

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 10029—2025

疟原虫检测 免疫层析法

Detection of *Plasmodium* spp.
Immune-chromatographic test

2025-10-31 发布

2026-03-01 实施

国家疾病预防控制局 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由国家疾病预防控制标准委员会寄生虫病标准专业委员会提出，国家疾病预防控制局归口。

本文件起草单位：江苏省寄生虫病防治研究所、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）、安徽省疾病预防控制中心、浙江省疾病预防控制中心、河南省疾病预防控制中心、贵州省疾病预防控制中心、首都医科大学附属北京友谊医院、南京医科大学第二附属医院。

本文件主要起草人：曹俊、夏志贵、郑彬、李卫东、姚立农、张红卫、卢丽丹、邹洋、朱叶飞、朱国鼎。

疟原虫检测 免疫层析法

1 范围

本文件规定了用免疫层析法检测人体血液样本中疟原虫抗原的技术规范。
本文件适用于各级医疗机构和疾病预防控制机构。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

WS 233 病原微生物实验室生物安全通用准则

WS 259 疟疾的诊断

WS/T 661 静脉血液标本采集指南

3 术语和定义

WS 259界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

疟原虫抗原 *Plasmodium antigen*

疟原虫产生的特异性抗原，可与相应抗体特异性结合的蛋白性成分。

注：主要包括富组氨酸蛋白、乳酸脱氢酶和醛缩酶等（见附录A）。

3.2

泛种疟原虫抗原 *pan-species Plasmodium antigen*

人体疟原虫共有的属特异性保守程度较高的抗原。

注：主要包括乳酸脱氢酶和醛缩酶（见附录A）。

3.3

快速诊断试纸条 *rapid diagnostic test; RDT*

应用免疫层析法的原理，快速定性检测样本中疟原虫抗原的试纸。

注：一般装载于条卡型或板型外壳中。

4 原理

免疫层析法检测疟原虫抗原的原理是将疟原虫特异的抗体先固定于硝酸纤维素膜的检测区带，当干燥的硝酸纤维素膜一端接触样本后，由于毛细管作用，样本将沿着该膜向前移动，当移动至固定有抗体的区域时，样本中相应的抗原即与该抗体发生特异性结合，用免疫胶体金或免疫酶染色可使该区域显示一定的颜色，从而实现特异性的疟原虫抗原免疫学检测。

5 样本检测

5.1 快速诊断试纸条的制备

包括样品垫、结合垫、检测线及质控线的制备、试纸条的组装与包装、裂解液的制备等步骤（见附录B）。

5.2 快速诊断试纸条成品的选择

疟疾快速诊断试纸条商业化成品的选用，应遵守《医疗器械监督管理条例》的规定，选择取得国家药品监督管理局发放的医疗器械注册证的产品，并根据被检样本来源地疟疾流行虫种选择合适的快速诊断试纸条。

5.3 样本的采集和保存

采集末梢血或静脉全血。核对信息后，消毒采血部位，待完全干燥后，用采血针扎刺取末梢血，婴儿可从拇指或足跟扎刺，弃去首滴血；按照WS/T 661，使用抗凝采血管收集静脉全血，并标记患者及检测项目信息。

末梢血采集后应立即检测。静脉全血样本采集后如不立即进行检测，应置于2℃~8℃保存，如需长时间保存应置-20℃或更低温度冷冻保存，检测前恢复至室温后充分混匀，避免反复冻融。

