

## 2 种流感抗原快检试剂在校园流感疫情诊断中的应用效果评价

陈仕菊,王艳梅,王礼法,陈国翠,张祥,谢辉艳,陈传德

深圳市罗湖区疾病预防控制中心,广东 深圳 518020

**摘要:** **目的** 分析 2 种常用的流感抗原快检试剂对校园流感疫情样本的检测结果,评价其是否适用于校园流感疫情的病例诊断。**方法** 以 2021 年 9—12 月深圳市罗湖区报告的流感样病例聚集性疫情病例为研究对象,每个病例同时采集 3 份鼻/咽拭子样本,分别进行流感病毒核酸检测(荧光 PCR 法)及流感病毒抗原快速检测(胶体金法),计算抗原快检试剂的灵敏度、特异度以及与荧光 PCR 法检测结果的一致性指标;并通过总体检出率、每起疫情的检出率、检出样本的 Ct 值等方面进行比较,分析抗原快检试剂的检测效果。**结果** 2021 年 9—12 月深圳市罗湖区报告了 38 起流感样病例聚集性疫情,共采集 203 人的鼻/咽拭子样本,其中 140 人(68.97%)检出乙型流感病毒核酸阳性。采样对象以小学生居多,年龄中位数为 8 岁。2 种抗原快检试剂的灵敏度分别为 61.43%、42.86%;特异度分别为 96.83%、93.65%;阳性预测值分别为 97.73%、93.75%;阴性预测值分别为 53.04%、42.45%;与荧光 PCR 法的符合率分别为 72.41%、58.62%,一致性 kappa 值分别为 0.48、0.27。A 试剂的总体检出率及对多起疫情的检出率优于 W 试剂。两种抗原快检试剂所检出真阳性样本的 Ct 值均数分别为(22.54±3.36)、(21.85±3.33),差异无统计学意义。**结论** 灵敏度是影响流感抗原快检试剂检测效果的关键因素。2 种流感抗原快检试剂的结果与荧光 PCR 方法相比差异较大,不适用于校园乙型流感聚集性疫情的病例诊断。

**关键词:** 流感病毒;快速检测;胶体金;灵敏度

**中图分类号:** R511.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2023)02-0182-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2023.02.013

## Evaluation on application effects of two rapid detection reagents for influenza virus antigen in the diagnosis of influenza epidemic on campus

CHEN Shi-ju, WANG Yan-mei, WANG Li-fa, CHEN Guo-cui, ZHANG Xiang, XIE Hui-yan, CHEN Chuan-de

Luohu District Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen, Guangdong 518020, China

**Abstract:** **Objective** To analyze the detection results of samples from influenza epidemic on campus detected by two commonly-used rapid detection reagents for influenza virus antigen, and to evaluate whether they are suitable for the diagnosis of influenza cases on campus. **Methods** Influenza-like illness (ILI) cases happened in the clustering epidemics on campus reported in Luohu District, Shenzhen City from September to December 2021 served as the research subjects. Three nasal/pharyngeal swabs were collected from each case for influenza virus nucleic acid test (quantitative fluorescence PCR assay) and influenza virus antigen rapid test (colloidal gold method) respectively. The sensitivity and specificity of the rapid antigen detection reagents and their consistency with quantitative fluorescence PCR assay were calculated. By comparing the overall detection rate, the detection rate of each epidemic and the threshold cycle (Ct) value of the detected samples, the detection effects of the rapid antigen detection reagents were analyzed. **Results** Thirty-eight clustering outbreaks of ILI were reported in Luohu District, Shenzhen City from September to December 2021. A total of 203 nasal/pharyngeal swab samples were collected, of which 140 (68.97%) were positive for influenza B virus. Most of the sampled subjects were elementary school students, with a median age of 8 years. The sensitivities of the two rapid detection reagents were 61.43% and 42.86%, respectively, and their specificities were 96.83% and 93.65%, respectively. Their positive predictive values were 97.73% and 93.75%, respectively, and the negative predictive values were 53.04% and 42.45%, respectively. The consistency rates of the two rapid detection reagents with quantitative fluorescence PCR assay were 72.41% and 58.62%, respectively, and the kappa coefficient values were 0.48 and 0.27, respectively. The overall detection rate of reagent A and its detection rate for multiple epidemic cases were superior to those of reagent W. The mean Ct values of true positive samples detected by the two rapid detection reagents were (22.54±3.36) and

**基金项目:** 深圳市罗湖区软科学研究计划项目(LX20200503)

**作者简介:** 陈仕菊(1987-),女,广东惠州人,硕士研究生,主管检验师,主要从事微生物检验工作。

( $21.85 \pm 3.33$ ), respectively, and the difference was not statistically significant. **Conclusion** Sensitivity is the key factor affecting the effectiveness of influenza viral antigen rapid detection reagent. The results of the two influenza viral antigen rapid detection reagents are significantly different from that of quantitative fluorescence PCR assay; and hence, they are not suitable for the diagnosis of influenza B cases in schools.

