

实验室检测寨卡病毒感染

临时指导文件

2016年3月23日

WHO/ZIKV/LAB/16.1



世界卫生组织

1. 引言

1.1 背景

近来，可能与寨卡病毒感染有关的小头症和其它神经障碍增加，导致对可以发现寨卡病毒感染的实验室检测的需求增加。诊断检测针对的重点人群应该是出现症状者和可能接触过寨卡病毒的无症状孕妇。本文件就当前寨卡病毒感染的检测策略提供指导。随着获得更多信息，将相应审查和更新本文件。

1.2 目标读者

本临时指导文件供实验室工作人员检测寨卡病毒感染、临床从业人员和公共卫生专业人员开展临床管理或监测使用。

2. 临时建议

2.1 标本

已经在全血（及血清和血浆）、尿液、脑脊液、羊水、精液和唾液）中检测发现寨卡病毒。越来越多证据表明，寨卡病毒在尿液和精液中存在的时间比在全血或唾液中长。[3]

虽然现在仍在收集有关病毒在唾液、脑脊液、精液和妊娠产物中留存时间的数据，但为本文件目的，建议采集患者的全血/血清和/或尿液用于检测。

但是，在可能的情况下，为进行确诊检测或者在调查寨卡病毒感染和神经系统并发症、小头症和潜在的性传播病例之间的联系时，世卫组织鼓励采集其它类型的标本。

- 用于核酸检测的标本：采集发病 7 天内患者的全血、血清（用干燥管）以及/或者尿液。
- 血清学（IgM 抗体检测）：采集发病 7 天内患者的全血（用干燥管）和血清。应尽可能采集双份血清标本，两份标本之间相隔 2 至 3 周为宜，首份血清标本最好在发病最初 5 天内采集。

采集标本时除记录患者信息（全名、出生日期、地址、采集日期和时间等）外，还应收集如下信息：

- 症状、发病日期、症状持续时间、与已知寨卡病毒病例的接触（和接触类型，例如母乳喂养、性伴侣等）；
- 全面旅行史信息（日期、地点、访问持续时间）；以及
- 疫苗接种史，特别是与接种黄病毒（包括黄热病病毒、日本脑炎病毒和登革热病毒）疫苗有关的历史。

在疫情中，特别是在存在广泛传播的地区，检测每个疑似病例并不具有成本效益。应将以下人群作为标本采集和检测的重点：

- 与确诊或可能病例有性接触的患者；
- 符合疑似神经障碍病例的病例定义的患者；
- 有到寨卡病毒仍在传播地区旅行的历史和/或与确诊或可能病例有性接触的孕妇；
- 来自寨卡病毒仍在传播地区、已知或怀疑其胎儿存在先天性脑畸形的孕妇；
- 出生在寨卡病毒仍在传播地区或是母亲有妊娠期前往受寨卡病毒影响地区旅行史的罹患小脑症或神经系统异常的新生儿；
- 母亲被确诊携带寨卡病毒的婴儿，特别是如果母乳喂养的话；以及
- 曾生活在受寨卡病毒影响地区或者在妊娠期到此类地区旅行过的妇女的死胎或自发性流产。

2.2 检测策略

实验室采取什么检测策略应根据每个实验室可以获得的资源和工作流程而定。根据已知在患者暴露地区循环病毒的流行率，采用这些策略的检测方法也有所不同。

世卫组织建议遵循如下策略：

- 对发病 7 天内的患者进行核酸检测 (NAT)。
- 对发病 7 天或 7 天以上的患者进行血清学检测和/或核酸检测。对于来自发病时间长于 7 天的患者的标本, 血清学检测是首选方法。在使用核酸检测时, 应谨慎解读阴性结果。这种情况下的核酸检测阴性结果并不能排除感染, 因为发病 7 天后病毒血症快速下降, 可能无法被敏感性较低的检测发现。

a. 发病七天内发现的感染疑似病例的建议检测算法 (附件 1·图 1)

可以使用逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 等核酸检测技术检测发现寨卡病毒独有的病毒基因组上的目标, 从而确认寨卡病毒的存在。使用泛黄病毒探针加上基因测序或多重检测等其它传统分子方法检测黄病毒的实验室应确保更新本实验室的引物序列, 以便发现最近的寨卡病毒谱系。已经发布了进行寨卡病毒特异性检测的引物和探针组。[5]

