



中国寄生虫学与寄生虫病杂志

Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases

ISSN 1000-7423, CN 31-1248/R

《中国寄生虫学与寄生虫病杂志》网络首发论文

题目：《利什曼原虫检测涂片镜检法》标准解读
作者：危芙蓉，俞铖航，郑彬，高春花
收稿日期：2024-10-31
网络首发日期：2024-12-17
引用格式：危芙蓉，俞铖航，郑彬，高春花.《利什曼原虫检测涂片镜检法》标准解读[J/OL]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志.
<https://link.cnki.net/urlid/31.1248.r.20241216.1650.002>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

文章编号：1000-7423(2024)-06-0000-00

【标准解读】

《利什曼原虫检测 涂片镜检法》标准解读

危芙蓉，俞铨航，郑彬，高春花*

【摘要】 遵循《卫生标准管理办法》有关规定，按照《标准化工作导则》(GB/T 1.1—2020) 体例，编制了《利什曼原虫检测 涂片镜检法》(WS/T 10018—2024)。该标准由 8 章组成，包括范围、规范性引用文件、术语和定义、仪器设备、试剂或材料、检测步骤、结果判定和废弃物处理；另附有 4 个资料性附录（3 个检测方法、试剂配制）。该标准由国家疾病预防控制局发布（国疾控通〔2024〕1 号）通告，将于 2025 年 3 月 1 日正式实施。该标准为各级医疗机构和疾病预防控制机构规范开展涂片镜检利什曼原虫提供了技术依据。本文结合我国目前内脏利什曼病的流行情况，对该标准的主要内容进行了解读，以促进该标准的宣传贯彻和实施。

【关键词】 利什曼病；利什曼原虫；涂片镜检；标准

中图分类号：R531.6

文献标识码：A

Interpretation of criteria for *Detection of Leishmania - Smear Microscopy Examination*

WEI Furong, YU Chenghang, ZHENG Bin, GAO Chunhua*

National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention; Chinese Center for Tropical Diseases Research; National Key Laboratory of Intelligent Tracking and Forecasting for Infectious Diseases; Key Laboratory on Parasite and Vector Biology, Ministry of Health; WHO Collaborating Centre for Tropical Diseases; National Center for International Research on Tropical Diseases, Ministry of Science and Technology, Shanghai 200025, China

【Abstract】 In accordance with the *Management Measures for Health Criteria* and GB/T 1.1—2020 *Standardization Work Guidelines*, *Detection of Leishmania - Smear Microscopic Examination* (WS/T 10018—2024) (referred to as the Criteria) was compiled. The Criteria consists of eight chapters, including “the range of application”, “normative references”, “terms and definitions”, “instruments and equipment”, “reagent or materials”, “detection steps”, “result determination”, and “waste disposal”, attached with four informative appendices (three detection methods, reagent preparation). The Criteria was issued by the National Disease Control and Prevention Administration (National Center for Disease Control Circular [2024] No. 1) and will be formally implemented at start on March 1, 2025. The Criteria provides technical guideline specifications for smear microscopy in detecting *Leishmania* in medical institutions and disease prevention and control institutions. Combined with the current endemic situation of kala-azar in China, this paper interprets the main content of the Criteria to promote the publicity and implementation.

【Keywords】 Leishmaniasis; *Leishmania*; Smear microscopic examination; Criteria

Supported by Three-Year Initiative Plan for Strengthening Public Health System Construction in Shanghai (2023–2025) Key Discipline Project (GWVI-11.1-12)

* Corresponding author, E-mail: gaoch@nipd.chinacdc.cn

利什曼原虫感染可致人内脏利什曼病（又称黑热病）、皮肤利什曼病和黏膜皮肤利什曼病。利什

曼病广泛流行于热带、亚热带和地中海盆地等 98 个国家，约有 3.5 亿人受到该病的威胁，导致严重

基金项目：“上海市加强公共卫生体系建设三年行动计划（2023—2025 年）重点学科项目（GWVI-11.1-12）”