**Keywords:** influenza virus; rapid detection; colloidal gold; sensitivity

《流行性感冒诊疗方案》2019 版及 2020 版均明确提出流感病毒抗原检测阳性可作为感染流感的“确定诊断病例”依据之一<sup>[1-2]</sup>。不同流感抗原快检试剂的灵敏度和特异度差异较大<sup>[3]</sup>,可能与检测试剂质量、采样过程中获取的病毒量及实验操作的影响有关,也可能与流感病毒基因组发生突变、表面抗原结构改变有关,因此需在不同的流行期对流感抗原快检试剂的检测效果进行评估。荧光 PCR 法检测流感病毒核酸的灵敏度及特异度高<sup>[4]</sup>,可作为评估流感抗原快检试剂检测效果的参考<sup>[5-7]</sup>。2020 年 2 月—2021 年 3 月,受新型冠状病毒感染疫情影响,深圳市罗湖区累计 14 个月未检出流感病毒阳性样本,直到 2021 年 6 月 30 日才检测到校园流感聚集性疫情。为了解辖区医院常用的流感抗原快检试剂是否能有效检出校园流感疫情病例样本,特开展本次研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 流感样病例疫情样本 收集 2021 年 9 月 1 日—12 月 31 日深圳市罗湖区中小学及幼儿园报告的流感样病例聚集性疫情样本,每个病例同时采集 3 份样本,包括保存至 3 ml Hank’s 液中的咽拭子样本 1 份用于流感病毒核酸检测,以及保存至无菌干燥空管中的鼻拭子平行样本各 1 份用于流感病毒抗原快速检测。流感样病例定义为:出现发热 $\geq 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、伴咳嗽或咽痛者<sup>[8]</sup>。

1.1.2 其他呼吸道病毒阳性样本 收集本实验室保存的其他呼吸道病毒阳性样本 52 份开展流感抗原快速检测,分析是否存在交叉反应。

1.2 方法

1.2.1 流行病学调查 调查病例基本信息、发病时间、症状、就诊情况等。

1.2.2 实验室检测 流感病毒核酸检测采用深圳市梓健生物科技有限公司的 A+B 型流感病毒核酸检测试剂盒,PCR 扩增仪器为美国应用生物系统公司 (ABI) 的 7500 型实时荧光定量 PCR 仪,记录每份样本的阈值循环数 (threshold cycle, Ct)。罗湖辖区医疗机构常用的流感抗原快检试剂分别为艾博生物医药 (杭州) 有限公司生产的甲型/乙型流感病毒抗原检测

试剂盒 (胶体金法) 以及广州万孚生物技术股份有限公司生产的甲型/乙型流感病毒抗原检测试剂 (胶体金法),以下分别称为 A 试剂、W 试剂。本研究中 A 试剂批号为 2020020073, W 试剂批号为 W05900109。试剂盒均按照说明书操作。

通过检测结果比较 2 种抗原快检试剂的灵敏度、特异度等指标,以及与荧光 PCR 结果的一致性。一致性结果以 kappa 值表示, kappa 值 (0.00~0.20) 一致性低、(0.21~0.40) 一致性一般、(0.41~0.60) 一致性中等、(0.61~0.80) 一致性较高、(0.81~1.00) 一致性高。

1.3 统计学分析 以 Microsoft Office Excel 2013 软件建立数据库,以 SPSS 25.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,频数资料的分析采用 $\chi^2$  检验、有序变量资料的分析采用秩和检验、定量资料的均数比较采用 *t* 检验,检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 基本情况 2021 年 9 月 1 日—12 月 31 日,罗湖辖区共 38 所学校报告了流感样病例聚集性疫情。小学报告的疫情数最多,共 33 起,其余为中学 3 起、幼儿园 2 起。合计采样病例共 203 人,年龄介于 5~42 岁之间,中位数为 8 岁。

