免疫对象和采血

以幼儿园、小学儿童和青年成人作为疫苗接种后血清学反应的观察对象。免疫前和免疫后四周各采静脉血 2—3 毫升,析出血清,检查前置冰箱保存。

(三) 喷鼻、气雾免疫操作

喷鼻免疫使用喷头喷雾器,用前标划好,每人剂量 0.3 毫升,两鼻孔各喷半量。喷前擤鼻涕,喷后仰头 2—3 分钟。

气雾免疫用上海 JM-II 型雾化器,使用压力 2—4 公斤/平方厘米,用前调节雾化器使喷出 3—5 微米的疫苗颗粒在 80% 以上。疫苗雾化量随气雾室大小按每立方米 1 毫升计算。免疫时先雾化疫苗半量,然后让受接种者入内,再雾化后半量,同时歌唱 10 分钟。

(四) 中和试验方法

用流行性乙型脑炎中和试验青霉素小瓶地鼠肾细胞病变法^[4],检查流腮血清中和抗体。同一对象的免疫前、后双份血清同时检查以便比较。血清从 1:2 开始两倍稀释至 1:16。攻击病毒用已测知 TCD₅₀ 滴度的 ME 株鸡胚尿液病毒,使用剂量 32(10—100)TCD₅₀/0.1 毫升。稀释液一律为 Earle 氏液。每个血清稀释度连同攻击毒接种

地鼠肾细胞两瓶。每瓶含稀释血清、稀释病毒各 0.1 毫升,维持液 0.8 毫升。三者在进行血清稀释的试管内混合,一并加到细胞瓶内以简化操作^[4]。

(五) 细胞培养和病变检查

细胞瓶置 35℃ 平置培养,第 4—6 天每天检查病变一次,按有无病变和病变程度逐日记录检查结果。“—”和“±”分别代表病变阴性和可疑;病变轻重依次记录为 1—4 个“+”。

(六) 中和滴度判定

“—”和“±”均判为病变阴性,“+”或以上为阳性。当血清某一稀释度的两瓶细胞中仅一瓶病变阳性而另一瓶为阴性时,该稀释度即认为是血清的中和滴度。在两瓶病变阴性而下面相邻稀释度的两瓶又均为阳性的情况下,则取这两个稀释度的几何平均值作为血清的中和滴度。如 1:4 两瓶仅一瓶病变阳性,则中和滴度为 1:4;又如 1:4 两瓶阴性而 1:8 又两瓶阳性,则滴度判为 1:6;其余类推。

(七) 抗体反应阳性标准

包括抗体阳转和抗体强度明显增长。免疫前血清中和抗体滴度 <1:2 而免疫后滴度在 1:3 或以上时,就认为抗体阳转;此时免疫前、后血清的细胞病变瓶数相差为两瓶或以上。同样,也以免疫前、后血清的细胞病变相差在两瓶或以上作为抗体强度明显增长的标准。如免疫前血清抗体滴度 1:3,免疫后滴度如增加至 1:6 或以上,就认为是抗体明显增长。

结 果

(一) 免疫途径的比较

ME 及 M56-1 两个毒株的疫苗用喷鼻、气雾

本文于 1977 年 1 月 31 日收到。

表 1 不同疫苗不同途径幼儿抗体检查结果

疫苗种类	免疫途径	免疫前滴度	观察例数	免疫后滴度和例数								血清抗体阳性	
				<1:2	1:2	1:3	1:4	1:6	1:8	1:12	1:16	例数	%
M56-1 尿液	喷鼻	<1:2	5	①		2	1	1				4	
		1:2	2		①		1					1	
		1:3	4			①	①	2				2	
		1:4	1			①						0	
		1:8	1							①		0	
		合计	13									7	54
ME 尿液	喷鼻	<1:2	4		①	1	1			1		3	
		1:3	4		①	①	①		1			1	
		1:4	1						1			1	
		1:8	1						①			0	
		合计	10									5	50
	气雾	<1:2	15	②	①	8		1	2		1	12	
		1:2	3					1	2			3	
		1:3	3						2		1	3	
		合计	21									18	87

