

麻疹消除階段檢驗診斷所面臨的挑戰

鄭雯月*、劉銘燦

摘要

麻疹為一高度傳染性疾病，我國自1978年實施幼兒麻疹常規疫苗接種後，個案數便顯著下降，分析自2000年以後的確診個案，多數來自於未接種疫苗者，惟自2002年一場校園的群聚事件中，首次發現有些曾接種麻疹相關疫苗者，仍會感染麻疹，但症狀可能較輕微，在抗體檢驗數據上也有差異。麻疹檢驗除了傳統血清學診斷外，新增分子生物學檢測方法以快速偵測病原體基因，但原始檢體中病毒量的高低及實驗條件的設計是否能偵測出不同基因序列的病毒株是檢驗診斷面臨的挑戰。另在幼兒常規疫苗接種後的通報個案與沒有相關臨床症狀，但於血清學上出現陽性反應的個案判定也是檢驗上經常會碰到的難題。本篇文章係針對2005年後麻疹個案的檢驗數據進行探討。

關鍵字：麻疹、易感族群、消除

前言

當麻疹進入消除階段，因疾病發生率下降，導致臨床診斷的陽性預測值大幅降低，促使實驗室診斷在確認麻疹個案的重要性大幅提升。而做為麻疹主要診斷依據的血清學指標—IgM 抗體陽性，也因疾病發生率大幅下降及檢驗試劑本身可能出現的偽陽性也會逐漸被突顯[1]；另一方面，曾經接種疫苗的世代，可能再次感染麻疹，且因為 IgM 未出現或濃度過低，無法經由現行使用的檢驗試劑被檢出而出現偽陰性[2]。在病原體檢測上，敏感度低且耗時的傳統病毒培養也被聚合酶鏈鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)取代。而在分子生物診斷方法快速發展下，原本的傳統 PCR 也漸被更快速的即時聚合酶鏈鎖反應(real-time PCR)取代。

衛生福利部疾病管制署研究檢驗及疫苗研製中心

投稿日期：2015年11月25日

通訊作者：鄭雯月*

接受日期：2015年12月29日

E-mail: yueh@cdc.gov.tw

DOI: 10.6524/EB.20160426.32(8).001

惟即時 PCR 偵測的核酸片段較短，即使設計當時能成功測得所搜集到的不同基因型別病毒，但隨著病毒的演化，可能因序列變異及原檢體中濃度太低，在檢測時呈現偽陰性。故有時需搭配傳統與即時 PCR 或增加不同基因片段檢測，較不易漏失個案，惟必需投入較高的人力，金錢及時間成本。

本篇係收集 2005 年至 2015 年 11 月 20 日止國內各年齡層的麻疹陽性個案，分析其與我國麻疹消除(elimination)進展的關聯性，經由血清檢驗結果來區分初次感染者與再次感染者，並比較近期接種疫苗者所呈現的陽性檢驗數據，究竟是由麻疹病毒所感染或是因疫苗接種所引起。

