

广东省疾病预防控制中心文件

粤疾控〔2013〕70号

关于印发广东省消除疟疾工作技术规范的通知

各地级以上市疾控中心、佛山市顺德区疾控中心：

为规范我省消除疟疾工作，根据《中国消除疟疾行动计划（2010-2020年）》、《消除疟疾技术方案（2011年版）》、《全国消除疟疾监测方案》和《消除疟疾考核评估方案（2013年版）》以及《广东省消除疟疾实施方案》的精神和要求，现将我省消除疟疾工作的有关技术规范（见附件1-3）印发给你们，请结合实际，认真抓好落实。

特此通知。

附件：1.广东省疟疾诊断实验室规范

2.广东省疟疾疫情管理与处置技术规范（试行）

3.广东省网报疟疾病例标本采集、复核和上报要求



附件 1

广东省疟疾诊断实验室规范

广东省疾病预防控制中心

2013 年 1 月

目 录

总 则

- 一 广东省疟疾诊断实验室网络及各级实验室职能
- 二 市、县（区）级疟疾诊断实验室基本要求
- 三 疟疾诊断实验室质量控制
- 四 疟疾诊断实验室管理
- 五 疟疾诊断实验室技术

附表：1.疟疾疑似病例、临床诊断病例和不明原因发热病人疟原虫血

检登记表

2.疟原虫血片制片染色技术考核评分标准

3.疟原虫血片镜检复核及评分登记表

4.疟原虫血片镜检结果记录评分表

5.疟原虫血片镜检复核统计表

6.滤纸血及静脉血采样登记表

7.疟疾样品交接单

总 则

根据《中国消除疟疾行动计划(2010—2020年)》(卫疾控发〔2010〕47号)、《广东省消除疟疾实施方案》(粤卫发〔2010〕182号)和《消除疟疾技术方案(2011年版)》(中疾控疾发〔2011〕441号),为消除疟疾阶段的疟疾病例确认和病例溯源提供科学依据,必须建立和完善广东省疟疾诊断实验室网络和质量管理体系。为明确各级实验室职责及开展实验室诊断工作所需具备的条件,加强疟疾实验室能力建设,从而充分发挥实验室在疟疾消除工作中应有的作用,特制定广东省疟疾诊断实验室规范。

一、广东省疟疾诊断实验室网络及各级实验室职能

完善的实验室网络及整个网络的有效运行是确保实验室工作顺利开展的关键(见图1),因此要求网络中各级实验室都能有效地发挥各自职能。

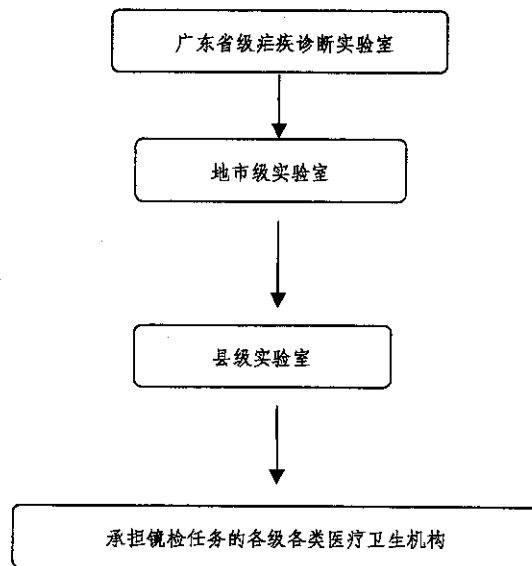


图1 疟疾诊断实验室网络图

各级疟疾诊断实验室的主要职能包括：

（一）省级实验室

省级疾病预防控制机构建立省级疟疾诊断参比实验室，对市和县级实验室开展培训，提供技术支持和指导；对市和县级实验室的镜检能力进行考核评估；对市级和县级实验室的检测结果进行抽样复核；对其它省级实验室的检测结果或感染来源有争议的疟疾病例的标本进行平行检测，并将平行检测结果上报全国疟疾基因信息数据库；开展疟原虫诊断相关新技术及新方法的研究。

（二）市级和县级实验室

市级疾病预防控制机构和县级疾控机构均建立实验室，对辖区内的医疗机构和乡镇卫生院开展培训，提供技术支持和指导；对二类县的乡镇及以上医院、三类县县级及以上医疗机构实验室的镜检能力进行考核评估；并对其检测结果进行抽样复核。

（三）各级各类医疗检测机构

参加市级和县级疾控机构组织的相关镜检技能培训，开展临床“三热”（疟疾疑似、临床诊断、不明原因发热）病人血样（包括滤纸血样和抗凝静脉血）的采集、血片制作与镜检，有条件的医疗机构可开展RDT抗原检测，接受市级和县级疾控机构对镜检质量的考核，配合市级和县级疾控机构完成疟疾血涂片的抽样复核。

二、市、县级疟疾诊断实验室基本要求

各级疟疾诊断实验室要能有效的履行各自的职能，必须具备开展常规检查项目及其它活动的基本条件，包括：人力资源、实验室面积、检验项目所需的设施仪器材料等。

（一）市、县级疟疾实验室人力资源要求

1、人员数量

至少有两人可以专职或兼职开展疟疾诊断相关实验活动，包括染液配

制，血片制作及染色，静脉血及滤纸血的采集，血片镜检等。

2、资质

从事疟疾实验室检测的人员均应接受相关技能培训，掌握检测技术，确保提供准确的检测结果，定期接受上级单位举办的业务培训。一旦发生人员变动，应及时组织对新进人员进行岗前培训。

(二) 实验室面积、设施、设备、材料的基本要求

1、房间及设施

应有独立的房间，面积至少 10 m²，有上下水道及电力供应，通风和照明良好，配备试剂柜、资料柜、实验操作台及镜检台。当不具备独立房间的条件时，也可与其它检验室共用一个房间，但应划分出专属区域。

2、房间布局

应分出血样采集及血涂片制作区、染色区、镜检及记录区。

3、仪器设备

需要常规配置双目光学显微镜，冰箱，玻璃干燥器（用于长期保存血片），定时器，计数器。

4、试剂

吉氏粉、甲醇、甘油、香柏油、二甲苯、蒸馏水、凡士林。

5、耗材

玻片、玻片盒、滴管、有塞玻璃瓶、染色架、染液缸、晾片板、滤纸、擦镜纸、一次性采血针、无水乙醇、75%酒精棉球、消毒干棉球、量筒、废液（物）缸、记号笔、可密封的塑料袋，干燥剂、消毒剂、工作服、手套，洗手液等。

三、疟疾诊断实验室质量控制

为保证实验室检测结果的准确性，各级疟疾诊断实验室应定期对检测机构的镜检质量进行督导，从而确保实验室网络的正常运行。

(一) 承担血检任务的医疗机构须长期保留所有疟原虫镜检血片（包

括阴性血片), 阳性片永久保存, 阴性片不少于 1 年。

(二) 县级疟疾诊断实验室每季度应对承担血检任务的医疗机构开展 1 次督导, 抽取被检查单位近 3 个月的全部阳性血片和 10% 以上的阴性血片进行复核, 同时对抽查血片的制作、染色和清洁度的情况进行考核评分。

(三) 市疟疾诊断实验室负责抽取每县的所有阳性血涂片和不少于 3% 的阴性血涂片进行复核, 一类县每季度 1 次, 二类县每半年 1 次, 三类县每年 1 次, 同样也要对抽查血片的制作、染色和清洁度进行考核评分。

