· 调查报告与分析 ·

乙肝疫苗免疫儿童表面抗体衰减最小年龄分析*

张慧[1], 陈兆云[2], 魏欣[3], 黄新坤[3], 韩黎[3], 张昭[1], 吴洁[1], 戴江红[1]

摘　要: 目的　了解儿童完成乙肝疫苗 0、1、6 月三针基础免疫后表面抗体衰减最小年龄, 为制定科学强化免疫策略提供依据。**方法**　采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测新疆 2 206 名年龄≤7 岁常规体检儿童乙肝病毒血清学标志物, 通过模型拟合未感染儿童不同年龄段中位年龄或实际年龄与表面抗体阳性率的关系, 计算表面抗体衰减的最小年龄。**结果**　2.72%(60/2 206)的儿童处于乙肝病毒不同感染时期(模型 1 – 14); 28.51%(629/2 206)的儿童乙肝表面抗体阴性(模型 15), 可能为乙肝病毒易感者, 68.77%(1 517/2 206)的儿童乙肝表面抗体阳性, 为乙肝疫苗免疫者(模型 16); 2 146 名未感染儿童表面抗体阳性率为 70.69%(1 517/2 146), 不同性别儿童表面抗体阳性率差异无统计学意义($P > 0.05$), 4.0 ~ 4.5 岁年龄段阳性率最低(49.52%); 使用中位年龄和实际年龄拟合模型得表面抗体衰减的最小年龄分别为 3.99 周岁和 4.01 周岁。**结论**　完成乙肝疫苗免疫后的表面抗体阳性儿童在 4 岁年龄段有必要进行乙肝血清学标志物检测, 及时复种, 以保证良好的免疫屏障。

关键词: 乙肝疫苗; 儿童; 免疫应答; 年龄

中图分类号: R 512.6+2　**文献标志码**: A　**文章编号**: 1001-0580(2015)02-0221-04　DOI: 10.11847/zgggws2015-31-02-27

Minimum age of hepatitis B virus surface antibody attenuation in children with basic vaccination of three doses: model fitting analysis

ZHANG Hui*, CHEN Zhao-yun, WEI Xin, et al(*Department of Epidemiology and Health Statistics, College of Public Health, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang Uygur Autonomous Region* 830011, China)

Abstract: Objective　To investigate the minimum age of hepatitis B virus(HBV) surface antibody(HBsAb) attenuation among the children with basic hepatitis B vaccination at the age of 0, 1, and 6 months and to provide a scientific basis for making immunization strategy. **Methods**　Totally 2 026 children aged ≤ 7 years visiting a healthcare clinic for routine physical examination were recruited from January 2011 through December 2014 and serum markers of HBV infection were detected among the children with enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). Model fitting was adopted to analyze associations of median age and real age with positive rate of HBsAb for the children of different age groups for estimating the minimum age for HBsAb attenuation. **Results**　Of the children, 2.72%(60) had HBV infection of different period as described by 14 expressions of model 1 to model 14; 28.51%(629) were negative for HBsAb and susceptible to HBV infection(model 15); 68.77%(1 517) were positive for HBsAb and unsusceptible to HBV infection(model 16). Among the 2 146 children without HBV infection, the positive rate of HBsAb was 70.69% and no significant between-gender difference in the rate was observed($P > 0.05$). The lowest HBsAb positive rate(49.52%) was observed among the children aged 4.0 – 4.5 years. The estimated minimum median age and actual age for HBsAb attenuation were 3.99 and 4.01 years, respectively, based on the results of model fitting. **Conclusion**　The study results suggest that serological markers of HBV should be tested at the age of 4 years among the children with basic vaccination of three doses for the implementation of supplementary HBV vaccination.

Key words: hepatitis B vaccine; children; immune response; age

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是全球主要的健康问题之一, 至今尚没有根治的方法, 疫苗接种是目前预防 HBV 感染的有效措施。中国卫生部颁布了《全国乙肝疫苗免疫接种实施方案》, 在新生儿中推广乙肝疫苗预防。此后, 各省、市(地区)逐步采取有关措施, 开展了乙肝疫苗接种[1]。随着接种技术日益成熟以及接种程序的规范化, 疫苗的免疫取得了很好的成绩, 但不论血源性乙肝疫苗还是重组基因疫苗, 完成全程接种后有 5% ~ 10% 的接种者产生乙肝表面抗体不能达到保护性水平[2]; 部分接种者产生的乙肝表面抗体也可能会持续地迅速下降, 经过自然加强免疫现象或者迟发的免疫回忆反应可能会使乙肝表面抗体已转阴的机体再次产生保护性抗体, 或者原本乙肝表面抗体滴度较低者抗体滴度升高[3]。为进一步了解完成乙肝疫苗 0、1、6 月三针基础免疫后, 学龄前儿童免疫应

