

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 02. 012

2016 — 2018 年某院甲、乙型流感病毒流行病学特点及检测方法比较

刘 宁,张立丽,赵艳明,佟 暄,孙桂珍,姜金丽[△]
(首都医科大学附属北京佑安医院临床检验中心,北京 100069)

摘 要:**目的** 探讨甲、乙型流感病毒的流行病学特征,比较抗原检测与核酸 PCR 检测的差异。**方法** 收集 2016 年 1 月至 2018 年 1 月该院收治的 110 例疑似流感患者,采集其咽拭子标本,同时进行甲/乙型流感病毒抗原和核酸检测,分析其流行病学特征,研究 2 种检测方法流感以 12 月份至次年的 3 月份为高发季节,甲、乙型流感病例分别为 26 例和 11 例,在性别和是否合并肝脏基础疾病的发病率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结果** 抗原检测与核酸 PCR 检测结果一致性较差($P>0.05$)。甲型流感抗原检测敏感性低于核酸 PCR 检测(抗原阳性 CT 值为 24.63~39.35),乙型流感病毒抗原检测与核酸 PCR 检测无明显的相关性。**结论** 12 月份至 1 月份为流感高发季节,甲、乙型流感发病率在性别和有无肝脏基础疾病中无差异,抗原检测的灵敏度、特异度低于 PCR 检测。

关键词:甲、乙型流感; 流行特征; 抗原检测; 核酸 PCR 检测; 一致性分析
中图法分类号:R446.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2019)02-0183-04

Epidemiology of influenza A and B from 2016 to 2018 and comparison of detection methods in one hospital
LIU Ning, ZHANG Lili, ZHAO Yanming, TONG Xuan, SUN Guizhen, LOU Jinli[△]
(Department of Clinical Laboratory, Beijing You'an Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract: Objective To observe the epidemiology of influenza A/B from January 2016 to January 2018, and to compare the difference between antigen and nucleic acid PCR detection. **Methods** A total of 110 patients with suspected influenza from Jan. 2016 to Jan. 2018 were selected. Pharynx swabs were collected and the antigen and nucleic acid of influenza A/B virus were detected. And epidemiology characteristics were analyzed and the consistency of the two detection methods was statistically analyzed. **Results** December and March were the high onset season of influenza. There were 26 cases of influenza A and 11 cases of influenza B, and there were no significant difference between sex and the incidence of basic liver diseases ($P>0.05$). The consistency between antigen and nucleic acid detection was poor ($P>0.05$). The sensitivity of influenza A antigen detection was lower than nucleic acid PCR detection (the CT value of antigen positive was between 24.63—39.35), and there was no significant correlation between antigen detection and nucleic acid PCR detection of influenza B virus. **Conclusion** The incidence of influenza is high in December and January, and there is no difference in the incidence of influenza A/B in sex and basic liver disease, the sensitivity and specificity of antigen detection are lower than PCR detection.

Key words: influenza virus; epidemiology; antigen detection; nucleic acid PCR detection; consistency analysis

流感病毒属于正粘病毒科,依据核蛋白抗原性不同可以分为甲型、乙型和丙型 3 种,其中甲型和乙型是人流感的主要病原体,具有流行性广、传染性强的特点,在儿童、老年及机体免疫功能低下人群引起重症感染,危及生命。甲型流感病毒易发生重组和变异,几次世界范围的大流行都与其有关,B 型流感病毒常为局部流行。2017 年 12 月至 2018 年 1 月美国和中国疾病预与防控制中心(CDC)监测数据显示,乙型流感病毒发病率呈上升趋势^[1-2]。每次流感大流行都会对人类造成巨大损失,因此加强对流感病毒的监

测,提高检出率,以及流行控制和患者的及时治疗都具有重要的意义。现探讨甲、乙型流感的流行病学特征,比较甲、乙型流感病毒抗原检测和核酸 PCR 检测的差异性,为实验室检测和临床诊断提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 1 月至 2018 年 1 月本院收治的疑似流感患者咽拭子标本。

1.2 仪器与试剂 Real-time PCR 仪:Bio-RAD CFX96。甲、乙型流感病毒核酸检测试剂盒(荧光 PCR 法)(江苏硕世生物科技股份有限公司);病毒核