(四) 省级疟疾诊断实验室要抽取各县的所有阳性血涂片和不少于 1% 的阴性血涂片进行复核, 同时对血片制作、染色和清洁度情况进行考核评分。二类县每半年 1 次, 三类县每年 1 次。另外, 省级疟疾诊断参比实验室每年对各市及二类县级疟疾诊断实验室的镜检人员进行一次镜检能力的考核, 方式为被考核人员镜检省级疟疾诊断实验室提供的 10 张不同阴阳性组合的血片并记录镜检结果, 每张血片正确检测为 10 分, 不低于 80 分为合格。

(五) 资料撰写及保存

各级疟疾诊断实验室开展督导工作都要依据疟原虫血片制片染色技术考核评分标准(见附表 2)填写疟原虫血片镜检复核及评分登记表(见附表 3)和疟原虫血片镜检复核统计表(见附表 5), 省级实验室还要填写疟原虫血片镜检结果记录评分表(见附表 4)。

各级实验室督导中应及时与被督导单位反馈发现的问题, 提出整改要求, 并追踪整改落实情况, 督导结束要撰写督导报告, 并与督导过程中所填写的相关表格集中存档备查。

四、疟疾诊断实验室管理

(一) 日常管理

实验人员应做好实验室仪器设备的日常养护及常用试剂耗材的配备。

(二) 血检管理

血检对象必须是“三热”病人，即疟疾疑似病例，疟疾临床诊断病例和不明原因发热病例。

1、登记与结果记录

1.1 当血检对象为疟疾疑似病例、临床诊断病例时，检验人员应根据送检单内容填写血检登记表（见附表1），填写内容要准确，字迹清晰，不得漏项；血检结果需填入血检登记表和送检单中。

1.2 对于不明原因发热的血检病例，登记和结果记录均只填入血检登记表（附表1）中。

2、编号

各县（市、区）自己编号统一，同一病例在送检单、血检登记表、血片、滤纸血、静脉血样上的编号都应该保持一致。

3、血片制作、染色与镜检

血检所用的新、旧玻片都要用洗涤剂处理后再使用；每张血片都统一在右侧编号且每张血片都必须有一个圆形厚血膜和一个舌形薄血膜；血片染色统一用吉氏染液，血片制作后应及时染色镜检；镜检以厚血膜为主，薄血膜仅作虫种鉴别，镜检时要逐个视野顺序查看，以看完整个厚血膜未发现疟原虫者为阴性，阳性血片要查到典型疟原虫方可确诊。

4、静脉血的采集：用于复检及疟原虫资源保存。涂制血片后，立即用EDTA抗凝管（无菌）采集3ml病人的静脉血，静脉血采集进入抗凝真空管后，应立即上下晃动3~5次，混匀，防止血液因混合不均而发生凝集。

5. 滤纸血的采集：用于疟原虫基因检测。将滤纸裁剪成长约6~8cm，宽约2cm的长条，可使用静脉血滴制滤纸血样。将采血针从抗凝真空管中拔出，利用采血针剩余血滴在裁剪好的滤纸上，每张滤纸上滴制2个圆形血斑，血斑直径不小于1.2cm，每个病例滴制滤纸血样2张。

6、血检质量控制

血片质量分别从血片制作、染色和清洁度三个方面按“血片制作、染色和清洁度考核评分标准（附表2）”进行评判，要求血片制作合格率、染色合格率和清洁度合格率均不低于80%。

（三）资料及样品的上送、复核和存放

1、上送与复核

（1）医疗卫生机构：在采样后24小时内，将网报疟疾病例的血片3张、滤纸血样2张、抗凝静脉血1管及疟疾检验采收样登记表（附表6）等相关资料送至县（区）级疾病预防控制中心，填写疟疾样品交接单（附表7）；

（2）县（区）级疾病预防控制中心：收到辖区内医疗卫生机构报送的标本和资料后，进行认真核对和确认，在48小时内将1张血片、2张滤纸血样、1管静脉血及“疟疾检验采收样登记表”复印件等相关资料送至省疾病预防控制中心寄防所实验室，填写疟疾样品交接单；县（区）级疾病预防控制中心在收到辖区内医疗卫生机构报送的标本后，24小时内对血片进行复核并填写“疟原虫血片镜检复核及评分登记表”（附表3）。对网报病例血片进行复核后，留存1张血片，其余的1张血片及“疟原虫血片镜检复核及评分登记表”复印件于3日内送地市级疾病预防控制中心，填写疟疾样品交接单；

（3）地市级疾病预防控制中心：应在收到县（区）级疾病预防控制中心报送的血涂片后，即对血片进行复核，同时填写“疟原虫血片镜检复核及评分登记表”。地市级疾病预防控制中心对网报病例血片进行镜检复核后，将县、地市两级的疟原虫血片镜检复核及评分登记表复印件（每个病例共2份）每月10日前统一送至省疾病预防控制中心寄防所；

（4）省疾病预防控制中心：寄防所在收到网报病例血片后，在1周内进行镜检复核，并将复核结果以书面报告的形式通知送检医疗卫生机构。如果送检血片不合格，难以做出实验室诊断，则用抗凝静脉血另行涂

片镜检。涂片后剩余的抗凝血或未使用的抗凝血转入冻存管-40℃冻存。收到滤纸血后，于25个工作日内进行基因检测，并将检测结果以书面报告的形式通知送检的医疗卫生机构。

2、资料及样品的存放

(1) 资料的保存

各级疾控中心收到相关资料后进行整理，并用资料盒分类存放。

(2) 阳性血片、滤纸血及静脉血的保存

复核前阳性血片存放于玻片盒内，玻片盒表面要有标签注明血片编号的起止号段和采集月份，同一采集地点的阴性血片均按月分类存放，玻片盒置于阴凉干燥处；复核后则需要将阳性血片转入玻璃干燥器或干燥箱内长期保存。在检测前，用密封袋放置的滤纸血样存放于4℃（短时间）或-20℃，检测结束后做好标示，存放于-20℃以下长期保存。血涂片镜检前，静脉血存放于4℃，自采样开始计不超过1周，镜检确认后静脉血装入冻存管，做好标示，-20℃以下长期保存。

(3) 阴性血片的存放与处置

阴性血片应妥善存放一定时间以备抽查复核，标示方法及存放条件同阳性血片。除网报病例的阴性血片要保存至国家复核完再处置外，其它阴性血片均要求保存一年。复核后，应先将血片浸泡于0.5%的84消毒液中2小时，再按照各级各类医疗检测机构中规定的医疗垃圾处理方式进行处置；如需回收玻片，则可将无害化处理过的血片浸泡于煮沸的5%肥皂水1~2小时，逐个擦去玻片上旧的血膜痕迹，用清水漂洗干净，再将玻片擦干擦亮，每10~20张用白纸包好后放入塑料袋内，保存于干燥环境中备用。

五、疟疾诊断实验室技术

为保证疟疾诊断实验室检测结果的准确性，维持疟疾诊断实验室网络的正常运行，必须对诸如染液配制，血片制作及染色，血片镜检，滤纸血

和静脉血的采集等这些疟疾诊断相关的实验活动中涉及的操作技术做出规范。

(一) 血涂片制作技术

1、制片前的准备

(1) 清洁载玻片

玻片在使用前应清洗。新玻片应浸入有液态洗涤剂的水中，15分钟，用干净棉巾逐个擦拭，再放入盛有清水的容器中换水3~4次，最后用干净、柔软的棉巾将玻片擦亮。存放的旧玻片应先浸泡于煮沸的洗衣粉水中1~2小时，再用清水漂洗干净，擦干擦亮备用。