* **基金项目**: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(201233146 – 11); 新疆维吾尔自治区自然科学基金—医学联合基金(2014211C001); 新疆医科大学博士点基金(2012 – 16)

作者单位: 1. 新疆医科大学公共卫生学院流行病与卫生统计学教研室, 新疆 乌鲁木齐市 830011; 2. 新疆医科大学第一附属医院医学检验中心; 3. 新疆医科大学第一附属医院预防保健科

作者简介: 张慧(1988 –), 女, 甘肃民勤人, 硕士在读, 研究方向: 传染病流行病学。

通讯作者: 戴江红, E-mail: epi102@ sina. com

数字出版日期: 2015 – 1 – 13 9:38

数字出版网址: http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20150113.0938.009.html

答状况,本研究连续纳入新疆医科大学第一附属医院预防保健科 2011 年 1 月—2013 年 12 月常规体检儿童 2 206 名,通过不同模型拟合儿童免疫后乙肝表面抗体衰减的最小年龄,为强化免疫提供参考依据。

1　资料和方法

1.1　资料来源　资料来源于新疆医科大学第一附属医院预防保健科 2011 年 1 月—2013 年 12 月 2 206名年龄≤7 岁常规体检儿童的体检数据。体检儿童完成乙肝疫苗全程免疫≥3 个月,进行乙肝六项,即 hepatitis B surface antigen(HBsAg)、hepatitis B surface antibody(HBsAb)、hepatitis B e antigen(HBeAg)、hepatitis B e antibody(HBeAb)、hepatitis B core antibody(HBcAb)、HBcAb-immunoglobulin M(HBc-IgM)检测。2 206 名儿童中男童 1 170 人(53.04%),女童 1 036 人(46.96%);年龄最小 0.75 岁,最大 7.00 岁,平均年龄(2.57 ± 1.73)岁。

1.2　乙肝血清学检测

1.2.1　标本采集及处理 体检儿童均按照 0、1、6 月三针进行三角肌内注射北京天坛生物有限公司提供的 5 μg 国产酿酒酵母疫苗,由儿科门诊护士使用 BD 非抗凝真空管采集静脉血 5 mL,采集的标本送至检验科进行检测,当日分离血清,次日检测完毕。

1.2.2　检测试剂　试剂为上海科华 ELISA 检测试剂盒,均妥善保存在 4 ℃冰箱内且在有效期内使用,使用前先将检测试剂平衡至室温,不同批号的试剂在使用前进行比间差异验证。

1.2.3　检测方法及操作程序　采用酶联免疫吸附(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb、HBcAb-IgM 六项乙肝血清学标志物。操作程序为:从冰箱中取出前一日收集的待检标本及乙肝六项检测试剂,平衡至室温后进行检测;按照试剂说明书在包被反应板条各孔内依次加入待检血清 50 μL,同时设置 2 或 3 孔阴性对照,1 或 2 孔阳性对照,空白对照 1 孔(不同检测方法孔位设置数不同)。根据不同检测项目步骤区别:(1)一步法:每孔加入酶结合物 50 μL(空白对照孔除外),水平缓慢振荡 10 s 后使用即时贴覆盖在反应板上,置于恒温水浴箱 37 ℃温浴30 min;(2)两步法:直接封板置于恒温水浴箱 37 ℃温浴 60 min,再每孔加入酶结合物 50 μL(空白对照孔除外),封板置于恒温水浴箱 37 ℃温浴 30 min。共同步骤:弃去即时贴及反应板孔内反应液,用洗涤液洗板 5 次,充分吸干孔内液体;反应板中各孔加入 A 液 50 μL、B 液 50 μL,水平缓慢振荡 10 s,置于37 ℃保温 10 min;最后在各孔中加入终止液50 μL,水平缓慢振荡 5 s 后使用酶标仪 450 nm/630 nm进行比色。样本加样采用瑞士 TCAN EVO200 全自动酶免前处理,实验过程和检测系统采用瑞士 Hamilton Lab Fame 全自动酶免后处理仪。

1.2.4　结果判断　结果判断时扣除空白校准零点,读取各孔 OD 值,根据不同检测项目试剂说明计算 COV(临界值)。(1)正向法:样品 OD 值 > COV 为阳性, < COV 为阴性;(2)反向法:样品 OD 值 > COV 为阴性, < COV 为阳性。