酸提取试剂盒(膜吸附柱法)(江苏硕世生物科技股份有限公司);甲、乙型流感病毒抗原检测试剂盒(胶体金法)[艾博生物医药(杭州)有限公司]。

1.3 方法

1.3.1 核酸提取与 PCR 检测 病毒核酸提取与扩增均按照试剂盒产品说明书进行。结果判断在仪器正常且空白对照、阳性对照均正常的情况下进行结果分析:FAM 通道代表甲型,VIC 通道代表乙型。FAM 通道 CT≤34.7,VIC 通道 CT>34.8 或 UNDET,判读结果为甲型流感病毒阳性;FAM 通道 CT>34.7,VIC 通道 CT≤34.8 或 UNDET,判读结果为乙型流感病毒阳性;FAM 通道 CT≤34.7,VIC 通道 CT≤34.8 或 UNDET,判读结果为甲型和乙型流感病毒阳性;FAM 通道 CT>34.7 或 UNDET,VIC 通道 CT>34.8 或 UNDET,判读结果为甲型和乙型流感病毒阴性。

1.3.2 抗原检测 按照甲、乙型流感病毒抗原检测试剂盒(胶体金法)说明书进行检测。结果判读:2 条或 3 条紫红色条带出现,表明标本中含有流感病毒抗原,1 条位于质控区(C)内,A 区出现条带代表甲型流感病毒抗原阳性,B 区出现条带代表乙型流感病毒抗原阳性;仅质控区(C)出现 1 条紫红色条带,在测试区(A、B)内无紫红色条带出现,表明标本中不含流感病毒抗原,或者病毒抗原低于检测水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析,使用 Kappa 值评价核酸检测与抗原检测结果的一致性,当 Kappa≥0.75 时,说明 2 种方法诊断结果一致性较好;当 0.4≤Kappa<0.75 时,说明一致性一般;当 Kappa<0.4 时,说明一致性较差。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 患者一般资料结果分布 12 月份至次年 3 月份为流感高发季节,其他月份以散发为主。共同检测甲、乙型流感病毒抗原和核酸的流感疑似病例共 110 例,年龄 1~91 岁,平均(52.380±21.916)岁,其中甲型流感病毒核酸检测(A-PCR)阳性病例 26 例(23.6%),乙型流感病毒核酸检测(B-PCR)阳性病例 11 例(10.0%)。甲型流感:男 14 例,女 12 例;乙型流感:男 4 例,女 7 例,性别检出率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.946,P>0.05$);甲型流感分别为 11 例和 15 例,乙型流感分别为 4 例和 7 例,甲、乙型流感病毒的检出率在是否合并肝脏基础疾病比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.113,P>0.05$)。见表 1、2。

2.2 胶体金法检测甲、乙型流感病毒抗原灵敏度与特异度 以 PCR 检测结果为金标准,甲型流感病毒抗原(A-Ag)诊断的灵敏度(阳性符合率)为 15.4%(4/26),特异度(阴性符合率)为 98.8%(83/84);乙型流感病毒抗原(B-Ag)诊断灵敏度(阳性符合率)为 18.2%(2/11),特异度(阴性符合率)为 97.0%

(96/99)。

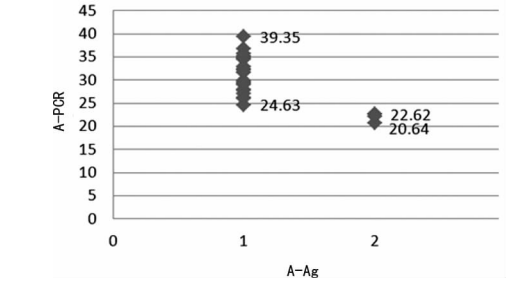
表 1 甲、乙型流感患者一般资料结果分布				
项目	类别	甲型流感 [n/n(%)]	乙型流感 [n/n(%)]	共计(n)
性别		26/110(23.6)	11/110(10.0)	110
	男性	14/26(53.8)	4/11(36.4)	67
	女性	12/26(46.2)	7/11(63.6)	43
是否合并肝脏基础疾病	是	11/26(42.3)	4/11(36.4)	50
	否	15/26(57.7)	7/11(63.6)	60

表 2 流感月份结果分布(n)			
日期	疑似病例	确诊病例	
		A-PCR	B-PCR
2016 年 1 月	9	3	2
2016 年 2 月	11	8	1
2016 年 3 月	5	2	0
2016 年 5 月	1	0	0
2016 年 9 月	1	0	0
2016 年 11 月	3	0	0
2016 年 12 月	1	0	0
2017 年 1 月	2	0	0
2017 年 2 月	4	2	0
2017 年 3 月	8	0	0
2017 年 4 月	3	0	0
2017 年 5 月	1	0	0
2017 年 6 月	3	0	0
2017 年 7 月	3	0	0
2017 年 8 月	4	2	0
2017 年 9 月	1	0	0
2017 年 10 月	2	0	0
2017 年 12 月	7	3	0
2018 年 1 月	41	6	8
总计	110	26	11