材料與方法

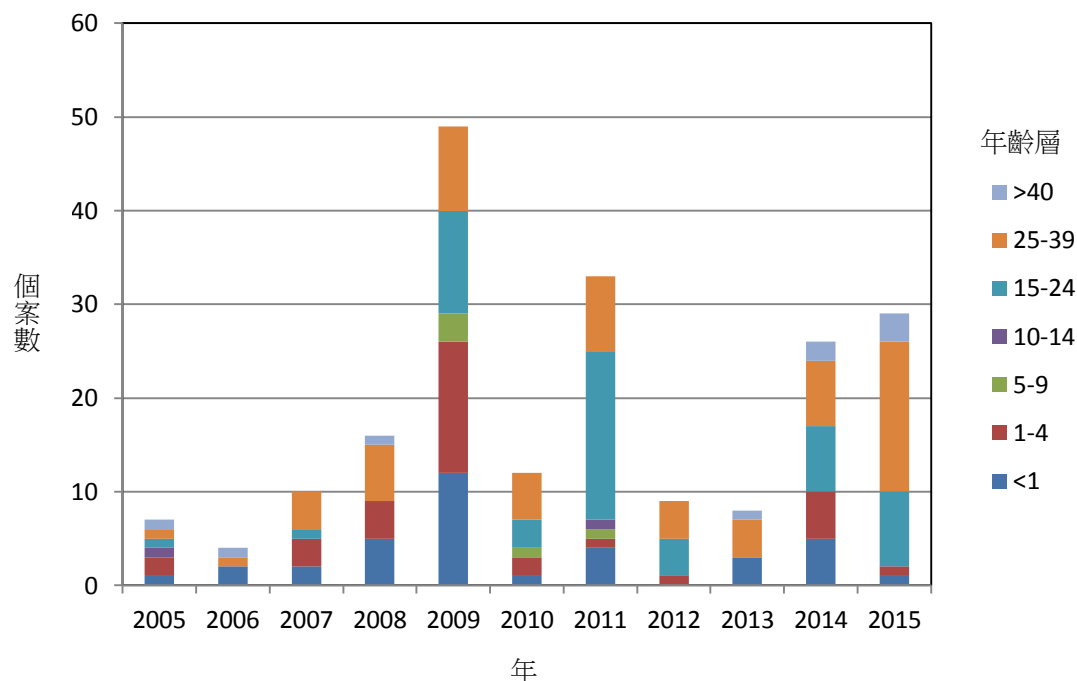
透過疾病管制署疫情資料倉儲系統、實驗室資訊管理系統與預防接種管理系統搜集資料並建立以下三組資料清單。其中麻疹陽性個案判定標準為符合以下三項實驗數據之一：(1)血清學 IgM 抗體陽性、(2)前後間隔一週以上血清檢體，IgG 抗體呈顯著上升、(3)病原體檢測（含病毒培養及 PCR）陽性，並排除近期有麻疹相關疫苗接種史、或基因定序結果呈現基因型別為疫苗株者。

- 一、各年齡層麻疹陽性組：2005–2015 年 11 月 20 日止計 203 名全部麻疹陽性案，收集欄位資料包含年齡（足歲）、血清學 IgM、IgG 與分子生物學 (PCR) 檢驗結果等四項次。
- 二、二歲以下麻疹陽性組：由檢驗室建檔之 2005–2015 年資料，篩選條件設定年齡 2 歲以下，56 名判定為麻疹陽性之個案，欄位資料包含血清學 IgM、IgG、PCR 檢驗結果、發病日期、採檢日期及發病日到採血日間距及等六項次。
- 三、二歲以下疫苗接種相關組：由檢驗室建檔之 2005–2015 年資料，篩選條件設定年齡 2 歲以下，40 名麻疹相關疫苗接種後 30 天日內發病之通報採樣個案，個案判定為疫苗相關反應，排除感染者。欄位資料包含血清學 IgM、IgG、PCR 檢驗結果、發病日期、採檢日期、發病日到採血日間距、疫苗接種日及疫苗接種日到採檢日間距等八項次。

