

# IgG 抗体亲和力实验在麻疹疑似病例检测中的应用研究

刘洁, 刘芳, 高艳, 李崇, 孙灵利

北京市朝阳区疾病预防控制中心, 北京 100021

**摘要:** **目的** 使用 IgG 抗体亲和力方法鉴别麻疹病例中的原发性和继发性免疫反应, 研究麻疹消除阶段免疫失败病例的检出状况。 **方法** 选择出疹后 3 d 内和 4~28 d 采集的双份血清 IgM 结果均为阴性的麻疹疑似病例以及有明确免疫接种史的麻疹疑似病例, 采用 ELISA 检测血清标本的 IgG 抗体, 对于检出的 IgG 抗体进一步进行亲和力测定。 **结果** 52 例双份血 IgM 阴性的麻疹疑似病例中, 根据核酸或者 IgG 结果可确诊的麻疹病例有 23 例, 其中 19 例 IgG 抗体为高亲和力, 提示为再次感染。有明确含麻疹成分疫苗接种史的病例 7 例, 其中 1 例病例接种一剂次含麻疹成分疫苗, 采集的双份血中首份血产生低亲和力抗体, 第二份血产生高亲和力抗体; 其余 6 例接种  $\geq 2$  剂次含麻疹成分疫苗, 均产生高亲和力抗体。 **结论** IgG 抗体亲和力检测可以发现再次感染的不典型麻疹病例, 并能有效区分原发性和继发性免疫反应病例, 为麻疹消除阶段的病例检测和控制提供技术支持。

**关键词:** 麻疹; 抗体亲和力; 原发性免疫失败; 继发性免疫失败

**中图分类号:** R511.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2021)10-1269-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2021.10.032

麻疹是由麻疹病毒引起的急性呼吸道传染病, 疫苗预防的效果明显, 自从人群广泛接种含麻疹成分疫苗 (measles containing vaccine, MCV) 以来, 该疾病得到了有效的控制。虽然目前的研究广泛认为接种 MCV 后能够产生良好的免疫效果和持久的保护性, 但是免疫失败病例, 特别是继发性免疫失败病例的出现, 越来越引起关注<sup>[1]</sup>。

免疫失败分为原发性免疫失败 (primary vaccination failure, PVF) 和继发性免疫失败 (secondary vaccination failure, SVF), 前者指接种 MCV 后机体无免疫反应, 不能产生保护性抗体; 后者也称抗体衰减, 指出现的抗体逐渐失去临床保护作用<sup>[2]</sup>。国外曾有过类似的病例报道, 在接种过 MCV 并且血清阳转的人群中发生了麻疹病例, 虽然此类病例临床症状较轻, 症状并不典型<sup>[3]</sup>, 但是有研究表明其仍然是潜在的传染源<sup>[4-5]</sup>。另外, 亚临床感染的病例也可能再次发病, 因此对此类病例的研究是消除麻疹进程中不可回避的课题。由于通常不容易获知病人在发病前血清中的抗体水平, 因此对于免疫失败病例的研究仅靠流行病学调查难度较大, 需要有效实验方法的支持和验证, 如抗体亲和力检测的方法。抗体亲和力是机体正常存在的一种免疫功能状态。在体液免疫中, 继发性免疫反应产生的抗体与抗原的结合紧密程度更高, 为高亲和力抗体, 而原

发性免疫反应产生的抗体亲和力较低。因此使用 IgG 抗体亲和力方法可以区分原发性和继发性免疫反应, 在了解免疫史的情况下就能有效区分出 PVF 和 SVF, 同时, IgG 抗体亲和力检测也可以用来检出不典型的麻疹病例, 如麻疹 IgM 和核酸均为阴性的病例<sup>[6]</sup>。

## 1 材料与方法

**1.1 样本来源** 收集 2016 年 1 月—2017 年 12 月送至本实验室的采集了双份血标本的麻疹疑似病例, 首份血标本采集自出疹后 3 d 内, 出疹后的 4~28 d 采集第二份血标本, 标本采集后 24 h 内送至本实验室, 3 000 rpm 离心 5 min 分离血清并进行 IgM 的检测, 检测后的血清标本冻存至 -20 ℃ 备用。本实验选取采集双份血标本疑似病例或有明确免疫接种史的疑似病例进行研究。

