

# 基于长期实验数据分析的快速诊断检测 与血膜镜检联用在基层疟疾筛查中的应用效果评价

莫嘉延\*, 麦国通, 黄庆超, 欧阳茜, 黄城

(佛山市高明区疾病预防控制中心, 佛山 528500)

**摘要:** **目的** 探讨快速诊断试剂盒 (rapid diagnostic test, RDT) 与血膜镜检联用在基层医疗机构疟疾筛查的应用效能, 提升疟疾诊断的精确性和效率。 **方法** 利用佛山市高明区各医疗机构在 2015—2024 年提交的疟疾确诊病例、疑似病例以及不明原因发热病例的血样本, 分别采取单一血膜镜检、单一 RDT、RDT 与血膜镜检联用 3 种方法进行检测, 基于灵敏度、特异度、假阳性率、假阴性率、阳性预测值和阴性预测值 6 项参数, 评估检测方法的诊断能力, 并对 3 种检测方法的实验数据开展一致性统计学检验。 **结果** RDT 与血膜镜检联用方法的灵敏度、特异度、阳性预测值与阴性预测值皆为最佳, 假阳性率与假阴性率为零, 显著优于单一的 RDT 或血膜镜检。 **结论** RDT 与血膜镜检联用有效结合了血检与 RDT 的优势, 克服了单一检测方法的局限性, 能够显著提高疟疾筛查的效率和准确性, 适合在基层医疗机构推广使用。

**关键词:** 疟疾筛查; RDT; 血膜镜检; 联用; 诊断效果

## 0 引言

疟疾作为一种由寄生虫引起的重点传染病, 长期以来对全球公共卫生构成重大威胁。根据世界卫生组织(WHO)报告, 2023 年全球估计有 2.63 亿例疟疾病例, 导致约 59.7 万人死亡, 大多数病例集中在非洲地区, 自 2020 年以来, 全球疟疾病例数呈现稳步增长的趋势<sup>[1]</sup>。随着中国对第三世界援建项目的不断增加, 以及“一带一路”战略的深入实施, 我国与非洲国家的人员交流日益增多, 境外输入性疟疾已成为我国消除疟疾后阶段的主要公共卫生威胁。2020—2022 年, 广东省的境外输入性疟疾病例数一直位居全国前三, 且呈逐年增高趋势<sup>[2-3]</sup>。高明区 2007 年以来未发现本地疟疾病例, 于 2015 年获国家疟疾消除认证。然而, 多例境外输入性病例表明目前防控工作仍面临严峻挑战。高明区医疗机构的疟疾筛查手段主要为疟原虫血膜镜检(下称血检)和 RDT, 但两者均存在明显局限性<sup>[4]</sup>。本研究借鉴流行病学筛查中有关串联试验的理念, 创新性地将血检及 RDT 两种方法有机串联整合(下称联用方法), 用于疟疾病例的筛查诊断。同时, 对血检、RDT 及联用方法的检测数据进行系统比较, 以评估联用方法的诊断性能, 并探讨其在疟疾诊断领域的潜在应用价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

纳入 2015—2024 年高明区各级医疗机构上报的疟疾确诊、疑似和不明原因发热病例抗凝血血样(统称“三热病例血样”)共 5840 份, 并对病例的基本信息、临床信息、流行病学信息和实验室检测信息进行登记。

血膜染色镜检选用珠海贝索公司出品的吉姆萨染色液, RDT 选用广州万孚公司制造的胶体金试纸条, 均在保质期内。设备为德国蔡司 AxioLabA1 显微镜。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 血检

将三热病例血样制备血膜涂片, 在显微镜下观察, 若发现疟原虫各种形态则判定为阳性; 若未见则为阴性<sup>[5]</sup>。

#### 1.2.2 RDT

将收集的三热病例血样用胶体金试纸检测血样, 依操作说明书加入 5  $\mu$ L 血液和 4 滴裂解液, 15 min 后判读, 检测结果分为恶性疟、非恶性疟、混合感染及阴性<sup>[5]</sup>。