結果與討論

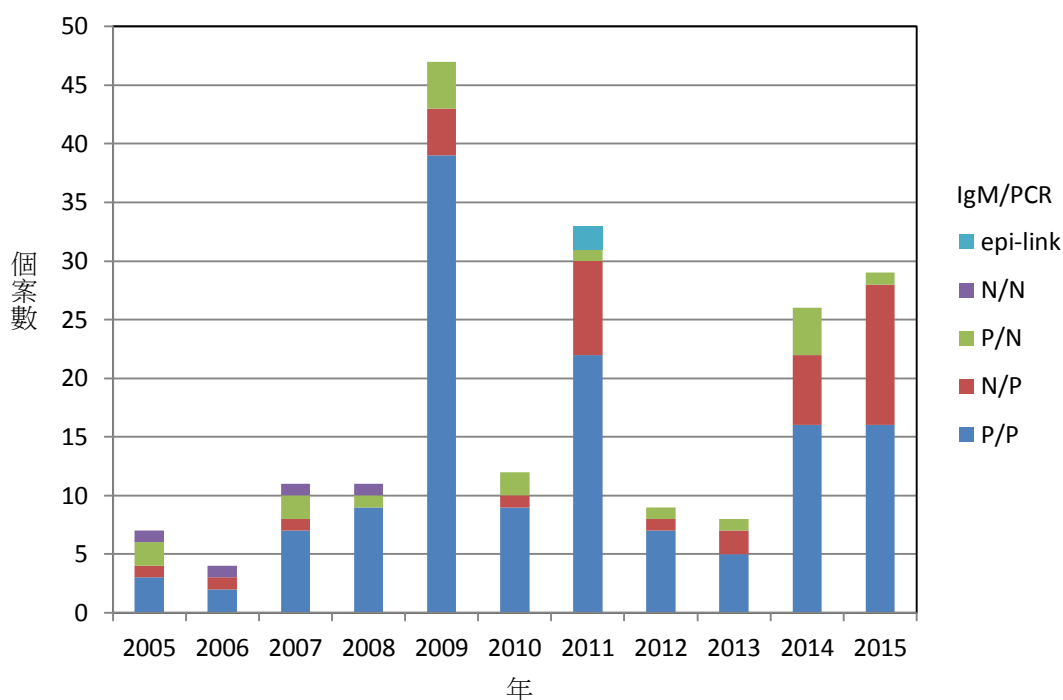
每年新生兒人口由出生到滿 6 個月左右，將逐漸失去來自母體抗體保護而成為麻疹的易感族群，故在麻疹消除過程中，最早是藉由幼兒常規疫苗接種，來大幅降低個案。由於麻疹具有極高傳染力， R_0 值估計可達 18[3]，以此推估，群體免疫力需高達 95%，才可有效阻斷麻疹的傳播，而幼兒群是人口中的主要易感宿主，故幼兒罹患麻疹的比率高低可以反應出幼兒常規疫苗是否落實。由 2005–2015 年麻疹陽性個案年齡層分析（圖一）中，可以看出在 2005、2007、2008、2009 年 4 歲以下幼兒麻疹個案約佔 50%，尤其 2009 年感染人數更是創新高。這些感

染者主要導因於多起境外移入引發的院內感染[4]，因此在加強幼兒預防接種後，除 2014 年外，此年齡層的個案數所佔比率已逐漸降低，這也間接反應幼兒預防接種達成高完成率。而這十年來較顯著的變化，則是 15–39 歲族群的個案數佔比逐年增高，其中又以 2011 年及 2015 年最高，均達 70 % 以上，這些主要與 2011 年發生外島軍人[5]及 2015 年某工作場所的群聚感染事件有關。在這年齡層的出生世代，理應接種過麻疹疫苗，唯多數已無法查證詳細接種日期，這情形與已得到世界衛生組織西太平洋區屬消除證明的澳洲、韓國及日本等國類似[6]。