(2) 挑选推玻片：选择边缘光滑的玻片作为推片。

(3) 采血针：使用一次性采血针。

(4) 75%酒精棉球及消毒干棉球：用于采血前后的消毒。

2、采血部位及取血方法

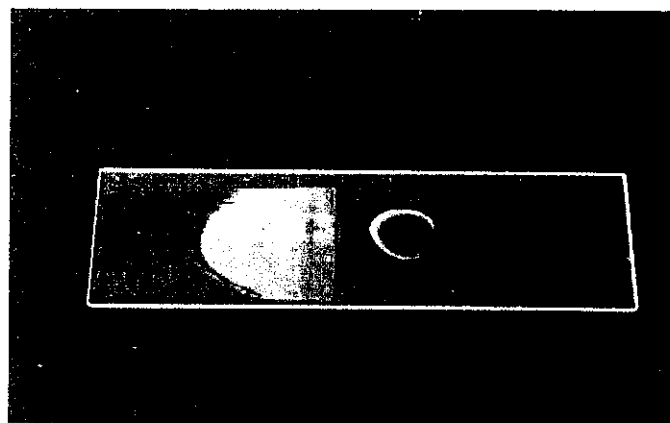
采血部位以耳垂较为合适，也可在手指末端采血，婴儿可从拇趾或足跟取血。先用75%酒精棉球消毒取血部位，待干后，以左手拇指和食指轻轻捻转耳垂边缘或夹住被检者手指尖稍下方，右手持消毒刺针，迅速刺入取血部位1~2mm深，然后用左手大拇指、食指和右手中指协同挤出血滴。

3、涂制血膜

取2张玻片，1张做载片，1张作推片，用右手大拇指和食指夹持推片侧缘中部，用推片的左下角刮取血液4~5 μ l(约火柴头大小)，再用该端中部刮取血液1~1.5 μ l(约米粒大小)。将左下角的血滴涂于载片的中央偏右，由里向外划圈涂成直径为0.8~1cm的圆形厚血膜(厚血膜的厚度以一个油镜视野内可见到5~10个白细胞为宜)。用干棉球抹净角上的血渍，然后将推片下缘平抵载玻片的中线，当血液在载玻片与推片之间向两侧扩展至约2cm宽时，使两玻片保持25°~35°角，从右向左迅速

向前推成舌状薄血膜。推制时速度要均匀，血滴大小、推片与载片之间夹角大小及展开血膜的速度快慢等常影响血膜厚薄。制成薄血膜的红细胞之间应互相接触而不相互重叠。

标准血膜的位置如图2所示：



薄血膜 厚血膜 标记处

图2 标准血膜

4、血膜染色前的处理

待血膜自然干燥后，用甲醇或无水乙醇固定薄血膜并用蒸馏水或清水对厚血膜进行溶血处理，但新制作的厚血膜也可直接染色。血膜放置时间，夏天不宜超过48小时，冬天不宜超过72小时，否则厚血膜会自然固定而不能溶血，影响镜检。不能及时染色的血膜，应先用甲醇固定薄血膜，将厚血膜溶血，晾干后包好，放入干燥器中，置于冰箱内保存。临用时，将干燥器放置室温中1~2小时后取出血片。

(二) 血膜染色技术

目前常用的血膜染剂有吉氏和瑞氏两种，但推荐使用吉氏(Giemsa's)染液。

1、吉氏染液的配制

(1) 材料：吉氏粉 5.0g，甲醇 250ml，甘油 250ml。

(2) 方法：将吉氏粉置于研钵中，加入少量甘油充分研磨，边加边磨，至甘油加完为止，倒入 500ml 有塞玻璃瓶中。在研钵中加入少量甲醇，洗掉剩余部分，倒入瓶内，重复洗涤，直至甲醇洗净研钵为止。塞紧瓶塞，充分摇匀，室温内放置，每天用力摇动溶液 5 分钟，3 天后即可使用。

2、染色用水

通常染液稀释用水和染色冲洗用水，是中性蒸馏水或经煮沸过滤的冷开水，现场也可以用瓶装纯净水。为使血膜着色较好，应用 pH 7.0~7.2 的水效果最佳。

3、染色方法

(1) 单张血膜染色

快染：在量筒内量 2ml 净水（蒸馏水、冷开水或瓶装纯净水），滴加吉氏原液 7 滴，混匀，滴在厚、薄血膜上，染色 10 分钟。慢染：在量筒内量 2ml 净水，再滴加吉氏原液 4 滴，混匀，滴在厚、薄血膜上，染色 30 分钟。清水缓缓冲洗，晾干。滴管吸取原液时，不要晃动瓶子，以免沉淀物泛起影响染色效果。

(2) 成批血膜染色

将已固定薄血膜的血片插入染色缸，倒入 3% 吉氏染液（3ml 吉氏原液加净水 97ml，混匀）浸没血片，染色 30 分钟，然后用清水轻轻将染液漂洗干净，晾干。

(3) 久制血片染色

放置多时未染色的血片（3 天以上，薄血膜已用甲醇固定），染色之前，须在厚血膜上用清水进行溶血，待血膜全部溶解后用 3%~5% 吉氏染液染色 30 分钟，然后用清水漂洗干净，晾干。

4、血片制作与染色注意事项

载玻片必须清洁无油污；固定薄血膜时，甲醇不要触碰到厚血膜；放置 3 天以上的血片，染色之前先用清水滴加在厚血膜上进行溶血，以防厚

血膜染色后颜色发黑，影响镜检；固定时不要加热，加热会使原虫变形，影响判断；血片充分干燥后方可染色，防止冲洗染液时厚血膜脱落；配置母液时过滤可除去杂质颗粒，有助于提高镜检质量。每次染片都应该使用新配制的稀释的染液。

（三）血片显微镜检查技术

镜检用的目镜一般有 $5\times$ 和 $10\times$ 两种，实验人员可根据个人的习惯选择，但物镜必须用油镜（ $100\times$ ）。在染色后的血膜上加一滴香柏油，用光学显微镜观察。镜检以检查厚血膜为主，薄血膜主要用于虫种鉴别。染色较好的血膜，显微镜下红细胞呈淡红色，嗜酸性粒细胞颗粒呈鲜红色，嗜中性粒细胞核呈紫蓝色，淋巴细胞及疟原虫胞浆呈蓝色或淡蓝色，疟原虫核呈红色。如果血片偏红，说明染液偏酸性，如果血片偏蓝，说明染液偏碱性。

镜检时除环状体外，其他各期均可查见疟色素，可根据疟原虫形态确定恶性疟、间日疟、三日疟、卵形疟或混合感染。不同虫种的各期疟原虫镜下形态见下表：

表1 四种疟原虫薄血膜形态鉴别(吉氏染色)

