

其背腹面各有一条窄而深凹的吸槽，体前端有凹陷且稍大，体不分节但具有横皱褶，尾部细，呈棍棒状，具有与成虫相似的头节，可初步判定裂头属的裂头蚴。（2）迭宫属的裂头蚴形态判定 若从蛙或蛇体内检出的幼虫大小长 0.5 ~ 80 cm，宽 0.3 ~ 1 cm，长带形，乳白色或淡黄色，虫体前端无吸槽，顶端中央有一孔向内凹陷成隧道状，并向后延伸形成盲管，虫体不分节，具有不规则的皱褶，可初步判定为迭宫属的裂头蚴。（3）核酸扩增结果判定 目的基因扩增片段出现条带而空白对照未出现条带，实验结果成立；阔节裂头蚴特异引物扩增，出现 428 bp 的特征条带，初步判定该虫种为阔节裂头蚴；曼氏裂头蚴特异引物扩增，出现 156 bp 的特征条带，初步判定该虫种为曼氏裂头蚴；若要进一步对幼虫定种，需将引物扩增产物进行测序，将其序列与 GenBank 上序列进行比对后定种。

3 标准附录内容

标准有 2 个资料性附录（A、C）和一个规范性附录（B）组成。

3.1 附录 A

附录 A 为关于裂头蚴的病原学资料，主要介绍了阔节裂头蚴和曼氏裂头蚴的形态特征，阐述了阔节裂头绦虫和曼氏迭宫绦虫的生活史<sup>[1]</sup>。

3.2 附录 B

附录 B 为与检测相关的技术方法的技术性资料，主要把检测相关的试剂配制、裂头绦虫引物的模板、DNA 的提取方法及相关试剂代码的解释，都细化列出，保证检测过程的完整、正确、有效。

3.3 附录 C

附录 C 为资料性附录，附上了在鱼肉中阔节裂头蚴的彩色图片，及来自蛙、蛇体中取出的曼氏裂头蚴的图片，以方便检测人员在检测过程中的比对辨认。

4 标准实施和宣贯重点

近年来，各种海产品大量投放市场，食用生鱼片人数剧增，

食用生三文鱼、鳕鱼等海鱼感染裂头绦虫的人数也逐年增多。饮食习惯的改变，使得人们食用食品的种类百花齐放，凉拌蛇皮、快炒蛙肉等，也造成了曼氏裂头蚴病剧增。如何从源头上杜绝或减少裂头蚴病的发生，《裂头绦虫幼虫检测》标准为检验检疫、食品检测机构提供了标准的检测方法，保证水产品的安全。在标准实施和宣贯中要注意几个重点：一是加强对裂头蚴感染率高的国家周围海域进口的海鱼的检验检疫，如，日本；以及对在海鱼洄游产卵的江河捕获的鱼加强检测，如，我国东北松花江的鳕鱼；二是严管市场捕获的野生蛙、蛇在市场的流放，加强农业部门检测机构对这些两栖类动物的检疫；三是加强检验检疫部门及食品加工企业的宣传与培训，使之能及时发现检出裂头蚴；四是加强人群的健康教育，不生吃或半生食鱼类、蛙等水产品，改变不良的饮食习惯，提高自我保护意识。五是加强疾控医疗机构的宣传培训，及时发现患者，及时得到治疗。

参考文献

[1] 吴观陵. 人体寄生虫学 [M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 516-531.

[2] Scholz T, Garcia HH, Kuchta R, et al. Update on the human broad tapeworm (genus diphylobothrium), including clinical relevance[J]. Clin Microbiol Rev, 2009, 22 (1): 146-160.

[3] 余森海, 许隆祺. 人体寄生虫学彩色图谱 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1992: 230-233.

[4] 刘自远, 刘国华, 戴荣四, 等. 湖南省阔节裂头绦虫的线粒体 cox1 和 nad1 基因的序列测定及种系发育分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2010, 41 (4): 463-468.