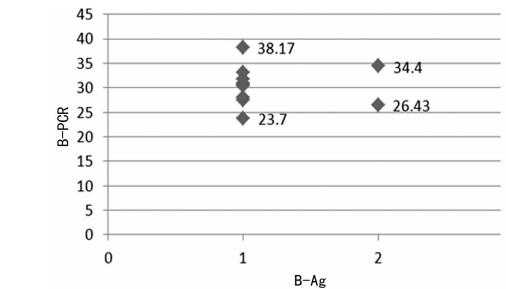
2.3 检测结果的一致性分析 A-Ag 与 A-PCR 诊断结果不具有-致性(Kappa=0.197, $P=0.002,>0.05$);A-Ag 诊断阳性率为 4.5%,A-PCR 为 23.6%,差异有统计学意义($P<0.05$)。B-Ag 与 B-PCR 诊断结果不具有-致性(Kappa=0.200, $P=0.022,<0.05$);B-Ag 诊断阳性率为 4.5%,B-PCR 为 10.0%,差异无统计学意义($P=0.146,>0.05$)。

2.4 甲、乙型流感病毒核酸 PCR 检测 CT 值与抗原检测结果的相关性 胶体金法检测 A-Ag 阳性标本,A-PCR 检测 CT 值为 20.64~22.62,抗原检测阴性标本 PCR 核酸检测 CT 值为 24.63~39.35,抗原检测灵敏度低于核酸 PCR 检测。胶体金法检测 B-Ag 阳性标本,B-PCR 检测 CT 值为 26.43~34.4,抗原检测

阴性标本 PCR 核酸检测 CT 值为 23.7~38.17, 无明显相关性。见图 1、2。



注: 1 为阴性; 2 为阳性
图 1 胶体金法检测甲型流感病毒抗原阳性标本



注: 1 为阴性; 2 为阳性
图 2 胶体金法检测乙型流感病毒抗原阳性标本

3 讨 论

流感病毒为单股负链 RNA 病毒, 可编码血凝素 (HA) 和神经氨酸酶 (NA), 依据 HA、NA 的表型不同, 甲型流感病毒可以分为 16 个 HA 亚型和 9 个 NA 亚型, 其中 H1N1、H2N2、H3N2 亚型主要感染人类, 流感病毒容易发生变异和亚型重组, 人类历史上多次流感暴发均与其相关^[3]。乙型流感病毒只有一种型别, 病毒变异较少, 常见于散发病例^[4]。甲、乙型流感病毒的主要流行季节为冬春季。通过对本院 2016 年 1 月至 2018 年 1 月收治的疑似流感病例进行分析, 12 月份至次年的 3 月份为流感高发季节, 符合流感流行季节特点, 但从 2016 年 1 月至 2018 年 1 月流感病例持续上升, 尤其在 2018 年 1 月, 发病例数超过往年的 4 倍, 与中国 CDC 和美国 CDC 近期公布的数据具有相同趋势^[5]。其中甲型流感病毒的发病率是乙型流感病毒的 2.4 倍 (26/11), 表明甲型流感病毒仍是主要的致病病原体, 但乙型流感的发病趋势持续上升, 超过了往年的同期水平。主要原因为甲型流感病毒容易发生亚型重组和基因突变, 在人群中流行率较高, 而乙型流感发病率低, 人群对其普遍免疫力低下, 在特殊的环境下可以引起大范围人群感染^[4,6]。

本研究结果表明, 甲、乙型流感发病率在感染人群性别比例分布中差异无统计学意义 ($P>0.05$), 与相关研究结果一致^[7-8]。在合并基础疾病的人群 (如慢性心脏疾病、慢性支气管炎、慢性肝脏疾病、恶性肿瘤、吸烟患者、糖尿病等) 中, 因机体免疫功能受损, 导致甲、乙型流感病毒发病率升高^[8]。对 2013—2015

