

团体标准

T/CADERM 3057-2024

快速荧光灶抑制试验检测抗狂犬病病毒 中和抗体的临床应用

Clinical application of rapid fluorescent focus inhibition test
for detection of rabies virus neutralizing antibodies

2024-10-29 发布

2024-11-29 实施

中国医学救援协会 发布

目 录

前 言..... II

引 言..... III

1 范围..... 1

2 规范性引用文件..... 1

3 术语和定义..... 1

 3.1 抗狂犬病病毒中和抗体..... 1

 3.2 快速荧光灶抑制试验..... 1

4 检测目的..... 1

5 适宜人群..... 2

6 样本采集和储运..... 2

 6.1 样本采集..... 2

 6.2 样本储运..... 2

7 检测方法..... 2

8 检测后处理..... 3

参考文献..... 4

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国医学救援协会动物伤害救治分会提出。

本文件由中国医学救援协会标准化工作委员会归口。

本文件起草单位：北京大学人民医院、南方医科大学第五附属医院、武汉市疾病预防控制中心、首都医科大学附属北京朝阳医院、中国疾病预防控制中心、中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所、北京大学第一医院、温州医科大学附属第五医院、青岛市第八人民医院、四川省疾病预防控制中心、青海省人民医院、河南省疾病预防控制中心、武汉生物制品研究所有限责任公司、威海卫人民医院、厦门市第五医院、天津市西青医院、福建中医药大学附属晋江中医院（晋江市中医院）、晋江市罗山街道社区卫生服务中心、哈尔滨市第四医院、广西国际壮医医院、北京市昌平区医院、北京大学深圳医院、湖南医药学院第一附属医院、南京市第二医院、张家口市第一医院、右江民族医学院附属医院、重庆市急救医疗中心、宝鸡市人民医院、江西省胸科医院、汉中市人民医院、北京市大兴区人民医院、甘肃省第二人民医院、广东省疾病预防控制中心、北京市丰台中西结合医院、长治市中医医院、遵义医科大学附属医院、大连医科大学附属第二医院、通化市第二人民医院、兵器工业总医院、中山大学孙逸仙纪念医院深汕中心医院。

本文件主要起草人：王传林、康新、蔡黎、朱泽荣、朱政纲、陈庆军、殷文武、吕新军、刘斯、刘琨、兰频、薛乔升、周兴余、刘佳阳、李荣霞、王丹、郑汝钢、黄学勇、孟胜利、郑平原、李永武、郭志涛、庄鸿志、庄天从、苗冬滨、唐华民、王博、范昭、张克云、江浩、邹建平、林起庆、杨树青、杨林东、汪涛、宁华、王卫粮、王永翔、彭志强、励国、张岩斌、段海真、杨初蔚、李洪臣、唐映利、朱颀。

引 言

狂犬病（rabies）是由狂犬病病毒侵犯中枢神经系统引起的人畜共患病，一旦发病，死亡率几乎为100%，是人类病死率最高的急性传染病。狂犬病暴露者或高暴露风险者在接种狂犬病疫苗后可诱导机体产生抗狂犬病病毒中和抗体（rabies virus neutralizing antibody, RVNA），阻断病毒与宿主细胞受体的结合或干扰病毒进入细胞后的复制过程，起到保护机体的作用。按世界卫生组织（World Health Organization, WHO）立场文件，人接种狂犬病疫苗后血清内的 RVNA 效价不低于 0.5 IU/ml 时可认为达到有效保护，否则应予加强免疫，直至达到保护水平。由于每个人体质不同，对疫苗的免疫反应程度也不一样，大部分人群能产生达到保护水平的 RVNA，但不能排除少数人接种狂犬病疫苗后产生的 RVNA 水平可能低于 0.5 IU/ml。部分患者接种疫苗后，未行 RVNA 检测，不能确定 RVNA 是否达到保护性水平，在狂犬病再次或多次暴露后反复接种疫苗，导致疫苗过度使用。因此，在接种狂犬病疫苗后，在特定情境下有必要进行 RVNA 定量检测。

快速荧光灶抑制试验（rapid fluorescent focus inhibition test, RFFIT）是 WHO 和国家药典委员会发布的中华人民共和国药典（2020 年版）第三部推荐的用于检测 RVNA 的标准方法。目前，RFFIT 一般在专业实验室内而非医院内进行，医务人员对 RFFIT 检测 RVNA 还缺乏了解，临床上 RVNA 检测率低。为提高医务人员对 RFFIT 检测 RVNA 的认识，规范检测的临床应用，促进狂犬病疫苗的合理使用，保障人民群众的生命健康与安全，故制定本文件。

快速荧光灶抑制试验检测抗狂犬病病毒中和抗体的临床应用

1 范围

本文件规定了RFFIT检测RVNA的相关术语和定义、检测目的、适宜人群、样本采集和储运、检测方法、检测后处置。

本文件适用于各级医疗机构的医务人员使用。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改版）适用于本文件。

GB/T 34739-2017 动物狂犬病病毒中和抗体检测技术

国卫办医函〔2021〕417号 常见动物致伤诊疗规范（2021年版）

国疾控综传防发〔2023〕14号 狂犬病暴露预防处置工作规范（2023年版）

国家药监局药审中心 人用狂犬病疫苗临床研究技术指导原则（试行）（2022年第21号）

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 抗狂犬病病毒中和抗体 rabies virus neutralizing antibody; RVNA

B淋巴细胞产生的能够与狂犬病病毒抗原结合，阻止狂犬病病毒黏附靶细胞受体，防止侵入细胞的特异性抗体。

3.2 快速荧光灶抑制试验 rapid fluorescent focus inhibition test; RFFIT

用标准血清为参照，将定量的狂犬病病毒与系列稀释的待测血清相中和，未中和病毒通过接种易感细胞后，用抗狂犬病病毒核蛋白荧光抗体进行染色，通过荧光灶检测剩余病毒量，最后以标准血清抗体滴度为参照，根据中和试验计算公式计算待测血清样品的中和抗体。

