文章编号：1005-6661(2020)06-0631-04　DOI：10.16250/j.32.1374.2020082　·防治研究·

2017—2019年湖北省疟疾诊断参比实验室病例复核结果分析

孙凌聪，董小蓉，涂珍，吴冬妮，林文，周晓蓉，朱红*

[摘要]　目的　分析湖北省疟疾诊断参比实验室对网络报告疟疾病例的复核结果，为进一步提高全省疟疾防控水平提供科学依据。**方法**　由湖北省疟疾诊断参比实验室对全省2017—2019年网络报告疟疾病例样本采用镜检和巢式PCR法进行复核，并分析病例和虫种等符合情况。**结果**　2017—2019年，湖北省共有网络报告疟疾病例410例；湖北省疟疾诊断参比实验室共复核407例样本，确诊疟疾病例374例，总体疟疾诊断阳性符合率为91.89%(374/407)、虫种符合率为89.04%(333/374)；不同市(州)报告疟疾病例复核阳性符合率为50.00%～100.00%、虫种符合率为66.67%～100.00%，差异均有统计学意义(χ^2 = 40.46、42.30，P均 < 0.01)；恶性疟原虫、间日疟原虫、三日疟原虫、卵形疟原虫复核虫种符合率分别为95.80%、100.00%、58.33%和51.92%，差异有统计学意义(χ^2 = 76.66，P < 0.01)；镜检法与巢式PCR法检测结果一致率为89.83%(362/403)。**结论**　湖北省各级医疗卫生机构疟疾诊断质量总体较高，但部分地区诊断能力仍有待提高。

[关键词]　疟疾；输入性病例；诊断；参比实验室；消除；湖北省

[中图分类号]　R531.3　　**[文献标识码]**　B

Re-examination of malaria diagnosis in Hubei Provincial Malaria Diagnostic Reference Laboratory from 2017 to 2019

*SUN Ling-Cong, DONG Xiao-Rong, TU Zhen, WU Dong-Ni, LIN Wen, ZHOU Xiao-Rong, ZHU Hong**

Institute of Parasitic Diseases, Hubei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Wuhan 430079, *China*

* *Corresponding author*

[Abstract]　Objective　To analyze the re-examination results of malaria cases captured from the National Notifiable Communicable Disease Reporting System in Hubei Provincial Malaria Diagnostic Reference Laboratory from 2017 to 2019, so as to provide the scientific evidence for improving the malaria control capability in the province. **Methods**　Microscopy and nested PCR assay were performed to re-examine the diagnosis of malaria cases registered in the National Notifiable Communicable Disease Reporting System in Hubei Provincial Malaria Diagnostic Reference Laboratory from 2017 to 2019, and the coincidences of malaria diagnosis and malaria parasite species were evaluated. **Results**　A total of 410 malaria cases were reported in Hubei Province from 2017 to 2019 according to the data retrieved from the National Notifiable Communicable Disease Reporting System. Among the 407 samples re-examined by Hubei Provincial Malaria Diagnostic Reference Laboratory from 2017 to 2019, the diagnosis 374 malaria cases were confirmed, with an overall coincidence of 91.89% (374/407) for malaria diagnosis and 89.04% (333/374) for parasite species identification. The coincidence rates of malaria diagnosis and parasite species identification were 50.00% to 100.00% and 66.67% to 100.00% in 16 cities (prefectures) of Hubei Province during the re-examinations, which both varied in regions (χ^2 = 40.46 and 42.30, both P values < 0.01). The coincidence rates of *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* and *P. ovale* identification were 95.80%, 100.00%, 58.33% and 51.92% during the re-examinations, respectively (χ^2 = 76.66, P < 0.01). The consistency rate between microscopic and nested PCR results was 89.83% (362/403). **Conclusion**　The overall diagnostic quality of malaria is high in medical institutions at all levels in Hubei Province; however, the diagnostic capability of malaria remains to be improved in some regions.

