

動物狂犬病診斷與監測

Franka R. and Wallace RM. 2018. Rabies diagnosis and surveillance in animals in the era of rabies elimination. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 37: 359-370; <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30747142/>

摘要

有效的即時監測(real-time surveillance)，與熟練(proficient)、去中心化的(decentralized)和經過驗證的(validated)實驗室診斷互相搭配，是成功控制和撲滅狂犬病的先決條件。監測方法的選擇和優先次序(prioritization)與適當的診斷技術相結合，應反映出控制和撲滅狂犬病的目標

第一階段：負擔(burden)證明；

第二階段：人類狂犬病預防；

第三階段：防疫措施的監測和評估；

第四階段：驗證(verification)狂犬病已撲滅；

第五階段：撲滅後之策略。

欲成就EB30 (到2030年無人會死於犬型狂犬病) 的目標，必須確實遵守WAOH陸生動物衛生法規第1.4章所制定之：(1)最低監測要求(minimum surveillance requirement)；以及(2)疾病撲滅指標的例行評估(routine evaluation)。

Introduction 前言

在這個國與國之間，和各國內部各個區域之間共同努力控制、撲滅疾病的時代，有效、去中心化、以實驗室檢驗為標準的監測變得越來越重要。人畜共患病在物種間傳播的頻率和隨之而來的嚴重性，提醒人們動物和人類病原體監測系統應以實驗室檢驗為標準(1, 2)。要持續、系統性地收集、分析與疾病擴散有關的衛生資訊，方可證明/了解下述內容：

- a) 疾病的負擔(burden)和分佈(在動物和人類中)
- b) 疾病趨勢
- c) 預防和干預政策的效果
- d) 疾病防疫計劃的成功
- e) 繼之，疾病在區域(area)中消失。

疾病在公共衛生之重要性和處理之優先次序，取決於：

- 對疾病重要性的看法
- 疾病對健康的影響
- 資源的可用性(內部和外部)
- 疾病的地理分佈。

要了解這些因素，準確解釋各項資訊，並制定優先順序，就必須依賴有效的診斷和監測系統。長期以來，即時(real-time)監測的能力，與熟練、去中心化和經過驗證的實驗室診斷相結合，是疾病控制、消除或根除計劃的先決條件(4)。一旦疾病被消滅之後，繼續確實地實施有效監測，方可確實遵守貿易和出口法規。

狂犬病是由屬於麗莎病毒屬的狂犬病病毒(RABV)引起的疾病，為一種急性、進行性腦炎，在感染後數天或數月開始，通常在症狀出現後30天內以死亡。人類和動物的臨床診斷是可能的，但鑑於潛伏期的多變性和臨床症狀的非特異性，實驗室驗證對於確診至關重要。狂犬病病毒可以感染所有哺乳動物，但通常與保毒動物有關。狂犬病病毒(RABV)只是麗莎病毒屬的一個成員，但佔所有人類狂犬病死亡病例的99%以上。跨物種傳播(Cross-species transmission)，即RABV從保毒物種傳播到非保毒物種，是很常見的。但宿主轉移事件(Host-shift event)，即跨物種傳播之後，在非保毒宿主物種內的持續傳播，則十分罕見，但一旦發生就會對人畜產生極大之影響。

在動物中傳播並且可以在分子上與其他的RABV區分的RABV被稱為“變異株”。全球共有30多種RABV變異株，影響至少150個國家(5)。

狂犬病病毒監測的原則

定義疾病的標準是建立監測系統的基礎。本文建議使用以下定義：

臨床診斷

- 疑似狂犬病病例(suspected rabies case)
- 可能狂犬病病例(probable rabies case)

實驗室診斷

- 狂犬病確診病例(confirmed rabies case)
- 不是狂犬病病例(not a rabies case)(實驗室診斷)。

臨床診斷

- (1)疑似狂犬病病例：出現以下任何一種症狀的動物：過度流涎、麻痺、嗜睡、無端的異常攻擊(咬兩個或兩個以上的人或動物，和/或無生命的物體)、異常的叫聲或夜行性動物在日間活動。
- (2)可能狂犬病病例：已知疑似患有狂犬病的動物曾暴露到(即咬傷、抓傷或接觸唾液)疑似、可能或確診患有狂犬病的動物，並且在觀察到臨床症狀的10天內未知其是否存活，或疑似患有狂犬病的動物在觀察到臨床症狀後十天內死亡、被撲殺或失蹤。