圖一、2005–2015 年麻疹陽性個案年齡層 (年) 分析

在麻疹確診個案血清學／分子生物學檢測結果組合分析 (圖二) 中，顯示對於完全沒有抗體的易感宿主群，一但得到麻疹，不僅會出現典型臨床症狀，且在血清學檢驗會出現 IgM 陽性抗體，咽喉拭子及尿液檢體則會檢出病原體，呈現 PCR 陽性 (IgM/PCR=P/P，代表血清抗體 IgM／病原體檢測 PCR 皆為陽性)，惟隨著 15–39 歲族群個案佔比的升高，血清 IgM 抗體陰性/病原體檢測 PCR 陽性的比率也有逐漸爬升的趨勢 (IgM/PCR=N/P)，而呈現此檢驗組合的年齡層 9 成以上來自於 20 歲以上的青年族群且個案的 IgG 超過 95 % 呈現陽性，暗示此一族群可能曾接種過疫苗。此外，在部分個案於間隔七日後的二次血清採檢的檢驗結果，可以發現 IgM 陽轉及／或 IgG 抗體顯著上升；此種現象可能係因過去疫苗接種產生的抗體免疫力，在缺乏病毒刺激的環境下逐年降低，因而再次感染後，無法完全避免發病[7]，但發病後的病程可能會較輕微。也正因為症狀較不典型，故在環境中持續散播而未被發現，當傳染到了一個完全沒有抗體的易感宿主，引起典型的臨床症狀時才被發覺，此一假設或許可以部分解釋感染源不明個案發生的情形。



圖二、麻疹確診個案血清學/分子生物學檢測結果組合分析

註：P/P: IgM 陽性/PCR 陽性；N/P: IgM 陰性/PCR 陽性；

P/N: IgM 陽性/PCR 陰性；N/N: IgM 陰性、IgG 陽轉/PCR 陰性；

epi-link: IgM 陰性/PCR 陰性，群聚個案呈現高濃度 IgG 抗體

另外，檢驗實務上常會遇到“符合麻疹臨床症狀通報條件，但正好在採檢前一個月內曾接種過麻疹疫苗的個案”，則此一個案的檢驗數據該如何判定的問題。最正確的實驗診斷方法，當然是比對個案病毒分離株與疫苗株之核酸序列來判斷；然而，當病原體 PCR 檢測呈現陰性時，就無法進行。因此，本文嘗試搜集歷年來二歲以下個案之檢驗資料，一組為 56 名麻疹陽性個案（表一），另一組為 40 名於麻疹腮腺炎德國麻疹混合疫苗(measles, mumps and rubella; MMR)接種後 30 天內的疫苗接種相關個案（表二），比較其抗體與病原體檢測結果，希望找出兩組間之差異性，作為檢驗判定之參考。

表一、二歲以下 56 名未接種疫苗麻疹陽性個案血清學與病原體檢測結果

IgM	個案數	IgG	個案數	日距 (發病—採檢)	咽喉/尿液 PCR 結果	個案數	日距* (發病—採檢)
P	52	N	38	0-7(4.0±2.2)	P	38	0-7(4.0±2.2)
		P	14	5-26(15.5±5.8)	P	7	5-18(12.8±4.7)
					N	7	8-26(18.2±5.5)
E	1	N	1	0	P	1	0
N	3	N	2	3-4(3.5±0.5)	P	3	<4(3.3±0.4)
		P	1	3			

N: negative; P: positive; E: equivocal

*日距(平均值±標準差)

表二、二歲以下 40 名非麻疹且在 30 天內曾接種疫苗的個案血清學與病原體檢測結果

IgM 個案數	IgG 個案數	日距* (發病-採檢)	日距* (接種-採檢)	咽喉/尿液 PCR 結果	個案數	日距* (發病-採檢)	日距* (接種-採檢)		
P	N	6	2-7 (3.3±2.1)	11-16 (12.8±2.1)	P	3	2-7 (4.6±2.5)	11-16 (13.6±2.5)	
					N	3	2 (2±0)	11-14 (12±1.7)	
	E	2	0-7 (3.5±4.9)	13-18 (15.5±3.5)	P	2	0-7 (3.5±4.9)	13-18 (15.5±3.5)	
					P	10	1-16 (6.3±4.6)	18-28 (22.7±3.2)	
E	N	6	2-11 (4.3±3.3)	10-18 (12.3±2.8)	P	2	3-4 (3.5±0.7)	10-12 (11±1.4)	
					N	4	2-11 (4.7±4.2)	11-18 (13.0±3.3)	
	P	1	8	30	N	1	8	30	
N	15	N	15	0-17 (2.6±4.0)	7-22 (11±4.6)	P	4	1-17 (5.5±7.7)	10-22 (16.2±6.6)
						N	11	0-4 (1.8±1.4)	9-16 (9.5±3.1)

N: negative; P: positive; E: equivocal.

