

◇ 经验与体会 ◇

血常规鉴别甲型 H1N1 流感快速抗原假阴性的价值

张洋 许翔 陈鹤 徐元宏 王中新

摘要 选取行甲流快速抗原检测和 RNA 检查的疑似甲流患者纳入该研究。分单阴组(抗原阴性、RNA 阳性);双阴组(抗原、RNA 阴性)和双阳组(抗原、RNA 阳性)。选同期行体检的 44 例无任何疾病的正常人为对照组。用单因素及多因素分析比较四组间白细胞(WBC)、中性粒细胞百分比(NEUT%)、淋巴细胞百分比(LYMPH%)及单核细胞百分比(MONO%)差异,绘制受试者工作曲线(ROC)。单阴组 WBC 及 NEUT% 高于双阴组(均 $P < 0.05$), LYMPH% 低于双阴组($P = 0.023$)。单阴组与双阳组四项指标差异无统计学意义。双阴组 WBC 及 NEUT% 低于双阳组(均 $P < 0.05$), LYMPH% 及 MONO% 高于双阳组(均 $P < 0.05$)。单阴组 WBC 及 NEUT% 高于对照组($P < 0.001$), LYMPH% 低于对照组($P < 0.001$)。双阴组 WBC、NEUT% 及 MONO% 高于对照组(均 $P < 0.05$), LYMPH% 低于对照组($P < 0.001$)。双阳组 WBC 及 NEUT% 高于对照组(均 $P < 0.05$), LYMPH% 及 MONO% 低于对照组(均 $P < 0.05$)。对单阴组与双阴组行 Logistic 回归分析,仅 WBC 差异有统计学意义($P = 0.010$, HR: 1.51, 95% CI: 1.11 ~ 2.06)。WBC 对甲流快速抗原假阴性的诊断 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.890(95% CI: 0.79 ~ 0.99)。最佳诊断临界值为 $8.5 \times 10^9/L$ 。甲流快速抗原检测阴性而 $WBC \geq 8.5 \times 10^9/L$ 的甲流疑似患者,需行甲流 RNA 检测进一步确诊。

关键词 甲型 H1N1 流感;快速抗原检测;RNA 检测;假阴性;ROC 曲线;白细胞

中图分类号 R 446.11

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)08-1299-04
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.08.030

甲型 H1N1 流感(甲流)是一种由病毒导致、传播能力强、极易造成大流行的急性呼吸道传染病^[1-2]。甲流可在人群中传播,症状主要为发热、咳嗽、疲劳等,严重时可能导致急性呼吸窘迫综合征甚至死亡^[3-6]。目前国内外对甲流检测方法主要是快速抗

原检测法及核酸检测法^[7-8]。快速抗原检测法快速、方便,常用作甲流筛查,但此方法容易造成假阴性进而导致漏诊。而核酸检测法可以确切检测出有无甲型 H1N1 流感病毒核酸,为甲流确诊的金标准^[7-9],但该方法价格昂贵、周期长,许多甲流疑似感染者在快速抗原筛查阴性后便选择不做核酸检测法检查,导致漏诊及耽误治疗。因此,该研究主要探讨血常规用于鉴别甲流抗原检测假阴性的价值,为抗原检测漏诊提供帮助。

1 材料与方法

1.1 病例资料 主要研究对象为 2017 年 10 月 ~ 2019 年 5 月在安徽医科大学第一附属医院高新院区检验科行甲流快速抗原检测和 RNA 检测的甲流疑似患者。研究对象分为:单阴组(抗原阴性、RNA 阳性)36 例,女性 15 例,男性 21 例,年龄 36 ~ 92(52.29 ± 18.54)岁;双阴组(抗原、RNA 阴性)23 例,女性 14 例,男性 9 例,年龄 27 ~ 83(49.04 ± 23.53)岁;双阳组(抗原、RNA 阳性)14 例,其中女性 3 例,男性 11 例,年龄 35 ~ 81(58.18 ± 16.64)岁。其中双阴组研究对象经随访后证实都康复出院,并未最终发展为甲流。选取同期于该科行健康体检的 44 例无任何疾病的正常人为对照组,其中女性 14 例,男性 30 例,年龄 25 ~ 90(54.78 ± 13.44)岁。上述 3 组研究对象及对照组之间年龄、性别等一般资料差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有患者的血常规检测均为开始发热后 24 h 内抽血完成,对照组于体检当天清晨空腹抽血完成。

1.2 检测方法

1.2.1 血常规检测 采用全自动血液分析仪(XN9000,日本 SYSMEX 公司),按照分析仪使用说明进行血常规检测。

1.2.2 甲流 RNA 检测 采集咽拭子,使用甲型流感病毒核酸检测试剂盒(中山大学达安基因股份有限公司)。按照说明书操作,取 200 μ l 液态咽拭子样本行核酸提取,利用试剂盒中提供的聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)检测试剂配置

2020-03-04 接收

基金项目:安徽省高校省级自然科学基金项目(编号: KJ2015A337)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院检验科,合肥 230022

作者简介:张洋,女,技师;

王中新,男,副教授,硕士生导师,主任技师,责任作者, E-

mail: aywzhx87@163.com

PCR 反应管 将样本核酸加入 PCR 反应管中,使用荧光定量 PCR 仪进行一步法实时荧光定量聚合酶链式反应扩增(real-time PCR, RT-PCT),并检测荧光信号。仪器软件系统自动绘制出实时扩增曲线,根据阈循环值(Ct 值)实现对未知样本的定性检测。阳性结果判定标准:6-羧基荧光素(6-carboxyfluorescein, FAM)检测通道有扩增曲线且 Ct 值 \leq 39.7,六氯 6-羧基荧光素(hexachloro-6-carboxyfluorescein, HEX)检测通道有或无扩增曲线。阴性结果判定标准:FAM 检测通道无扩增曲线或 FAM 检测通道有扩增曲线且 Ct 值 $>$ 39.7,HEX 检测通道有扩增曲线且 Ct 值 \leq 44.5。