5.4 检测

5.4.1 取出快速诊断试纸条，如低温保存检测前应先恢复至室温后再打开包装。

5.4.2 用一次性吸管或毛细管等其它取血工具取一定量的血液（通常为5 μL）。

5.4.3 将血液样本垂直滴加于加样孔中。

5.4.4 垂直滴加2至4滴裂解液于加裂解液孔中。

5.4.5 在快速诊断试纸条空白处记录时间，或设置计时器。

5.4.6 在规定的时间范围读取结果（通常为15 min~20 min）。

5.4.7 记录检测结果。

5.5 生物安全防护

按照WS 233的规定，在不低于BSL-2生物安全防护水平的实验室进行检测，并采取防护措施。

6 结果判定（按附录C）

6.1 阳性

快速诊断试纸条的检测区和质控区都出现反应色带。

6.2 感染虫种判定

6.2.1 通则

根据不同类型产品的检测结果判定感染虫种。

6.2.2 泛种疟原虫检测快速诊断试纸条

检测区出现泛种疟原虫检测线，提示感染疟原虫。

6.2.3 恶性疟原虫检测快速诊断试纸条

检测区出现恶性疟原虫检测线，提示感染恶性疟原虫。

6.2.4 恶性疟原虫和泛种疟原虫组合检测快速诊断试纸条

检测区单独出现恶性疟原虫检测线，提示感染恶性疟原虫，排除混合感染其它疟原虫。

检测区单独出现泛种疟原虫检测线，提示感染非恶性疟原虫，不排除混合感染。

检测区同时出现恶性疟原虫检测线和泛种疟原虫检测线，提示感染恶性疟原虫，不排除混合感染其它疟原虫。

6.2.5 恶性疟原虫和间日疟原虫组合检测快速诊断试纸条

检测区单独出现恶性疟原虫检测线，提示感染恶性疟原虫，排除混合感染间日疟原虫。

检测区单独出现间日疟原虫检测线，提示感染间日疟原虫，排除混合感染恶性疟原虫。

检测区同时出现恶性疟原虫检测线和间日疟原虫检测线，提示混合感染恶性疟原虫和间日疟原虫。

6.3 阴性

检测区不出现色带，仅质控区出现色带。

6.4 无效

质控区未出现反应色带。

附录 A
(资料性)
疟原虫抗原

A.1 富组氨酸蛋白 (HRP)

仅由恶性疟原虫产生，以此为目的抗原的试纸条仅用于恶性疟的诊断。

恶性疟原虫富组氨酸蛋白 (*Pf*-HRP2或*Pf*-HRP3) 是高度特异的可溶性抗原，在感染患者的血液和其它体液中广泛存在，用作试纸条目的抗原时敏感性较高。此类试纸条宜作为诊断恶性疟的首选试纸条。使用时注意：

——患者接受抗疟治疗后，富组氨酸蛋白在患者体内原虫清除后还能持续存在较长时间，导致检测结果出现假阳性；

——部分恶性疟原虫虫株可缺失HRP2和HRP3基因，可导致检测结果出现假阴性。

A.2 疟原虫乳酸脱氢酶 (pLDH)

A.2.1 概述

乳酸脱氢酶是疟原虫体内产能所必需的代谢酶，在所有人体疟原虫中共有，部分序列具有种特异性。以此为目的抗原的试纸条可用于泛种人体疟原虫的检测和恶性疟原虫及间日疟原虫的特异性检测。有效抗疟治疗后，血液中pLDH抗原清除较HRP更快，因此pLDH抗原血症与疟原虫血症的相关性比HRP更好。

A.2.2 恶性疟原虫乳酸脱氢酶 (*Pf*-LDH)

Pf-LDH为恶性疟原虫特异性抗原，可用于检测恶性疟原虫，但敏感性通常不如*Pf*-HRP2。

A.2.3 间日疟原虫乳酸脱氢酶 (*Pv*-LDH)

Pv-LDH为间日疟原虫特异性抗原，可用于检测间日疟原虫。

A.2.4 泛种疟原虫乳酸脱氢酶 (pan-LDH)

Pan-LDH具有泛种特异性，与其它物种及人体乳酸脱氢酶具有明显的结构差异，用于疟原虫检测特异性高。使用时应注意：

——对三日疟原虫或卵形疟原虫感染者，检测敏感性较差；

——对无症状或轻度感染者，检测敏感性较差。

A.3 疟原虫醛缩酶 (Aldolase)

疟原虫醛缩酶是糖酵解途径中的一个关键酶，在所有人体疟原虫中共有，属特异性保守程度高，与宿主醛缩酶序列高度差异，以此为目的抗原的试纸条可用于所有人体疟原虫的检测，但检测敏感性较差。

附录 B

(资料性)

快速诊断试纸条的制备（以免疫胶体金标记为例）

B.1 仪器设备

- B.1.1 高速冷冻离心机：离心力不低于10000 g 。
- B.1.2 喷膜仪：有划膜和喷金功能，喷量精度0.1 μL 。

B.2 试剂和耗材

- B.2.1 抗疟原虫抗体。
- B.2.2 兔IgG或鼠IgG。
- B.2.3 羊抗兔IgG或羊抗鼠IgG。
- B.2.4 胶体金。
- B.2.5 牛血清白蛋白（BSA）：5%~10%。
- B.2.6 表面活性剂：十二烷基苯磺酸钠等。
- B.2.7 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐（Tris-HCl）：0.1 M，pH 9.0。
- B.2.8 玻璃纤维膜。
- B.2.9 吸收垫（吸水纸）。
- B.2.10 硝酸纤维素膜：孔径8~10 μm ，液体移行速率不低于10 mm/min。
- B.2.11 聚氯乙烯（PVC底板）。
- B.2.12 塑料外壳。