*日距(平均值±標準差)

麻疹典型的初次感染者，在經過 10-12 天的潛伏期後，會開始出現發燒、咳嗽等症狀，並在反覆發燒後的 3-4 天開始出現紅疹，此時 IgM 抗體才開始出現，但麻疹病毒在發病初期、IgM 抗體還未出現前即可被偵測出來[8]。比較表一及表二，IgM/IgG=N/N、E/N 及 P/N 個案，在發病-採檢日距並無顯著差異，但在麻疹個案組，PCR 皆為陽性，但在疫苗接種相關組則僅約 33.3% PCR 呈現陽性。

IgG 抗體出現的時間略晚於 IgM 抗體，一般在出疹後三天開始可以被偵測到。IgM/IgG=P/P 的組合在 14 名麻疹陽性個案（表一）之採檢日距(15.5±5.8)顯著較疫苗接種組 10 名個案(6.3±4.6)長，但咽喉/尿液 PCR 陽性比例卻顯著較高：分別為 50%與 0%。進一步比較麻疹個案組中 IgM/IgG/PCR=P/P/P 與 P/P/N 的組合，採檢日距在 PCR 陽性者與 PCR 陰性者約相差 6 天（12.8 與 18.2），故一般麻疹個案在發病後超過二週，出現 PCR 陽性的機率會大幅降低。在疫苗接種相關組中檢出 PCR 陽性者（不包含 IgM/IgG=P/P），大約發生在疫苗接種後 10-22 天（平均 14.4 天），考慮 10-12 天潛伏期，則約相當於發病後 2-4 天採檢；而 IgM/IgG=P/P 下，PCR 皆為陰性，以疫苗接種日距 18-28 天（平均 22.7 天），相當於發病後 10-12 日，顯示疫苗接種個案 PCR 測得陽性的機會皆在發病後一週內。但典型麻疹個案通常在發病後 8-14 天內的檢體仍有 5 成左右可以檢測出 PCR 陽性。

隨著麻疹消除的進展，麻疹的感染年齡層也發生了變動，曾經接受疫苗接種的族群（1978 年以後出生世代）一再出現於 2009 年南部軍營、2011 年外島軍營、2014 年家族群聚與 2015 年工作場所的群聚中，這些群聚事件提醒我們應正視疫苗施打後抗體減退對引發麻疹疾病爆發的可能性。再者，針對這些具部分免疫的

族群，在檢驗上也帶來新的挑戰，在發病七日內的採樣檢體，可能偵測不到代表遭到麻疹感染的抗體指標 IgM，而能快速檢測麻疹病原體的即時反轉錄聚合酶鏈鎖反應(real-time RT-PCR)，可能會隨著病毒的演變，使得原本能偵測到往日所分離的各基因型別病毒的檢測方法，有時卻偵測不到新病毒，而必需同步進行偵測較長片段且不同位置的傳統巢氏反轉錄—酵素聚合鏈鎖反應(nested RT-PCR)，以避免漏失個案。而在曾接種疫苗的青年族群，也可能因症狀較輕微，且體內有部分抗體，使得病毒量較低，當出現很微弱的 real-time RT-PCR 訊號，有時也很難直接判定是真實的微弱反應或不典型反應，此時常需藉由重複測試或另一檢測方法加以確認，當重覆試驗後的不一致情形仍存在時，此時則需藉由血清學的二次採檢觀察抗體變化情形做最後判定。實務經驗上，由 PCR 陽性判定的個案，即使第一次血清檢體結果呈現 IgM/IgG 為 N/P 的結果，經過七天後的再採檢，90% 以上會出現 IgM 陽轉或 IgG 顯著上升的現象，而一些 PCR 出現無法排除的微弱訊號者，則抗體力價皆未改變。