		间日疟原虫	恶性疟原虫	三日疟原虫	卵形疟原虫
被寄生红细胞	大小 形状 颜色 斑点	胀大 褪色 薛氏点出现稍晚, 红色, 细小数多	正常 正常或稍紫 茂氏点红色, 粗大数少	正常或缩小 正常 齐氏点淡红色, 微细	正常或稍胀大 卵圆形或边缘呈伞矢状 褪色 薛氏点出现较早粗大, 数多
小滋养体(环状体)	大小 核 胞浆 色素	较大, 约占红细胞直径的 1/3 1 个 较薄 无	小环状体较小, 约占红细胞直径 1/6, 大环状体与间日疟原虫相似 1 或 2 个 小环状体纤细, 大环状体与间日疟原虫相似 无	中等 1 个 较粗厚 偶见细小褐色颗粒	中等 1 个 较粗厚 无
大滋养体	大小 核 胞浆 色素	较大 多见 1 个 阿米巴样, 常含空泡 黄褐色, 细小, 杆状, 散在分布	较小 1 或 2 个 圆形, 空泡不显著 黄褐色, 细小, 结成团块后, 呈黑褐色	较小 1 个 带状, 空泡不显著 深褐色, 粗大, 沿边缘分布	较小 1 个 圆形, 空泡不显著 棕黄色, 较粗大
未成熟裂殖体	大小 核 胞浆 色素	较大 2 个以上 圆形或不规则, 空泡消失 黄褐色, 分布不匀	较小 2 个以上 圆形, 空泡消失 黑褐色团块状	较小 2 个以上 圆形, 空泡消失 深褐色, 分布不匀	较小 2 个以上 圆形或卵圆形, 空泡消失 棕黄色, 分布不匀
成熟裂殖体	大小 裂殖子 色素	大于正常红细胞 12~24 个, 常为 16~18 个, 排列不规则。 裂殖子较大 黄褐色, 常聚集一侧	小于正常红细胞 8~26 个, 常为 8~18 个, 排列不规则。裂殖子较小, 黑褐色团块	小于正常红细胞 6~12 个, 常为 8 个, 常排列如菊花状。裂殖子较大 深褐色, 常聚集中央	小于正常红细胞 6~14 个, 常为 8 个, 排列不规则。裂殖子较大 棕黄色, 聚集中央或一侧
雌配子体	大小 形状 核 胞浆 色素	大于正常红细胞 圆形 1 个, 较小, 深红色, 位于一侧 深蓝色 黄褐色, 均匀散在	较大 新月形, 两端尖锐 1 个, 较小, 深红色, 位于中央 深蓝色 黑褐色, 紧密分布于核周围	小于正常红细胞 圆形 1 个, 较小, 深红色, 位于一侧 深蓝色 深褐色, 均匀散在	小于正常红细胞 圆形 1 个, 较小, 深红色, 位于一侧 深蓝色 棕黄色, 散在
雄配子体	大小 形状 核 胞浆 色素	大于正常红细胞 圆形 1 个, 较大, 淡红色, 位于中央 浅蓝色 黄褐色, 均匀散在	较大 腊肠形, 两端钝圆 1 个, 较大, 淡红色, 位于中央 浅蓝色或淡红色 黑褐色, 松散分布于核周围	小于正常红细胞 圆形 1 个, 较大, 淡红色, 位于中央 浅蓝色 深褐色, 均匀散在	小于正常红细胞 圆形 1 个, 较大, 淡红色, 位于中央 浅蓝色 棕黄色, 散在

表 2 四种疟原虫厚血膜形态鉴别(吉氏染色)

	间日疟原虫	恶性疟原虫	三日疟原虫	卵形疟原虫
小滋养体 (环状体)	较大。核 1 个, 较大, 胞浆较厚。常呈"! "或", "状	较小。核 1~2 个, 较小, 胞浆纤细。常呈"! "、"飞鸟"、"V"和"断环"状	中等。核 1 个, 较大, 胞浆粗厚。常呈"环状"或"鸟眼"状	大小与间日疟原虫相似, 胞浆致密, 核较大。
大滋养体	较大。呈阿米巴样, 形状不规则。核位于胞浆之中或外边, 胞浆常缩成圆形或断裂成数块。 色素分布不匀	较小。常呈圆形, 色素细小或结成 1~2 个团块	中等。常呈圆形, 色素粗大	大小与间日疟原虫相似, 胞浆呈深蓝色, 核较大
裂殖体	较大。裂殖子 12~24 个。 裂殖子较大	较小。裂殖子 8~26 个。裂殖子较小	较小。6~12 个。裂殖子大于间日疟原虫裂殖体	大小与间日疟原虫相似, 裂殖子 6~14 个, 核较大
配子体	较大。圆形, 色素粗大。雌配子体较大, 核小, 胞浆深蓝色, 雄配子体较小, 核大, 胞浆浅蓝色	雌配子体新月形, 雄配子体腊肠形	与间日疟原虫相似, 但较小。色素较粗大	卵圆形, 大小与间日疟原虫相似, 雌配子体核致密, 偏于一侧, 雄配子体核疏松
色素	黄褐色, 细小。杆状, 或结成粗大颗粒。分布不匀	黄褐色, 颗粒细小, 结成团块后, 呈黑褐色。配子体色素粗大, 分布于核周围	有时小滋养体可见色素, 深褐色, 较粗大。沿边分布	色素颗粒较大, 呈深棕色, 分布弥散
被寄生红细胞	常见红细胞"影子"和薛氏点	可见红细胞"影子"和茂氏点	可见红细胞"影子"	小滋养体时即可见薛氏点
其他	常可查到各阶段的疟原虫	仅见小滋养体(或)和配子体。一般不见大滋养体和裂殖体	常可查到各阶段疟原虫	常可查到各阶段疟原虫

(四) 抗凝静脉血的采集方法

通过无菌静脉采血针穿刺取血, 用 EDTA 抗凝管(无菌)收集 3ml 病人的静脉血, 当血液进入抗凝真空管后, 应立即上下晃动 3~5 次, 混匀, 防止血液因混合不匀而发生凝集。需要涂制血片的静脉血置于 4℃ 冷藏, 不能冻存。长期保存(1 周以上)疟原虫阳性静脉血, 不再用于涂制血片, 置于 -20℃ 以下冻存。

(五) 滤纸血样的采制技术

采血前将洁净的滤纸裁剪成长约 6~8cm, 宽约 2cm 的长条, 并在滤纸条的右边进行编号。

使用外周血滴制滤纸血样: 等血涂片制作结束后, 立即再次挤压病人耳垂或手指, 然后在滤纸条的左边和中间各沾取自然流出的血滴, 保证血斑的直径在 1.2cm 左右, 且能浸透滤纸, 然后, 将滤纸条置于一张洁净玻片上, 等待血斑自然干燥后, 单独装入有干燥剂的小塑料袋中, 置于 4℃。在滤纸条上的血斑未干透之前, 不能与其它滤纸条接触和重叠放置。

使用静脉血滴制滤纸血样: 将采血针从抗凝真空管中拔出, 利用采血针剩余血滴在裁剪好的滤纸上, 每张滤纸上滴制 2 个圆形血斑, 血斑直径不小于 1.2cm, 干燥方法同使用外周血。

标准滤纸血样见图 3:

