

陕西省麻疹高接种率和高发病率的原因分析

李平 司源 刘毅 关蓉晖

【摘要】 目的 探讨陕西省麻疹高接种率下高发病率的病原学和疫苗免疫相关因素。方法 分析麻疹病例年龄及免疫史。从咽拭子中分离病毒,用酚-氯仿抽提法提取病毒 RNA,逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)扩增 N 基因-COOH 端的 450 个核苷酸(bp)片段,进行序列测定和基因分型。用微量中和试验测定疫苗免疫血清及麻疹病例急性期血清中和疫苗株和野毒株的抗体水平。结果 麻疹病例中有麻疹疫苗免疫史的平均占 38.97%;麻疹病例急性期血清:有免疫史的中和 S191 株 GMT (56.18)明显高于 H1 野毒株 GMT(26.90);无免疫史的 S191 株 GMT(25.40)与 H1 野毒株(27.86)相近。疫苗免疫血清:S191 株抗体效价 ≤ 16 血清中有 19.15% 为 H1 野毒株抗体阴性。结论 陕西省近年出现的麻疹高接种率水平下的高发病率现象不排除麻疹流行株变异和疫苗对流行株 H1 基因组野毒株保护性不足两方面因素。

【关键词】 麻疹病毒;基因分型;中和抗体

Study on a high coverage of measles vaccine while high incidence of measles disease still appeared in Shaanxi province LI Ping, SI Yuan, LIU Yi, GUAN Rong-hui. Shaanxi Provincial Center for Disease Control and Prevention, Xi'an 710054, China

【Abstract】 Objective To analyze the affecting factors on the cause of measles and measles vaccine under the high coverage of measles vaccine in Shaanxi province. **Methods** Age distribution and vaccination history on measles cases were studied. Throat swabs were obtained from measles cases. Measles virus was isolated from collected specimens with phenol-chloroform extraction method. Amplification was performed by RT-PCR in order to amplify 450 bp fragment of the -COOH side of N gene, and then the sequences of PCR products were detected to confirm the gene type of measles virus. Sera were obtained from patients who were in acute phase of measles disease, and antibody titer against measles vaccine strain and wild strain were determined by small amounts neutralization test. **Results** Measles cases with the history of measles vaccination were accounted for 38.97% of the total numbers. The geometrical mean titer (GMT) (56.18) against S191 attenuated strain was significant higher than that of wild strain (26.90) among these measles patients with history of having received measles vaccination. The GMT (25.40) against S191 attenuated strain was similar to that of wild strain (27.86) among these measles patients with non-history of measles vaccination. The antibody negative rate against wild strain was 19.15% to these sera from patients with the history of measles vaccination and antibody potency against S191 strain was less than 16. **Conclusion** The appearance of higher measles incidence under the higher coverage of measles vaccine indicated that measles epidemic strain might degenerate as the result regarding the failure of the present measles vaccine in protecting the transmission of H1 wild strain.

【Key words】 Measles virus; Genotype; Neutralization antibody

陕西省麻疹疫苗免疫接种率近 20 年一直维持在 85% 以上,麻疹发病率明显下降。但近年在维持麻疹高接种率的条件下发病率超过了 8/10 万,最高达 19.32/10 万,其原因一般被归结为报告接种率虚高等。为了科学分析高接种率下高发病率的病原学和疫苗免疫因素,我们开展了此项研究。

材料与方法

1. 病例标本:采集麻疹疫苗免疫史明确的麻疹病例急性期血清 31 份,出疹 3 d 内患者咽拭子标本 82 份。疫苗免疫血清为有麻疹疫苗免疫史、无麻疹发病史的儿童血清 186 人份,分 1~2 岁、3~4 岁、5~6 岁和 7 岁 4 个年龄组。麻疹流行病学资料来源于中国疾病预防控制中心麻疹监测系统数据库。
2. 病毒分离:EB 病毒(Etstein-Barr virus)转化

的绒猴淋巴母细胞(B95a 细胞)来源于日本国立感染症研究所。将咽拭子液 4℃ 过夜后取 0.5 ml 接种于长成单层的 B95a 细胞,吸附 60-90 min 后弃去上清,换含 2% 胎牛血清的 1640 培养 14 d,逐日观察细胞病变(CPE)和细胞液 pH 值,必要时换液或盲传一代。CPE 达 75% 以上时收获冻存。