針對麻疹各種檢驗方法的敏感度比較，與採檢時間、個案是否初次感染與是否接種疫苗有關。在麻疹病程進展過程中，對於未曾接種疫苗的初次感染者，在出疹時期的血清學檢測結果，約 9 成以上為 IgM 陽性，IgG 陰性且咽喉拭子及尿液的 PCR 反應幾乎皆呈現陽性；但對於可能有麻疹疫苗接種史的出生世代，則出疹時期的血清學檢驗結果，約 3 成為 IgM 陰性，IgG 陽性但咽喉拭子或尿液的 PCR 反應則可能呈現陽性，而 nested RT-PCR 與 real-time RT-PCR 皆陽性者，血清學再採檢結果，90% 以上會出現抗體顯著上升，但 nested RT-PCR 陰性而 real-time RT-PCR 出現微弱訊號者，再採檢的血清結果則沒有顯著上升情形。

另外在近年來檢驗上會遇到的二項挑戰為：1、不符合臨床通報定義的個案，因血清學檢驗麻疹 IgM 陽性結果而通報；2、當血清學檢驗為麻疹 IgM 陽性，PCR 陰性等，但另一個同樣會引發出疹的病原體，如 parvovirus B19，PCR 檢測結果為陽性時，該如何判定此案為同時感染兩種病毒或出現麻疹抗體偽陽性反應？然而若從另一角度思考，當出現越來越多此類個案，是否也可當成麻疹消除成效指標之一，因為消除了真正的麻疹，才讓這些不典型反應有機會被發現。

結論

西太區麻疹消除指引中所提到將個案區分成境外移入(import)、境外移入相關(import-related)、在地傳播(endemic)或感染源不明(source-unknown)等四類。要達成消除指標之一即是個案大多為境外移入或與境外移入相關，當出現麻疹群聚的事件頻率增高，與越來越多無法追查到感染源的散發個案，雖然依國內麻疹防治現況，相信絕大多數個案一定與自境外移入相關，但要如何在第一時間發現並予以阻斷，則是需臨床與公衛人員思考及面對的問題。至於如何不錯失確認每個通報個案，以利防疫單位及時採取防治措施，避免引發後續傳播，則是檢驗人員最重要的挑戰。

參考文獻

1. Bellini WJ, Helfand RF. The challenges and strategies for laboratory diagnosis of measles in an international setting. *J Infect Dis* 2003; 187(suppl 1): 283–90.
2. Rota JS, Hickman CJ, Sowers SB, et al. Two case studies of modified measles in vaccinated physicians exposed to primary measles cases: high risk of infection but low risk of transmission. *J Infect Dis* 2011; 204 (suppl 1): 559–63.
3. Anderson RM MR. Infectious diseases in humans. Dynamics and control. Oxford: Oxford University Press 1992.
4. Cheng WY, Yang CF, Hou YT, et al. Imported measles and implications for its elimination in taiwan. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 1523–6.
5. Cheng WY, Tung HP, Wang HC, et al. Molecular epidemiology of measles virus in Taiwan in 2010-2011: the common genotype changed from H1 to D9 and the first appearance of D4. *J Med Virol* 2013; 85: 1095–9.
6. WHO Western Pacific Region. Expanded programme on immunization. Available at: http://www.wpro.who.int/immunization/documents/measles_regional_country_profile/en/.
7. Glass K, Grenfell BT. Waning immunity and subclinical measles infections in England. *Vaccine* 2004; 22: 4110–6.
8. WHO. Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection. Available at: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/laboratory/Manual_lab_diagnosis_of_measles_rubella_virus_infection_ENG.pdf?ua=1.