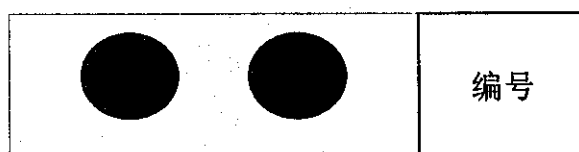


图3 标准滤纸血样

(六) 显微镜的使用、维护和保养

显微镜是疟疾诊断实验室工作中的重要设备, 实验室工作人员应能正确使用并给予日常维护, 以保证其正常工作, 延长使用寿命。

1、使用

双手移动显微镜, 一手托于显微镜底部, 一手握住显微镜臂, 轻放于离工作台边缘 8~10cm 处, 小心操作, 避免撞击; 使用前检查零件是否齐全, 镜头是否清洁; 使用时按低倍、高倍、油镜的顺序转换物镜, 更换血片时则顺序相反。

2、清洁

镜检完毕, 移开物镜头, 取出血片, 用擦镜纸沾少许二甲苯擦拭油镜

头，然后再用干的擦镜纸擦去残存的二甲苯；另取擦镜纸覆盖在滴有香柏油的血片表面，再滴1~2滴二甲苯，使得擦镜纸与血片黏附在一起，通过在血片表面拖动擦镜纸，达到除去香柏油，清洁血片的目的。

3、维护

检查物镜是否擦拭（有的人可能会将显微镜的物镜浸到镜油），显微镜不用时应将物镜转成“八”字形，载物台降至最低点，电光源显微镜使用后应关闭电源，待显微镜灯泡及其周围部分充分冷却后拔除电源线，盖好显微镜。定期检查并除去镜体表面的灰尘；安稳水平放置显微镜，避免振动；不要自行拆开显微镜，避免将可拆卸的目镜或其他光学部件摔落；注意防热、防潮。

一般镜体表面可用柔软的纱布沾少量中性清洁剂擦拭，而目镜内部的镜头或聚光器只能用镜头纸或柔软的干布擦拭，不能使用溶剂，否则镜头会变模糊。物镜也只能用镜头纸或柔软的干布清洁（使用溶剂可能会使粘附镜片的胶溶解）。只有当清洁诸如目镜外部镜头等玻璃部件时，才可以用柔软的纱布沾取少量溶剂（乙醚与乙醇的混合物，体积比为8:2或7:3）擦拭。由于显微镜的部件大多有光学塑料，所以要谨慎使用溶剂。可以用橡皮吸球或柔软的刷子清理灰尘，为避免划痕或留下纤维，只能使用镜头纸或软布清洁光学部分，而不能使用普通纸巾或棉花。不要经常暴露目镜筒内部，如果移去物镜头进行修理或更换，应用厂家提供的塑料塞封住物镜转换器上的孔洞。为避免霉菌生长，可以将显微镜罩好，再将其放在用1~2个40瓦灯泡加热的柜橱内或放置在空气流通处。

4、维修和保养

一般显微镜只能由专业人员拆卸维修，但实验人员可以自行更换破损的灯泡。更换灯泡前，关闭显微镜电源，待显微镜灯泡及其周围部分充分冷却后拔除电源线，然后打开灯泡小室的盖子，将卤素灯泡插脚插入针孔，如果是其他灯泡则旋转入位即可，接着关闭灯泡小室的盖子，插上显微镜

电源试用。

现在许多显微镜装有卤素灯泡（很小但是功率很强），这些卤素灯泡工作时会变得很热，不要用手直接接触，因为在灯泡的工作温度下，即使很少的油脂也会和玻璃起反应，并使灯泡破损。所以，在更换卤素灯泡时，要隔着塑料袋进行操作，当灯泡安装到位后才能除去塑料袋。如果不慎弄脏，应使用纱布浸少许酒精擦拭，并在干燥后安装。

参考资料：

- 1、疟疾防治手册，第3版，卫生部疾病预防控制局编著，人民卫生出版社出版。
- 2、疟疾诊断标准，WS 259—2006，中华人民共和国卫生部发布。

附表 2 疟原虫血片制片染色技术考核评分标准

项目	检查内容	质量标准				
		分值		分值	分值	
血片制作 (80分)	血量 (10分)	4~5 μ l	略多或略少	7	过多或过少	5
	厚血膜 (40分)	玻片右 1/3	稍偏右	7	偏右过多	5
	直径 (10分)	0.8~1.0cm	0.7~0.8 或 1.0~1.2cm	8	<0.7 或 >1.2cm	5
	外观 (10分)	圆形厚膜均匀,边缘整齐	圆形稍不均不整齐	8	厚薄不均影响着色	5
	血量 (10分)	1~1.5 μ l	略多或略少	7	过多或过少	5
	位置 (10分)	玻片 1/2~1/3 处	稍偏右或偏左	7	偏右或偏左过多	5
薄片染色质量 (10分)	直径 (10分)	2.5~2.0cm	稍大或稍小	8	过多或过少	5
	外观 (10分)	舌状厚薄均匀,无划痕	舌状稍不均	8	厚薄不均呈波浪型,有划痕	5
血片清洁度 (10分)	外观 (10分)	厚血膜完整	厚血膜半脱落	5	厚血膜全脱落	2
	外观 (10分)	光洁无油灰	稍有油污	5	油灰粘连	2

附表4 疟原虫血片镜检结果记录评分表

_____地(市)CDC _____县CDC 姓名_____得分_____

血片 编号	定性			定虫种		合计
	阴性	阳性	得分	虫种	得分	
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
总分						

说明：1、显微镜下厚血膜读片顺序为：由上而下，走之字形；
2、每张血片满分10分，定性和定虫种各占5分。

附表7 疟疾样品交接单

以下由交样人填写

检验类别：疾病监测		
检验项目：疟原虫基因检测 <input type="checkbox"/> 疟原虫血涂片检查 <input type="checkbox"/> 其他 <input type="checkbox"/> _____		
样品类别：血球 <input type="checkbox"/> 全血 <input type="checkbox"/> 滤纸血 <input type="checkbox"/> 血涂片 <input type="checkbox"/>		
样品份数：	样品总数量：	
样品状况：	交样前保存条件：	
送检条件：常温 <input type="checkbox"/> 带冰 <input type="checkbox"/> 干冰 <input type="checkbox"/> 其它 <input type="checkbox"/>		
交检单位：		
通信地址：		
交接人：	交接时间：	联系电话：
样品来源地：		
样品附带相关资料：		

以下由样品接收部门填写

接收单位及部门：	
通讯地址：	
接样人：	接样日期：
联系电话：	对样品简单评价：

本表一式两份，交接方和接收方各一份。

附件 2

广东省疟疾疫情管理与处置技术规范（试行）

为加快我省消除疟疾工作进程，指导各地科学、规范地实施消除疟疾工作，确保到 2018 年全省实现消除疟疾的目标，根据《中华人民共和国传染病防治法》、《传染病信息报告管理规范》、《中国消除疟疾行动计划（2010-2020 年）》、和《消除疟疾技术方案（2011 版）》，结合我省实际、特制定本技术规范。

一、目的及主要内容

（一）目的

加强疫情监测，及时发现疟疾病例，规范疫情管理与处置，防止暴发疫情的发生。

（二）主要内容

1. 开展疟疾、疑似疟疾和不明原因发热病人（三热病人）的监测，及时掌握疟疾流行特征及变化趋势。
2. 对疑似疟疾和不明原因发热病人，镜检和 RDT 两项检查中任一项或两项均阳性的病例，以及做一项为可疑阳性的病例，均通过疫情网报告。
3. 疾病预防控制中心对所有网报的疟疾病例进行个案调查和进一步的实验室检测复核（镜检/RDT 和基因检测），依据复核结果作出最终实验室诊断。
4. 规范疟疾病例的治疗及疫点和爆发疫情的调查处置。