1.3　质量控制　通过疫苗接种手册确认该儿童已完成乙肝疫苗 0、1、6 月三针基础免疫后≥3 个月;采血过程在儿科门诊进行,采用合格并在效期内的 BD 公司真空负压非抗凝采血管,由受过专业培训的护士进行采血,防止采血过程中由于技术差异造成的溶血等事件的发生;每次采血后样品都室温避光保存,保证血清更充分析出,由工作人员每半天一次送至检验科免疫室进行检测;每批次实验均设康彻思坦生物第三方室内质控品,检测结果为阳性的样品均须进行二次检测,结果一致方可报送;所有结果均由上海杏和 LIS 系统自动接收并记录。

1.4　统计分析　数据由 LIS 系统导出后采用 Excel 表格进行整理,使用 SAS 9.3 软件进行 χ^2 检验,通过 SAS regression 及 SAS logistic 过程进行模型拟合。根据 Bayesian information criterion(BIC)[4] 或 Akaike information criterion(AIC)选择最优模型。

2　结　果

2.1　乙肝病毒感染及乙肝疫苗免疫应答(表 1)

2.72%(60/2 206)的儿童处于乙肝病毒不同感染时期[5](模型 1 – 14);28.51%(629/2 206)的儿童乙肝表面抗体阴性(模型 15),可能为乙肝病毒易感者,68.77%(1 517/2 206)的儿童乙肝表面抗体阳性,为乙肝疫苗免疫者(模型 16)。

表 1　2206 例儿童乙肝标志物检测结果

模型	HBc-IgM	HBcAb	HBeAb	HBeAg	HBsAb	HBsAg	例数	百分比(%)
1	–	–	–	+	–	+	1	0.045
2	–	+	–	–	+	+	1	0.045
3	–	+	–	+	–	–	1	0.045
4	+	+	–	+	–	+	1	0.045
5	–	+	+	–	+	–	1	0.045
6	–	–	+	–	–	–	1	0.045
7	–	+	+	–	–	–	2	0.091
8	–	–	+	–	+	–	2	0.091
9	–	+	+	–	–	+	2	0.091
10	–	+	+	–	–	–	2	0.091
11	–	+	+	–	+	–	2	0.091
12	–	+	–	+	–	+	3	0.136
13	–	+	–	–	–	–	11	0.499
14	–	+	–	–	+	–	30	1.360
15	–	–	–	–	–	–	629	28.513
16	–	–	–	–	+	–	1 517	68.767
合计							2 206	100.000

2.2　乙肝疫苗免疫应答分析

2.2.1　不同性别儿童免疫应答情况比较　2 146 名未感染乙肝病毒的儿童中，乙肝表面抗体阳性 1 517 人(70.69%)，其中男童占 53.53%(812/1517)，女童占 46.47%(705/1 517)，差异无统计学意义($\chi^2=0.515$, $P=0.473$)。

2.2.2　不同年龄儿童乙肝疫苗免疫应答情况比较(表2)　2 146 名未感染乙肝病毒的儿童中，0.5 岁～年龄的儿童乙肝表面抗体阳性率最高，4.0 岁～儿童乙肝表面抗体阳性率最低。

2.2.3　不同年龄段中位年龄与乙肝表面抗体阳性率模型拟合　分别通过 linear、quadratic、logarithmic 和 square root 4 种模型对各年龄段中位年龄(x)与乙肝表面抗体阳性率进行拟合，依据 BIC 选取最优模型为二次方程模型：$f(x)=103.7776-24.497\ 4x+3.067\ 1x^2$，计算得出乙肝表面抗体应答率最低的年龄为 3.99 岁。

2.2.4　实际年龄与乙肝表面抗体阳性率的模型拟合　分别通过 linear、quadratic、logarithmic 和 square root4 种模型对每位儿童实际年龄(X)与经 logit 变换的乙肝表面抗体阳性结果发生概率 P 进行模型拟合，根据 AIC 选取最优模型为二次方程模型：$\text{logit}(P)=3.012\ 7-1.489\ 1x+0.185\ 9x^2$，计算得出乙肝表面抗体应答率最低的年龄为 4.01 岁。