作者单位：中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所（国家热带病研究中心），传染病溯源预警与智能决策全国重点实验室，国家卫生健康委员会寄生虫病原与媒介生物学重点实验室，世界卫生组织热带病合作中心，科技部国家级热带病国际研究中心，上海 200025

作者简介：危芙蓉（1985—），女，博士，副研究员，从事寄生虫病预防及控制研究。E-mail: weifr@nipd.chinacdc.cn

* 通信作者，高春花（1976—），女，硕士，研究员，从事寄生虫病预防及控制研究。E-mail: gaoch@nipd.chinacdc.cn

的公共卫生问题^[1]。其中内脏利什曼病可导致严重系统性疾病，主要症状有长期不规则发热、肝脾和淋巴结肿大、全血细胞减少性贫血，患者若不加以适当治疗，大都在发病后 1~2 年内合并其他疾病而死亡^[2]。内脏利什曼病在全球 60 多个国家流行。据估计，内脏利什曼病每年新发病例数为 20 万~40 万，约 5 万人死亡，病死率和发病率分别位列全球热带病的第 2 位和第 4 位，疾病负担为 235.7 万伤残调整寿命年^[3-6]。20 世纪 90 年代内脏利什曼病流行或散发于我国西部 6 个省（自治区）的 43 个流行县。进入 21 世纪，我国内脏利什曼病流行区已扩展到（新疆、甘肃、四川、陕西、山西、内蒙古、河南、河北）8 个省（自治区）的 83 个流行县^[7]，时有暴发^[8]。近年来，我国中部包括山西、河南、河北、陕西等省山丘地带报告的犬源型内脏利什曼病例数快速上升，复燃区（县）不断增多，而且随着人口流动的加剧，输入性利什曼病有增多之势^[9-12]。

利什曼原虫镜检是诊断利什曼病的金标准。2006 年中华人民共和国卫生部发布《黑热病诊断标准》（WS 258—2006），该标准对“病原学检查”的操作方法和结果判定进行了规范，该标准只涉及内脏利什曼病患者的病原学检查，而未涉及皮肤利什曼病和黏膜皮肤利什曼病患者的病原学检查。世界卫生组织操作手册对利什曼原虫镜检检查作了指引^[6]。但目前国内外尚无统一的利什曼原虫显微镜检测的技术规范，各级疾病预防控制机构和医疗机构常规检测中因无规范可依而导致操作技术不规范，常引起漏检、误诊误治^[13-16]，因此制定利什曼原虫显微镜检测的标准及操作规范十分必要。

1 标准的编制

受国家卫生健康委员会法规司委托，由来自中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控所（国家热带病研究中心）、首都医科大学附属北京友谊医院、四川省疾病预防控制中心、浙江省疾病预防控制中心、上海交通大学医学院附属瑞金医院等单位的有关专家组成了标准编制工作组。工作组对国内外利什曼病流行现状及利什曼原虫显微镜检测技术现状进行认真调研，学习与研究了标准制订的相关文件与要求，参阅了有关专业文献资料，进行归纳、分析与概括，按照《卫生标准管理办法》，采用《标准化工作导则》（GB/T 1.1—2020）的体例，形成《利什曼原虫检测 涂片镜检法》标准征求意见稿、编制说明和有关附件。在此基础上，工作组

广泛征询了全国各有关医疗机构、疾控机构、医学院校、科研院所等单位相关知名专家的意见，并对反馈意见进行深入讨论、反复修订和完善后形成送审稿。国家卫生健康标准委员会寄生虫病标准专业委员会会审，认为该标准符合科学性、实用性、完整性和准确性等要求并提出了修改意见。工作组均予采纳和修改，形成了标准报批稿。报国家卫生健康标准委员会寄生虫病标准专业委员会进行审批，并在国家卫生标准网公示，广泛征集意见和建议。国家疾病预防控制局发布（国疾控通〔2024〕1 号）通告，决定于 2025 年 3 月 1 日正式实施该标准。

该标准为全国各级医疗机构和疾病预防控制机构涂片镜检法检测利什曼原虫提供了切实可行的技术规范，对于提高利什曼原虫检出率、减少误诊漏诊，有效诊治利什曼病具有重要意义。