3. 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)、序列测定和基因分型:在中国疾病预防控制中心国家麻疹实验室进行。采用酚-氯仿抽提法提取麻疹病毒悬液中的病毒 RNA,用引物 60-1 和 63-1 扩增 N 基因 C 末端的 516 个核苷酸片段,经纯化、标记后,在 ABI-3100 测序仪上,自动完成序列测定和校对分析。调出 GenBank 里的基因型代表株 N 基因-COOH 端 450 个碱基对序列,用 BioEdit 软件对这些代表株和本文分离的 8 个毒株的 N 基因的 450 个碱基序列进行对比分析,确定基因分型。

4. 麻疹中和和抗体测定:抗原为本室自备。毒株来源为中国药品生物制品检定所提供的麻疹病毒减毒株沪 191(S191)株和本室 2005 年从麻疹患者咽拭子中分离出的 H1 基因型毒株(SX05-2, Mvi/Shaanxi. PCR/13.05/2)。将毒株接种于 B95a 细胞,待其完全病变后反复冻融 3 次,离心取上清做病毒滴定。独立滴定 3 次且 3 次滴定结果波动不超过 ±0.5 log₁₀ 时,取 3 次平均值计算引起 50% 细胞出现病变的最高稀释度(TCID₅₀)。待检血清 56℃ 30 min 灭活后从 1:2 开始做两倍稀释至 1:256,每稀释度做一孔,每孔 50 μl,再加入 100 TCID₅₀ 的等量病毒,36℃ 5% CO₂ 孵箱中和 90 min 后加入 100 μl B95a 细胞。第 5 天观察结果,抗体滴度 ≥1:2 为阳性,每批试验同时做阳性、阴性血清对照和病毒滴度回滴,确定攻击病毒的范围在 32~

320 TCID₅₀ 之间^[1]。

5. 统计学分析:应用 SPSS 13.0、Excel 软件进行数据的统计分析。

结 果

1. 麻疹病毒的基因分型:2000-2005 年共分离出麻疹病毒 23 株,对其中 19 株进行序列测定的结果均为 H1 基因型,其中 2000 年的流行株是 H1b 亚组,2001 年以后均为 H1a 亚组(表 1、图 1)。

表 1 2000-2005 年陕西省麻疹病毒基因分型

实验室命名	标准命名	基因型	亚组
Shaanxi00-15	Mvi/Shaanxi . PRC/19.00/15	H1	H1b
Shaanxi00-28	Mvi/Shaanxi . PRC/26.00/28	H1	H1b
Shaanxi00-39	Mvi/Shaanxi . PRC/30.00/39	H1	H1b
Shaanxi01-3	Mvi/Shaanxi . PRC/11.01/3	H1	H1a
Shaanxi01-7	Mvi/Shaanxi . PRC/15.01/7	H1	H1a
Shaanxi01-10	Mvi/Shaanxi . PRC/16.01/10	H1	H1a
Shaanxi01-31	Mvi/Shaanxi . PRC/28.01/31	H1	H1a
Shaanxi03-1	Mvi/Shaanxi . PRC/12.03/1	H1	H1a
Shaanxi03-2	Mvi/Shaanxi . PRC/12.03/2	H1	H1a
Shaanxi04-1	Mvi/Shaanxi . PRC/22.04/1	H1	H1a
Shaanxi04-2	Mvi/Shaanxi . PRC/22.04/2	H1	H1a
Shaanxi05-1	Mvi/Shaanxi . PCR/13.05/1	H1	H1a
Shaanxi05-2	Mvi/Shaanxi . PCR/13.05/2	H1	H1a
Shaanxi05-3	Mvi/Shaanxi . PCR/13.05/3	H1	H1a
Shaanxi05-4	Mvi/Shaanxi . PCR/13.05/4	H1	H1a
Shaanxi05-5	Mvi/Shaanxi . PCR/13.05/5	H1	H1a
Shaanxi05-6	Mvi/Shaanxi . PCR/13.05/6	H1	H1a
Shaanxi05-7	Mvi/Shaanxi . PCR/13.05/7	H1	H1a
Shaanxi05-8	Mvi/Shaanxi . PCR/13.05/8	H1	H1a