表 2　不同检测年龄乙肝表面抗体阳性率比较

年龄(岁)	中位年龄(Q_L, Q_U)	检测人数	乙肝表面抗体			
			阳性例数	阴性人数	阳性率(%)	95% *CI*
0.5～	0.92(0.92,0.92)	89	81	8	91.01	85.07～96.95
1.0～	1.00(1.00,1.00)	711	614	97	86.36	83.84～88.89
1.5～	1.50(1.50,1.58)	237	165	72	69.62	63.76～75.48
2.0～	2.08(2.00,2.25)	158	88	70	55.70	47.95～63.45
2.5～	2.75(2.58,2.92)	203	121	82	59.61	52.86～66.36
3.0～	3.08(3.00,3.25)	232	127	105	54.74	48.34～61.15
3.5～	3.75(3.58,3.92)	96	52	44	54.17	44.20～64.14
4.0～	4.08(4.00,4.33)	105	52	53	49.52	39.96～59.08
4.5～	4.75(4.58,4.92)	50	31	19	62.00	48.55～75.45
5.0～	5.17(5.00,5.33)	63	44	19	69.84	58.51～81.17
5.5～	5.83(5.58,5.92)	57	40	17	70.18	58.30～82.06
6.0～	6.00(6.00,6.17)	76	50	26	65.79	55.12～76.46
6.5～7.0	7.00(7.00,7.00)	69	52	17	75.36	65.19～85.53
合计		2 146	1 517	629	70.69	68.76～72.62

3　讨　论

中国是乙型病毒性肝炎的高发区，接种乙肝疫苗是目前预防及控制乙肝最有效的方式。根据 2006 年在我国进行的全国范围内乙肝病毒感染流行病学调查结果表明，我国 1～59 岁一般人群中 HBsAg 携带率由 1995 年的 9.75% 降至 7.18%，<5 岁儿童的 HBsAg 携带率为 0.96%[6]。完成全程乙肝疫苗接种的儿童表面抗体阳性率会随着年龄的增长逐渐降低，翟祥军等[7]研究发现，乙肝表面抗体阳性率会随年龄增长逐渐降低，且下降速度较快；王爱红等[8]在学龄前儿童中的研究结果表明，随着年龄的增长，研究对象乙肝表面抗体滴度随之下降；朱轶姮等[9]对苏州市 <5 岁儿童乙肝疫苗免疫应答及持久性分析结果显示，完成全程免疫的儿童，乙肝表面抗体几何平均浓度在 1 岁以后迅速下降，3 岁后基本保持在较低水平，4 岁年龄组乙肝表面抗体为阴性的儿童占 46.67%。本研究结果显示，随着儿童检测年龄的增加至 4 岁，乙肝表面抗体阳性儿童的比例逐渐减少，与以上研究相一致。

姚红玉等[10]研究结果表明，血清 HBsAb 水平在没有再次注射疫苗的情况下，不同年龄期乙肝表面抗体呈现消失而后又再次出现的变化。陆建华等[11]研究发现，已免疫儿童生活在 HBsAg、HBeAg 阳性的家庭或生活中在 HBV 的高流行地区，感染 HBV 的可能性就会增加，当其体内特异性抗体下降或消失后再次接触抗原，就会发生自然加强免疫现象或迟发的免疫回忆反应。本研究结果亦显示，抗体水平呈现随着儿童检测年龄增加逐渐下降至一定年龄；之后，又随年龄的增长而升高。这可能是由于随着儿童进入托幼机构，社会活动增加，接触乙肝病毒的机会增加，继而发生自然加强免疫现象或迟发的免疫回忆反应的可能性增加所致。

本研究利用模型拟合儿童乙肝表面抗体变化趋

势,分别使用各年龄段中位年龄与乙肝表面抗体阳性率、儿童实际年龄与经 logit 变换后的乙肝表面抗体阳性结果发生概率拟合模型获得乙肝表面抗体阳性最小年龄,都与分年龄段直接观察乙肝表面抗体阳性率最小年龄非常相近。但对于本研究,更建议使用儿童实际年龄与经 logit 变换后的乙肝表面抗体阳性结果发生概率拟合的模型:该模型对因变量的分布没有要求,对数据变换后直接建立模型;使用了 2 146 名儿童中每名儿童原始数据的全部信息。

综上所述,乙肝疫苗免疫后产生表面抗体的儿童,其抗体会随接种时间延长而衰减,通过拟合模型发现乙肝表面抗体最小年龄为 4 岁年龄段,这一现象值得探讨。完成乙肝疫苗免疫后乙肝表面抗体阳性儿童有必要在 4 岁进行乙肝血清学标志物检测,及时复种,保证良好的免疫屏障。

参考文献

[1] 党如波,张顺祥,张卫东,等. 中国新生儿乙肝疫苗免疫效果评估[J]. 中国公共卫生,2009,25(4):385 - 357.

