

抗原快速法与实时荧光定量 PCR 法在流感病毒检测中的应用效果比较

庄金凤

作者单位: 365500 福建三明, 三明市疾病预防控制中心检验科

通信作者: 庄金凤, Email: tatakings32@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2025.02.019

【摘要】 目的 比较抗原快速法与实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 法在流感病毒检测中的应用效果。**方法** 收集 2023 年 10 月—2024 年 10 月三明市疾病预防控制中心收集的 1 984 例呼吸道鼻 / 咽拭子样本, 分别采用抗原快速法和 RT-qPCR 法检测流感病毒; 以 RT-qPCR 法作为“金标准”, 采用 Kappa 检验分析抗原快速法与 RT-qPCR 法检测的一致性, 计算抗原快速法的敏感度及特异度。**结果** 1 984 例呼吸道样本中经 RT-qPCR 法检出流感病毒阳性 347 例, 阳性率为 17.49%, 其中检出甲型流感 231 例 (检出率为 11.64%), 乙型流感 114 例 (检出率为 5.75%), 甲型流感和乙型流感混合 2 例 (检出率为 0.10%), 3 组流感类型检出率差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。1 984 例样本以抗原快速法检测流感病毒的特异度为 99.51%, 敏感度为 87.90%; 以 RT-qPCR 法作为“金标准”, 采用抗原快速法检测流感病毒的 κ 值为 0.909, 两种方法的一致性较高。RT-qPCR 法与抗原快速法检测在男性和女性患者中的检出率差异无统计学意义 (男性: 17.60% 比 15.42%; 女性: 17.37% 比 15.32%; 均 $P > 0.05$); 6 岁以下人群的流感病毒检出率较高, RT-qPCR 法和抗原快速法对甲型流感病毒的检出率分别为 12.71% 和 11.94%, 对乙型流感病毒的检出率分别为 6.28% 和 5.82%, 两种方法检出率差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。**结论** 抗原快速法与 RT-qPCR 法检测流感病毒的一致性较高, 抗原快速法检测操作便捷, 可以在保证一定检测效率的同时降低检测费用, 有利于扩大检测范围, 但敏感度还有待提高, 最终的确诊结果应以 RT-qPCR 法检测结果为准, 其高敏感度和特异度能为流感病毒的早期准确筛查提供更有效的帮助。

【关键词】 抗原快速法; 实时荧光定量 PCR 法; 流感病毒检测; 甲型流感

Comparison on application effects of antigen rapid method and real-time fluorescence quantitative PCR method in detection of influenza virus

Zhuang Jinfeng. Department of Clinical Laboratory, Sanming Center for Disease Control and Prevention, Sanming 365500, Fujian, China

Corresponding author: Zhuang Jinfeng, Email: tatakings32@163.com

【Abstract】 Objective To compare the application effects of antigen rapid method and real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) method in detection of influenza virus. **Methods** The 1 984 samples of respiratory nasal/pharyngeal swab in Sanming Center for Disease Control and Prevention from October 2023 to October 2024 were collected, and influenza virus was detected using antigen rapid method and RT-qPCR method, respectively. Using RT-qPCR as "gold standard" method, the consistency between antigen rapid method and RT-qPCR method was analyzed using Kappa test, and the sensitivity and specificity of antigen rapid method were calculated. **Results** Out of 1 984 respiratory tract samples, 347 samples were detected as positive for influenza virus using RT-qPCR method, with a positivity rate of 17.49%. Among them, 231 samples were detected for influenza A (detectable rate of 11.64%), 114 samples were detected for influenza B (detectable rate of 5.75%), and two samples were mixed for influenza A and B (detectable rate of 0.10%). The difference in detectable rates of three groups of influenza was statistically significant ($P < 0.05$). The specificity and sensitivity of antigen rapid method for detecting influenza virus in 1 984 samples were 99.51% and 87.90%, respectively. Using real-time fluorescence quantitative PCR method as "gold standard", the κ value for detecting influenza virus of antigen rapid method was 0.909, indicating high consistency between the two methods. There was no statistically significant difference in detectable rate between RT-qPCR and antigen rapid methods in male and female patients (male: 17.60% vs. 15.42%; female: 17.37% vs. 15.32%; both $P > 0.05$). The detectable rate of influenza virus in the population under 6 years old was relatively high. The detectable rates of influenza A virus by RT-qPCR and