2. 麻疹病例与免疫史:2003-2005 年陕西省麻疹发病率为 10.00/10 万、7.89/10 万、8.73/10 万,血清学诊断率为 6.98%、34.09%、67.72%,病例主要集中在 8 月龄至 14 岁儿童,占 76.89% (7810/10 157),其中,4~14 岁病例中有 50% 以上有麻疹疫苗免疫史(表 2)。

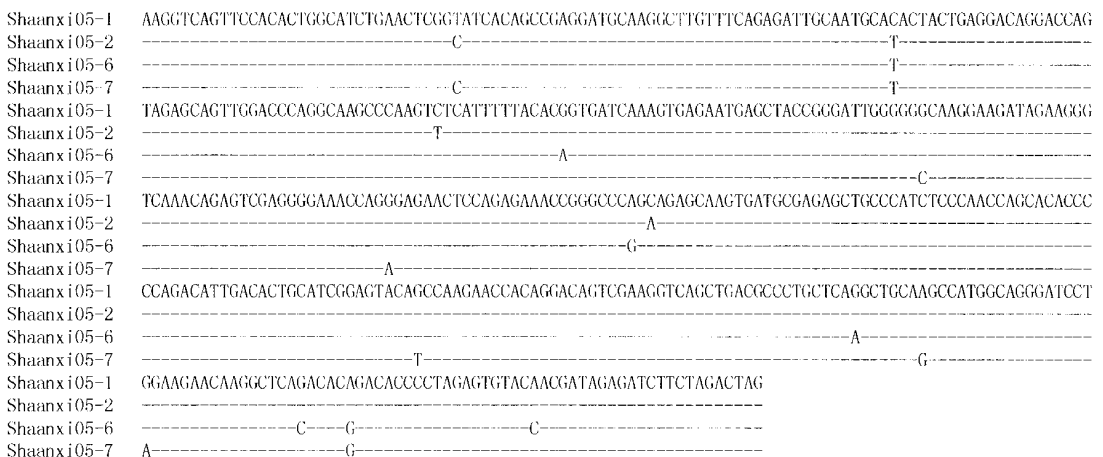


图 1 2000-2005 年陕西省部分麻疹野病毒 N 基因 C 末端 450 个核苷酸序列

表2 2003-2005 年陕西省麻疹病例年龄和有免疫史例数的分布

分组	2003 年		2004 年		2005 年		合 计	
	病例数	有免疫史 ^a	病例数	有免疫史 ^a	病例数	有免疫史 ^a	病例数	有免疫史 ^a
月龄								
<8	75	0(0.00)	114	3(2.63)	323	4(1.23)	512	7(1.37)
8~	401	98(24.4)	497	168(33.80)	817	237(29.01)	1 715	503(29.33)
年龄								
2~	469	199(42.4)	487	226(46.41)	427	205(48.01)	1 383	630(45.55)
4~	416	213(51.2)	398	199(50.00)	447	240(53.69)	1 261	652(51.70)
6~	484	269(55.6)	337	159(47.18)	313	164(52.40)	1 134	592(52.20)
8~	366	207(56.6)	287	140(48.78)	242	123(50.83)	895	470(52.51)
10~	531	308(58.0)	425	209(49.18)	466	233(50.0)	1 422	750(52.74)
15~	185	65(35.1)	167	58(34.73)	312	84(26.92)	664	207(31.17)
20~	184	31(16.8)	189	26(13.76)	463	57(12.31)	836	114(13.64)
30~	90	25(27.8)	64	2(3.13)	181	15(8.29)	335	42(12.54)
合计	3 201	1 415(44.2)	2 965	1 190(40.13)	3 991	1 362(34.13)	10 157	3 967(39.06)

注:括号外数据为例数,括号内数据为构成比(%)

分析免疫史明确的 31 份急性期血清(表 3)。结果:有免疫史的病例 S191 株/H1 野毒株中和抗体 GMT=2.09,二者差异有统计学意义($t=1.9150, P<0.05$),其中 S191 株/H1 野毒株血清中和抗体效价 ≥ 4 倍的占 25%,而未出现 H1 野毒株/S191 株 ≥ 4 倍者;无免疫史病例对 H1 野毒株/S191 株的中和抗体 GMT,二者差异无统计学意义($P>0.5$)。有免疫史/无免疫史者 S191 株的中和抗体 GMT=2.21,二者差异有统计学意义($t=1.725, P<0.05$);H1 野毒株的中和抗体 GMT 在有免疫史/无免疫史者中,二者差异无统计学意义($P>0.5$)。