B.3 步骤

B.3.1 样品垫的制备

用样品垫工作液浸泡或喷涂玻璃纤维素膜后，干燥备用。

B.3.2 结合垫的制备

搅拌烧杯中的示踪物（胶体金）溶液并调节pH，缓慢加入经超纯水稀释的待标记抗体（抗疟原虫抗体、兔IgG或鼠IgG），室温反应并不时缓缓搅拌，反应结束后加入足量BSA封闭。离心后弃上清，沉淀用胶体金稀释液重悬，铺制在玻璃纤维素膜上干燥备用。

B.3.3 检测线及质控线的制备

用超纯水清洗喷膜仪，调试参数，连接进出口管线，将T、C管线分别放入抗疟原虫抗体溶液和羊抗兔IgG或羊抗鼠IgG溶液中，调节喷速和走膜速度，将检测线和质控线喷至硝酸纤维素膜上，然后放入干燥箱干燥。

B.3.4 试纸条的组装与包装

将样品垫、结合垫、制备好检测线及质控线的硝酸纤维素膜、吸收垫按照附录B在PVC板上组装成试纸条大板（图B.1），用裁切刀裁切成条，将试纸条装入塑料外壳内（图B.2）。

B.3.5 裂解液的制备

配制含表面活性剂的Tris-HCl作为样本裂解液。

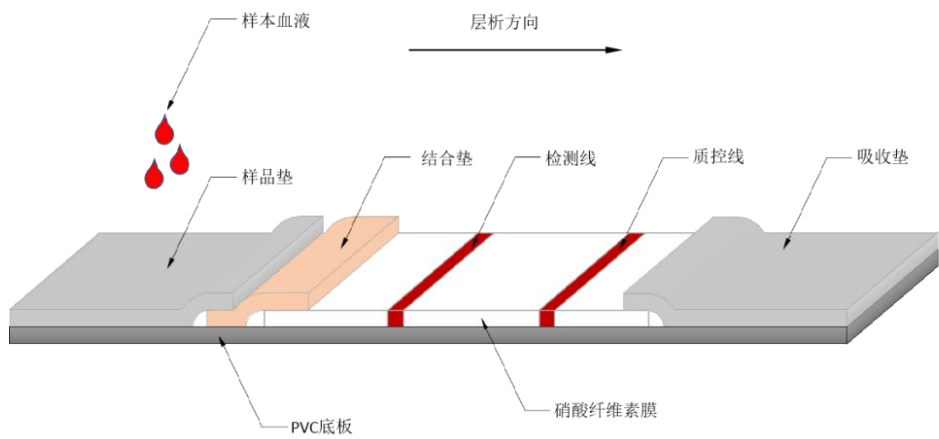


图 B.1 免疫层析试纸条组装示意图

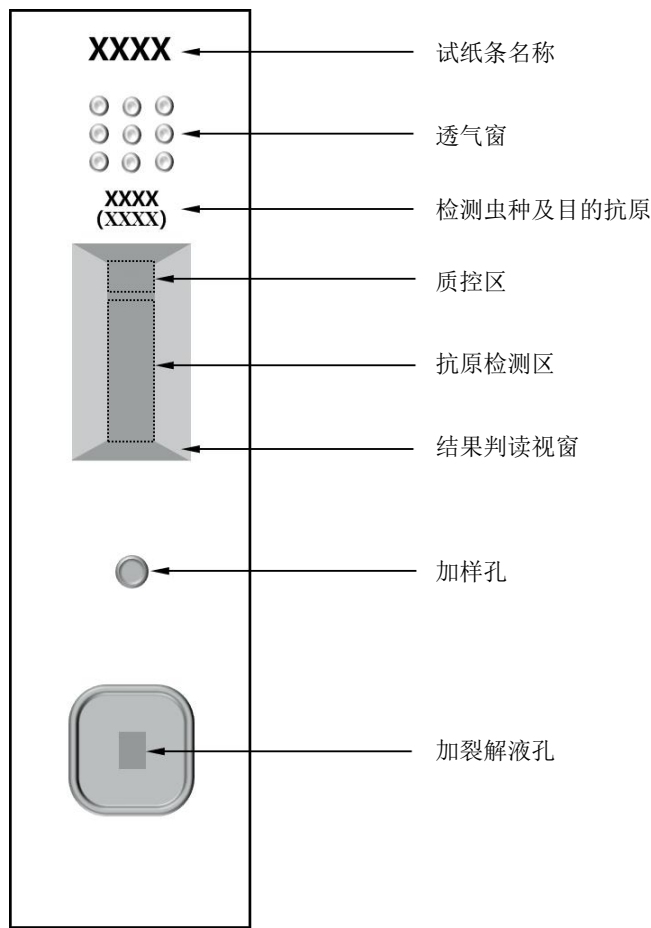


图 B.2 条卡型疟原虫抗原检测快速诊断试纸条外观示意图

附 录 C
(规范性)