#### 1.2.3 联用方法

结果解读如下, RDT 和血检均阳性: 阳性(疟疾现症感染病例); RDT 和血检均阴性: 阴性(排除病例疟疾感

基金项目: 佛山市卫生健康局医学科研课题(20240100)。

\* 通信作者: 莫嘉延, 副主任技师, 研究方向为微生物检验。E-mail: thomasyen@126.com

染); RDT 阳性、血检阴性: 可疑阳性(复查, 根据检测结果综合判定); RDT 阴性、血检阳性: 可疑阳性(复查, 根据检测结果综合判定)。

### 1.3 阳性标本后续处理

所有检测结果为阳性的血样上送至市级疾控中心开展复核检测, 同时对阳性血样病例开展流行病学个案调查和定期健康随访检测, 以明确诊断。

### 1.4 数据分析和实验诊断效果评价

(1) 数据分析: 利用 Excel 2021 处理实验数据并计算指标; 以 SPSS 21.0 进行一致性分析, 显著性水平设为 0.05。

(2) 方法评估: 利用灵敏度、特异度等 6 项指标, 分析 3 种检测方法的诊断性能; 不同方法之间实验效果指标的比较采用 Fisher 检验进行统计学检验。

(3) 一致性统计学检验。对 3 种检测方法的实验数据开展配对  $\chi^2$  检验 (McNemar 检验) 和一致性 (Kappa 检验) 统计学检验。其中 McNemar 检验  $P > 0.05$  表明两种检测方法无显著性差异。Kappa 检验结果判断如下:  $Kappa \geq 0.75$ , 表明两种方法诊断结果一致性较好;  $0.4 \leq Kappa < 0.75$ , 表明两种方法诊断结果一致性一般;  $Kappa < 0.4$ , 表明两种方法诊断结果一致性较差。

## 2 结果与分析

### 2.1 镜检、RDT 和联用方法的实验诊断效果评价

5840 份病例血样分别开展血检、RDT 和联用方法检测, 发现阳性样本分别为 12、13、10 份, 阳性检出率分别为 0.20%、0.22%、0.17%。联用方法的诊断性能最佳, 灵敏度和特异度等指标均为最高, 假阳性率和假阴性率为零, 且联用方法与血检、RDT 两种单一方法之间的实验效果指标差异有显著的统计学意义 (Fisher<sub>联用 vs. 血检</sub> 的  $P$  值为  $2.05 \times 10^{-14}$ , Fisher<sub>联用 vs. RDT</sub> 的  $P$  值为  $4.11 \times 10^{-14}$ )。其余 2 种检测方法的特异度、阳性预测值均低于联用方法, 存在一定的假阳性, 详见表 1。

表 1 三种方法的实验诊断效果评价指标比较

评价指标	血检	RDT	联用
检查例数	5840	5840	5840
阳性例数	12	13	10
阳性率 /%	0.20	0.22	0.17
灵敏度	100.00	100.00	100.00
特异度	99.97	99.95	100.00
试验效果			
假阳性率	16.67	23.08	0.00
假阴性率	0.00	0.00	0.00
阳性预测值	83.33	76.92	100.00
阴性预测值	100.00	100.00	100.00
统计学检验			
$P_{\text{联用 vs. 血检}}$		$2.05 \times 10^{-14}$	
结果		$4.11 \times 10^{-14}$	

另外, 将 3 种检测方法的实验数据开展 McNemar 检验和 Kappa 检验, 其中联用方法与血检的 McNemar 检验结果 ( $P=1.000$ )、Kappa 检验结果 ( $Kappa=0.869$ ,  $P < 0.001$ ); 联用与 RDT 的 McNemar 检验结果 ( $P=0.625$ )、Kappa 检验结果 ( $Kappa=0.833$ ,  $P < 0.001$ )。上述统计学检验结果表明联用方法与其他 2 种检测方法无明显差别, 且方法诊断结果的一致性较好。