二、疫情报告及管理

（一）病例诊断与分类

1. 疑似病例。曾于疟疾传播季节在疟疾流行区住宿、夜间停留或近二周内输血史，具有发冷、发热、出汗等症状，但热型和发作周期不规律者。
2. 临床诊断病例。曾于疟疾传播季节在疟疾流行区住宿、夜间停留或近二周内输血史，典型的临床表现呈周期性发作，每天或隔天或隔

两天发作一次，发作时有发冷、发热、出汗等症状，发作多次后可出现脾大和贫血，重症病例出现昏迷等症状者。或具有发冷、发热、出汗等症状，但热型和发作周期不规律，用抗疟药作假定性治疗，3天内症状得到控制者。

3. 确诊病例。上述疟疾疑似病例或临床诊断病例，经实验室检查(镜检或 RDT 或基因检测)结果阳性的病例。

(二) 病例发现、报告及实验室诊断

1. 主动病例侦查。主动病例侦查由村卫生员及乡镇防保人员承担。对主动侦查中发现的疟疾疑似病例、临床诊断病例及不明原因发热病人，采制血涂片送乡镇卫生院/社区卫生服务中心或县疾病预防控制中心镜检并填写表 1、表 2；有条件的地区可采用快速诊断试剂盒(RDT)进行检测；对初诊确定的疟疾病例以及初步疟原虫检验不能排除疟疾的病例，均采制滤纸血样、抗凝静脉血由县(市、区)级疾病预防控制中心上送省疾病预防控制中心备检。报送参照《广东省疟疾网报病例标本采集、复核及上报要求》执行。

2. 被动病例侦查。被动病例侦查由各级、各类医疗单位、疾病预防控制中心承担。对被动侦查中发现的疟疾疑似病例、临床诊断病例及不明原因发热病人，采制血涂片送乡镇卫生院/社区卫生服务中心或县疾病预防控制中心镜检并填写表 2；有条件的地区可采用快速诊断试剂盒(RDT)进行检测；对初诊确定的疟疾病例以及初步疟原虫检验不能排除疟疾的病例，均采制滤纸血样、抗凝静脉血由县(市、区)级疾病预防控制中心上送省疾病预防控制中心备检。报送参照《广东省疟疾网报病例标本采集、复核及上报要求》执行。

3. 病例报告。责任报告单位和责任报告人，发现疟疾病例以及初步疟原虫检验不能排除疟疾的病例，应按照《中华人民共和国传染病防治法》规定时限内进行报告。

4. 爆发疫情报告。近 3 年无疟疾病例发生的乡(镇)，1 个月内同一行政村发现 5 例及以上当地感染的疟疾病例，或发现输入性恶性疟继发病例；近 3 年有疟疾病例发生的乡(镇)，1 个月内同一行政村发现 10 例及以上当地感染的疟疾病例，或发现 2 例及以上恶性疟死亡病例，应按

《疟疾突发疫情处理预案》相关规定进行报告。

5. 实验室诊断。检验人员应按照《广东省疟疾诊断实验室规范》的要求,对所有诊断为疟疾疑似病例、临床诊断病例采集血样制作血片进行检测,并填写表 2、表 3,所有网报病例需采集滤纸血、抗凝静脉血,收样人应填写疟疾检验采收样登记表,并由县(市、区)级疾病预防控制中心送检省疾病预防控制中心。如报告单位无镜检能力,应在 24 小时内将制作的血片送县(市、区)级疾病预防控制中心,县(市、区)级疾病预防控制中心于 24 小时内完成检测并将结果反馈报告单位。

(三) 疫情核实及处置

县级及县级以上疾病预防控制中心应有专人负责疟疾疫情监测工作,对辖区内所有网报的疟疾病例进行疫情核实。

1. 流行病学个案调查。对发现的疟疾疑似病例、临床诊断病例和确诊疟疾病例,县级疾病预防控制中心负责在 3 日内(按表 3)完成流行病学个案调查,并及时与“疟疾传染病报告卡”相关信息进行核对、修正。

2. 镜检复核。县(区)级疾病预防控制中心收到辖区内医疗卫生机构报送的标本和资料后,在 48 小时内将每份 1 张血片、滤纸血样、静脉血及相关资料送至省疾病预防控制中心寄防所实验室。同时,24 小时内对血片进行复核并反馈结果,每份 1 张血片及相关资料上报地市级疾病预防控制中心。地市级疾病预防控制中心收到报送的血涂片即进行复核,反馈和上报结果。复核和上报具体要求参照《广东省网报疟疾病例标本采集、复核和上报要求》。

3. 基因检测。所有网报的疟疾病例均由省疾病预防控制中心进行基因检测。省疾病预防控制中心在接样后 25 个工作日内完成检测并将结果反馈送样单位。

4. 病例确诊及排除。如实验室检测结果为阳性,由病例报告单位 7 日内在“疾病监测信息报告系统”订正为确诊病例,并于 9 日内将确诊病例个案调查资料录入寄生虫病防治信息管理系统(专报系统),保持大疫情与专报系统信息一致性;如实验室结果为阴性,则由报告单位在 7 日内在“疾病监测信息报告系统”订正排除。病例订正方法见图 1。

5. 病例终审。每季度的第一个月,召开省级专家组例会或寄防所

例会，根据上季度的全省网报病例（包括排除病例）个案调查、镜检/RDT及基因检测结果进行会审，明确病例诊断并在“疾病监测信息报告系统”最终订正。

三、病例治疗及疫点处置

（一）病例治疗

按照《消除疟疾技术方案（2011版）》及其附件1进行疟疾病例治疗管理。实施抗疟疾药物治疗时，须规范开具病人治疗处方。

（二）疫点调查、处置及报告

县级疾病预防控制中心负责在病例报告后1周内按照《消除疟疾技术方案（2011版）》及其附件2、3、4，对疫点进行规范调查与处置。县级疾病预防控制中心在疫点调查与处置工作完成后一周内，将疫点调查与处置情况逐级上报至省疾病预防控制中心，原始记录应妥存备查。

四、质量控制

（一）网络实验室质量控制

省疾病预防控制中心负责对市疾病预防控制中心疟疾实验室进行质量控制，每年采用组合血片对市疾病预防控制中心疟疾实验室进行职能考核。市疾病预防控制中心负责对辖区县（市、区）疾病预防控制中心疟疾实验室进行质量控制，每年采用组合血片对市疾病预防控制中心疟疾实验室进行职能考核。

（二）督导与评估

县（市、区）疾病预防控制中心对承担消除疟疾工作的乡、镇每年至少开展1次工作质量督导评估；市疾病预防控制中心对所辖县（市、区）级疾病预防控制中心至少开展1次工作质量督导评估；省疾病预防控制中心负责组织对市、州及县（市、区）疾病预防控制中心每年进行一次工作督导评估。

五、资料管理

各级疾病预防控制中心应当建立健全资料管理制度，明确专人承担资料管理工作。各级消除疟疾工作的各类资料应收集完整、真实准确、记录清晰，并按要求及时上报；各项工作完成后应及时整理资料，按档案管理要求分类、立卷、归档，妥保备查；电子文档资料信息应及时备份。

表2 “三热”病人血片送检单

二〇一一年 县(市)“三热”病人血片送检

乡(镇)		村		寨(单位)	
户主	姓名	血片号	性别	年龄	
发病日期	发冷、发热、出汗、 ℃	取血日期	初诊		
主要症状	近两年内外出、往返于				
病史: 有、无	年	月	日	假治: 未、已治	
送检日期	送检日期	送检者			
镜检结果					