[Key words]　Malaria; Imported malaria; Diagnosis; Reference laboratory; Elimination; Hubei Province

[基金项目]　湖北省卫生健康委员会科研项目(WJ2019Q055)

[作者单位]　湖北省疾病预防控制中心血吸虫病防治研究所(武汉 430079)

[作者简介]　孙凌聪，男，博士，副主任技师。研究方向：寄生虫病检测与防治

*通信作者　E-mail：17794847@qq.com；ORCID：0000-0002-4329-9562

[数字出版日期]　2020-07-31 11:47:50

[数字出版网址]　https://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1374.R.20200730.1043.001.html

疟疾诊断参比实验室是指为完善疟疾诊断质量管理体系、提高各级疟疾诊断工作质量而设立的用于疟疾病原学诊断、药物敏感性监测、疟原虫虫种资源保存等方面的标准化实验室[1-2]。湖北省疟疾诊断参比实验室建自2013年，其负责全省疟疾病例病原学镜检和分子生物学检测等工作，为保障全省如期实现消除疟疾目标发挥了重要作用[3]。本研究对2017—2019年湖北省疟疾诊断参比实验室复核结果进行回顾性分析，以期对全省疟疾实验室检测质量进行评价，为进一步提高疟疾防控水平提供依据。

1 材料与方法

1.1 样本来源 查阅2017—2019年湖北省网络报告疟疾病例资料，并收集患者在抗疟治疗前采集制作的血涂片、滤纸血和抗凝全血等留存样本，用于湖北省疟疾诊断参比实验室复核。

1.2 复核方法和评价指标 由湖北省疟疾诊断参比实验室专业人员，对采集的血涂片和血液样本分别采用镜检法和巢式PCR法进行疟原虫感染复核[4-6]。确诊病例判定时，若两种方法检测结果不一致，则由省级疟疾诊断专家组结合患者样本采集和服药治疗等情况讨论判定。感染虫种判定时，若两种检测结果均为阳性，则以巢式PCR测出的虫种为准；若仅一种检测结果为阳性，则以阳性检测结果测出的虫种为准。以湖北省疟疾诊断参比实验室检测结果为标准，分析评价各地网络报告疟疾病例检测结果的阳性符合率和虫种符合率：阳性符合率(%) = 省级复核确诊阳性数 / 检测病例数 × 100%，虫种符合率(%)= 与省级复核虫种一致数 / 省级复核确诊阳性病例数 × 100%；并比较湖北省疟疾诊断参比实验室镜检和巢式PCR检测结果的一致性。

1.3 数据处理和统计分析 所有调查数据应用Microsoft Excel 2010建立数据库，并应用SPSS 17.0进行统计学分析。其中率的差异比较采用χ^2检验，以$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 样本收集情况 2017—2019年，湖北省共有网络报告疟疾病例410例，湖北省疟疾诊断参比实验室共收集到其中407例患者留存血液样本，样本收集率达99.27%；其中403例收集到了血涂片、抗凝血和滤纸血样本，有4例仅收集到血涂片样本。

2.2 检测复核情况 2017—2019年，湖北省疟疾诊断参比实验室共镜检复核血涂片样本407例，检出疟原虫阳性348例、阴性59例，阳性符合率为85.50%；采用巢式PCR检测血液样本403例，检出疟原虫阳性364例、阴性39例，阳性符合率为90.32%。综合分析检测结果后确定疟疾病例374例，总的阳性符合率为91.89%(374/407)；其中恶性疟262例(占70.05%)、间日疟48例(占12.83%)、卵形疟52例(占13.90%)、三日疟12例(占3.21%)，未发现混合感染病例(表1)。

2.3 不同地区报告病例复核结果 2017—2019年，湖北省410例网络报告疟疾病例分布于除神农架林区外的其他16个市(州)，其中报告病例数较多的为武汉、宜昌、黄石市，分别为114、58、48例。不同市(州)报告疟疾病例复核阳性符合率为50.00%～100.00%、虫种符合率为66.67%～100.00%，差异均有统计学意义($\chi^2 = 40.46$、42.30，P均< 0.01)(表2)。

2.4 疟原虫虫种复核情况 374例复核检测阳性的疟疾病例中，有333例网络报告的感染虫种与复核确认虫种一致，总体感染虫种符合率为89.04%。其中符合率较高的虫种为间日疟原虫和恶性疟原虫，符合率分别为100%和95.80%；卵形疟原虫和三日疟原虫误判率较高，符合率分别为51.92%和58.33%，差异有统计学意义($\chi^2 = 76.66$，$P < 0.01$)(表3)。

2.5 不同方法复核效果 对同时采用镜检法和巢式PCR法检测的403例疟疾病例复核结果分析显示，两种方法检测阳性率分别为85.86%(346/403)和90.32%(364/403)；其中均为阳性且检出虫种一致329例、均为阴性有33例，两种方法检测一致率为89.83%(362/403)。进一步分析显示，两种方法对不同虫种检测结果一致率差异无统计学意义($\chi^2 = 5.16$，$P > 0.05$)，其中对恶性疟原虫和间日疟原虫检测结果一致性均> 90%。