[5] Wicht B, Ruggeri-Bernardi N, Yanagida T, et al. Inter-and intra-specific characterization of tapeworms of the genus Diphylobothrium (Cestoda: Diphylobothriidae) from Switzerland, using nuclear and mitochondrial DNA targets [J]. Parasitol Int, 2010, 59 (1): 35-39.

[6] Chen SH, L Ai, Zhang YN, et al. Molecular Detection of Diphylobothrium nihonkaiense in Humans, China [J]. Emerg Infect Dis, 2014, 20 (2): 315-318.

规范疟原虫检测 助力疟疾消除  
——《疟原虫检测 血涂片镜检法》标准编制背景与解读

王善青<sup>1</sup> 周晓农<sup>2</sup>

【摘要】血涂片镜检法是目前国内外通用的最直接、最重要的疟原虫检

作者单位：1 海南省疾病预防控制中心，海南 海口 570203；2 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所，上海 200025  
通信作者：周晓农

测方法和疟疾病例确诊依据，是世界卫生组织推荐的疟原虫检测金标准。制定《疟原虫检测 血涂片镜检法》，目的是为我国各级医疗机构从事临床疟疾病原学检验人员和疾控机构从事疟疾监测实验室人员提供一个统一规范的操作流程和技术规范，对我国消除疟疾以及消除疟疾后的监测工作具有重大意义。  
【关键词】显微镜；疟原虫；检测；标准

【中图分类号】R382.31 【文献标识码】A

【文章编号】1674-9316 (2017) 28-004-04

doi:10.3969/j.issn.1674-9316.2017.28.003

# Standardize Malaria Detection to Help Eliminate Malaria in China—The Compilation Background and Standard Explanation of Microscopic Examination of Blood Films for Malaria Parasites

WANG Shanqing<sup>1</sup> ZHOU Xiaonong<sup>2</sup> 1 Hainan Center for Disease Control and Prevention, Haikou Hainan 570203, China; 2 National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200025, China

**[Abstract]** Microscopic examination of blood films is common at home and abroad, it is the most direct and important malaria parasites detection method and diagnostic basis, and also is the gold standard for detecting plasmodium in WHO recommendation. The compilation of < Microscopic examination of blood films for malaria parasites > is aim to provide a unified standard operating procedure and technical specification for personnel engaged in clinical malaria pathogen inspection in all levels of medical institutions and laboratory staff engaged in malaria surveillance in disease control agencies in China. It is of great significance to the elimination of malaria and the monitoring of malaria elimination in China.

**[Keywords]** microscopy; malaria parasites; detection; standard

## 1 制定《疟原虫检测 血涂片镜检法》的意义和必要性

血涂片染色法检测技术是目前国内外通用的最直接、最重要的疟原虫检测方法和疟疾病例确诊依据。血涂片镜检法既是世界卫生组织推荐的疟原虫检测金标准，也是我国疟疾诊断标准中推荐的主要检测技术。世卫组织建议，在进行抗疟治疗之前，要对所有疟疾疑似患者通过显微镜或者疟疾快速诊断检测法（RDT）及时作出寄生虫学诊断<sup>[1]</sup>。光学显微镜要求在患者血液的厚涂片或者薄涂片中看到疟原虫。2016年6月1日起实施的《疟疾的诊断》标准（WS-259-2015）中，在实验室检查中的第一条就是显微镜检查血涂片查见疟原虫<sup>[2]</sup>。目前，国内外检测疟原虫的主要方法就是“血涂片染色镜检法”。通过镜检方法检测的疟疾患者数量在2014年全球上升到2.03亿。印度在这一全球总量中占据主导，所做的载玻片检查达到1.2亿份以上。在非洲区域，通过显微镜得到检查的患者人数由2010年的3300万增加到2014年4800万<sup>[3]</sup>。镜检诊断检测可加强对发热患者中疟疾患者的筛查和管理，也可能有助于通过仅在确诊患者身上使用抗疟疾药而减轻耐药性的出现和扩散。