2.2 检测结果

2.2.1 荧光 PCR 法与抗原快检试剂结果分析 共采集咽拭子样本 203 份,其中荧光 PCR 法阳性共 140 份,均为乙型流感病毒 Victoria 系,阳性率为 68.97%。荧光 PCR 法阴性 63 份。2 种抗原快检试剂的检测结果见表 1。2 种试剂与荧光 PCR 法相比均是灵敏度低、特异度高、阴性预测值低、阳性预测值高。A 试剂与荧光 PCR 法结果的 kappa 值为 0.48,一致性为“中等”、W 试剂的一致性为“一般”,见表 2。

表 1 203 份样本的流感病毒核酸及抗原快速检测结果

荧光 PCR 法	样本数 (%)	A 试剂		W 试剂	
		阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	140 (68.97)	86	54	60	80
阴性	63 (31.03)	2	61	4	59
合计	203 (100.00)	88	115	64	139

表 2 2 种流感抗原快检试剂多项评价结果的比较

项目	A 试剂(%)	W 试剂(%)
灵敏度	61.43	42.86
特异度	96.83	93.65
阳性预测值	97.73	93.75
阴性预测值	53.04	42.45
符合率	72.41	58.62
kappa 值	0.48 <sup>a</sup>	0.27 <sup>a</sup>

注:akappa 一致性检验  $P<0.05$ 。

2.2.2 配对检测结果 A 试剂与 W 试剂的配对检测中,  $\chi^2=10.52, P<0.05$ ,提示 A 试剂与 W 试剂检测结果差异有统计学意义,A 试剂检出乙型流感病毒抗原阳性的概率高于 W 试剂,见表 3。

表 3 两种流感抗原快检试剂的检测结果比较

A 试剂	W 试剂		合计
	阳性	阴性	
阳性	54	34	88
阴性	12	103	115
合计	66	137	203

2.2.3 疫情检出率分析 38 起疫情中,30 起检出流感病毒核酸阳性。每一起疫情分别计算 2 种抗原快检试剂的检出率(分母为荧光 PCR 阳性样本数),2 种试剂检出率的最大值均为 100.00%,最小值均为 0.00%。A 试剂检出率的均值 58.00%,W 试剂为 40.87%。A 试剂检出率高于 50%的占比约 70%、W 试剂的仅占 40%。Mann-Whitney  $U$  秩和检验结果显示 2 种试剂的检出率分布差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 1。

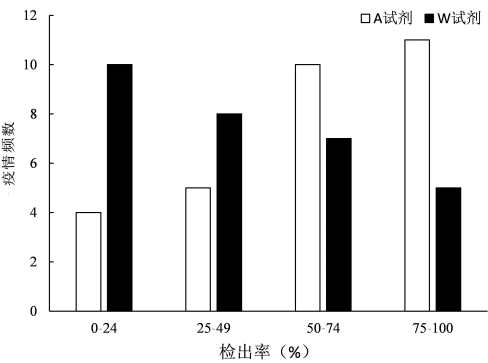


图 1 流感疫情中 2 种抗原快检试剂的检出率分布

2.2.4 检出均值比较 对荧光 PCR 阳性的样本,按抗原快检试剂是否检出阳性进行分组,比较两组 Ct 值的差异。经正态性检验,4 个组的 Ct 值分布均符合正态分布。A 试剂阳性组、阴性组 Ct 值均数分别为  $(22.54\pm3.36)$ 、 $(27.37\pm4.78)$ ;W 试剂对应值分别为  $(21.85\pm3.33)$ 、 $(26.31\pm4.51)$ ,2 种试剂阳性组与阴性组 Ct 值的均数差异均有统计学意义(A 试剂  $t'=6.48$ ,

$P<0.05$ ;W 试剂  $t=6.45, P<0.05$ ),不同试剂相同组别的 Ct 值均数差异无统计学意义,见图 2。

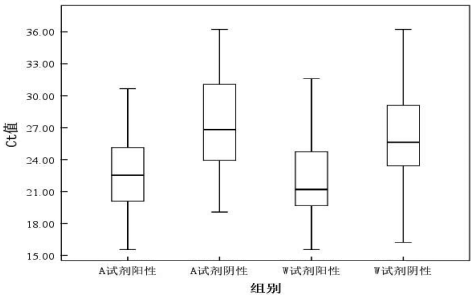


图 2 2 种流感抗原快检试剂阳性组与阴性组 Ct 值的差异

2.2.5 检测限分析 对荧光 PCR 阳性的样本,按抗原快检试剂是否检出阳性进行分组,A 试剂阳性组 90%的样本对应的 Ct 值在 26.45 以内,W 试剂组的在 26.15 以内。而阴性组中,2 种试剂的  $P_{50}$  分别是 26.82、25.63。2 种抗原快检试剂的检出限所对应的样本 Ct 值均应大于 26.00,但本次实验 Ct 值在 26.00 以内的样本约占阴性组样本的 50%,见表 4。