[2] Davila S, Froeling F, Tan A, et al. New genetic associations detected in a host response study to hepatitis B vaccine[J]. Genes and Immunity, 2010, 11(3):232 - 328.

[3] Zhu CL, Liu P, Chen T, et al. Presence of immune memory and immunity to hepatitis B virus in adults after neonatal hepatitis B vaccination[J]. Vaccine, 2011, 29(44):7835 - 7841.

[4] Wang D, Murphy M. Identifying nonlinear relationships in regression using the ACE algorithm[J]. Journal of Applied Statistics, 2005, 32(3):243 - 258.

[5] 李金明,张瑞. 常用乙型病毒性肝炎血清学标志物检测结果报告解释及临床应用[J]. 中华检验医学杂志,2012,35(4):296 - 300.

[6] 卫生部. 我国乙肝免疫预防工作取得显著成绩[J]. 中华医学信息导报,2008,23(10):7.

[7] 翟祥军,汪华,朱凤才,等. 江苏省农村地区儿童乙型肝炎疫苗免疫效果及其影响因素研究[J]. 中华流行病学杂志,2007,28(4):322 - 325.

[8] 王爱红,徐尚敖,姜翠芬. 学龄前儿童乙肝表面抗体定量检测结果分析[J]. 浙江预防医学,2008,20(10):23.

[9] 朱轶姮,佟伟军. 苏州市 5 岁以下儿童乙肝疫苗免疫应答及持久性分析[J]. 上海预防医学,2014,26(5):241 - 243.

[10] 姚红玉,陈陶阳,曲春枫,等. 我国新生儿乙肝疫苗免疫后效应概述及相关问题[J]. 科学通报,2012,57(20):1911 - 1917.

[11] 陆建华,黄飞,倪正平,等. 新生儿乙肝疫苗长期免疫后乙肝表面抗体动态观察[J]. 临床肝胆病杂志,1998,14(2):110 - 111.

收稿日期: 2014-08-29　　(张翠编辑　吴少慧校对)

中国公共卫生 CPH

· 基层公共卫生 ·

铁岭市 2004—2013 年肾综合征出血热流行特征分析

洪静,李岩

摘　要:目的　了解辽宁省铁岭市肾综合征出血热(HFRS)流行特征,为制定防治对策提供科学依据。**方法**　对 2004—2013 年铁岭市 HFRS 疫情资料进行流行病学分析。**结果**　2004—2013 年铁岭市累计报告 HFRS 病例 968 例,年发病率 3.38/10 万,死亡 7 例,病死率为 0.72%;7 个县(市、区)均有病例发生;10—12 月为发病高峰期;发病年龄 15 ~ 59 岁人群为主,职业以农民为主,占 77.69%。**结论**　铁岭市 HFRS 疫情较重,2011—2013 年疫情处于上升阶段。

关键词: 肾综合征出血热(HFRS);流行特征;年平均发病率

中图分类号: R 181.8+1　**文献标志码:** A　**文章编号:** 1001-0580(2015)02-0224-03　DOI:10.11847/zgggws2015-31-02-28

Prevalence of hemorrhagic fever with renal syndrome in Tieling city, Liaoning province, 2004 - 2013

HONG Jing, LI Yan (*Tieling Municipal Center for Diseases Control and Prevention, Tieling, Liaoing Province* 112001, China)

Abstract: Objective　To examine epidemiologic characteristics of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in Tieling city and to provide evidences for the prevention and control of HFRS. **Methods**　Descriptive epidemiological method was adopted to analyze the incidence data of HFRS in Tieling city from 2004 through 2013. **Results**　A total of 968 HFRS cases were reported during the period, including 7 deaths. The average annual incidence was 3.38/100 000 and the case fatality was 0.72%. The cases were reported in all the 7 counties or districts of the municipality. The incidence peaked during October-December in a year and most of the cases were aged 15 - 59 years and 77.69% of the cases were farmers. **Conclusion**　The epidemic of HFRS was severe compared to the average level in China and showed an increasing trend during 2011 to 2013.

Key words: hemorrhagic fever with renal syndrome; epidemiological characteristics; average annual incidence

作者单位: 铁岭市疾病预防控制中心,辽宁 铁岭 112001

作者简介: 洪静(1969-),女,辽宁铁岭人,副主任医师,本科,研究方向:传染病防制。

数字出版日期: 2015 - 1 - 13 9:35

数字出版网址: http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20150113.0935.005.html