血涂片染色后用显微镜检测疟原虫是我国基层医疗机构和疾控部门最直接也是最常用的检测方法<sup>[4]</sup>。血涂片显微镜检查疟原虫是医学上一种比较常见的方法，并且这种方法在对疟原虫的检查上运用的非常广泛，对于疟疾患者的及时诊断有着很大的临床价值。血涂片镜检疟原虫也是检验科的基本技能之一<sup>[5]</sup>。由于我国目前对于显微镜血涂片检测疟原虫技术只有指南，而没有规范

标准。各地在实际操作过程中很难做到统一标准，基层医疗卫生工作者在开展显微镜血涂片法检测疟原虫时随意性很大，血涂片的制作既不规范也不统一。近年来，由于我国本地疟疾病例的减少和消除，导致许多基层医院和疾控机构不再重视疟疾血涂片的镜检工作，使好多年轻的检验工作者不会制作血涂片，不认识疟原虫，导致基层检测人员的血涂片镜检水平不断下降<sup>[6-8]</sup>，甚至各级疾控机构镜检人员疟原虫监测检测能力和意识也有所下降，这将会导致部分疟疾患者漏诊和误诊<sup>[9]</sup>，因为疟疾的早期准确诊断对于有效的疾病管理和疟疾监测至关重要，如果没有规范的显微镜血涂片法检测疟原虫技术标准，将直接影响到目前我国正在开展的消除疟疾工作中的病例诊断和发热患者的监测。因为误诊会引起大量发病和死亡，高质量的疟疾诊断在各种情况下都很关键。因此，制定《疟原虫检测 血涂片镜检法》这一标准，是为我国各级医疗机构从事临床疟疾病原学检验人员和疾控机构从事疟疾监测实验室人员提供一个统一规范的操作流程和技术规范。该标准的制订对我国消除疟疾以及消除疟疾后的监测工作具有十分重要的意义。镜检疟原虫仍是目前疟疾诊断的金标准，是发现疟疾病原的主要手段，也是当前防治和消除疟疾工作中的关键技术之一<sup>[10]</sup>。2010年，原卫生部等13部委联合印发了《中国消除疟疾行动计划2010-2020》<sup>[11]</sup>，确定了到2020年全国实现消除疟疾的目标，并对各级疾病预防控制机构开展疟原虫血检比例、实验室检测率和实验室确诊比例等指标作了明确规定。为进一步提高全国疾控机构专业技术人员寄生虫病防治理论水平与检测技能，提高各地重点和常见寄生虫病防治能力，国家卫生计生委疾控局每年都要举办全国寄生虫病防治技术竞赛，其中一项重要内容就是血涂片制作、染色及镜检操作等技能。有了标准，全国就有了统一的规范和要求，对人员培训、考核与评价也就有了依据。

## 2 血涂片镜检法检测疟原虫的优势与条件

光学显微镜的优点是在患者血液的厚涂片或者薄涂片中可以直接看到疟原虫。显微镜使人能够辨认不同的致病寄生虫（恶性疟原虫、间日疟原虫、三日疟原虫和卵形疟原虫）、寄生虫不同时期（包括配子体），以及对寄生虫密度进行定量，以监测治疗效果。显微镜是对疟疾治疗失败情况作出调查的首选方法。吉姆萨染色是显微镜检测疟原虫所用的传统染色方法，要对同一患者的薄血膜和厚血膜进行检查才可做出诊断。血涂片镜检法是从传统角度对其它诊断方法进行衡量的诊断标准，所以说目前仍然是疟疾诊断的金标准。

对疟疾实行寄生虫学诊断检测可以加强对发热疾病患者的管理，特别是有助于发现需要不同治疗方法的非疟疾患者。使用这种检查方法可以仅在确诊患者身上使用抗疟药，从而有助于减少

耐药性的出现和扩散。寄生虫学诊断的优势取决于医疗机构是否在管理患者时遵循检查结果。在可以及时进行高质量的寄生虫学诊断,而且没有严重疾病征兆时,抗疟药治疗应该仅限于检查结果呈阳性的病例,而阴性病例则考虑其它发热病因。