表 4 荧光 PCR 阳性样本中 2 种抗原快检试剂阳性组与阴性组 Ct 值的百分位数表

分组	荧光 PCR 法 Ct 值的百分位数						
	$P_5$	$P_{10}$	$P_{25}$	$P_{50}$	$P_{75}$	$P_{90}$	$P_{95}$
A 试剂阳性	17.01	18.21	20.09	22.54	25.15	26.45	28.05
W 试剂阳性	16.96	17.76	19.56	21.20	24.91	26.15	26.64
A 试剂阴性	19.88	20.65	23.91	26.82	31.07	34.78	35.35
W 试剂阴性	19.40	20.48	23.41	25.63	29.14	34.21	35.01

2.2.6 交叉反应 52 份其他呼吸道病毒阳性样本分别为鼻病毒 21 份、腺病毒 10 份、呼吸道合胞病毒 7 份、人偏肺病毒 6 份、冠状病毒 229E 5 份、冠状病毒 OC43 3 份。A 试剂与 52 份其他呼吸道病毒阳性样本均无交叉反应;W 试剂与 1 份呼吸道合胞病毒样本存在交叉反应。

2.2.7 异常结果 A 试剂对一起流感病毒核酸阴性的疫情样本检出 2 份甲型流感病毒抗原阳性,经进一步检测发现这是一起肠道病毒感染引起的疑似流感样病例疫情。W 试剂对 6 份乙型流感病毒核酸阳性的样本,同时检出甲型、乙型流感病毒抗原阳性;对 2 份乙型流感病毒核酸阳性的样本,检出甲型流感病毒抗原阳性;对 4 份乙型流感病毒核酸阴性样本分别检出甲、乙型流病毒核酸阳性各 2 份。

3 讨论

一项 meta 分析结果显示,130 种快检试剂对乙型流感病毒的总体灵敏度为 53.2% (95%CI:41.7%~64.4%)<sup>[9]</sup>,不同试剂的检测结果差异较大<sup>[10]</sup>,同种试



剂对不同型别毒株的检出灵敏度也不相同<sup>[3]</sup>。广州市某医院检测 A 试剂对甲型流感病毒的灵敏度仅为 10.48%<sup>[11]</sup>,而济源市疾病预防控制中心评价 A 试剂的灵敏度高达 94.41%<sup>[12]</sup>。根据试剂盒说明书,以病毒分离培养法作为金标准进行检测,对于甲、乙型流感病毒 A 试剂的灵敏度分别为 71.00%、90.00%。实际应用中,尤其是对校园流感疫情,抗原快检试剂的检测效果尚缺乏数据支持。本研究以校园流感疫情样本为对象,采集 2 份鼻拭子作为平行样,并以荧光 PCR 法检测咽拭子作为参考比较 2 种抗原快检试剂的检测效果,结果显示 A 试剂的灵敏度为 61.43%,与荧光 PCR 法一致性为 0.48,与葛君琰等<sup>[13]</sup>对 2019—2020 年秋冬季节门诊流感样病例的快速检测结果相接近(灵敏度 52.10%,kappa 值 0.54)。W 试剂的灵敏度为 42.86%,与荧光 PCR 的一致性为 0.27,较试剂盒说明书中提及的 W 试剂对乙型流感病毒的灵敏度(25.45%)高,提示 W 试剂对乙型流感病毒的灵敏度较差。

有研究结果提示,流感快速检测试剂的检测限越低,灵敏度越高<sup>[14]</sup>。本研究中 A 试剂与 W 试剂检出的真阳性样本所对应的 Ct 值均数差异无统计学意义、Ct 值的  $P_{95}$  相差 1.41;结合配对  $\chi^2$  检验及对疫情检出率的分析结果表明 A 试剂对于校园流感疫情(乙型 Victoria 系)的检测效果优于 W 试剂。但通过检测限的分析发现,在假阴性样本中,有半数样本对应的 Ct 值在试剂的检测限范围内却没有被检出。提示阳性样本能否被成功检出,不仅仅与试剂的检出限有关,影响因素的关键是不同试剂的检测灵敏度。