實驗室診斷

- (1)狂犬病確診病例：根據世界動物衛生組織(WOAH)(6)的定義，使用初級診斷測試(primary diagnostic test)確認感染的疑似或可能感染動物。
- (2)非狂犬病病例：通過實驗室診斷或適當觀察期，排除狂犬病的疑似或可能感染動物(注意觀察期僅適用於狗、貓和雪貂)。

疾病監測，在狂犬病防疫計劃中有多種功能，通常取決於該國實施的狂犬病控制階段以及資源狀況。對人類和動物狂犬病的監測政策可以快速發現疾病的爆發和疫情趨勢，並可評估防疫政策之效果(疫苗接種、犬群管理)，以及維持無狂犬病狀態(5,7,8)。國家和地區狂犬病防疫計劃應考慮定期與WOAH狂犬病參考實驗室聯繫，以確保疫情分析之正確性。

鑑於狂犬病宿主物種的多樣性，以及疫情控制和撲滅工作在不同階段之情形，可以將狂犬病防疫計劃分成五個階段。

以下是狂犬病疫區之防疫工作

Stage 1: proof of burden 第一階段：負擔證明

在許多國家，狂犬病對動物乃至人類的負擔和影響尚不清楚，應該加以說明以提倡政府支持防疫政策。在此階段之國家，診斷能力通常不足，公共衛生政策通常沒有做例行監測。在這種情況下，例行監測應針對疑似或可能患有狂犬病的動物進行採樣，並對狂犬病病毒進行實驗室確認。血清學調查通常僅針對健康(非狂犬病疑似)動物，在某些情況下可篩選到潛存之麗莎病毒傳播鏈(lyssavirus circulation)，特別是與蝙蝠相關的麗莎病毒。應對麗莎病毒進行分子特徵之鑑定，並參照其他流行病學數據，以確認保毒物種和傳播機制(transmission dynamics)。

Stage 2: preventing human rabies 第二階段：人狂犬病之預防

一旦衛生機關支持狂犬病控制工作，狂犬病監測系統就應該增加人類狂犬病預防機制。及時檢測疑似患有狂犬病的動物將有助於提升人類暴露後預防性免疫(PEP)執行效率。這樣也可減少PEP的盲目使用(浪費)，故可提高成本效益(9, 10)。

若測試結果是要用做提高或反對人類預防性免疫接種時，應使用WHO和WOAH指定的初級狂犬病診斷測試法，且診斷實驗室應符合國際標準(6)。

被動公共衛生監測系統(PPHSS)[註]是整合獸醫和人類衛生的計劃，用於評估和測試與人類接觸的疑似患有狂犬病的動物。在傳統監測技術中，PPHSS的狂犬病檢出率最高，但通常僅限於人口眾多和公共衛生基礎設施良好的地區(11)。PPHSS設備資源不足的地區，應採用替代方案。

[註] 被動公共衛生監測系統 (Passive Public Health Surveillance System, PPHSS) 是一種持續、系

統性收集衛生資料的機制，透過診所、醫院或實驗室主動通報特定疾病或事件。它常整合獸醫與人類健康資訊，例如針對人類暴露的疑似狂犬病動物評估，並應用於早期發現疾病趨勢、評估健康風險及制定政策。

Stage 3: monitoring and assessing control measures 第三階段：監測和防疫措施之評估

如果實施狂犬病防疫措施，例如對保毒物種進行大規模疫苗接種，防疫績效的評估至關重要：

野生動物疫苗接種計劃，應使用統計上適當的採樣技術來確定疫苗接種後的血清學陽轉率 (serological conversion rate)，這可驗證疫苗接種是否有效。

犬類狂犬病疫苗接種計劃，主要應依賴接種疫苗的犬籍資料和接種報告；血清學調查只有在評估疫苗效力時才適用。然而，對狂犬病防疫計劃的評估指標，不應基於血清學值或疫苗接種覆蓋率，而應基於「目標物種中檢測到的狂犬病病例隨時間和地域的減少記錄。」

在某些情況下，PPHSS可以提供充分的監測來評估防疫程序。當PPHSS無法按地理或統計適當的樣本量提供具有代表性的樣本時，則應考慮主動監測措施(active surveillance measure)。「**主動狂犬病監測的基礎是通過針對行為異常、被發現死亡或路殺動物收集的動物進行抽樣來識別疑似狂犬病動物。主動監測檢出率通常低於PPHSS率，但可以在PPHSS不足時提供重要的流行病學信息。**」

主動監測計劃可以考慮使用非WHO或WOAH推薦的診斷法，只要測試結果不影響人類PEP預防性免疫接種判斷。如果測試的使用使程序更好，那麼稍微犧牲測試的靈敏度是可以接受的。例如可以在田間執行、成本更低或降低技術設備的篩選分析。