虽然显微镜仍然是多数大型医疗诊所和医院作出寄生虫学诊断的支柱,但显微镜诊断的质量常常在确保疟疾诊断的良好敏感性和特异性方面存在不足,这对健康结果和最佳治疗方案带来了负面影响。可接受的显微镜检测应该既符合成本效益,又可以一直得出准确并且足够及时的结果,以对治疗带来直接影响。这就需要全面并且运作良好的质量保证规划<sup>[3]</sup>。疟疾镜检方面的有效质量管理体系要求有:(1)对质量保证进行监督的中央协调员;(2)在国家级和省级层面有一支显微镜学家参考(核心)小组,并得到外部质量保证规划的支持以及得到培训和载玻片验证方面的专门技能;(3)根据相关临床机构所需能力建立起良好培训系统;(4)定期开展再培训并对能力进行评估/分级,同时得到经过验证的参比成套载玻片(疟疾载玻片银行)的支持;(5)可持续的载玻片验证系统,可利用良好的验证结果来发现存在的总体不足,并具有一个解决绩效不足问题的系统;(6)在所有层面实施良好监督;(7)对显微镜进行良好的供应管理和维护;(8)在所有层面具有清晰的标准操作程序;(9)将预算列入疟疾病例管理资金并使其保持充足。

### 3 世界卫生组织的相关文件和手册指南

世卫组织要求所有疑似疟疾患者在接受抗疟药物治疗前,应先进行实验室检查(显微镜血涂片检查或疟疾快速诊断试剂检测)。世界卫生组织(WHO)在2010年出版的《疟疾治疗指南》(Guidelines for the treatment of malaria, Second edition, WHO, 2010)中明确指出,血涂片染色法检测疟原虫是疟疾诊断基本方法<sup>[12]</sup>,在2013年版《普及疟疾诊断检测—操作手册》(Universal access to malaria diagnostic testing: an operational manual, WHO, 2011, rev.2013)中,不但将显微镜血涂片染色法检测疟原虫列为两个基本诊断检测方法之一(另一个是RDT),而且还列出了显微镜的使用、维护与保养标准操作规程<sup>[13]</sup>。虽然RDT越来越多地用于疟疾的诊断,特别是在没有镜检能力的偏远山区,但是,由于显微镜血涂片染色法检测疟原虫具有直接成本低、能区分多种种型和计算原虫密度等独特优势,RDT是无法取代的,由此,WHO和世界各国目前仍推荐显微镜血涂片染色法检测疟原虫为疟疾诊断检测的基本方法,特别在消除疟疾阶段,WHO推荐显微镜血涂片检测是发现病例的主要手段,并于2014年3月在日内瓦召开了“全球疟疾项目专家咨询会”专门讨论了疟疾镜检质量保证手册的更新问题<sup>[14]</sup>,2015年又出台了厚薄血膜用于疟原虫的发现、诊断和计数的显微镜使

用手册<sup>[15]</sup>,指导世界各地疟疾流行区的疟原虫显微镜检测工作。

### 4 血涂片镜检在检验人员全面素质培训中的重要性

随着各类仪器在检验工作中的应用,仪器操作简便、准确度高、误差小等优点越来越被广大检验工作者所青睐,也越来越依赖这些仪器。再加上现在工作量大,费时、费力的各种手工操作技术被忽略,而血涂片镜检就是各种手工操作技术中最基础的一项,也是考察检验工作者全面素质最标准的一项。而这些手工操作技术是很多仪器不能代替的,并且在其它血液检测标本预处理时也用的上<sup>[16]</sup>。为了加强血涂片镜检等检验基本操作技术,国家每年组织一次全国寄生虫基本操作技能比赛,引导着全国各地从事寄生虫检验(包括疟原虫检测)的人员学习推片、白细胞计数、观察各种寄生虫的形态等,使许多年轻同志熟练掌握了血涂片镜检的各种操作技术,提升了检测人员的全面素质。由于各类仪器的局限性,均不能对疟原虫的形态、分类及虫种等作出辨认,只能作为一种初筛手段。而血涂片镜检由于是在显微镜下直观观察,能提高对疟疾的诊断准确度,更好地服务于临床,服务于患者。各级医院应高度重视血涂片镜检工作,制定完善的制度。同时做好检验工作者全面素质的培训,提高检验工作者服务于临床的基本操作技能<sup>[17]</sup>。