鉴于存在有关寨卡病毒和其它虫媒病毒合并感染的记录并考虑到黄病毒的地方性循环, 除检测寨卡病毒外, 还应检测登革热病毒和基肯孔雅病毒。这几种检测可以先后进行, 也可以同时进行。

b. 发病一周后的虫媒病毒感染疑似病例的建议检测算法 (附件 1·图 2)

寨卡病毒的血清学检测应仅由有黄病毒血清学检测经验的实验室进行。推荐血清学检测方法包括酶免疫分析法 (EIAs) 和免疫荧光检测法 (IFA) 使用病毒裂解液、细胞培养上清液或重组蛋白检测 IgM 抗体, 或者中和试验, 例如空斑减少中和试验 (PRNT)。虽然一般而言空斑减少中和试验最具特异性, 但血清学检测存在交叉反应, 特别是对之前有黄病毒感染或免疫接种史的患者。考虑到试剂因素, 发病一周后患者的检测策略侧重 IgM 抗体血清学检测。应对存在病毒地方性传播地区的孕妇或者可能曾接触病媒传播或性传播的寨卡病毒的孕妇进行 IgM 抗体检测。如需进一步检测, 使用比较中和试验可以提供更高的特异性。

总体而言, 寨卡病毒 IgM 抗体阳性, 且排除登革热或其它黄病毒 IgM 抗体, 提示新近感染寨卡病毒 (图 2)。如进行空斑减少中和试验, 中和抗体滴度升高四倍, 且未出现其它病毒抗体滴度升高, 则进一步证明近期感染寨卡病毒。随着获得更多信息, 将提供有关病毒学检测的进一步指导。

c. 可在医疗点或医疗点附近使用的寨卡病毒体外诊断试剂 (IVDs)

对于可在医疗点或医疗点附近使用的快速、易用寨卡病毒体外诊断试剂存在强烈兴趣和需求。在选用

体外诊断试剂时应仔细考虑对其质量、安全性和性能的监管评估。

2.3 标本处理和储存

在使用商业检测服务时, 应根据厂商说明采集、运输和储存标本。在所有其它情况下, 建议在 2-8°C 下冷藏保存标本, 并在 48 小时内检测; 血清应分离出来单独储存。所有类型的标本均可 -20°C 冷冻保存最多 7 天。如需储存 7 天以上, 应在 -70°C 冷冻保存。应避免反复冷冻和解冻标本。

应监测并定期记录温度, 以便发现可能的温度波动。温度波动大的家用冰箱/冰柜不适合储存冷冻标本。

2.4 生物安全

实验室诊断工作, 包括对来自疑似或确诊感染寨卡病毒患者的临床标本进行逆转录聚合酶链反应分析和血清学检测, 应在生物安全二级 (BSL-2) 实验室开展 (见世卫组织《生物安全手册》(第三版) 的描述)。[4]

任何寨卡病毒检测经应在有适当装备的实验室由对相关技术和安全程序训练有素的工作人员进行。在任何情况下均应遵守国家实验室生物安全指南。

2.5 运输标本

已知或怀疑含有寨卡病毒的标本可按 UN3733 类 B 级生物物质用干冰运输。

应遵行世卫组织《2015-2016 年感染性物质运输法规指导文件》中描述的国际法规。[6]

2.6 选择体外诊断试剂

必须考虑有关诊断产品的设计和性能, 以确保检测安全、有效。迄今, 已经进行过质量、安全性和性能监管评估的商业可获得寨卡病毒体外诊断试剂不多。

一些机构开发了内部使用的寨卡病毒检测法。世卫组织建议, 希望开发、开展内部逆转录聚合酶链反应分析的实验室向常用供货商订购已经发布的、能够检测正在循环的所有谱系寨卡病毒的引物/探针组, 并确保其检测法经适当验证可用于每个标本类型。与此类似, 如使用商业检测, 实验室应遵行厂商有关标本类型的说明; 如有必要, 实验室应针对相应类型标本对其检测法进行验证, 并对检测流程进行适当的 (内部) 控制和外部质量控制。质量控制材料可由全球性的欧洲病毒档案库 (<http://global.european-virus-archive.com/>) 获得, 很快也将可以通过世卫组织国际生物参考制剂规划获得。世卫组织区域办事处可以在这一过程中提供协助。