表1 2017—2019年湖北省网络报告疟疾病例的复核检测结果

年份	复核检测例数	确诊病例数					阴性例数
		恶性疟	间日疟	卵形疟	三日疟	合计	
2017	108	50	16	24	7	97	11
2018	134	92	17	16	0	125	9
2019	165	120	15	12	5	152	13
合计	407	262	48	52	12	374	33

表2　2017—2019年湖北省不同市(州)网络报告疟疾病例复核结果

市(州)	报告病例数	复核病例数	确诊病例数	阳性符合率(%)	虫种符合病例数	虫种符合率(%)
武汉	115	114	113	99.12	112	99.12
宜昌	58	58	53	91.38	44	83.02
襄阳	32	32	31	96.88	28	90.32
黄石	48	48	41	85.42	32	78.05
十堰	30	30	26	86.67	25	96.15
鄂州	3	3	2	66.67	2	100.00
荆门	14	14	14	100.00	14	100.00
孝感	17	17	17	100.00	14	82.35
荆州	12	10	10	100.00	10	100.00
黄冈	33	33	24	72.73	18	75.00
咸宁	7	7	6	85.71	4	66.67
随州	17	17	17	100.00	12	70.59
恩施	14	14	11	78.57	10	90.91
仙桃	2	2	1	50.00	1	100.00
潜江	4	4	4	100.00	4	100.00
天门	4	4	4	100.00	3	75.00
神农架	0	0	–			–
合计	410	407	374	91.89	333	89.04

表3　2017—2019年湖北省网络报告疟疾病例的疟原虫虫种复核结果

省参比实验室复核确认病例感染虫种	网络报告病例感染虫种							虫种符合率(%)
	恶性疟原虫	间日疟原虫	三日疟原虫	卵形疟原虫	混合感染	未分型	合计	
恶性疟原虫	251	4	0	0	6	1	262	95.80
间日疟原虫	0	48	0	0	0	0	48	100.00
三日疟原虫	0	5	7	0	0	0	12	58.33
卵形疟原虫	3	19	2	27	1	0	52	51.92
混合感染	0	0	0	0	0	0	0	–
阴性	25	7	0	0	0	1	33	–
合计	279	83	9	27	7	2	407	89.04

3　讨论

自2017年以来,我国未再发现本地感染疟疾病例,但境外输入性疟疾疫情仍居高不下[7],而国内仍有传疟媒介孳生,输入性疟疾病例在本地引起继发传播的风险依然存在,影响着我国消除疟疾成果的巩固[8]。因此,建立完善的疟疾监测网络是我国巩固消除疟疾成果的主要策略之一[9]。自2011年以来,我国已建立了覆盖24个疟疾流行省份的疟疾诊断参比实验室网络,并要求所有网络报告和疑似疟疾病例需经省级疟疾诊断参比实验室复核和确认[10]。

及时和准确诊断是减少疟疾重症病例发生和防止继发传播的关键[11]。本次研究结果显示,2017—2019年湖北省疟疾诊断参比实验室对网络报告疟疾病例的复核检测率达99.27%,总体阳性符合率为91.89%,虫种符合率为89.04%。结果表明,湖北省各级医疗卫生机构疟疾检测水平总体上较高。但分析结果也显示,各地疟疾诊断水平不一致,分别有4个市和5个市阳性符合率和虫种符合率低于80%。结果提示,湖北省一些地区医疗卫生机构疟疾检测能力、专业技术人员检测水平等仍待进一步提高。

显微镜镜检法仍是疟疾诊断的金标准,但其易受疟原虫形态不典型、原虫密度低和镜检员技术水平等因素的影响;而巢式PCR因灵敏度高、方法成熟等,已被我国列为疟疾诊断参比实验室推荐的确诊方法之