當在非預期疫區或非保毒物種檢測到麗莎病毒時，應進行分子鑑定，其結果的解釋應基於對該疾病的流行病學知識。本(第三)階段的防疫政策對於撲滅狂犬病之目標很重要。

Stage 4: verifying rabies elimination 第四階段：狂犬病撲滅之驗證

無狂犬病的自我聲明會對動物貿易和人類疫苗接種政策產生重大影響。此類聲明應由獨立專家(independent expert)和國際組織(international organization)審查，並符合WOAH陸生動物衛生法典(12)中所述之審查條件。衛生主管機關應清楚地宣布沒有哪種疾病：狂犬病的病毒株(例如犬型狂犬病病毒株)、所有會導致發生狂犬病之病毒株。宣布無病例狀態應具備的基本條件是：有效的狂犬病監測系統，以及所有預防和控制狂犬病的法規措施均已經實施；並且在過去兩年中沒有人類或所有動物物種，發現在地性之狂犬病感染或病例(indigenous rabies infections or cases)(也應同時聲明是否有狂犬病以外之麗莎病毒的感染)(12)。

無狂犬病地區的證據應選擇具有代表該地區之地理位置。確診狂犬病(6)之依據僅能使用WOAH的初級狂犬病診斷試驗法，並且動物監測工作應聚焦在符合“疑似suspected”和/或“可能probable”病例。檢測健康動物對於監測目的的價值不高(應該都是陰性反應)，因此為了宣布沒有疾病的目的，僅對可疑和可能(suspected and probable)的動物進行抽樣。

Stage 5: post elimination 第五階段：狂犬病消失後

狂犬病消失後，監測的強度應針對重新引入的風險因子進行評估，以及是否存在其他狂犬病病毒株和非狂犬病之麗莎病毒。應實施適當的邊境和貿易安全政策。由於國際貿易和旅行的規模很大，大多數國家應考慮繼續其PPHSS和主動監測措施，雖然措施之強度降低。僅使用WOAH的初級狂犬病診斷試驗，所檢測到的麗莎病毒都應進行分子鑑定以確定感染的可能來源。

Characteristics of effective surveillance systems 有效監測的特點

有效和實用的監測系統的關鍵如下：

- a) 充分和明確的報告規定(政策面和法律面均規定要通報)
- b) 去中心化的(decentralized)診斷實驗室和編制
- c) 書面或電子整合監測系統，要有明確的病例定義、標準化指標、零報告(即報告所有測試動物，即使都是陰性)和最低要求
- d) 資源(人力、物力)
- e) 以區域為監測單位(除了全國性或國內之外)。

人類和動物衛生部門的主管機關和法律若不同，以及在狂犬病流行的許多國家沒有疾病通報的法律(或未執法)，對有效的狂犬病監測和防疫措施將造成阻礙。狂犬病防疫計劃應考慮整合人類和動物衛生部門的檢驗和應對措施。

Sample sizes 樣本量

狂犬病監測的一個爭議是監測的最小樣本量(包括報告所有測試樣本，即使沒有檢測到陽性結果，即零報告)。過去，OIE、WHO 和歐盟 (EU) 的國際監管機構(international regulatory bodies)曾建議動物狂犬病監測的樣本數量(24)。現在普遍認為，定義動物狂犬病監測的樣本量是會造成困難的(problematic)，這會迫使當樣本數不足時會採用健康動物樣本來充數(25)。

鑑於狂犬病直到症狀出現前不久病毒才出現在大腦中，因此很少建議對健康動物進行檢測，並且這種抽樣策略也無法證明該動物是否發生感染。在無法識別和檢測足夠數量的臨床患病動物的情況下，因咬傷或其他可疑行為而對疑似狂犬病動物進行觀察/留置檢疫的結果，是可以作為診斷結果的補充。據估計，在狂犬病流行國家和沒有狂犬病病史的地區，狂犬病監測系統的檢測概率 <0.1 是很常見的(26)。目前已同意的作法是：**只要嚴格依照「高度懷疑個案」(Suspect cases) 與「可能個案」(Probable cases) 的臨床/流行病學定義來進行抽樣。最小樣本量，以及零報告(無陽性病例)均是可接受的。**

確保監測系統能檢測到大多數病例，不間斷執行病例的監測(即立即報告和調查所有疑似或可能病例)至關重要。如果未檢測到陽性病例，零報告(包含測試或評估動物的數量)是首要的。特別是擬撲滅狂犬病低發生率之地區(第三和第四階段)的策略，應定義一個指標，該指標須包含實驗室確診的狂犬病陽性病例占所有接受測試動物的比例。必須包括對接受狂犬病檢測或評估的可疑動物的最低數量的要求(27)。