世卫组织应对质量有保证的寨卡病毒体外诊断试剂的需求，发展了应急使用评估和列表（EUAL）程序。[7]该应急使用评估和列表程序评估在当前背景下是否有充分证据表明使用寨卡病毒体外诊断试剂的好处超过可预见的风险。世卫组织列表要求厂商承担报告性能和质量问题的义务。考虑到误诊的后果，世卫组织强烈建议只将已经通过对其质量、安全性和性能独立、全面评估的体外诊断试剂用于诊断寨卡病毒感染。

3. 指导文件的拟定

3.1 致谢

感谢以下人员为拟定本临时指导文件所做贡献：英格兰公共卫生署 Emma Aarons 博士；澳大利亚昆士兰科技大学 John Aaskov 教授；英格兰公共卫生署 Daniel Bailey 博士；德国生物威胁和特殊病原体中心 Cristina Domingo Carrasco 博士；世卫组织驻里昂办事处全球能力、预警和反应处 Sebastien Cognat 博士；世卫组织总部新发和流行人畜共患病处 Kara Durski；世卫组织总部新发和流行人畜共患病处 Pierre Formenty 博士；古巴佩德罗·库里热带医学研究所 Maria Guadalupe Guzman 博士；世卫组织欧洲区域办事处 Pamela Hepple 博士；荷兰国家公共卫生和环境研究院 Marion Koopmans 教授；法国虫媒病毒国家参考中心 Isabelle Leparc-Goffart 博士；世卫组织美洲区域办事处 Jairo Mendez Rico 博士；世卫组织总部资格预审处 Robyn Meurant；美国疾控中心 Jorge Munoz 博士；世卫组织总部新发和流行人畜共患病处 Dhamari Naidoo；世卫组织东地中海区域办事处 Karen Nahapetyan 博士；新加坡国家环境局 Lee Ching Ng 博士；世卫组织总部技术、标准和规范处 Claudius Nuebling 博士；世卫组织里昂办事处全球能力、预警和反应处；世卫组织总部基本药物和卫生产品司 Irena Prat 女士；荷兰伊拉兹马斯医学中心 Chantal Ruesken 博士；世卫组织总部资格预审处 Anita Sands 女士；德国本哈脱·诺赫脱热带医学研究所 Jonas Schmidt-Chansit 博士；世卫组织总部资格预审处 Willy Urassa 博士；欧洲疾控中心 Herve Zeller 博士。

© 世界卫生组织，2016 年

版权所有。世界卫生组织出版物可从世卫组织网站（www.who.int）获得，或者自 WHO Press, World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland（电话：+41 22 791 3264；传真：+41 22 791 4857；电子邮件：bookorders@who.int）购买。要获得复制许可或翻译世界卫生组织出版物的许可 – 无论是为了出售或非商业性分发，应通过世卫组织网站（http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html）向世界卫生组织出版处提出申请。

本出版物采用的名称和陈述的材料并不代表世界卫生组织对任何国家、领地、城市或地区或其当局的合法地位，或关于边界或分界线的规定有任何意见。地图上的虚线表示可能尚未完全达成一致的大致边界线。

凡提及某些公司或某些制造商的产品时，并不意味着它们已为世界卫生组织所认可或推荐，或比其它未提及的同类公司或产品更好。除差错和疏忽外，凡专利产品名称均冠以大写字母，以示区别。

世界卫生组织已采取一切合理的预防措施来核实本出版物中包含的信息。但是，已出版材料的分发无任何明确或含蓄的保证。解释和使用材料的责任取决于读者。世界卫生组织对于因使用这些材料造成的损失不承担责任。

3.2 拟定指导文件的方法

通过现有世卫组织合作中心网络确定了实验室检测和病毒学领域的专家，包括来自美洲、欧洲和西太平洋区域的专家。2016 年 2 月 18 日召集专家组电话会议审查指导文件草案。电话会议后，与会者提供了书面反馈意见。修改文件时吸收了相关意见。2015 年 3 月 14-15 日，世卫组织在瑞士日内瓦举行有关寨卡病毒诊断试剂应急使用评估和列表程序的卷宗和实验室评估要求的磋商会。会后当月进行了第二轮审阅。