注: 圈内数目表示抗体未阳转或未增长, 下表同。

表 2 不同疫苗不同途径成人抗体检查结果

疫苗种类	免疫途径	免疫前滴度	观察例数	免疫后滴度和例数								血清抗体阳性	
				<1:2	1:2	1:3	1:4	1:6	1:8	1:12	1:16	例数	%
M56-1 尿液	喷鼻	<1:2	10	⑤	②							0	
		1:2	5		②			1				1	
		1:3	2			①	①					0	
		1:4	1				①					0	
		1:8	1								1	1	
		合计	19									2	11
	气雾	<1:2	5	①	①		2			1		3	
		1:2	1				1					1	
		1:3	1						1			1	
		1:4	6			①					5	5	
		1:6	1								1	1	
		合计	14									11	79
ME 尿液	喷鼻	<1:2	10	⑦	①		2					2	
		合计	10									2	20
	气雾	<1:2	9		①	1	4	3				8	
		1:2	3		②				1			1	
		1:3	3			①		1	1			2	
		1:6	2							1	1	2	
		1:8	1							①		0	
		合计	18									13	72

两种途径先后在儿童和成人中进行免疫后抗体反应比较。血清中和抗体检查结果列入表1和表2。

由表1和表2的数据可以看出:① ME 和 M56-1 两株病毒的免疫原性没有本质差别,因为在喷鼻组或气雾组中两个毒株疫苗的抗体阳性率都是相近的。② 气雾途径优于喷鼻;儿童抗体反应检查中气雾组抗体阳性率(87%)高于喷鼻组(50%),成人中也是气雾组抗体阳性率(79%, 72%)高于相应的喷鼻组(11%, 20%)。③ 喷鼻免疫的儿童中抗体阳性率(54%, 50%)显著高于

成人(11%, 20%),而在气雾组中儿童的阳性率(87%)与成人(72%)差别不大或没有差别。

(二) 免疫剂量比较

用 M56-1 疫苗进行三次疫苗剂量减少的气雾免疫比较观察。所得结果见表3。

从表3中前两次抗体检查结果表明:① 就抗体阳性率比较,用0.5毫升与0.25毫升两组人的免疫反应基本相同;② 0.125毫升疫苗组中,其抗体阳性率则低于其它各组,同时抗体阳性滴度平均值也较低。在具体气雾操作中,由于0.125

表3 M56-1 疫苗不同剂量成人气雾抗体检查结果

检查次数	疫苗剂量		免疫前滴度	观察例数	免疫后滴度和例数								血清抗体阳性		
	稀释度	毫升			<1:2	1:2	1:3	1:4	1:6	1:8	1:12	1:16	例数	%	滴度平均值
1	10 ⁰	0.5	<1:2 1:2 1:4 1:6 合计	2 1 1 1 5		①		1			1		1 1 1 1 4	80	1:10.6
		0.25	<1:2 1:2 1:4 合计	3 1 5 9	①			2 ①		1			2 1 4 7	78	1:9.8
2	10 ⁰	0.25	<1:2 1:2 1:3 1:6 合计	13 2 3 1 19		② ①	2	4 ①	3	1	1	1	11 1 2 0 14	74	1:6.6
		0.125	<1:2 1:2 1:3 1:4 1:8 合计	13 3 2 1 1 20	②	③ ①	5	1 ①	2 1 ①	1 ①			8 2 1 0 0 11	55	1:3.6
3	10 ⁻¹	0.5 (绝对剂量) (0.05毫升)	<1:2 1:2 1:3 1:4 1:6 合计	13 4 1 1 1 20			1 ①	1	3 2	3 1	2	4	13 4 0 1 1 19	95	1:8.1
	10 ⁻²	0.5 (绝对剂量) (0.005毫升)	<1:2 1:2 1:3 合计	14 3 2 19	①	①	1 ①	4 2	4 1	1	1	1	12 3 1 16	84	1:5.5

毫升剂量太小，气雾过程非常短暂，难于掌握；因而考虑到如果要减少免疫剂量，必须稀释疫苗才能精确比较。由表 3 中第三次检查数据与前两次结果比较，可以看出疫苗经过 10^{-1} 及 10^{-2} 稀释，使用的绝对剂量分别为 0.05 及 0.005 毫升，即降低 10 倍及 100 倍，仍可获得满意的免疫效果。 10^{-1} 组的抗体阳性率及阳转抗体滴度几乎平均值，可与原疫苗剂量 0.5 毫升相媲美。

(三) 疫苗不同稀释度比较

根据上述抗体检查结果，用 M56-1 疫苗 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 及 ME 疫苗 10^0 、 10^{-1} 、 10^{-2} 等稀释后，各免疫 7—12 岁小学生若干人。免疫前、后血清中和抗体检查结果见表 4。

由表 4 结果可以认为：① M56-1 疫苗三个稀释度间随稀释度增加而抗体阳性率在降低；② ME 疫苗的抗体检查中，除 10^0 抗体阳性率 (75%) 外，亦有随疫苗稀释度增加而抗体阳性率降低的表现；③ 两种疫苗稀释度相同，得到的免疫效果基本相似；④ 用 10^{-3} 稀释的疫苗得到的抗体阳性率 (10%) 明显低于其它各组。