表3 麻疹病例急性期血清中和不同毒株的抗体水平与免疫史的关系

中和抗体效价(1:)	有免疫史		无免疫史		合计	
	SX05-2	S191	SX05-2	S191	SX05-2	S191
-	0	0	0	0	0	0
2	2	0	1	0	3	0
4	2	4	1	1	3	5
8	1	0	2	4	3	4
16	0	0	2	1	2	1
32	2	1	3	5	5	6
64	7	1	3	2	10	3
128	1	6	2	1	3	7
256	1	4	1	1	2	5
合计	16	16	15	15	31	31
GMT(1:)	26.90	56.18	27.86	25.40	27.36	38.27

3. 疫苗免疫血清中和不同毒株的抗体水平: S191 株/H1 野毒株中和抗体 GMT=1.87,1~2 岁、3~4 岁、5~6 岁和 14 岁各年龄组分别为 2.17、1.41、2.04 和 1.77,差异均有统计学意义($P<0.01$),其中血清中和抗体效价 S191 株/H1 野毒

株 ≥ 4 倍的占 26.34%,而未出现 H1 野毒株/S191 株 ≥ 4 倍者。中和抗体 GMT 1~2 岁组最高,与其他年龄组差异均有统计学意义($P<0.01$),以后快速下降,各年龄组间差异无统计学意义($P>0.05$)。其中,S191 株抗体效价 ≤ 16 者随年龄增加分别占 10.29%(7/68)、37.50%(15/40)、34.21%(13/38)和 30.0%(12/40)(表 4)。相同毒株的中和抗体 GMT 在城乡间、性别间差异无统计学意义($P>0.05$),但无论是城市或乡村、男性或女性 S191 株和 H1 野毒株中和抗体 GMT 差异有统计学意义($P<0.01$)(表 5)。中和抗体阳性率 S191 株为 97.85%(182/186),H1 野毒株为 95.16%(177/186)。

由于我国已从 2006 年就将麻疹疫苗复种时间改为 1.5~2 岁,在本次研究中 47.26% 的 1~6 岁儿童有近 8 个月内麻疹疫苗再免疫。结果表明,是否有麻疹疫苗再免疫史对 S191 株及 H1 野毒株中和抗体 GMT 的影响均无统计学意义($P>0.05$);在同一年龄组中,无论是否再免 S191 株中和抗体 GMT 均高于 H1 野毒株,差异有统计学意义($P<0.05$)。

4. 不同效价的 S191 抗体水平对 H1 野毒株的保护性:在同一份疫苗免疫血清中,当 S191 株抗体效价 ≤ 16 时,有 H1 野毒株抗体阴性的情况出现,阴性率随 S191 株抗体效价下降而增加(表 6)。

讨 论

1. 麻疹病毒是单血清型,以前认为麻疹病毒变异较少、相对稳定。但 20 世纪 80 年代以来发现一些国家从自然界分离的麻疹病毒的血凝素(HA)和

表4 麻疹病例不同年龄组疫苗免疫血清中和抗体水平的差异

中和抗体效价(1:)	年 龄 组 (岁)								合 计	
	1~2		3~4		5~6		14		SX05-2	S191
	SX05-2	S191	SX05-2	S191	SX05-2	S191	SX05-2	S191		
-	4	4	0	0	3	0	2	0	9	4
2	0	0	2	1	1	1	0	1	3	3
4	2	0	4	4	2	0	4	3	12	7
8	2	1	6	2	8	4	8	5	24	12
16	8	2	6	8	10	8	9	3	33	21
32	11	6	11	9	4	11	11	11	37	37
64	15	8	5	9	5	5	0	10	25	32
128	17	11	6	3	4	8	5	6	32	28
256	9	36	0	4	1	1	1	1	11	42
合计	68	68	40	40	38	38	40	40	186	186
GMT(1:)	47.14	102.29	22.24	31.45	16.90	34.42	17.75	31.45	26.36	49.30