### 2.2 阳性血样病例的复核与排除

所有阳性血样均上送至疾控中心进行疟原虫核酸复核检测, 最终通过流行病学调查、临床症状和市疾控中心复测确认, 10 例疑似病例中确诊疟疾患者 10 人, 含恶性疟 6 人、卵形疟 4 人, 患者均有非洲务工史 (含加纳 3 例, 利比里亚 2 例, 布隆迪、刚果金、喀麦隆、尼日利亚和科特迪瓦各 1 例)。另有 5 例血样可疑阳性的病例未确诊疟疾感染, 血检误判 2 例, 因染色液存放过久导致沉积物增加, 影响观察的准确性; RDT 误判 3 例, 其中 2 例患者有疟疾感染史, 因上呼吸道感染症状前往医疗机构就诊, 自述近期曾有非洲国家务工史, 当地感染后经抗疟治疗痊愈, 血检未发现疟原虫, RDT 检测依旧为阳性; 1 例为老年人, 因低热多天前往医疗机构就诊, 否认发病前有境外国家活动史, 但有类风湿性关节炎基础病史, RDT 呈弱阳性, 但血检未检出疟原虫。

### 2.3 联用方法对判断疟疾病例愈后的评价

针对确诊的 10 例疟疾现症病例, 患者在完成标准化抗疟治疗, 症状基本缓解。出院前采集抗凝血样本进行检测, RDT 结果显示强阳性反应, 显微镜镜检未发现疟原虫, 联用方法结果判定为阴性, 经综合评估, 患者符合出院标准。于出院后第 30 天开展随访, 患者反馈无明显不适症状, 再次采集抗凝血样本进行检测, RDT 阳性程度较以往减弱, 显微镜镜检结果依旧为未检出疟原虫, 联用方法结果持续为阴性。结合上述检测结果, 评估患者血液中的疟原虫已被清除。

## 3 讨论与结论

本次研究收集佛山市高明区有报病资格的各级医疗机构 2015—2024 年上送的三热病例血样分别开展血检、RDT 和 RDT 与血膜镜检联用试验检测, 累计检出阳性血样 15 份, 其中单一血检阳性的 2 份, 单一 RDT 阳性的 3 份, 血检及 RDT 均为阳性 (即联用方法) 的 10 份, 其余均为阴性。3 种检测方法的实验效果指标比较及一致性统计学检验结果表明, 联用方法显著优于单一的 RDT 或血检, 且与上述 2 种单一方法在诊断结果上的一致度较高。由于高明区暂未开展疟原虫核酸检测, 为最大限度确保检测结果的准确性和可靠性, 所有阳性血样及每年 5% 检测

阴性的血样均上送市级疾控中心开展疟原虫核酸复核检测, 其核酸复测结果如下: 每年 5% 检测阴性的血样复测结果均为阴性; 在 15 份检测阳性的血样中, 10 份血样复测结果为阳性, 5 份结果为阴性(其中血检 2 份, RDT 3 份), 通过进一步的流行病学调查, 最终确认 10 例疟疾病例, 5 例疑似病例被排除。

研究结果显示, RDT 法的实验诊断性能较低, 其特异度和阳性预测值均低于其他 2 种方法, 假阳性率高于其他 2 种方法。对检测假阳性情况开展原因分析, 一是 RDT 检测的靶标为恶性疟原虫及疟原虫乳酸脱氢酶(pf-LDH、pan-LDH), 此类抗原可在血样中持续存在<sup>[6]</sup>。有研究表明, 此类抗原可在虫体被清除后长达 23 天被持续检出<sup>[7]</sup>。因此, 既往感染疟疾的病例, 开展 RDT 检测出现假阳性结果的可能性大。二是部分病例由于患有特殊疾病(如类风湿性关节炎), 病例血清里可能存在一定数量甚至大量的内源性干扰物质(如类风湿因子 RF), 上述物质能与 RDT 检测试剂里的 IgG 类抗体非特异性结合, 导致出现假阳性检测结果<sup>[8]</sup>。此外, RDT 检测方法还存在无法对疟原虫血症的感染程度进行量化, 无法对疟原虫进行分型, 难以判断疟疾病例的感染进程及疗效评估等局限性, 且部分 RDT 检测试剂(如仅检测疟原虫组氨酸富集蛋白 2 抗原的 RDT 试剂)对特殊的疟原虫(如 *pfhrp2* 基因缺失疟原虫)常出现假阴性结果<sup>[9]</sup>。因此, RDT 检测需依靠其他方法进行复核, 仅适用于现症病例的筛查, 但不宜用于评估治疗疗效、判定病程进展或确定患者解除隔离及出院的具体时机。