3.3 利益申报

从收集的利益申报表中未发现相互竞争的利益。拟定本指导文件未使用任何专项资金。

4. 参考文献

- Garcia E, Yactayo S et al. Zika virus infection: global update on epidemiology and potentially associated clinical manifestations. *Weekly Epidemiological Record* 2016; 91: 73-81. <http://www.who.int/wer/en>
- Hill S, Russell K, et al. Transmission of Zika Virus Through Sexual Contact with Travelers to Areas of Ongoing Transmission — Continental United States, 2016. *Morbidity and Mortality Weekly Report* ePub: 26 February 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6508e2er>
- Gourinat AC, O'Connor O et al. Detection of Zika virus in urine. *Emerg Infect Dis*. [Internet]. 2015 Jan. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2101.140894>
- World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*, 3rd edition. Geneva, 2004. Available online at http://www.who.int/ihr/publications/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/
- Charrel RN, Leparc-Goffart I et al. State of knowledge on Zika virus for an adequate laboratory response [Submitted]. *Bull World Health Organ E-pub*: 10 Feb 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.16.171207>
- World Health Organization. *Guidance on Regulations for the Transport of Infectious Substances 2015-2016*. Geneva, 2015. Available online at http://www.who.int/ihr/publications/who_hse_ihr_2015.2/en/
- World Health Organization. *Emergency Use Assessment and Listing (EUAL) Procedure for Zika Virus Disease (IVDs)* [Webpage]. Accessed 20 Feb 2016. Available online at http://www.who.int/diagnostics_laboratory/eual-zika-virus/zika/en/