### 5 对可能引起误解的指标的解释

(1)厚血膜的直径应为0.8~1 cm还是1~1.2 cm,标准中规定的是直径0.8~1 cm,主要依据一是2015年11月16日发布的《疟疾的诊断》(WS259-2015)规范性附录中已有明确要求,二是现场调研时征求了县乡两级疟疾检验人员的意见,认为直径0.8~1 cm的厚血膜是合适的。

(2)厚血膜一天内染色无需溶血,“一天”是否应改为“24小时”,经专家会议讨论和现场调研了解,大家一致认为厚血膜溶血虽然有时间要求,但是不用精确到小时,为了便于基层人员掌握,以“一天”的描述方式较为合适。

(3)制作薄血膜时,载玻片与推片保持25°~35°角还是30°~45°角推开血膜,本标准中规定的是载玻片与推片保持25°~35°,主要依据一是2015年11月16日发布的《疟疾的诊断》(WS259-2015)规范性附录中已有明确要求,二是现场调研时征求了县乡两级疟疾检验人员的意见,认为载玻片与推片保持25°~35°是合适的。

(4)关于是否要增加“诺氏疟原虫”这个问题,起草组专家进行了认真的讨论,最后一致认为,尽管目前国外(特别是马来西亚和一些东南亚国家)有不少人感染“诺氏疟原虫”的报道,国内也有检测到个别“诺氏疟原虫”感染病例,但是,目前国际社会仍以四种人体寄生虫为主,尚未把“诺氏疟原虫”正式纳入,



另外,本标准在术语的定义中表述的已经比较清楚,将其纳入“等”的范围。

### 参考文献

- [1] 世界卫生组织. 疟疾实况报道 2017 年 4 月 [EB/OL]. [2017-10-30]. [www.who.int/entity/mediacentre/factsheets/fs094/zh/](http://www.who.int/entity/mediacentre/factsheets/fs094/zh/)
- [2] 中华人民共和国卫计委. 疟疾的诊断 (WS 259-2015) [EB/OL]. (2015-11-16) [2017-10-30]. [http://www.nhpc.gov.cn/zwgkzt/pwsbz/wsbz\\_3.shtml](http://www.nhpc.gov.cn/zwgkzt/pwsbz/wsbz_3.shtml).
- [3] 世界卫生组织. 疟疾显微镜诊断法 [EB/OL]. (2016-03-14) [2017-10-30]. [www.who.int/entity/malaria/areas/diagnosis/microscopy/zh/](http://www.who.int/entity/malaria/areas/diagnosis/microscopy/zh/)
- [4] 谢轶青, 何明楨, 邹永根, 等. 2014 年常州市“三热”病人疟原虫检测血涂片质量分析 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2016, 28 (4): 467-469.
- [5] 李艳珍. 血涂片显微镜检查在血常规检验中的必要性分析 [J]. 中国药物与临床, 2013, 13 (6): 807-808.
- [6] 曹彩群. 2011 年南通市疟疾镜检能力建设分析 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2012, 24 (6): 700-702.
- [7] 邵洁, 孟晓军, 陈玮绚. 无锡市医疗机构疟疾镜检能力现状调查与分析 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2017, 29 (4): 523-525.
- [8] 余树坤, 邓柳荣, 邵芬, 等. 武汉市东西湖区疟原虫镜检能力建设分析 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2017, 29 (1): 99-101.
- [9] 周体操, 张义, 邓勇, 等. 陕西省消除疟疾基线调查结果分析 [J]. 中国热带医学, 2014, 14 (10): 1197-1199.
- [10] 张少森, 夏志贵, 尹建海, 等. 2012 年全国寄生虫病防治技术竞赛成绩分析报告: I. 疟原虫检测能力考评结果分析 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2013, 31 (2): 131-134.
- [11] 国家卫生计生委疾病预防控制局. 中国消除疟疾行动计划 (2010-2020 年) [R/OL]. (2010-05-19) [2017-10-30]. <http://www.nhpc.gov.cn/zwgk/index.shtml>.
- [12] World Health Organization. WHO Guidelines for the treatment of malaria[M/OL]. second edition. [2017-10-30] <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s19105en/s19105en.pdf>.
- [13] World Health Organization. Universal access to malaria diagnostic testing: an operational manual[M/OL]. Revised edition. [2017-10-30]. [www.who.int/entity/malaria/publications/atoz/9789241502092/en/](http://www.who.int/entity/malaria/publications/atoz/9789241502092/en/).
- [14] World Health Organization. Technical consultation to update the WHO malaria microscopy quality assurance manual[M/OL]. [2017-10-30]. <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/microscopy-quality-assurance-report/en/>.
- [15] World Health Organization, Research and Training in Tropical Diseases. Microscopy for the detection, identification and quantification of malaria parasites on stained thick and thin blood films in research settings[M/OL]. [2017-10-30]. [www.who.int/entity/tdr/publications/microscopy\\_detec\\_ident\\_quantif/en/](http://www.who.int/entity/tdr/publications/microscopy_detec_ident_quantif/en/).
- [16] 王刘奇. 血涂片镜检在临检工作中的重要性 [J]. 中外健康文摘, 2011, 8 (24): 186-187.
- [17] 王少玉, 杨秋华. 外周血涂片的临床意义 [J]. 中国医药指南, 2012, 10 (18): 383-384.