罹患流感会给学生及学生家庭造成较重的疾病负担<sup>[15]</sup>,小学校园是流感疫情的高发场所<sup>[16]</sup>。本研究发现对于校园流感疫情(乙型 Victoria 系),A 试剂与荧光 PCR 法的一致性为中等,W 试剂与荧光 PCR 法的一致性为一般,两者都没有达到较高的水平;在校园疫情检出率方面,两种试剂都存在检出率为 0.00% 的情况;且于两种试剂的灵敏度分别为 61.43%、42.86%,灵敏度并不高,会导致将近半数的阳性病例漏检;此外,虽然两种抗原快检试剂与其他多种呼吸道病毒阳性样本不发生交叉反应,但存在部分假阳性及异常结果,由此表明,若以上述两种试剂作为校园乙型流感聚集性疫情的病例确诊试剂,其检测效果并不理想,不利于疫情的准确定性和高效处置。当医疗机构以上述两种试剂作为流感抗原检测试剂,给出流感病

毒抗原阴性的结论时,并不能排除被检对象实际上感染了流感却因为试剂的灵敏度低而漏检。为了校园流感疫情防控工作有效开展,建议流感抗原快检试剂厂家进一步优化、完善相关产品,为流感疫情防控提供快捷、准确和高效的快检试剂。

## 参考文献

- [1] 国家卫生健康委办公厅,国家中医药管理局办公室. 流行性感冒诊疗方案(2019 年版)[J]. 中国病毒病杂志,2020,10(3):164-168.
- [2] 国家卫生健康委办公厅,国家中医药管理局办公室. 流行性感冒诊疗方案(2020 年版)[J]. 中国病毒病杂志,2021,11(1):1-5.
- [3] 周海卫,刘东来,麻婷婷,等. 流感病毒抗原快速检测试剂灵敏度评价[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2020,34(4):440-443.
- [4] 修敏,任妍妍. 实时荧光定量 PCR 与细胞培养法在流感病毒检测中的比较[J]. 传染病信息,2019,32(4):336-337,340.
- [5] Li X, Chen J, Lin F, et al. Influenza colloidal gold method and blood routine tests combination for rapid diagnosis of influenza: a decision tree-based analysis[J]. NPJ Prim Care Respir Med,2021,31(1):39.
- [6] Li W, Liu L, Chen L, et al. Evaluation of a commercial colloidal gold assay for detection of influenza A and B virus in children's respiratory specimens[J]. Fetal Pediatr Pathol,2020,39(2):93-98.
- [7] 朱元娅,刁维均,胡宏章. 一种快速检测甲型流感病毒方法的建立[J]. 实用预防医学,2020,27(3):379-382.
- [8] 吴迪,曹蓝,刘艳慧,等. 2019—2020 年广州市流感暴发疫情特征分析[J]. 实用预防医学,2021,28(7):795-798.
- [9] Merckx J, Wali R, Schiller I, et al. Diagnostic accuracy of novel and traditional rapid tests for influenza infection compared with reverse transcriptase polymerase Chain reaction: a systematic review and meta-analysis[J]. Ann Intern Med,2017,167(6):394-409.
- [10] 陈晨,范清琪,陈刚,等. 流感病毒两种快速抗原检测方法的对比分析[J]. 中国感染与化疗杂志,2017,17(1):29-32.
- [11] 黄佳斯,何宇婷,陈瑶,等. 2018—2019 年广州市某院甲型流感流行病学特点和检测方法比较[J]. 分子诊断与治疗杂志,2021,13(10):1648-1651.
- [12] 芦星. 荧光定量 PCR 与胶体金法对流感病毒检测效果比较[J]. 深圳中西医结合杂志,2020,30(14):78-79.
- [13] 葛君琰,王丽娜,乔正梅,等. 甲型流感不同方法检测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志,2021,(12):1450-1451,1476.
- [14] 王圆圆,张义华,方适,等. 两种流感病毒快速检测试剂盒在甲型流感病毒检测中的比较研究[J]. 中国病毒病杂志,2019,9(6):454-460.
- [15] 于秋燕,高尚,单朝霞,等. 济南市学校流感监测与学生疾病负担调查[J]. 中国学校卫生,2021,42(12):1863-1866.
- [16] 许玉成,张瑞银,蔡琳,等. 中小学校学生流感疫苗接种效果评估和卫生经济学评价[J]. 实用预防医学,2022,29(7):814-817.

收稿日期:2022-03-14