常见疟原虫抗原检测快速诊断试纸条结果判读示意图

C.1 泛种疟原虫检测快速诊断试纸条

检测结果示意图见图C.1。

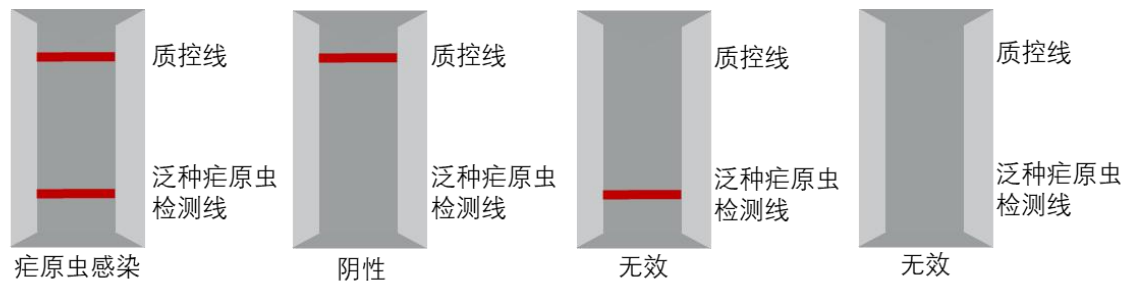


图 C.1 泛种疟原虫检测快速诊断试纸条结果判读

C.2 恶性疟原虫检测快速诊断试纸条

检测结果示意图见图C.2。

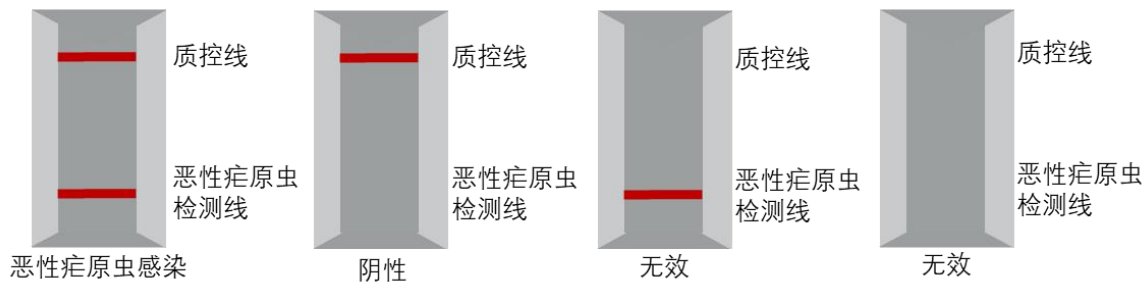


图 C.2 恶性疟原虫检测快速诊断试纸条结果判读

C.3 恶性疟原虫和泛种疟原虫组合检测快速诊断试纸条

检测结果示意图见图C.3。

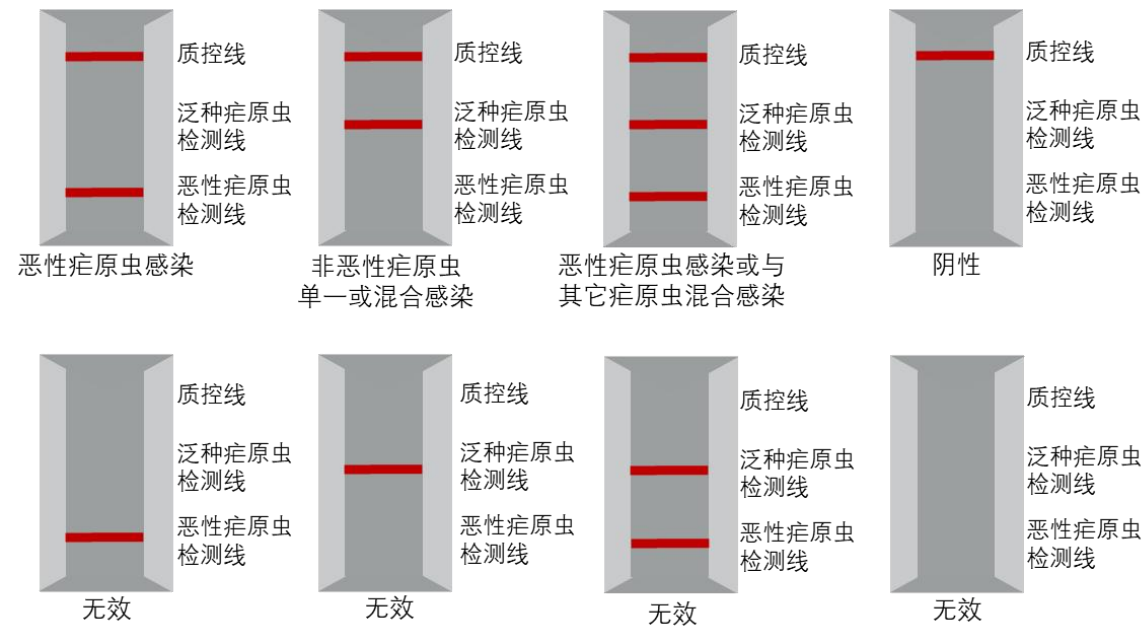


图 C.3 恶性疟原虫和泛种疟原虫组合检测快速诊断试纸条结果判读

C.4 恶性疟原虫和间日疟原虫组合检测快速诊断试纸条

检测结果示意图见图C.4。

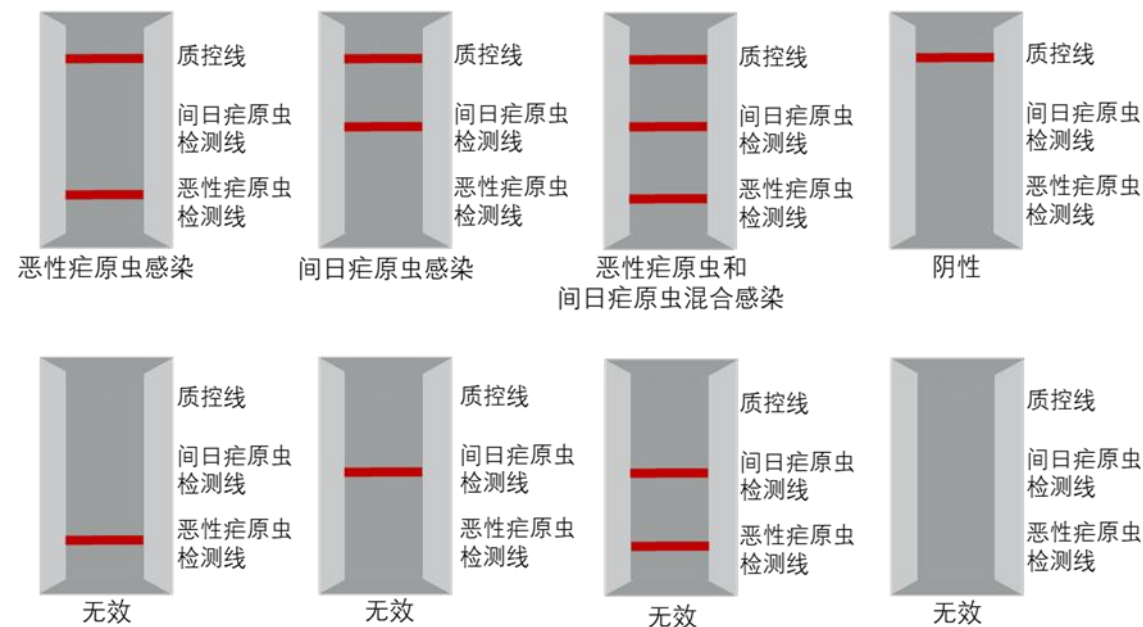


图 C.4 恶性疟原虫和间日疟原虫组合检测快速诊断试纸条结果判读

参 考 文 献

- [1] 吴观陵. 人体寄生虫学. 第4版[M]. 人民卫生出版社. 2013.
 - [2] 周晓农. 寄生虫病检测技术[M]. 人民卫生出版社. 2011.
 - [3] 中华人民共和国国务院. 医疗器械监督管理条例. [Z]2021年6月1日.
 - [4] 国家药品监督管理局. 体外诊断试剂临床试验技术指导原则. [Z]2021年9月16日.
 - [5] Guidance on control materials for antigen detecting malaria RDTs. World Health Organization. 2019.
 - [6] Recommended selection criteria for procurement of malaria rapid diagnostic tests. World Health Organization. 2018.
 - [7] Malaria rapid diagnostic test products: Suggested use of terms, requirements and preferences for labelling and instructions for use. World Health Organization. 2017.
 - [8] Tang J, Tang F, Zhu H, et al. Assessment of false negative rates of lactate dehydrogenase-based malaria rapid diagnostic tests for *Plasmodium ovale* detection[J]. PLoS Neglected Tropical Diseases, 2019 Mar 11; 13(3): e0007254.
-