antigen rapid methods were 12.71% and 11.94%, respectively, and the detectable rates of influenza B virus were 6.28% and 5.82%, respectively. The differences in detectable rates between the two methods were not statistically significant (both $P > 0.05$). **Conclusions** The consistency between antigen rapid method and RT-qPCR method for detecting influenza virus is high. The antigen rapid method has a convenient detection operation, which could ensure a certain detection efficiency while reducing detection costs and expanding the detection range. However, the sensitivity still needs to be improved. The final diagnosis results should be based on the detection result of RT-qPCR method. Its high sensitivity and specificity could provide more effective assistance for early and accurate screening of influenza virus.

【Key words】 Antigen rapid method; Real-time fluorescence quantitative PCR method; Influenza virus detection; Influenza A

流感是病毒引起的急性呼吸道感染疾病^[1], 感染流感病毒后, 患者容易发展成急性呼吸窘迫综合征, 成为流感患者死亡的关键因素之一^[2]。该病毒主要传播途径为呼吸道飞沫, 具有较强的传染性, 是第一个实行全球性监测的病毒性呼吸道传染病, 归类为丙类传染病。流感多发生在冬春季节, 临床表现为突然出现的高热、畏寒、头疼、全身肌肉关节酸痛、虚弱无力等症状。甲型流感病毒变异频繁, 变异程度大^[3], 人群普遍对其缺乏免疫力, 尤其婴幼儿、老年人以及有基础疾病和免疫功能低下者, 上述易感人群患流感后病情较重, 预后较差, 且容易出现并发症, 影响患者的生存时间^[4]。因此早期发现和尽早干预对流感治疗很重要, 确诊流感后应尽早 (发病 48 h 内) 给予抗病毒治疗, 可减轻症状严重程度, 降低并发症的发生风险, 进一步控制传播范围^[5]。鉴于流感临床症状的非特异性, 迫切需要一种准确的早期诊断方法, 本研究旨在通过比较抗原快速法与实时荧光定量 PCR (real-time fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR) 法在流感病毒检测中的效果, 以 RT-qPCR 法作为检测“金标准”, 考察流感病毒抗原快速检测方法在临床检验中的效果, 现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 样本收集 收集 2023 年 10 月—2024 年 10 月三明市疾病预防控制中心 1 984 例流感样病例的呼吸道样本 (鼻 / 咽拭子)。

1.1.1 纳入标准 ① 发热体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$; ② 存在头痛、肌肉关节酸痛、咽痛、乏力等全身症状的患者; ③ 发病 3 d 内的流感样病例。

1.1.2 排除标准 ① 不明原因发热者; ② 已明确存在临床或实验室证据解释发热原因者。

1.1.3 伦理学 本研究严格遵守医学伦理规范, 并经本单位伦理审批 (审批号: 20250318), 所有检测操

作均在获得受检者充分知情同意的前提下进行。

1.2 仪器与试剂 甲 / 乙型流感病毒抗原检测试剂盒 (广州万孚生物技术股份有限公司); NP968-S 全自动核酸提取仪 (西安天隆科技有限公司); CFX96 Deep Well 实时荧光 PCR 仪 (美国伯乐公司); 甲 / 乙型流感病毒核酸试剂盒 (江苏硕士公司)。

1.3 检测方法

1.3.1 鼻咽拭子标本采集 嘱患者抬头仰颌, 采集标本时采集者右手持棉拭子垂直进入患者咽部, 触及咽部后壁和扁桃体区域, 轻轻旋转拭子 5 ~ 10 s, 为确保样本采集质量, 采集后立即将拭子置于含 3 ~ 4 mL 采样液的无菌采样管中保存。密封采样管, 标记样本信息, 保存温度为 2 ~ 8 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3.2 抗原快速法^[6] 采用甲 / 乙型流感病毒抗原检测试剂盒对收集的流感样患者样本进行检测, 将鼻咽拭子标本置于含有 400 μL 样本提取液的试管中, 使标本充分溶入提取液中, 弃去拭子, 将已处理的样本提取液向试剂盒检测卡中滴入 3 ~ 4 滴, 于 20 min 内观察结果。