## 《巴贝虫病诊断》标准解读

陈木新 陈家旭

**【摘要】**遵循《卫生标准管理办法》相关规定,按照《GB/T1.1—2009 标准化工作导则》要求编制《巴贝虫病诊断》(WS/T 564—2017)标准。该标准由范围、术语和定义、诊断依据、诊断原则、诊断和鉴别诊断等 6 章组成,并包含 4 个资料性附录(病原学、流行病学、临床表现、鉴别诊断)和 1 个规范性附录(实验室检查)。该标准已由国家卫生和计划生育委员会发布(国卫通〔2017〕11 号通告)施行,为全国各级医疗机构和疾病预防控制机构诊断巴贝虫病提供了技术规范,填补了我国巴贝虫病诊断标准的空白。

**【关键词】**巴贝虫病;诊断;标准

**【中图分类号】**R531.3 **【文献标识码】**A

**【文章编号】**1674-9316 (2017) 28-0007-03

doi:10.3969/j.issn.1674-9316.2017.28.004

基金项目:卫生标准制定修订项目(20150301)

基金项目:上海市卫计委面上项目(201640278)

基金项目:中国疾病预防控制中心青年科研基金(2018A105)

基金项目:国家重点研发计划项目(2016YFC1202000, 2016YFC1202005)

作者单位:中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所/世界卫生组织热带病合作中心/卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室/上海市寄生虫学会,上海 200025

通信作者:陈家旭

### Interpretation of Criteria for Diagnosis of Babesiosis

CHEN Muxin CHEN Jiaxu National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention / WHO Collaborating Center for Tropical Diseases / Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, National Health and Family Planning Commission / Shanghai Parasite Society, Shanghai 200025, China

**[Abstract]** The criteria for Diagnosis of Babesiosis (WS/T 564—2017) (referred to as the Criteria) was compiled following the Management Measures for Health Criteria and GB/T1.1—2009 Standardization Working Guideline. The Criteria is composed of six chapters, including the range of application, terms and definitions, diagnostic basis, diagnostic principle, diagnosis, and differential diagnosis. Four informative appendices (etiology, epidemiology, clinical manifestation, and differential diagnosis) and one normative appendix (laboratory examination) are appended. The Criteria was issued by the National Health and Family Planning Commission of China through No.11 of Chinese Health Announcement in 2017. The Criteria provides for the first time technical reference for diagnosis of babesiosis in medical institutions and disease control institutions in China.

**[Keywords]** Babesiosis; diagnosis; criteria