2 重要指标的制定依据

本标准在制定过程中采用查询文献资料、现场调研、多方验证、总结以往经验等方式，并广泛征求各领域检验检验、临床诊治、疾病防控等专家的意见进行制定，确保标准的实用性和科学性。主要依据为《黑热病诊断标准》（WS 258—2006），柴君杰、管立人主编的《新疆维吾尔自治区的利什曼病与白蛉》（2006），世界卫生组织操作手册《Manual on Visceral Leishmaniasis Control》（2010），世界卫生组织系列技术报告《Technical Report Series The Leishmaniasis》（1984）和万学红、卢雪峰主编的《诊断学》（2018）。

3 标准正文内容

《利什曼原虫检测 涂片镜检法》由 8 章组成。明确了标准适用范围和规范性引用文件，释义了有关术语和定义，列举了仪器设备和试剂或材料，规范了检测步骤、结果判定和废弃物处理，现分解简述如下。

3.1 适用范围

依据利什曼病流行现状及利什曼原虫显微镜检测技术特点，明确规定了本标准适用于各级疾病预防控制机构和医疗机构对人体利什曼原虫涂片显微镜检测。

3.2 规范性引用文件

本标准对现行标准中已有的规定，且这些规定适用于本标准的，采取引用文件的方法，不抄录重复的内容。标准正文中出现的规范性要素所引用文

件标准为《病原微生物实验室生物安全通用准则》(WS 233—2017)。

3.3 术语和定义

明确了利什曼原虫、利什曼原虫无鞭毛体、骨髓涂片和皮肤组织液涂片的定义并做出解释。

3.3.1 利什曼原虫 一类可以引起利什曼病的寄生性的单细胞真核生物。不同种利什曼原虫感染可导致人内脏利什曼病 (visceral leishmaniasis) 或称黑热病 (kala-azar)、皮肤利什曼病 (cutaneous leishmaniasis) 或黏膜皮肤利什曼病 (mucocutaneous leishmaniasis)。

3.3.2 利什曼原虫无鞭毛体 寄生于人体和哺乳动物单核巨噬细胞内的利什曼原虫,其鞭毛萎缩而不可见,虫体呈圆形或卵圆形,无运动能力。

3.3.3 骨髓涂片 骨髓穿刺液涂于载玻片上制成的涂片。

3.3.4 皮肤组织液涂片 皮肤组织液涂于载玻片上制成的涂片。

3.4 仪器设备

列举了本标准中需要的仪器设备,包括光学显微镜 (100×油浸物镜、10×目镜)、涂片染色架、涂片干燥架、染色盘和医疗污物桶。

3.5 试剂或材料

列举了本标准中需要的试剂或材料,包括吉氏粉、瑞氏粉、pH7.2 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer saline, PBS)、甲醇 (分析纯)、专用浸油或香柏油 (折射率 ≥ 1.5)、二甲苯 (分析纯) 和载玻片 (无划痕无油污的洁净载玻片)。

3.6 检测步骤

利什曼原虫显微镜检测步骤是该标准的核心内容。包括骨髓涂片和皮肤组织液涂片的制作、染色液的配制、涂片染色和镜检。

3.6.1 涂片的制作 标准阐明了骨髓涂片和皮肤组织液涂片的具体制作过程和步骤。

3.6.1.1 编号 取 3 张洁净载玻片,分别在每张玻片一侧标注编号。

3.6.1.2 骨髓涂片的制作 对于疑似内脏利什曼病患者,采用骨髓穿刺方法采集骨髓。立即在距离每张载玻片编号端 1/3 处滴加约 20 μl 骨髓穿刺液,另取 1 张边缘光滑的载玻片作为推片,将推片下缘平抵骨髓穿刺液前侧,当骨髓穿刺液在载玻片与推片之间向两侧扩展至约 2 cm 宽时,使 2 张玻片保持 25°~35°角,从编号端向另一端迅速推成舌状涂片 (见附录 A)。室温干燥。