表5 陕西省麻疹病例不同性别和居住地疫苗免疫血清中和抗体水平的差异

中和抗体效价(1:)	居 住 地				性 别				合 计	
	城 市		乡 村		男 性		女 性		SX05-2	S191
	SX05-2	S191	SX05-2	S191	SX05-2	S191	SX05-2	S191		
-	3	1	6	3	6	2	3	2	9	4
2	2	1	1	2	0	3	3	0	3	3
4	4	6	8	1	7	2	5	5	12	7
8	11	3	13	9	12	3	12	9	24	12
16	15	11	18	10	21	12	12	9	33	21
32	14	16	23	21	23	23	14	14	37	37
64	4	10	21	22	9	17	16	15	25	32
128	9	7	23	21	16	19	16	9	32	28
256	4	11	7	31	6	19	5	23	11	42
合计	66	66	120	120	100	100	86	86	186	186
GMT(1:)	21.47	36.68	29.51	58.01	24.76	50.56	28.36	47.88	26.36	49.30

表6 麻疹病例不同效价的 S191 抗体对 H1 野毒株的保护性

效价(1:)	S191 抗体		SX05-2 抗体阴性	
	例数	率(%)	例数	率(%)
-	4	100.00	4	100.00
2	3	66.67	2	66.67
4	7	14.29	1	14.29
8	12	8.33	1	8.33
16	21	4.76	1	4.76
32	37	0	0	0
64	32	0	0	0
128	28	0	0	0
256	42	0	0	0
合计	186		9	4.84

N 基因发生了较大的变异,与 Edm 株相比有差异,与现行的疫苗株也有不同。陕西省 2000-2005 年从麻疹患者中分离出的麻疹野病毒全部是 H1 基因型,2000 年的麻疹流行株是 H1b 亚组,2001 年以后流行的均为 H1a 亚组,与许文波等^[2]报道的中国 4 省市麻疹野病毒优势流行株基因型相同,是近年来陕西省麻疹流行的病原病毒。

2. 本次研究发现:①陕西省 2003-2005 年的麻疹病例中有一次以上麻疹疫苗免疫史的平均占

39.06%,其中,各年度 4~14 岁病例中 50%左右有麻疹疫苗免疫史。②麻疹病例急性期血清抗体水平分析表明,有免疫史病例的中和 S191 株 GMT (56.18)明显高于 H1 野毒株 GMT(26.90),其中 25%中和抗体效价 S191/H1≥4 倍;无免疫史病例的 S191 株 GMT(25.40)与 H1 野毒株(27.86)相近;有免疫史/无免疫史病例 S191 株 GMT=2.21,而 H1 野毒株 GMT 两者相近。说明部分病例在感染 H1 野毒株前体内含有较低水平的 S191 株抗体。③儿童疫苗免疫血清抗体水平随年龄的增长有下降趋势,其中,大于 3 岁的儿童抗体效价≤16 者占 30.0%以上,而这部分血清中有 19.15% (9/47)为 H1 野毒株抗体阴性,H1 野毒株抗体阴性率随 S191 株抗体效价下降而呈增加趋势,特别是中和抗体检测判定标准中认为有保护力的 S191 株抗体效价为 1:2 的血清中,66.67%为 H1 野毒株抗体阴性,提示低水平的 S191 株抗体可能不足于保护 H1 基因组野毒株。综上所述,可以认为麻疹 H1 野毒株能够突破低水平的疫苗免疫保护感染有免疫史的儿童。

所以,陕西省近年出现的麻疹高接种率水平下的高发病率现象不排除由于麻疹野病毒变异,使疫苗对麻疹流行株 H1 基因组野毒株保护性不足的因素。

3. 许文波等^[2]报道现有麻疹疫苗株对所有已知的麻疹病毒基因型具有保护作用,但人类疫苗免疫血清中和 H1 基因型的滴度低于中和 Edm 和 Chi 株滴度的 2~5 倍。张建华等^[3]对麻疹疫苗初免儿童的 11 份血清中和抗体研究发现,免疫后血清中和 H1 野毒株的滴度低于中和 S191 株滴度的 4~8 倍。本次研究通过对 186 份疫苗免疫血清中和抗体水平的分析,从不同年龄组、居住地、性别、再免疫史和抗体阳性率等多方面证实了疫苗免疫血清中和 H1 野毒

株的能力明显低于中和 S191 株。因此,我们认为 S191 株麻疹疫苗对免疫人群的保护性确有下降,应该开始筛选新的麻疹疫苗毒株。

参 考 文 献

[1] 小船富美夫,片山未来,佐藤直子,等. 麻疹ウイルス(MV)中和实验改良标准化. 临床とウイルス,2000,28:31-33.