1.3.3 RT-qPCR 法^[7] 使用甲 / 乙型流感病毒核酸试剂盒, 采用实时荧光 PCR 法同时进行甲、乙型流感病毒核酸检测。

1.4 观察指标

1.4.1 流感病毒检出情况 通过对流感病毒进行检测, 比较流感病毒检出的不同类型。

1.4.2 抗原快速法与 RT-qPCR 法对流感病毒的检测结果比较 比较两种方法的检测结果, 对收集的 1 984 例呼吸道样本进行核酸检测复核。

1.4.3 抗原快速法与 RT-qPCR 法对不同类型流感病毒的检出率比较 比较抗原快速法与 RT-qPCR 法对不同类型的流感病毒检出情况。

1.4.4 不同年龄组流感病毒检出率比较 将流感样病例分为 < 6 岁组 (653 例)、6 ~ 18 岁组 (572 例)、

19~45 岁组(341 例)、>45 岁组(418 例),比较各组流感病毒检出情况。

1.5 统计学处理 本研究采用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析。计数资料以例(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。以 RT-qPCR 法结果作为参考标准,选择 Kappa 一致性检验分析两种方法检测流感病毒结果的一致性;采用配对 χ^2 检验计算抗原快速法的诊断价值。

2 结果

2.1 流感病毒检出情况 1 984 例标本经 RT-qPCR 法检测结果显示,检出 347 例流感病毒阳性样本,阳性率为 17.49%,其中甲型流感检出率为 11.64%,乙型流感检出率为 5.75%,甲乙型流感混合感染检出率为 0.10%。见表 1。

表 1 1 984 份鼻咽拭子样本的流感病毒检出情况

病毒类型	阳性检出样本(份)	阳性检出率(%)
甲型流感病毒	231	11.64
乙型流感病毒	114	5.75
甲/乙型流感病毒混合	2	0.10
合计	347	17.49

2.2 抗原快速法与 RT-qPCR 法检测流感病毒结果比较 对收集的 1 984 例流感样病例呼吸道样本进行抗原快速法检测,检出阳性 305 例。采用 RT-qPCR 法作为检验“金标准”,与抗原快速法进行对比,抗原快速法的特异度为 99.51%,敏感度为 87.90%,两种方法一致性检验的 κ 值为 0.909,一致性较高。见表 2。

表 2 抗原快速法与 RT-qPCR 法对流感病毒的检测结果比较

抗原快速法	实时荧光定量 PCR 法(份)		合计(份)
	阳性	阴性	
阳性	305	8	313
阴性	42	1 629	1 671
合计	347	1 637	1 984

注:RT-qPCR 为实时荧光定量 PCR

2.3 抗原快速法与 RT-qPCR 法对不同类型流感病毒的检出率比较 在 1 984 例呼吸道样本中,采用 RT-qPCR 法检出甲型流感病毒 231 例,乙型流感病毒 114 例,甲/乙型流感病毒混合 2 例;采用抗原快速法检出甲型流感病毒 206 例,乙型流感病毒 97 例,甲/乙型流感病毒混合 2 例,两种方法检出率比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。见表 3。

2.4 不同性别受检者的流感病毒检出率比较 在 1 984 例鼻咽拭子标本中,RT-qPCR 法检出流感病毒

阳性 347 例,其中男性标本 186 例,女性标本 161 例;抗原快速法检测出流感病毒阳性 305 例,其中男性标本 163 例,女性标本 142 例,两种方法检出率差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

表 3 1 984 份鼻咽拭子样本采用抗原快速法与 RT-qPCR 法对不同类型流感病毒的检出率比较

病毒类型	检出率[% (例)]	
	实时荧光定量 PCR 法	抗原快速法
甲型流感病毒	11.64(231)	10.38(206)
乙型流感病毒	5.75(114)	4.89(97)
甲/乙型流感病毒混合	0.10(2)	0.10(2)
合计	17.49(347)	15.37(305)