血检法的实验诊断性能介于 RDT 和联用方法之间, 其特异度及阳性预测值较 RDT 有所升高, 但仍存在一定假阳性。假阳性的主要原因与染液质量存在问题密切相关, 虽然血检仍被广泛视为疟疾诊断的“金标准”, 其优势在于能对疟原虫进行分类和计数, 但结果受血膜制作和染色过程影响较大, 需依赖检验人员的专业能力, 具有较高的主观性。此外, 在特定条件下疟原虫可能因形态异常或密度显著降低而难以被准确识别, 从而增加了漏诊或误诊的风险<sup>[10]</sup>。

联用方法的实验诊断性能优于其他 2 种方法, 其筛查的 10 份阳性血样经市疾控复核后全部确认为真阳性(阳性符合率 100%), 筛查结果与市疾控复核结果高度一致。通过配对  $\chi^2$  分析和一致性评估, 联用方法与其他 2 种方法符合度高, 差异不显著。此外, 联用方法在评估病例疗效、判断是否有复发等方面也发挥了一定作用, 一定程度上克服了单一 RDT 检测方法的局限性。由于检测能力和成本的制约, 本次研究并未对所有检测阴性的血样均开展疟原虫核酸复测, 其可能对研究结果的准确性和可靠性产生一

定影响, 从而限制了研究结论的外推性。

高明区至今仍不时报告输入地为非洲国家的疟疾境外输入病例, 叠加高明本地传疟蚊媒(如中华按蚊), 若输入病例或发现不及时则存在疟疾本土再传播的风险。建议基层医疗机构维持高敏感性的疟疾诊断报告意识, 对于具有不明原因发热或伴反复出现寒战、出汗等症状的就诊患者, 应重点关注并详细追溯其外出经历, 同时立即采集血样开展疟疾相关筛查。此外, 基层医疗机构亟需一种快速、简便、检测效率高且精准的筛查方法。

联用方法能最大限度地结合血检和 RDT 两种检测方法的优点, 同时有效弥补了单一检测方法的不足, 做到了取长补短。本研究结果也表明, 较单一血检或 RDT 检测, 联用方法能够进一步提高疟疾筛查的效率和准确性。此外, 联用方法还具备快速、便捷和结果直观等优点, 非常适合基层医疗机构推广使用。

## 参考文献

- [1] WHO. World Malaria Report 2024 [EB/OL]. [2025-02-03]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240104440>.
- [2] 张丽, 丰俊, 涂宏, 等. 2020 年全国疟疾疫情分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2021, 39(2): 195-199.
- [3] 张丽, 易博禹, 夏志贵, 等. 2021 年全国疟疾疫情分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2022, 40(2): 135-139.
- [4] 王加志, 李希尚, 尹授钦, 等. 镜检、抗原检测和核酸检测方法在疟疾诊断中的应用比较[J]. 热带病与寄生虫学, 2020, 18(1): 46-58.
- [5] 莫嘉延, 陈志雄, 黄庆超, 等. RDT 与镜检串联试验在基层医疗机构疟疾诊断中的应用[J]. 中国热带医学, 2018, 18(7): 726-728.
- [6] 吴英松, 董文其, 李明, 等. 恶性疟原虫乳酸脱氢酶单克隆抗体的制备及其鉴定[J]. 中国寄生虫学与寄生虫杂志, 2000, 18(6): 333-335.
- [7] 范志成, 邵英, 夏咏, 等. 快速诊断试剂对恶性疟病例治疗后追踪检测观察[J]. 寄生虫病与感染性疾病, 2012, 10(4): 224-225.
- [8] 病原体特异性 M 型免疫球蛋白定性检测试剂注册审查指导原则(2023 年修订版). [EB/OL]. (2024-01-09) [2025-02-03]. <https://www.cmde.org.cn/flfg/zdzy/zdzywbk/20240109140910140.html>.
- [9] 刘文雄, 莫善颖. 疟疾病原体检测技术的研究进展[J]. 实用检验医师杂志, 2021, 13(4): 250-253.
- [10] BERRY A, FABRE R, BENOIT-VICAL F, *et al.* Contribution of PCR-based methods to diagnosis and management of imported malaria [J]. Médecine Tropicale Revue Du Corps De Santé Colonial, 2005, 65(2): 176-183.