年杭州市甲型和乙型流感病毒流行病学特征分析显示, 合并肝脏基础疾病的人群, 其甲、乙型流感病毒的检出率高于普通人群^[7]。本研究结果显示, 甲、乙型流感发病率在感染人群是否合并肝脏疾病比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 与以往研究结果不同, 可能与总例数和阳性标本例数相对较少有关。

流感病毒感染后临床症状不典型, 临床诊断主要依赖于实验室检测, 而可同时感染人类的呼吸道病毒大概有 200 余种, 因此检测试剂的灵敏度和特异度对临床诊断至关重要。流感病毒的实验室检测方法有多种, 早期检测依赖鸡胚接种, 由于操作复杂、技术要求高临床已很少应用, 现代检测技术包括抗原检测和核酸 PCR 检测, 新技术具有快速、敏感、特异的特点, 为临床诊断提供了很大的帮助^[9]。本研究采用病毒抗原检测与核酸 PCR 检测 2 种方法进行流感病毒检测, 但一致性较差, 甲型和乙型流感病毒抗原检测的阳性符合率分别为 15.4% 和 18.2%, 阴性符合率分别为 98.8% 和 97.0%。原因为 2 点: (1) PCR 检测是通过保守区域序列扩增来实现病毒核酸的检测, 在流感病毒 HA 和 NA 核酸序列发生变异时, 对检测结果影响较小, 但核酸序列变异会引起病毒抗原漂移, 导致抗原检测出现假阴性结果^[10]。(2) 抗原检测受抗原表达情况的限制, 感染初期和后期受免疫清除的影响, 抗原表达量低, 而核酸可以大量游离于外周血中, 因此 PCR 检测相比于抗原检测具有早期、灵敏度高特点, 同时可以对治疗效果进行监测^[11]。利用核酸 PCR 检测的 CT 值代表病毒水平, CT 值越小病毒水平越高, 本研究结果表明, 甲、乙型流感病毒抗原检测具有快速、成本低、易于临床开展的特点, 但抗原检测灵敏度低于核酸 PCR 检测, 且一致性较差。因此, 加强流感病毒变异的监测, 不断提高抗原检测方法的灵敏度和特异度, 将为流感病毒感染的快速、准确筛查提供帮助。

综上所述, 流感的发生具有明显的季节性, 近期流感发病率持续上升, 需加强防控措施。根据流感病毒容易发生变异和抗原漂移的特点, 不断提高临床检测的灵敏度和特异度, 将为临床流感患者的快速、准确诊断提供辅助措施。

参考文献

[1] BUDD A P, WENTWORTH D E, BLANTON L, et al. Update: influenza activity - united states, October 1, 2017-February 3, 2018 [J]. Mmwr-Morbid Mortal W, 2018, 67 (6): 169-179.

[2] LI L, WONG J Y, WU P, et al. Heterogeneity in estimates of the impact of influenza on population mortality: A systematic review [J]. Am J Epidemiol, 2018, 187 (2): 378-388.

(下转第 190 页)