為確保有效監測，由獨立專家定期反覆審查和評估WHO和OIE的建議以及病例定義、指標和最低要求也很重要(2, 18, 25)。

檢測狂犬病病毒抗原或核酸之實驗室診斷，是有效監測狂犬病的先決條件(2)。檢測實驗室應該去中心化(decentralized)，以便快速確認病例，即使在偏遠地區也要做到快速確認。這種去中心化對於PEP的即時實施，以及確定當地疾病負擔(disease burden)，和確認狂犬病非疫區，是必要的。許多狂犬病診斷實驗室技術已經通過評估，但只有極少數通過OIE與WHO測試，確認具有被認可的靈敏度和特異性(6)。

幾十年來，對腦幹和小腦抹片進行的直接螢光抗體(DFA)測試一直是狂犬病的唯一主要實驗室診斷法(28, 29)。然而，由於DFA測試需要昂貴的螢光顯微鏡和受過高度專業化培訓的人員，因此不一定有利於去中心化測試。2017年，WHO和OIE接受直接快速免疫組織化學檢測(DRIT)作為一種替代性初級診斷檢測方法。DRIT是一種可以在一小時內在現場執行的技術，不需要電力，並且只需要最少數量的試劑和光學顯微鏡(30, 31)。最近，針對泛麗莎病毒(pan-lyssavirus)，OIE使用即時(real-time)、RT-PCR等檢測技術測試，已經證明DFA與DRIT有相同之效力，可作為狂犬病的初級診斷檢測。

隨著科學技術的進步，新的狂犬病診斷技術不斷發展。RT-PCR技術經常用於常規診斷(32, 33)，而其他技術，例如等溫重組酶聚合酶擴增(RPA)，正在積極探索中(34)(表 1)。

除了DFA、DRIT和泛麗莎病毒RT-PCR檢測外，近年來，新穎的現場快速診斷技術也在不斷發展和標準化(64)。這些技術對於所有去中心化的基於實驗室的監測系統都是至關重要的。基於免疫層析反應的Lateral flow devices (LFD)已廣泛評估，在田間檢測狂犬病病毒抗原(65)。儘管LFD看起來很有前途，但評估顯示大量假陰性結果和顯著的批次間差異，使得這些測試與影響人類治療決策或試圖確認無狂犬病狀態的監測計劃不相容。建議在這些設備獲得許可和在現場進行常規使用之前，需要對此類設備進行進一步的開發和驗證 (53)。

使用簡單且易於操作的設備(如LFD)進行診間(Point-of-care)檢測將是一種理想的方法，可以為動物咬傷後的預防管理和監測提供快速結果和即時決策目的。這樣的測試將不會有將樣本妥善保存並運送到實驗室的挑戰。目前正在評估和實施用於檢測各種病原體的新的田間用PCR技術，

旨在用於護理點/診間(point of care)(66)。然而，目前可用的快速檢測設備靈敏度不足，有時缺乏特異性。在尚未解決這些問題之前，推薦使用具有高靈敏度和特異性的傳統初級實驗室技術的去中心化式實驗室方法。如果除了中央參考實驗室外，還有衛星實驗室根據其地理、人口規模和疾病發病率戰略性地分佈在全國各處，則可解決樣本運送到實驗室的挑戰。

在許多疫區，測試的可用性可能受到限制。在這種情況下，確定測試的優先級以及實施可以去中心化方式應用的具有成本效益的診斷技術至關重要 (67)。隨著各國狂犬病流行的演變，基於實驗室的監測策略應從流行環境(第 1、2 和 3 階段；被動監測；快速現場檢測；DRIT；和 DFA)轉變為適合於低狂犬病發病率環境，即撲滅階段(第 4 和第 5 階段；主動加被動監測；RT-PCR 篩查)。

Conclusions 結論

如果成功撲滅，狂犬病將成為全世界第一個被撲滅的人畜共患疾病，數百萬人的生命將得到挽救，數十億美元將得到挽救。然而，要做到這一點，至關重要的是從成功的計劃中所得的教訓來控制和撲滅其他病原體(73, 74)，以及從過去幾十年在某些地區成功撲滅狂犬病的努力中獲得的經驗教訓(75)。如果要實現ZB30的目標，那麼建立一個正式和標準化的程序是非常重要的。現在是建立一個獨立的國際監督委員會的時候了，該委員會將定期召開會議，審查每個參與狂犬病撲滅的國家的預定標準集(最低監測要求、商定的指標、零報告)；確定撲滅努力的狀況；提供建議；在協力優先排序的基礎上協調全球投資。

END