注:RT-qPCR 为实时荧光定量 PCR

表 4 抗原快速法与 RT-qPCR 法对不同性别受检者流感病毒检出率比较

性别	样本数(份)	检出率[% (份)]		χ^2 值	P 值
		实时荧光定量 PCR 法	抗原快速法		
男性	1 057	17.60(186)	15.42(163)	1.815	0.178
女性	927	17.37(161)	15.32(142)	1.424	0.233
合计	1 984	17.49(347)	15.37(305)	3.237	0.072

注:RT-qPCR 为实时荧光定量 PCR

2.5 不同年龄组受检者流感病毒检出率比较 <6 岁组的流感病毒检出率较高,RT-qPCR 法和抗原快速法对甲型流感病毒的检出率分别为 12.71%、11.94%,对乙型流感病毒的检出率分别为 6.28%、5.82%,两种方法比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。见表 5~6。

表 5 抗原快速法与 RT-qPCR 法对不同年龄组受检者甲型流感病毒的检出率比较

年龄	样本数(份)	检出率[% (份)]		χ^2 值	P 值
		实时荧光定量 PCR 法	抗原快速法		
<6 岁	653	12.71(83)	11.94(78)	0.177	0.674
6~18 岁	572	12.06(69)	10.84(62)	0.422	0.516
19~45 岁	341	9.09(31)	7.92(27)	0.725	0.395
>45 岁	418	11.48(48)	9.33(39)	1.039	0.308
合计	1 984	11.64(231)	10.38(206)	1.607	0.205

注:RT-qPCR 为实时荧光定量 PCR

表 6 抗原快速法与 RT-qPCR 法对不同年龄组受检者乙型流感病毒的检出率比较

年龄	样本数(份)	检出率[% (份)]		χ^2 值	P 值
		实时荧光定量 PCR 法	抗原快速法		
<6 岁	653	6.28(41)	5.82(38)	0.121	0.728
6~18 岁	572	5.59(32)	5.07(29)	0.156	0.693
19~45 岁	341	4.69(16)	3.81(13)	0.324	0.569
>45 岁	418	5.98(25)	4.07(17)	1.604	0.205
合计	1 984	5.75(114)	4.89(97)	1.447	0.229

注:RT-qPCR 为实时荧光定量 PCR

3 讨论

流感的发病率较高,在全世界包括我国已出现多次暴发流行,严重危害人类生命安全。流感病毒属于 RNA 病毒,潜伏期短,传染性强,易发生抗原变异,抗原漂移与抗原转变是主要的抗原变异形式^[8]。鉴于流感病毒抗原的持续变异,导致其流行反复,流感病毒各型及亚型之间无交叉免疫,因此患者可反复患病^[8]。通过检测流感病毒确定病毒亚型,有助于精准选择最有效的治疗药物,及时对流感进行预防和控制,有助于降低流感发病率和传播风险^[10]。

本研究中,抗原快速法和 RT-qPCR 法检测结果的一致性较高,抗原快速法主要是基于抗原与抗体的特异性结合^[11],该方法的优点有:① 快速便捷,15~20 min 即可得出结果;② 安全简便,检验过程相对简单,不需要复杂的实验室设备;③ 相较于 PCR 等检测方法成本更低,因此临床上多用该方法来初步快速筛查流感患者^[12]。但抗原快速法的敏感度较低,且抗原检测的敏感度低于 RT-qPCR 法,受样本质量影响可能出现假阴性结果,导致不准确。RT-qPCR 技术是通过扩增病毒的基因序列,然后观察荧光信号的强弱来确定是否存在病毒核酸^[13]。RT-qPCR 法的检测敏感度高,特异性强,能够检测出微量的核酸模板,精准识别病毒核酸序列,且定量准确,可以对核酸进行定量分析,帮助临床医生了解患者体内病原体的数量,有效评估疾病严重程度和治疗效果^[14],因此,在病毒感染的诊断领域扮演着关键角色。