**1.2 麻疹病毒 IgG 抗体的定量检测** 采用 ELISA 检测麻疹特异性的 IgG 抗体, 检测试剂为德国维润赛润公司的麻疹病毒 IgG 抗体检测试剂盒。根据检测出的样本 OD 值, 利用标准血清制作标准曲线, 换算出样本的 IgG 抗体浓度。维润赛润推荐以 IgG 抗体 > 200 mIU/ml 为阳性;  $\geq 150$  mIU/ml 且  $\leq 200$  mIU/ml 为灰区; < 150 mIU/ml 为阴性。

**1.3 麻疹病毒 IgG 抗体亲和力检测及结果判断** 采用 ELISA 方法检测麻疹病毒特异性 IgG 抗体的亲和力, 试剂为欧蒙公司的 IgG 抗体亲和力检测试剂盒 (货号 2610-9601-1G, 批号 E180717BH)。标本使用复孔

**作者简介:** 刘洁 (1982-), 女, 博士, 副主任技师, 主要从事微生物检验工作。

**通信作者:** 孙灵利, E-mail: sunlingli@cycdp.org。

检测,同一样品不同复孔分别用尿素和 PBS 处理,低亲和力抗体经尿素处理后从抗原抗体复合物上解离。分别测量尿素和 PBS 处理样本的 OD 值,如果样本经过尿素处理后的吸光度值显著降低,则证明抗体为低亲和力,通过计算相对亲和力指数 (relative avidity index, RAI) 来评价,RAI = (用尿素处理样本的吸光度×100)/未用尿素处理样本的吸光度。欧蒙试剂推荐 RAI<40%提示为低亲和力抗体,40%~60%之间为可疑,>60%提示为高亲和力抗体。

2 结果

2.1 样本筛选结果 2016 年 1 月—2017 年 12 月本实验室收集有发热出疹症状的麻疹疑似病例共 59 例,包括有明确含麻疹成分疫苗接种史疑似病例 7 例和接种史不详的疑似病例 52 例。其中,7 例有明确接种史的疑似病例核酸检测和血清 IgM 检测阳性后实验室确诊为麻疹病例。接种史不详的 52 例中麻疹双份血检测 IgM 均为阴性,其中有 16 例核酸结果为阳性,实验室确诊为麻疹病例,36 例核酸结果为阴性,实验室排除麻疹病例。对这 59 个病例进行 IgG 抗体检测,IgG 抗体阳性的标本进一步进行亲和力实验。

2.2 双份血 IgM(-) 麻疹疑似病例 IgG 抗体结果 检测 16 例麻疹实验室确诊病例血清 IgG 抗体,有 7 例双份血 IgG 均为阳性,且水平稳定;有 3 例首份血检测 IgG 阴性,第二份血 IgG 结果均转为阳性;有 6 例双份血 IgG 均为阳性,但第二份血 IgG 滴度有 4 倍增高。血 IgM 结果漏检 9 例,占 56.25%(9/16)。

检测 36 例实验室排除病例的双份血 IgG 抗体,结

果均为阳性且水平稳定的有 26 例,双份血 IgG 均阴性的病例 3 例,该 29 例可排除麻疹感染。IgG 结果由阴转阳的病例 1 例,IgG 抗体滴度 4 倍增高的病例 6 例,可以判为实验室确诊病例,因此根据血 IgM 和核酸结果组合漏检 7 例,占 19.44%(7/36),见表 1。

表 1 52 例麻疹疑似病例 IgG 抗体结果

组别	例数	IgG 抗体浓度升高		IgG 抗体浓度无变化	
		IgG 抗体阳转	IgG 抗体滴度 4 倍增高	IgG 均阳性	IgG 均阴性
核酸结果阳性(+)	16	3	6	7	0
核酸结果阴性(-)	36	1	6	26	3
合计	52	4	12	33	3

2.3 麻疹病例 IgG 抗体亲和力结果 通过核酸结果和 IgG 抗体结果进行实验室确诊的 23 例麻疹病例,其免疫接种史不详,测定第二份血 IgG 抗体亲和力发现,IgG 转阳的 4 个病例中,3 例为低亲和力抗体,1 例亲和力处于灰区。其余 19 例显示抗体高亲和力,提示可能为再次麻疹感染。