一[12]。本次研究结果显示,湖北省基层医疗卫生机构对三日疟原虫和卵形疟原虫误判率较高,主要是由于湖北省历史上主要为间日疟流行区,因此镜检人员对输入性疟疾病例感染的其他疟原虫虫种鉴定经验不足[13-15]。此外,33例复核结果为阴性的病例中,25例网络报告结果为恶性疟,可能是由于基层医疗卫生机构检验人员对快速诊断试纸条(RDT)依赖性增加,部分恶性疟患者治愈后RDT检测结果需较长时间才能转阴[16]。在湖北省疟疾诊断参比实验室复核中,发现有41份样品镜检与巢式PCR检测结果不一致,分析原因可能与患者感染后曾自行服药导致其体内疟原虫密度较低、血涂片样本和抗凝血样本采集时间不一致,以及两种检测方法特异性差异等有关[17]。

及时、准确地发现病例和判定虫种,可为疟疾精准防控提供重要科学依据[18]。因此,建议今后在建立不同层次实验室检测网络、有条件的地区开展分子生物学检测的同时,应加强省级疟疾诊断参比实验室对基层各疟疾检测实验室检测队伍培训、检测工作监测和质量控制,及时发现问题、提高监测质量,促进湖北省各级基层医疗和疾病预防控制机构疟疾诊断能力提高。

[参考文献]

[1] 尹建海, 燕贺, 李美, 等. 疟疾诊断参比实验室: 疟原虫显微镜检测能力外部评估结果分析[J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2015, 42(3): 173-175.

[2] 唐建霞, 徐岁, 刘耀宝, 等. 疟疾生物样本库的构建与应用[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2018, 30(4): 455-459.

[3] Xia J, Huang XB, Sun LC, et al. Epidemiological characteristics of malaria from control to elimination in Hubei Province, China, 2005—2016[J]. Malar J, 2018, 17: 81-91.

[4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 疟疾的诊断(WS 259—2015)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015: 3-4.

[5] Snounou G, Viriyakosol S, Zhu XP, et al. High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction[J]. Mol Biochem Parasitol, 1993, 61(2): 315-320.

[6] Calderaro A, Piccolo G, Perandin F, et al. Genetic polymorphisms influence *Plasmodium ovale* PCR detection accuracy[J]. J Clin Microbio1, 2007, 45(5): 1624-1627.

[7] Feng J, Zhang L, Huang F, et al. Ready for malaria elimination: zero indigenous case reported in the People's Republic of China[J]. Malar J, 2018, 17(1): 315-328.

[8] 杜海娟, 闻礼永, 周晓农. 3种重要输入性寄生虫病的流行现状及新的挑战[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2019, 31(4): 353-355.

[9] 中华人民共和国卫生部. 关于印发《中国消除疟疾行动计划(2010—2020年)》的通知[EB/OL]. (2010-05-26)[2020-06-10]. http://www. nhc. gov. cn / wjw / gfxwj / 201304 / 15a4cc7a40b0452191fe409590ca99d8.shtml.

[10] Yin JH, Yan H, Huang F, et al. Establishing a China malaria diagnosis reference laboratory network for malaria elimination[J]. Malar J, 2015, 14: 40-47.

[11] Landier J, Parker DM, Thu AM, et al. The role of early detection and treatment in malaria elimination[J]. Malar J, 2016, 15: 363-371.

[12] Yin JH, Li M, Yan H, et al. Considerations on PCR-based methods for malaria diagnosis in China malaria diagnosis reference laboratory network[J]. Biosci Trends, 2018, 12(5): 510-514.

[13] 孙凌聪, 张华勋, 吴冬妮, 等. 巢式聚合酶链反应在输入性卵形疟诊断和分型中的应用[J]. 中国热带医学, 2016, 16(6): 574-576.

[14] Li Z, Zhang Q, Zheng C, et al. Epidemiologic features of overseas imported malaria in the People's Republic of China[J]. Malar J, 2016, 15: 141-150.

[15] 顾亚萍, 朱国鼎, 张超, 等. 2011—2017年江苏省疟疾镜检工作质量分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2018, 30(4): 369-373.

[16] Mukkala A, Kwan J, Lau R, et al. An update on malaria rapid diagnostic test[J]. Curr Infect Dis Rep, 2018, 20(12): 49-57.

[17] Turki H, Raeisi A, Malekzadeh K, et al. Efficiency of Nested-PCR in detecting asymptomatic cases toward malaria elimination program in an endemic area of Iran[J]. Iran J Parasitol, 2015, 10(1): 39-45.

[18] Liu Y, Sturrock H, Yang H, et al. The challenge of imported malaria to elimination countries[J]. Lancet Infect Dis, 2017, 17(2): 141-141.

[收稿日期] 2020-03-19 **[编辑]** 洪青标

欢迎联系广告业务!