本研究结果显示,对 1 984 例标本进行流感病毒核酸检测,共检出 347 例阳性,阳性率为 17.49%,其中甲型流感病毒检出率为 11.64%,乙型流感病毒检出率为 5.75%,甲乙型流感病毒混合感染检出率为 0.10%,差异具有统计学意义。本研究结果显示,在不同性别受检者中,抗原快速法和 RT-qPCR 法对流感病毒的检出率差异无统计学意义。流感多发于婴幼儿及老年人群,尤其是 <6 岁组婴幼儿是流感的高危人群。对于免疫力低下、有基础疾病的患者,目前,流感疫苗接种是预防流感最有效措施之一。核酸检测可帮助临床医生及时确诊流感,可明确流感病毒亚型,检测结果可指导临床医生合理使用抗病毒药物;同时还有助于在早期发现感染,通过及时隔离和治疗,可以有效遏制病毒的传播。

综上所述,抗原快速法检测操作便捷,可在保证一定检测效率的同时降低检测费用,有利于扩大检测范围,但敏感度还有待提高,最终的确诊结果应以 RT-qPCR 法检测结果为准,其高敏感度和特异性能够为流感病毒的早期准确筛查提供更有效的帮助。

利益冲突 作者声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 贺笠,卢芳国. 流行性感冒的肺外损伤及调控机制研究进展 [J]. 医学综述, 2023, 29 (15): 3005-3009.
- 2 郑永信,黄勇波,刘晓青,等. 氧化应激反应在流感病毒相关 ARDS 中作用的研究进展 [J]. 中华危重病急救医学, 2021, 33 (10): 1272-1276. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210609-00854.
- 3 张研,李刚,张茜,等. 自然杀伤细胞在流感中的作用机制研究进展 [J]. 重庆医学, 2024, 53 (7): 1084-1088. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2024.07.024.
- 4 陈丹阳,郑思钰,郑锐林,等. 流感病毒研究进展 [J]. 检验医学, 2023, 38 (7): 696-703. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2023.07.015.
- 5 刘雅芬,高燕. 免疫抑制患者流感病毒感染的抗病毒治疗策略及耐药研究进展 [J]. 中华临床感染病杂志, 2022, 15 (2): 145-151. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2022.02.010.
- 6 吴亦琳,花盛浩. 流感病毒抗原快速检测试剂灵敏度及特异性评价 [J]. 国际病毒学杂志, 2024, 31 (1): 33-36. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4092.2024.01.007.
- 7 宋广萍. 荧光实时定量 PCR 法检测流感病毒核酸的质控结果分析 [J]. 实验室检测, 2024, 2 (7): 101-103.
- 8 孙宇新,陈明泉. 流行性感冒对继发肺部细菌性感染易感性影响的研究进展与前景 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2024, 24 (6): 736-741. DOI: 10.16718/j.1009-7708.2024.06.016.
- 9 成军,王宁宇,刘梦如,等. 流行性感冒病毒感染的实验室诊断技术应用进展 [J]. 浙江医学, 2024, 46 (3): 240-245. DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2023.46.3.2024-142.
- 10 黑龙江省中西医结合重症分会,黑龙江省中医药重症医学分会,黑龙江省质量控制中心,等. 黑龙江省中西医结合预防寒地秋季流感专家共识 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2024, 31 (6): 641-648. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2024.06.001.
- 11 单佳妮,汪天林,赵水爱,等. 鼻咽拭子与口咽拭子呼吸道病毒抗原检出率比较 [J]. 检验医学, 2021, 36 (7): 719-721. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2021.07.008.
- 12 张静,李斌,魏玉柱,等. 流感病毒抗原快速诊断试验评估和临床价值分析 [J]. 医学检验与临床, 2023, 34 (2): 50-54. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5013.2023.02.013.
- 13 邱莉莉. 实时荧光定量 PCR 仪用于流感病毒检测的效果分析 [J]. 中国医疗器械信息, 2024, 30 (18): 104-106. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6586.2024.18.033.
- 14 龙春平,孔令军,吴周建. 荧光实时定量 PCR 法检测流感病毒核酸的质控结果分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18 (6): 1107-1108. DOI: 10.3969/j.issn.1004-8685.2008.06.058.

(收稿日期: 2025-02-27)

(本文编辑: 邵文)