存根

二〇一一年 县(市)“三热”病人血片送检单

乡(镇)		村		寨(单位)		血片号	
户主	姓名	性别	年龄	发病日期	月	日	
主要症状	发冷、发热、出汗、 ℃	取血日期	月	日	取血者		
初步诊断	疟疾、疑似疟疾、热因不明。						
近两年内外出、往返于	日期	年	月	日至	年	月	日
近两年内病史: 有、无	年	月	日	假性治疗: 未、已治	(氯喹	片伯喹	片)
收检日期	送检日期	送检结果		镜检者			
备注							

二〇一一年 县(市)“三热”病人血片送检

乡(镇)		村		寨(单位)	
户主	姓名	血片号	性别	年龄	
发病日期	发冷、发热、出汗、 ℃	取血日期	初诊		
主要症状	近两年内外出、往返于				
病史: 有、无	年	月	日	假治: 未、已治	
送检日期	送检日期	送检者			
镜检结果					

存根

二〇一一年 县(市)“三热”病人血片送检单

乡(镇)		村		寨(单位)		血片号	
户主	姓名	性别	年龄	发病日期	月	日	
主要症状	发冷、发热、出汗、 ℃	取血日期	月	日	取血者		
初步诊断	疟疾、疑似疟疾、热因不明。						
近两年内外出、往返于	日期	年	月	日至	年	月	日
近两年内病史: 有、无	年	月	日	假性治疗: 未、已治	(氯喹	片伯喹	片)
收检日期	送检日期	送检结果		镜检者			
备注							

表4 疟疾病例流行病学个案调查表

编号 _____

1. 病例基本情况

- 1.1 患者姓名: _____ ; 1.2 户主姓名: _____ ;
1.3 联系电话: _____ ; 1.4 年龄: _____ 周岁;
1.4 性别: ①男 ②女;
1.5 职业: ①幼托儿童 ②散居儿童 ③学生 ④农民 ⑤境外务工人员 ⑥其他;
1.6 文化程度: ①学龄前 ②文盲 ③小学 ④初中 ⑤高中 ⑥大专及以上;
1.7 户籍所在地: _____ 省 _____ 县 _____ 乡镇 _____ 行政村 _____ 自然村;
(如为境外, 填国家或地区名 _____);
1.8 现住址: _____ 省 _____ 县 _____ 乡镇 _____ 行政村 _____ 自然村。

2. 本次发病、诊断和报告情况

- 2.1 主要临床表现(可多选): ①发热 ②发冷 ③出汗 ④头痛 ⑤腹泻 ;
2.2* 有无并发症: ①无 ②有, 如有请填写 2.3 项;
2.3* 主要并发症: ①脑损害 ②胃肠损害 ③休克 ④溶血 ⑤严重的肝肾损害
⑥肺水肿 ⑦严重贫血 ⑧酸中毒 ⑨其他;
2.4 最初发热时间: _____ 年 _____ 月 _____ 日
2.5 发热情况: ①持续发热 ②隔天发热 ③发热间隔时间不规则
2.6 发病地点: _____ 省 _____ 县 _____ 乡镇 _____ 行政村 _____ 自然村; (如为境
外, 填国家或地区名 _____);
2.7* 镜检结果: ①未做 ②阴性 ③间日疟原虫 ④恶性疟原虫 ⑤三日疟原虫 ⑥卵形疟
⑦混合感染;
2.8* RDT 检测结果: ①未做 ②阴性 ③间日疟原虫 ④恶性疟原虫;
2.9* 开展实验室检查单位: _____, 该单位属于: ①个体医生 ②村卫生室 ③乡镇卫生院
④县级医疗机构 ⑤县级疾病预防控制中心 ⑥地市级医疗机构 ⑦地市级疾病预防控制中心
⑧省级医疗机构 ⑨省级疾病预防控制中心⑩其它;
2.7 初次就诊单位: _____, 该单位属于: ①个体医生 ②村卫生室 ③乡镇卫生院
④县级医疗机构⑤县级疾病预防控制中心 ⑥地市级医疗机构 ⑦地市级疾病预防控制中心
⑧省级医疗机构⑨省级疾病预防控制中心 ⑩其它;
2.8 初次就诊时间: _____ 年 _____ 月 _____ 日;
2.9 初次就诊诊断结果: ①疟疾 ②其他疾病;
2.10 做出疟疾诊断的单位: _____, 该单位属于: ①个体医生 ②村卫生室 ③乡镇卫生院
④县级医疗机构 ⑤县级疾病预防控制中心 ⑥地市级医疗机构 ⑦地市级疾病预防控制中心
⑧省级医疗机构 ⑨省级疾病预防控制中心 ⑩其它;
2.11* 病例诊断分类: ①疑似病例 ②临床诊断病例 ③确诊病例 ④带虫者;

2.16* 病例报告时间：_____年_____月_____日；

2.17* 报告单位：_____，该单位属于：

- ①个体医生 ②村卫生室 ③乡镇卫生院 ④县级医疗机构 ⑤县级疾病预防控制中心
⑥地市级医疗机构 ⑦地市级疾病预防控制中心 ⑧省级医疗机构 ⑨省级疾病预防控制中心
⑩其它。

3.本次治疗情况

3.1 服用抗疟药物名称：①氯喹加伯氨喹②青蒿素类复方③青蒿素类注射剂型 ④其他⑤不知道；

3.2 是否住院治疗： ①是 ②否；

3.3 获取药物方式：①村医每天送药②每天从村医处取药③一次性从村医或医院取药④其他方式；

3.4 第一次服药时间：_____年_____月_____日；

3.5 最后一次服药时间：_____年_____月_____日；

3.6 服药天数：_____天。

4.既往病史和治疗情况 (如曾患过疟疾，请填写以下选项)

4.1 上次患疟疾时间：_____年_____月_____日；

4.2 上次抗疟治疗药品：①氯喹加伯氨喹②青蒿素类复方③青蒿素类注射剂型④其他⑤不知道；

4.3 上次使用药物天数：_____天；

4.4 上次是否休根治疗：①是 ②否。

5.感染来源调查

5.1 发病前1月内是否有境外居留史：①是 ②否，如是，请填5.2项

5.2 境外居留地点：_____国家或地区

5.3 发病前2周内是否有境内其他流行区居留史：①是 ②否，如是，请填5.4项

5.4 境内其他流行区居留地点：_____省_____县_____乡镇_____行政村_____自然村

5.5 发病前2周内是否有输血史：①是 ②否

5.6 近1月内家庭成员或来访亲友是否有人发热：①是 ②否

5.7 感染来源分类：①本县感染 ②省内外县感染 ③外省感染 ④境外感染

填表说明：

1. 请在应选项数字处打“√”；
2. 本表编号由县疾病预防控制中心统一编排，仅做为保存和查阅资料使用；
3. “4.1、4.2、4.3、4.4”项中“上次”指本次患病前最近一次患疟疾；
4. 本表中带“*”的选项，调查人员可在有关机构或单位获取相关信息。