4 检测目的

4.1 采用RFFIT检测RVNA主要用于评价狂犬病疫苗接种后的免疫效果。

4.2 监测和评估机体的免疫状态。

4.3 根据 RVNA 水平推荐检测后的处置措施。

5 适宜人群

下列人群在告知狂犬病危害及应当采取的处置措施并签署知情同意后，可推荐自愿自费检测 RVNA。

- 5.1 头面部、唇部，颈部的多处或严重咬伤、撕裂伤的狂犬病疫苗接种者。
- 5.2 被狂犬或高度怀疑狂犬所伤的狂犬病疫苗接种者，一犬伤多人的患者。
- 5.3 接种狂犬病疫苗的 T/B 细胞免疫缺陷者，艾滋病、白血病、癌症、器官移植患者，以及长期使用免疫抑制剂（如糖皮质激素类、他克莫司、硫唑嘌呤、环磷酰胺等）的人群。
- 5.4 没有按照免疫程序接种狂犬病疫苗者，没有按规范预防处置者。
- 5.5 狂犬病高风险暴露者，如从事狂犬病研究的实验室工作人员、接触狂犬病患者的工作人员、兽医、动物收容机构工作人员、接触野生动物的研究人员、荒野地质工作者、猎人、野外旅行探险者等。
- 5.6 狂犬病恐惧症患者（焦虑、抑郁等）。
- 5.7 多次狂犬病暴露者。
- 5.8 60 岁以上的狂犬病暴露患者。
- 5.9 接种狂犬病疫苗时有未稳定控制的严重慢性病或急性疾病者。
- 5.10 接种狂犬病疫苗时有使用、吸食国家违禁药品者。
- 5.11 接种狂犬病疫苗后自愿了解自身免疫效果者。
- 5.12 因纠纷需要医学检测结果判断接种狂犬病疫苗后免疫效果者。

6 样本采集和储运

推荐在全程接种狂犬病疫苗后 3 个月内采集静脉血检测 RVNA。

6.1 样本采集

应用无抗凝采血管采集 2~5 ml 静脉全血，室温或 37℃ 温箱放至血清析出后，无菌操作取血清 0.5~2 ml，用移液器将分离出的血清移至冻存管、EP 管或无菌离心管于 8℃ 以下保存；或采用含分离胶促凝采血管采集 2~5 ml 静脉全血，室温或 37℃ 温箱放至 1 小时后以 3500 rpm 离心 5 min 至血清与红细胞分层。

6.2 样本储运

送往检测实验室的血清管（冻存管、EP 管或无菌离心管）、分离胶促凝采血管应密封好，防止血清渗漏。采血当天无法送检的样本需至于 2~8℃ 冰箱冷藏储存，储存 7 天。

7 检测方法

参照《中华人民共和国药典（2020年版）》三部中 RFFIT 检测规范进行检测。

8 检测后处置

RVNA 效价 ≥ 0.5 IU/ml, 可认为接种者体内 RVNA 具备免疫保护能力, 不推荐再次接种狂犬病疫苗;
若 RVNA 效价 < 0.5 IU/ml, 应推荐进行狂犬病疫苗加强接种, 直至 RVNA ≥ 0.5 IU/ml 的有效保护水平。

参考文献

- [1] 国家疾病预防控制局, 国家卫生健康委. 狂犬病暴露预防处置工作规范 (2023年版) [Z]. 2023-09-13.
- [2] 国家疾病预防控制局, 国家卫生健康委员会. 预防接种工作规范 (2023年版) [Z]. 2023-11-30.
- [3] 国家药品监督管理局药品审评中心. 人用狂犬病疫苗临床研究技术指导原则 (试行) [Z]. 2022-02-18.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典•三部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [5] 中华人民共和国第十三届全国人民代表大会常务委员会. 中华人民共和国疫苗管理法[Z]. 2019-06-29.
- [6] 中国医师协会急诊医师分会, 中国人民解放军急救医学专业委员会, 北京急诊医学学会, 等. 中国犬咬伤治疗急诊专家共识 (2019) [J]. 中国急救医学, 2019, 39 (9): 819-824.
- [7] GB / T 34739-2017. 动物狂犬病病毒中和抗体检测技术[S].
- [8] Khalil WM, Aboshanab KM, Aboulwafa MM. Evaluation and correlation of rabies vaccine potency using the national institute of health, rapid focus fluorescent inhibition, and passive hemagglutination tests[J]. *Viral Immunol*, 2022, 35(2): 159-169.
- [9] Butirskiy AY, Muhacheva AV, Movsesyants AA, *et al*. Analysis of determination of rabies virus neutralizing antibody titres in the sera of vaccinated humans[J]. *Vopr Virusol*, 2019, 64(6): 298-305.
- [10] Timiryasova TM, Luo P, Zheng L, *et al*. Rapid fluorescent focus inhibition test optimization and validation: Improved detection of neutralizing antibodies to rabies virus[J]. *J Immunol Methods*, 2019, 474:112626.
- [11] Manalo DL, Yamada K, Watanabe I, *et al*. A comparative study of the RAPINA and the Virus-Neutralizing Test (RFFIT) for the estimation of antirabies-neutralizing antibody levels in dog samples[J]. *Zoonoses Public Health*, 2017, 64(5): 355-362.
- [12] 于鹏程, 吕新军, 申欣欣, 等. 狂犬病毒中和抗体检测快速荧光灶抑制试验的建立[J]. 中华流行病学杂志, 2010, 31 (4): 438-441.
-