[2] Xu WB, Tamin A, Rota JS, et al. New genetic group of measles viruses isolated in the People's Republic of China. Virus Research, 1998,54:147-156.

[3] 张建华,卢亦愚,严菊英,等. 麻疹病毒抗原性变异及免疫保护效果研究. 中国公共卫生,2003,19(8):935-937.

(收稿日期:2007-05-10)

(本文编辑:张林东)

· 天元科技园地 ·

山东淄博市淄川区 1994-2006 年肾综合征出血热监测分析

翟乃耀 吴利 孙爱芹 于永峰 潘艳萍

淄川区自 1983 年发现首例肾综合征出血热(HFRS)病例以来,疫区不断扩大,疫情呈高度散发,城乡郊区均有病例发生,年发病率持续高低交错,为探讨淄川区 HFRS 流行规律和地区分布,现将 1994-2006 年 HFRS 疫情监测分析报告如下。

1. 资料与方法:分析资料来源于淄川区 1994-2006 年 HFRS 疫情上报资料,人口资料取自淄川区统计局统计年鉴。捕鼠采用粘鼠板和捕鼠夹,进行鼠密度调查。剖取鼠肺,由山东省疾病预防控制中心流行病学研究所检测带病毒率。

2. 结果:13 年共报告 HFRS 患者 1517 例,年均发病率 17.52/10 万,其中死亡 3 例,死亡率 0.4/10 万,病死率 0.2% (表 1)。

表1 1994-2006 年淄川区 HFRS 发病例数分布

年份	人口数	病例数	发病率 (/10 万)	年份	人口数	病例数	发病率 (/10 万)
1994	653 960	52	7.96	2001	666 654	137	20.55
1995	655 664	95	14.48	2002	668 534	137	20.49
1996	657 461	108	16.42	2003	670 334	158	23.57
1997	659 164	97	14.71	2004	672 534	152	22.60
1998	660 963	101	15.28	2005	674 551	126	18.67
1999	662 804	176	26.55	2006	681 210	51	7.48
2000	664 844	127	19.10				

分布有明显的季节性,以春季(2-5 月份)为发病高峰(699/1517,46.08%),冬季(11、12 月份和次年 1 月份)为小高峰(380/1517,25.06%),夏秋季(7-10 月份)为低发病月份(305/1517,20.11%)。1517 例患者,发病年龄为 8~83 岁,以青壮年发病为主,20~55 岁占总发病例数的 80.95%。男性发病 1064 例(70.14%),女性发病 453 例(29.86%),男女之比 2.35:1,男性发病明显多于女性。农民(农民工)发病最多占首位(77.72%),依次为工人(9.82%)、学生(4.2%)、餐饮服务(3.36%)、教师(2.2%)及其他行业(2.7%)。

共布鼠夹(粘鼠板)3240 次,捕鼠 182 只,其中褐家鼠 77 只,小家鼠 61 只,黑线姬鼠 22 只,大仓鼠 22 只,鼠密度为 4.3%~6.6%,年平均鼠密度 5.6%。2004 年送检的褐家鼠肺 10 份,检出带病毒 1 份,送检的黑线姬鼠肺 5 份,检出带病毒 1 份,带病毒率 13.33%。

3. 讨论:根据 13 年的疫情监测分析,HFRS 在淄川区发生与流行有周期性,5-6 年为一个高峰期,这与其他地区报告资料 5-6 年为一个发病高峰相吻合。发病有明显的季节性,春季发病明显高于秋冬季节,春季是发病的高峰期。发病职业分布,以农村居民为多(77.72%),且呈现出明显的职业、性别和年龄的聚集状态,以青壮年、农民工、建筑工、农业养殖专业人员发病率较高。发病有地区环境差异,发病率存在着丘陵山区明显高于平原乡镇的特点,这与鼠类种群在丘陵山区有着适宜生存繁衍的环境因素有关。

(收稿日期:2007-04-19)

(本文编辑:张林东)

全年各月份均有病例发生,经统计 13 年间各月份病例