调查单位：_____；调查人员：_____；

调查日期：_____年_____月_____日

图1 疟疾网报病例订正流程图

根据实验室检测结果，对网报病例疟疾病例进行订正，操作流程如下：

一、已在大疫情网报告过的疟疾病例

(一) 登陆大疫情网，选择“卡片管理”中“报告卡浏览审核”，找到原始卡片。

(二) 选择需订正的卡片，点击 **订正**，进入订正页面。

(三) 进入订正页面后，根据实验室检测结果对卡片信息进行修订。

1. 实验室检测结果阴性，在疾病名称处进行修报。
2. 实验室检测结果阳性，首先对“病例分类”进行修订。并对“疾病名称”进行分型修订，分型类别为间日疟或恶性疟或未分型。

*医生填卡日期 年 月 日 格式：2003年01月01日

*疾病名称 法定传染病： ▼

其它传染病：

3. 以上信息订正完成，检查无误后，点击 **保存**，即可。

*疾病名称 法定传染病： ▼

其它传染病：

*密切接触者有无
相同症状 0无 1有

备注

录入日期 (填卡时间，取自填卡时的服务器时间)

二、未在大疫情网报告过的疟疾病例，根据实验室检测结果，选择“卡片管理”中“新增报告卡”，将信息规范录入大疫情网。

各级、各类医疗和疾控机构被动侦查“三热”病人

填写《疟疾疑似病例、临床诊断病例和不明原因发热病人疟原虫血检登记表》、《“三热”病人血片送检单》

对“三热”病人制作血片镜检，对“二热”病人采集滤纸血并送县疾控中心

根据行业诊断标准（WS259—2006）

诊断疟疾疑似病例、临床诊断病例、确诊病例

责任报告单位 24 小时内向辖区县疾控中心报告并网络直报、填写传染病报告卡

对诊断疟疾疑似病例、临床诊断病例根据《抗疟药使用原则和用药方案》规范治疗，将治疗情况反馈县疾控中心

县疾控中心接报后 3 日内完成病例核实，之后 24 小时内根据核实结果对大疫情网络直报病例进行后录入专报系统，并向责任报告单位反馈核实结果

疟疾疑似病例、临床诊断病例、确诊病例

县疾控中心接到报告后，应在 24 小时内完成核实、调查、处置，并录入专报系统

县疾控中心接到报告后，应在 24 小时内完成核实、调查、处置，并录入专报系统

省疾控中心负责各地网报病例的基因检测并及时向送样单位反馈结果

省疾控中心在收到网报第一例病例后，应立即启动网络直报

省疾控中心在收到网报第一例病例后，应立即启动网络直报

省疾控中心在收到网报第一例病例后，应立即启动网络直报

省疾控中心在收到网报第一例病例后，应立即启动网络直报

省、市疾控中心负责辖区内疟疾疫情管理与处置质量控制，主要包括疟疾网络实验室质控和疫情管理与调查处置的督导评估等

病例发现报告与治疗 → 病例核实与疫点处置 → 病例终审 → 质量控制

附件 3

广东省网报疟疾病例标本采集、复核和上报要求

为进一步规范我省消除疟疾工作，依据《中国消除疟疾行动计划（2010-2020年）》、《消除疟疾技术方案（2011版）》和国家疟疾诊断参比实验室的相关要求，结合我省消除疟疾工作的实际情况，对我省疟疾网报病例标本的采集、复核和上报特作如下要求。

一、疟疾网报病例标本的采集和保存

（一）标本的采集

医疗或疾控机构发现疟疾病例以及初步疟原虫检验不能排除疟疾的病例时，均需对每例病例采集血片、滤纸血和抗凝血 3 种检测标本。

1. 血片：采集耳垂血制作 3 张镜检血片，每张血片涂制标准厚薄血膜各一个。

2. 静脉血：涂制血片后，立即用 EDTA 抗凝管（无菌）采集 3ml 病人的静脉血，静脉血采集进入抗凝真空管后，应立即上下晃动 3~5 次，混匀，防止血液因混合不匀而发生凝集。（将采血针从抗凝真空管中拔出，利用采血针剩余血制成滤纸血。）

3. 滤纸血：将滤纸裁剪成长约 6~8cm，宽约 2cm 的长条，将采血针从抗凝真空管中拔出，利用采血针剩余血滴在裁剪好的滤纸上，每张滤纸上滴制 2 个圆形血斑，血斑直径不小于 1.2cm，每个病例滴制滤纸血样 2 张。

4. 编号：对采集的 3 张血片、滤纸血样和抗凝血进行编号，3 种标本的编号必须与血检登记表及“三热”病人血片送检单上的编号一致，标本编号按照《广东省疟疾诊断实验室规范》的要求进行。

（二）标本的保存

1. 血片：保存于玻片盒内；
2. 滤纸血：单独装入2层洁净小塑料袋（密封袋）中，两层之间加入干燥剂，置4℃保存
3. 抗凝血：置于4℃冷藏保存，送样前冷藏不超过3日。

二、网报疟疾病例标本上报及血片复核

（一）医疗卫生机构

医疗卫生机构在采样后24小时内，将网报疟疾病例的**血片3张、滤纸血样2张、抗凝静脉血1管、疟疾检验采收样登记表**等相关资料送至县（区）级疾病预防控制中心，**填写疟疾样品交接单**。相关表格见《广东省疟疾诊断实验室规范》。

（二）县(区)级疾病预防控制中心

1. 送样至省疾病预防控制中心：县（区）级疾病预防控制中心收到辖区内医疗卫生机构报送的标本和资料后，进行认真核对和确认，在48小时内将其中的**1张血片、2张滤纸血样、1管静脉血、“疟疾检验采收样登记表”复印件**等相关资料送至省疾病预防控制中心寄防所实验室，**填写疟疾样品交接单**。

2. 网报病例血片的复核：县（区）级疾病预防控制中心应在收到辖区内医疗卫生机构报送的标本和资料后，24小时内对血片进行复核并填写“**疟原虫血片镜检复核及评分登记表**”。

3. 血片标本上报地市级疾控中心：县（区）级疾病预防控制中心对网报病例血片进行复核后，留存1张血片，其余的**1张血片及“疟原虫血片镜检复核及评分登记表”复印件**于3日内送地市级疾病预防控制中心，**填写疟疾样品交接单**。

(三) 地市级疾病预防控制中心

1. 网报病例血片的复核：地市级疾病预防控制中心应在收到县（区）级疾病预防控制中心报送的血涂片后，即对血片进行复核，同时填写“疟原虫血片镜检复核及评分登记表”。

2. 血片复核结果的上报：地市级疾病预防控制中心对网报病例血片进行镜检复核后，将县、地市两级的疟原虫血片镜检复核及评分登记表复印件（每个病例共2份）每月10日前统一送至省疾病预防控制中心寄防所。

(四) 省疾病预防控制中心

1. 网报病例血片的复核：省疾病预防控制中心寄防所在收到网报病例血片后，在1周内进行镜检复核，并将复核结果以书面报告的形式通知送检的当地疾控中心。如果送检血片不合格，难以做出实验室诊断，则用抗凝静脉血另行涂片镜检。涂片后剩余的抗凝血或未使用的抗凝血转入冻存管-40℃冻存。

2. 网报病例 PCR 检测：省疾病预防控制中心寄防所在收到滤纸血后，于25个工作日内进行基因检测，并将检测结果以书面报告的形式通知送检的当地疾控中心。

抄送：省卫生厅疾控处。

广东省疾病预防控制中心办公室

2013年3月25日印发

校对：寄防所 潘波

(共印 35 份)