3.6.1.3 皮肤组织液涂片的制作 对于疑似皮肤利

什曼病患者,在皮肤结节边缘或者皮肤溃疡处吸取或刮取组织液,置于载玻片上 (每张载玻片 5~20 μl),按骨髓涂片推片方法制作涂片。室温干燥。

3.6.2 染色液的配制 吉氏染液的配制和瑞氏染液的配制,按照附录 B 操作。

3.6.3 涂片染色 用吉氏染液或瑞氏染液染色,染色方法和涂片保存,按照附录 C 操作。

3.6.4 镜检 在染色晾干后的涂片上加 1 滴专用浸油或香柏油,在光学显微镜 (100×油浸物镜、10×目镜) 下检查。

3.7 结果判定

标准中规定了利什曼原虫显微镜检测的结果判定。

3.7.1 利什曼原虫检测阳性 涂片中查到利什曼原虫无鞭毛体,该涂片判定为阳性 (见附录 D)。

3.7.2 利什曼原虫检测阴性 观察 1 000 个以上视野而没有发现利什曼原虫无鞭毛体,该涂片判定为阴性。

3.8 废弃物处理

标准规定所有样品、洗涤液和各种废弃物均应按照《病原微生物实验室生物安全通用准则》(WS 233—2017) 的规定进行处理。

4 标准附录内容

该标准附有 4 个资料性附录,对标准予以充分的说明补充。

4.1 附录 A

为涂片的制作方法示意图,直观地呈现骨髓涂片和皮肤组织液涂片的制作过程。

4.2 附录 B

为染液的配制,详细阐明了吉氏染液的配制和瑞氏染液的配制方法和步骤。可购买商品化吉氏染液和瑞氏染液。

4.3 附录 C

为染色方法和涂片保存,阐明了吉氏染液或瑞氏染液染色方法和涂片保存及注意事项。

4.4 附录 D

为利什曼原虫无鞭毛体形态及其与荚膜组织胞浆菌的鉴别,介绍了利什曼原虫无鞭毛体与荚膜组织胞浆菌的显微镜下形态鉴别诊断要点。

5 标准施行和宣传贯彻重点

目前我国 15 个省 (自治区、直辖市) 存在利什曼病流行,非流行区的医疗机构和疾病预防控制中心专业人员对利什曼病少有接触、了解较少,导

致该病常被忽视。利什曼原虫镜检是诊断利什曼病的金标准,但镜检法对检验人员的专业性和经验有较高的要求。随着人口流动加剧,输入性病例不断增多,常因误诊而给患者造成极大经济负担和健康伤害。因此,急需加强对黑热病非流行区医疗机构和疾病预防控制中心专业人员《利什曼原虫检测涂片镜检法》(WS/T 10018—2024)的宣贯培训工作,促进相关人员通过反复练习,掌握涂片的制作方法,提升利什曼原虫无鞭毛体形态学鉴定的技能。各级疾病预防控制中心和医疗机构按技术规范,采取正确的操作方法,提高利什曼原虫的检出率,提升利什曼病患者诊断治疗的及时率,进而避免误诊误治和并发症的发生,达到减轻患者痛苦和降低医疗费用的目的。该规范的宣贯培训具有明显的社会效益和经济效益。