- Gastrointest Oncol, 2016, 7(Suppl 1): S100-S106.
- [3] LI X W, GONG S J, SONG W H, et al. Undifferentiated liver embryonal sarcoma in adults; a report of four cases and literature review[J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(37): 4725-4732.
 - [4] GAO J, FEI L M, LI S, et al. Undifferentiated embryonal sarcoma of the liver in a child; A case report and review of the literature[J]. Oncol Lett, 2013, 5(3): 739-742.
 - [5] 黄盛鑫, 吴飞翔, 陈军, 等. 肝胚胎性肉瘤的临床病例分析[J]. 中国肿瘤临床, 2012, 39(15): 1100-1103.
 - [6] VAROL U, KARACA B, MUSLU U, et al. Undifferentiated embryonal sarcoma of the liver in an adult patient; case report[J]. Turk J Gastroenterol, 2012, 23(3): 279-283.
 - [7] 张辉, 杨洋, 陈郭飞, 等. 儿童肝未分化性胚胎性肉瘤误诊分析[J]. 医学与哲学, 2016, 37(5): 40-42.
 - [8] KIM H H, KIM J C, PARK E K, et al. Undifferentiated embryonal sarcoma of the liver presenting as a hemorrhagic cystic tumor in an adult[J]. HBPD Int, 2011, 10(6): 657-660.
 - [9] PACHERA S, NISHIO H, TAKAHASHI Y U, et al. Undifferentiated embryonal sarcoma of the liver; case report and literature survey[J]. J HBPD Surg, 2008, 15(5): 536-544.
 - [10] MA L, LIU Y P, GENG C Z, et al. Undifferentiated embryonal sarcoma of liver in an old female; case report and review of the literature[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(47): 7267-7270.
 - [11] WALKER N I, HORN M J, STRONG R W, et al. Undifferentiated (embryonal) sarcoma of the liver. Pathologic findings and long-term survival after complete surgical resection[J]. Cancer, 1992, 69(1): 52-59.
 - [12] LEGOU F, AYAV A, CAHN V, et al. Radiologic-pathologic comparison of undifferentiated embryonal sarcoma of the liver in a 61-year-old Woman[J]. Diagn Interv Imaging, 2012, 93(3): e208-e211.
 - [13] 沈丹华. 罗西和阿克曼外科病理学[M]. 北京: 北京大学出版社, 2014: 960.
 - [14] NISHIO J, IWASAKI H, SAKASHITA N, et al. Undifferentiated (embryonal) sarcoma of the liver in middle-aged adults; smooth muscle differentiation determined by immunohistochemistry and electron microscopy[J]. Hum Pathol, 2003, 34(3): 246-252.
 - [15] CHEN J H, LEE C H, WEI C K, et al. Undifferentiated embryonal sarcoma of the liver with focal osteoid picture—a case report[J]. Asian J Surg, 2013, 36(4): 174-178.
 - [16] KIM D Y, KIM K H, JUNG S E, et al. Undifferentiated (embryonal) sarcoma of the liver; combination treatment by surgery and chemotherapy[J]. J Pediatr Surg, 2002, 37(10): 1419-1423.
 - [17] SOWERY R D, JENSEN C, MORRISON K B, et al. Comparative genomic hybridization detects multiple chromosomal amplifications and deletions in undifferentiated embryonal sarcoma of the liver[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2001, 126(2): 128-133.
 - [18] LEPREUX S, REBOUSSOU S, LE BAIL B, et al. Mutation of TP53 gene is involved in carcinogenesis of hepatic undifferentiated (embryonal) sarcoma of the adult, in contrast with Wnt or telomerase pathways; an immunohistochemical study of three cases with genomic relation in two cases[J]. J Hepatol, 2005, 42(3): 424-429.
 - [19] YOSHIDA N, MIDORIKAWA Y, KAJIWARA T, et al. Hepatocellular carcinoma with sarcomatoid change without anticancer therapies [J]. Case Rep Gastroenterol, 2013, 7(1): 169-174.

(收稿日期: 2018-06-13 修回日期: 2018-09-08)

(上接第 186 页)

- [3] WEE K B, LEE R T C, LIN J, et al. Discovery of influenza a virus sequence Pairs and their combinations for simultaneous heterosubtypic targeting that hedge against antiviral resistance [J]. Plos Comput Biol, 2016, 12(1): 1324-1329.
- [4] VIGIL A, ESTELLES A, KAUVAR L M, et al. Native human monoclonal antibodies with potent cross-lineage neutralization of influenza B viruses [J]. Antimicrob Agents Chem, 2018, 64(31): 3211-3215.
- [5] KOSIK I, INCE W L, GENTLES L E, et al. Influenza A virus hemagglutinin glycosylation compensates for antibody escape fitness costs [J]. PLoS Pathog, 2018, 14(1): e1006796.
- [6] 魏凌秀. 2013 至 2015 年杭州市甲型和乙型流感病毒流行病学特征分析 [J]. 中华临床感染病杂志, 2017, 4(10): 974-977.
- [7] ZHENG J D, HUO X X, HUAI Y, et al. Epidemiology, seasonality and treatment of hospitalized adults and adolescents with influenza in Jingzhou, China, 2010 — 2012 [J]. PLoS One, 2016, 11(3): 692-695.
- [8] RYU S W, SUH I B, RYU S M, et al. Comparison of three rapid influenza diagnostic tests with digital readout systems and one conventional rapid influenza diagnostic test [J]. J Clin Lab Anal, 2018, 32(2): 156-169.
- [9] GROVES H T, MCDONALD J U, LANGAT P, et al. Mouse models of influenza infection with circulating strains to test seasonal vaccine efficacy [J]. Front Immunol, 2018, 9(1): 26-31.
- [10] ZHUO Z, WANG J, CHEN W, et al. A rapid on-site assay for the detection of influenza a by capillary convective PCR [J]. Mol Diagn Ther, 2018, 86(23): 1756-1759.

(收稿日期: 2018-05-21 修回日期: 2018-08-15)