附件 1. 检测算法

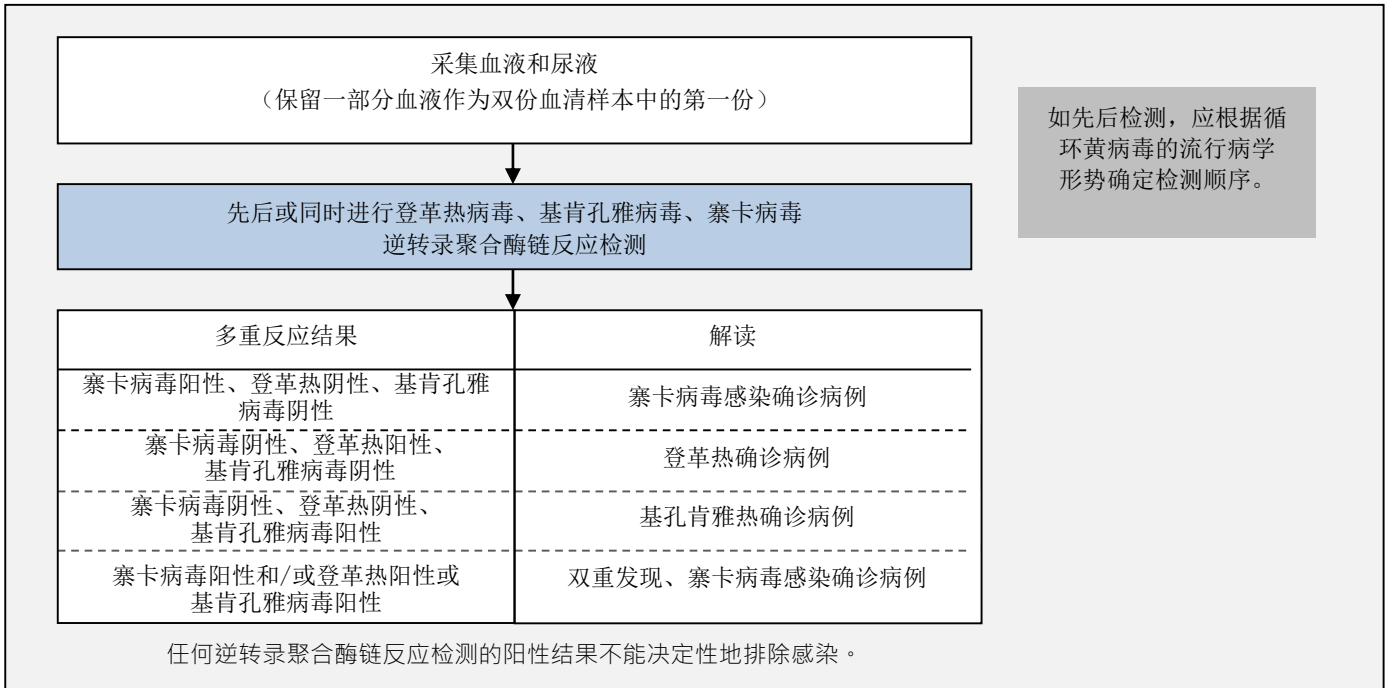


图 1. 发病 7 天内发现的虫媒病毒感染疑似病例的建议检测算法

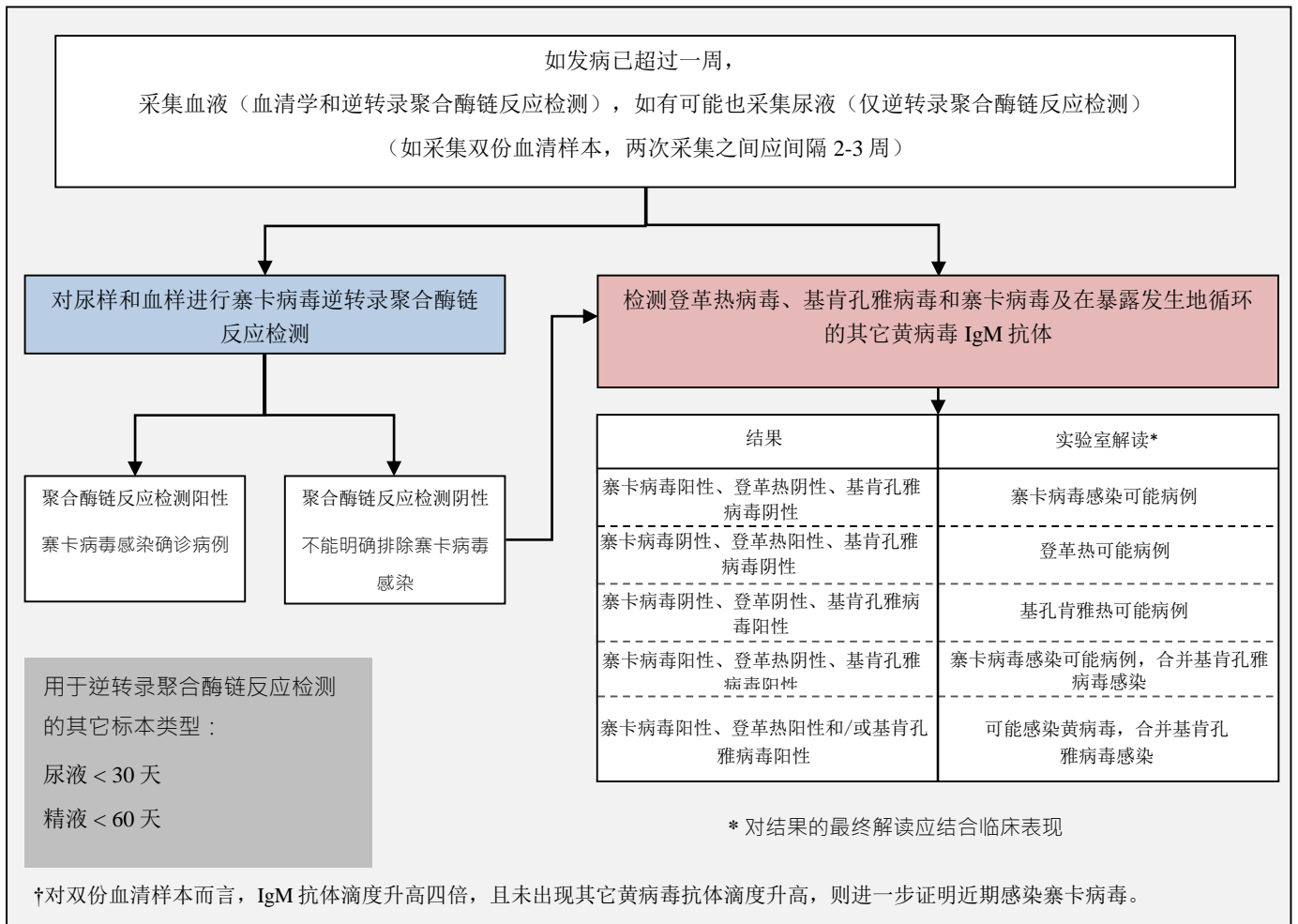


图 2. 发病一周以上的虫媒病毒感染疑似病例的建议检测算法