有免疫接种史的病例 7 例,其中有病例 6 接种 1 剂次 MCV,末次接种距发病 4 个月,出疹后第 3 d 采集的首份血 IgM 阴性,IgG 阳性;出疹后第 11 d 采集的第二份血 IgM 阳性,IgG 浓度 4 倍增高,为高亲和力抗体;其余 6 例均接种至少 2 剂次 MCV,均产生高亲和力抗体,属于 SVF 病例,见表 2、表 3。

表 2 30 例麻疹确诊病例不同接种史抗体亲和力结果

组别	IgG 抗体高亲和力	IgG 抗体中亲和力	IgG 抗体低亲和力	合计
有免疫史	7	0	0	7
免疫史不详	19	1	3	23
合计	26	1	3	30

表 3 7 例 SVF 病例 IgM、IgG 和抗体亲和力检测结果

病例	接种剂次	末剂麻疹疫苗时间	出疹日期	采样日期	IgM 结果	IgG 水平 (mIU/ml)	亲和力指数 (%)
病例 1	≥2	1984/4/24	2016/3/27	2016/3/29	阳性	2 045	108
病例 2	≥2	2012/1/20	2016/3/25	2016/3/28	阳性	2 439	99
病例 3	≥2	2016/7/28	2017/4/16	2017/4/26	阳性	1 667	82
病例 4	≥2	2014/4/19	2017/7/12	2017/7/18	阳性	743	81
病例 5	≥2	2010/9/20	2017/2/16	2017/2/18	阳性	2 068	93
病例 6 第一份血	1	2016/12/14	2017/4/1	2017/4/4	阴性	269	37
病例 6 第二份血	1	2016/12/14	2017/4/1	2017/4/12	阳性	2 458	95
病例 7 第一份血	≥2	2015/6/1	2016/12/15	2016/12/16	阳性	686	86
病例 7 第二份血	≥2	2015/6/1	2016/12/15	2016/12/23	阳性	906	90

3 讨论

传统的观点认为麻疹的感染,尤其是没有接种史的感染病例均会出现典型的临床症状,不存在亚临床感染。但是一项关于疫苗广泛接种时代麻疹的流行病学研究,证实了症状相对轻微或者无临床症状及体征

的亚临床感染是普遍存在的<sup>[7]</sup>。认为麻疹感染不存在亚临床感染,可能是由于麻疹监测通常都是针对出现临床症状的病例进行的<sup>[8]</sup>。因此,在不能全部明确接种史的情况下,本研究重点放在运用抗体亲和力方法鉴别原发性和继发性免疫反应上,研究疑似病例感

染后免疫水平发生的变化,用以判断是否发生过既往感染,同时使用 IgG 抗体及亲和力检测的方法,回顾性的研究当时疑似病例仅使用抗体 IgM 和核酸检测是否出现过漏检。

当一种病原体首次侵入机体后,机体会产生针对该种抗原的原发性免疫反应,产生特异性的抗体,原发性免疫反应过后机体会产生免疫记忆。当同种病原体再次入侵机体后,由于免疫记忆,机体能够迅速产生高浓度、高亲和力的抗体,此为继发性免疫反应<sup>[9]</sup>。本研究发现,大部分确诊病例出现了继发性免疫反应,产生了高亲和力的 IgG 抗体,但再次感染麻疹病毒后仍然发病,提示即使有高亲和力 IgG 的存在,该抗体的中和保护作用仍然需要进一步研究。尤其值得注意的是 7 例 SVF 病例,在感染之初就检测出 IgM 和核酸阳性,这与之前研究<sup>[10]</sup>显示的 SVF 病例通常会出现 IgM 水平低或无法检出等继发性免疫反应的实验室检测特点略有不同,这可能与麻疹病毒基因的变异有关,近年来研究显示其病毒的变异可能引起野毒株抗原性发生变化,导致疫苗保护功能下降,出现麻疹疫情的暴发<sup>[11]</sup>。本研究中仅接种 1 剂次 MCV 的 SVF 病例,在出疹第 3 d 采集首份血时,IgG 浓度低,且为低亲和力抗体,一周后再次采血检测时,IgG 浓度迅速升高,并且呈高亲和力。而接种 2 剂次 MCV 的病例中,末次接种时间距出疹时间 19 个月至 22 年,但是所有病例在出疹 10 d 内已经可以检出高浓度高亲和力的 IgG 抗体,符合 SVF 的血清学特点,证明接种疫苗后即使抗体水平随着时间的推移而下降,但是再次感染后仍能由于免疫记忆而迅速产生高水平的 IgG 抗体。