伦理批准和患者知情同意 不涉及伦理批准和患者知情同意。

出版授权 作者同意以纸质版和网络版的形式同时出版。

数据和材料的可及性 本研究中的相关材料,如有需要,请与高春花联系。

利益冲突 作者声明无利益冲突。

作者贡献 危芙蓉和俞铨航完成论文的撰写和修改,郑彬和高春花完成论文的审核。

参 考 文 献

- [1] Akhoundi M, Downing T, Votýpka J, et al. *Leishmania* infections: molecular targets and diagnosis [J]. *Mol Aspects Med*, 2017, 57: 1-29.
- [2] Chufal SS, Pant P, Chachra U, et al. Role of haematological changes in predicting occurrence of leishmaniasis- a study in kumaon region of uttarakhand [J]. *J Clin Diagn Res*, 2016, 10 (5): EC39-EC43.
- [3] Alvar J, Vélez ID, Bern C, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence [J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e35671.
- [4] Zijlstra EE. Visceral leishmaniasis: a forgotten epidemic [J]. *Arch Dis Child*, 2016, 101(6): 561-567.
- [5] Ready PD. Epidemiology of visceral leishmaniasis [J]. *Clin Epidemiol*, 2014, 6: 147-154.
- [6] World Health Organization. Control of the leishmaniases. Report of a meeting of the WHO expert committee on the control of leishmaniasis [R]. Geneva: WHO, 2010.
- [7] Wang JY, Cui G, Chen HT, et al. Current epidemiological profile and features of visceral leishmaniasis in people's republic of China [J]. *Parasit Vectors*, 2012, 5: 31.
- [8] Wang JY, Gao CH, Yang YT, et al. An outbreak of the desert sub-type of zoonotic visceral leishmaniasis in Jiashi, Xinjiang Uygur Autonomous Region, People's Republic of China [J]. *Parasitol Int*, 2010, 59(3): 331-337.
- [9] Zhou ZB, Li YY, Zhang Y, et al. Prevalence of visceral leishmaniasis in China in 2018 [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2020, 38(2): 175-180, 187. (in Chinese)
(周正斌, 李元元, 张仪, 等. 2018 年全国内脏利什曼病疫情分析 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2020, 38(2): 175-180, 187.)
- [10] Zhou ZB, Li YY, Zhang Y, et al. Prevalence of visceral leishmaniasis in China in 2019 [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2020, 38(5): 602-607. (in Chinese)
(周正斌, 李元元, 张仪, 等. 2019 年我国内脏利什曼病疫情分析 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2020, 38(5): 602-607.)
- [11] Li YY, Zhou ZB, Yang LM, et al. Epidemiological characteristics of visceral leishmaniasis in China in 2022 [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2023, 41(6): 669-676. (in Chinese)
(李元元, 周正斌, 杨丽敏, 等. 2022 年全国内脏利什曼病疫情特征分析 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2023, 41 (6): 669-676.)
- [12] Zhou ZB, Li YY, Li ZQ, et al. Prevalence of visceral leishmaniasis in China in 2023 [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2024, 42(5): 559-565. (in Chinese)
(周正斌, 李元元, 李中秋, 等. 2023 年我国内脏利什曼病疫情分析 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2024, 42(5): 559-565.)
- [13] Zhao YN, Wang L, Li XL. Analysis of 2 children with kala-azar misdiagnosed as hemophagocytic syndrome [J]. *Clin Focus*, 2023, 38(8): 722-725. (in Chinese)
(赵雅男, 王丽, 李晓雷. 儿童黑热病误诊为嗜血细胞综合征 2 例原因分析 [J]. *临床荟萃*, 2023, 38(8): 722-725.)
- [14] Jia XX, Deng CQ. A case of visceral leishmaniasis misdiagnosed as liver cirrhosis induced by hepatitis C [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2023, 41(6): 776-779. (in Chinese)
(贾晓霞, 邓春青. 误诊为丙型病毒性肝炎肝硬化的内脏利什曼病 1 例 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2023, 41 (6): 776-779.)
- [15] Jia ZZ, Liu HY, Jiang Q, et al. A case of visceral leishmaniasis misdiagnosed as a hematological disorder [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2023, 41(2): 257-259. (in Chinese)
(贾枕枕, 刘洪英, 江琦, 等. 误诊为血液病的内脏利什曼病 1 例 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2023, 41(2): 257-259.)
- [16] Fu ZJ, Ruan W, Zhu HB, et al. Analysis of 4 imported cases of kala-azar that were previously misdiagnosed [J]. *J Pathog Biol*, 2021, 16(5): 567-569. (in Chinese)
(傅正军, 阮卫, 朱海博, 等. 青田县 4 例输入性黑热病误诊分析 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2021, 16(5): 567-569.)

收稿日期: 2024-10-31 修回日期: 2024-11-26 本文编辑: 陈勤