讨 论

流腮活疫苗免疫儿童或成人得到的中和抗体反应结果，都表明气雾免疫优于喷鼻。显然这是由于气雾喷出的疫苗颗粒 (3—5 微米) 小于喷鼻的颗粒，容易到达下呼吸道使病毒进入机体唤起

表 4 疫苗不同稀释度小学生抗体检查结果

疫苗种类	疫苗稀释度	免疫前滴度	观察例数	免疫后滴度和例数								血清抗体阳性		
				<1:2	1:2	1:3	1:4	1:6	1:8	1:12	1:16	例数	%	滴度平均值
M56-1 尿液疫苗 EID ₅₀ 7.42	10^{-1}	<1:2	4			1	1	1			1	4		
		1:6	3						①	1	1	2		
		1:8	1								1	1		
		合计	8									7	88	1:8.5
	10^{-2}	<1:2	7	⑧			3	1				4		
		1:2	1		④							0		
		1:3	1					1				1		
		1:6	1						①			0		
		合计	10									5	50	1:4.5
	10^{-3}	<1:2	6	②	③			1				1		
		1:3	2			①	①					0		
		1:4	1					①				0		
		1:6	1					①				0		
		合计	10									1	10	1:6.0
ME 尿液疫苗 EID ₅₀ 7.00	10^0	<1:2	8	①				1	1	2	3	7		
		1:2	1					1				1		
		1:3	1			①						0		
		1:6	2					①		1		1		
		合计	12									9	75	1:10.5
	10^{-1}	<1:2	4			1		1		2		4		
		1:2	1								1	1		
		1:3	4		①				1		2	3		
		1:8	1								1	1		
		合计	10									9	90	1:10.2
	10^{-2}	<1:2	7	②	①		2	1			1	4		
		1:4	1						1			1		
		合计	8									5	63	1:6.4

免疫反应;而喷鼻的疫苗颗粒只能到达上呼吸道粘膜,疫苗中的病毒为上呼吸道非特异性防御屏障所排除或消灭。气雾免疫效果优于喷鼻的情况同样也表现在人群免疫效果的观察中^[1]。

成人喷鼻免疫的抗体阳性率显著低于儿童,可能是由于成人上呼吸道的防御屏障比较完整和成熟,以及呼吸道分泌物中含有特异性局部抗体 IgA 的机会较多。已知人的 IgA 到 6 岁以上才达到正常水平。

与补体结合或血球抑制抗体比较,中和抗体更能代表机体的免疫状态;所以近年多以中和试验方法衡量疫苗的免疫反应^[2]。中和试验的缺点在于工作量大、需时较长;但据细胞病变判定中和试验结果,较之以往使用的鸡胚^[6]或乳鼠^[7],已有明显改进,本文使用小鼠肾细胞一周内即可得到结果。

我们曾用前述的中和抗体检查方法,检查临床流腮病人的恢复期(病后四周左右)血清 6 份,抗体全部阳性,滴度分别为 1:3、1:6、1:8、1:8、1:16、1:16,其中 1 份有相应的急性期血清,滴度 1:2。恢复期抗体滴度几何平均值为 1:8.1,与此次活疫苗免疫试验相似(见表 3、表 4)。可以推想,接种活疫苗获得人工自动免疫的持久性,应与

自然感染所获得的无大差别。国外已有至少持续 6 年的报告^[3]。

根据这次血清抗体检查数据,我们曾分析了免疫前不同年龄组的中和抗体水平,在 3—7 岁、7—12 岁、18—22 岁之间没有发现抗体水平的差别,即没有随年龄增加抗体阳性率或滴度水平增长的迹象。这一事实表明,流腮病毒在人间广泛存在,在 3—7 岁儿童时期已有充分的接触机会。

参 考 资 料

- [1] 王太江等: 中华医学杂志, 48: 668, 1962。
- [2] 王太江等: 中华医学杂志, 44: 18, 1958。
- [3] 北京生物制品研究所、中国人民解放军 302 医院腮腺炎疫苗免疫协作组: 中华医学杂志, 55: 772, 1975。
- [4] 王用楫: 微生物学报, 15: 46, 1975。
- [5] Henle, W.: Mumps virus in E. H. Lennette and N. J. Schmidt's "Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Infections" 4th Ed. p. 474, 1969。
- [6] Gotlieb, T. et al.: J. Immunol., 71: 66, 1953。
- [7] Kilham, L. et al.: J. Immunol., 71: 183, 1953。
- [8] Weibel, R. E. et al.: Pediatrics, 51: 467, 1973。