在采集的双份血 IgM 均为阴性的疑似病例中,研究组发现了多例存在继发性免疫反应的实验室检测特点(IgM 水平低或无法检出)的标本,通过加做 IgG 抗体及亲和力实验,检出 16 例可以实验室确诊的病例,占比约 30%,有 9 例通过核酸结果确诊了病例,但是仍有 6 例由于当时的条件和认识所限,并没有能将其确诊,造成了漏检。在目前这种免疫覆盖率较高,且麻疹存在亚临床症状的情况下,要提高对于 SVF 病例的警惕,并联合运用多种新的技术手段进行病例检测。

目前普遍认为 SVF 病例可能只在高强度或持续暴露时发生感染,并仅作为传播链的末端存在,对消除麻疹进程不构成威胁<sup>[12]</sup>。但是,2011 年纽约报道了首例 SVF 所致的麻疹暴发<sup>[4]</sup>,首发病例有明确的 2 剂次麻疹联合减毒活疫苗接种史,密切接触者中出现了 4 例二代病例。2016 年天津市的一起中学 SVF 麻疹暴发<sup>[13]</sup>,不仅导致了学校多例病例,还引起了家庭

内的续发感染。因此 SVF 病例在麻疹传播中的作用,还需要进一步深入的研究。

随着免疫接种率的不断提高,检测技术的发展和监测敏感性的提高,SVF 病例的存在及其所导致的麻疹病例的出现会越来越多,成为麻疹消除阶段不可回避的一个课题,因此实验室工作应该及时做出调整,为这部分病例的发现提供技术支持。

## 参考文献

- [1] Breakwell L, Moturi E, Helgenberger L, et al. Measles outbreak associated with vaccine failure in adults - federated states of micronesia, February-August 2014 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2015, 64(38):1088-1092.
- [2] 苏琪茹,徐爱强, Peter Strebel, 等. 中国消除麻疹的关键技术问题:专家解读共识[J]. 中国疫苗和免疫, 2014, 20(3): 264-270,283.
- [3] Kurata T, Kanbayashi D, Egawa K, et al. A measles outbreak from an index case with immunologically confirmed secondary vaccine failure[J]. Vaccine, 2020,38(6):1467-1475.
- [4] Rosen JB, Rota JS, Hickman CJ, et al. Outbreak of measles among persons with prior evidence of immunity, New York City, 2011[J]. Clin Infect Dis, 2014, 58(9): 1205-1210.
- [5] Jones J, Klein R, Popescu S, et al. Lack of measles transmission to susceptible contacts from a health care worker with probable secondary vaccine failure-Maricopa County, Arizona[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2015,64(30):832-833.
- [6] Sowers SB, Rota JS, Hickman CJ, et al. High concentrations of measles neutralizing antibodies and high - avidity measles IgG accurately identify measles reinfection case [J]. Clin Vaccine Immunol, 2016, 23(8):707-716.
- [7] Whittle HC, Aaby P, Samb B, et al. Effect of subclinical infection on maintaining immunity against measles in vaccinated children in west Africa[J]. Lancet, 1999, 353(9147):98-101.
- [8] Hickman CJ, Hyde TB, Sower SB, et al. Laboratory characterization of measles virus infection in previously vaccinated and unvaccinated individuals[J]. J Infect Dis, 2011,204(Suppl 1): S549-S558.
- [9] Pannuti CS, Morello RJ, Moraes JC, et al. Identification of primary and secondary measles vaccine failures by measurement of immunoglobulin G avidity in measles cases during the 1997 São Paulo epidemic[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2004, 11(1):119-122.
- [10] Mitchell P, Turner N, Jennings L, et al. Previous vaccination modifies both the clinical disease and immunological features in children with measles[J]. J Prim Health Care, 2013, 5(2): 93-98.
- [11] Muhlebach MD, Mateo M, Sinn PL, et al. Adherens junction protein nectin-4 is the epithelial receptor for measles virus[J]. Nature, 2011, 480(7378):530-533.
- [12] Ramsay M, Brown K. The public health implications of secondary measles vaccine failure[J]. J Prim Health Care, 2013, 5(2):92.
- [13] 丁亚兴,孙益民,刘杨,等. 2016 年天津市一起高免疫覆盖率下的中学麻疹暴发[J]. 中国疫苗和免疫,2017, 23(1):62-66.