1.2.3 甲流快速抗原检测 用棉签采集咽喉擦拭液,按照甲型流感病毒抗原检测试剂盒(胶体金法,杭州创新生物检控技术有限公司)说明书操作。将采集样本后的棉签浸在用来抽提的管子中的样本抽提液中搅拌,从抽提用管子外侧,用手指挤压棉棒数次,使样本抽提液充分浸透棉棒,然后拔出棉棒,绞出的液体作为样品待测。检测结果判定:按照操作方法使其发生反应,根据结果判定部位显示的条带判定(从正上方往下观察)。当结果判定部位[T]及[C]双方都确认有条带时,则判定为阳性;当结果判定部位[T]处有条带,即使是很淡的条带,但只要能确认有条带,则都判为阳性;当结果判定部位[T]处没有条带,只有[C]处确认有条带时,则判为阴性;结果判定部位[C]处有条带,即使条带颜色很淡,只要肉眼能确认有条带,则表示色谱展开是正常的,无需重新检测;当结果判定部位[C]处确认没有条带时,则重新检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析,连续变量以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间两两比较方差齐者采用 LSD 检验,方差不齐者采用 Dunnett's T3 检验,计数资料采用率来表示,多因素分析采用 Logistic 回归分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 单阴阳组、双阴组和双阳组外周血 WBC 结果比较 外周血 WBC 检测结果显示,与单阴阳组(10.13 ± 0.91) $\times 10^9/L$ 比较,双阴组(6.52 ± 0.30) $\times 10^9/L$ 较低,差异有统计学意义($F = 14.83, P = 0.009$);双阳组(13.64 ± 1.92) $\times 10^9/L$ 较高,但差异无统计学意义($F = 0.006, P = 0.387$)。与双阳组比较,双阴组 WBC 较低,差异有统计学意义($F = 21.64, P = 0.002$)。

2.2 单阴阳组、双阴组和双阳组外周血 NEUT% 结果比较 外周血 NEUT% 检测结果显示,与单阴阳组(84.07 ± 2.74)%比较,双阴组(76.48 ± 1.67)%较低,差异有统计学意义($F = 0.958, P = 0.017$);双阳组(86.27 ± 4.08)%较高,但差异无统计学意义($F = 0.257, P = 0.645$)。与双阳组比较,双阴组 NEUT% 较低,差异有统计学意义($F = 2.021, P = 0.012$)。

2.3 单阴阳组、双阴组和双阳组外周血 LYMPH% 结果比较 外周血 LYMPH% 检测结果显示,与单阴阳组(9.40 ± 1.55)%比较,双阴组较高(14.35 ± 1.35)%,差异有统计学意义($F = 0.054, P = 0.023$);双阳组(7.82 ± 3.18)%较低,但差异无统计学意义($F = 1.859, P = 0.631$)。与双阳组比较,双阴组 LYMPH% 较高,差异有统计学意义($F = 2.463, P = 0.032$)。

2.4 单阴阳组、双阴组和双阳组外周血 MONO% 结果比较 外周血 MONO% 检测结果显示,与单阴阳组(6.13 ± 1.45)%比较,双阴组(8.39 ± 0.53)%较高,但差异无统计学意义($F = 3.365, P = 0.099$);双阳组(3.91 ± 1.06)%较低,但差异也无统计学意义($F = 0.712, P = 0.259$)。与双阳组比较,双阴组 MONO% 较高,差异有统计学意义($F = 0.695, P < 0.001$)。

2.5 单阴阳组、双阴组和双阳组与对照组之间的结果比较 外周血 WBC 检测结果显示,与对照组(5.64 ± 0.09) $\times 10^9/L$ 比较,单阴阳组(10.13 ± 0.91) $\times 10^9/L$ 较高,差异有统计学意义($F = 0.986, P < 0.001$);双阴组(6.52 ± 0.30) $\times 10^9/L$ 较高,差异有统计学意义($F = 35.296, P = 0.009$);双阳组(13.64 ± 1.92) $\times 10^9/L$ 也较高,差异有统计学意义($F = 80.91, P = 0.002$)。外周血 NEUT% 检测结果显示,与对照组(57.91 ± 1.11)%比较,单阴阳组(84.07 ± 2.74)%较高,差异有统计学意义($F = 0.986, P < 0.001$);双阴组(76.48 ± 1.67)%较高,差异有统计学意义($F = 0.039, P < 0.001$);双阳组(86.27 ± 4.08)%也较高,差异有统计学意义($F < 0.001, P < 0.001$)。外周血 LYMPH% 检测结果显示,与对照组(30.93 ± 0.99)%比较,单阴阳组(9.40 ± 1.55)%较低,差异有统计学意义($F = 0.443, P < 0.001$);双阴组(14.35 ± 1.35)%较低,差异有统计学意义($F = 0.085, P < 0.001$);双阳组(7.82 ± 3.18)%也较低,差异有统计学意义($F = 2.746, P < 0.001$)。外周血 MONO% 检测结果显

示,与对照组(6.91 ± 0.27)%比较,单阴阳组(6.13 ± 1.45)%较低,但差异无统计学意义($F = 11.00$, $P = 0.607$);双阴组(8.39 ± 0.53)%较高,差异有统计学意义($F = 2.273$, $P = 0.007$);双阳组(3.91 ± 1.06)%较低,差异有统计学意义($F = 8.36$, $P = 0.048$)。

2.6 单阴阳组与双阴组之间的 Logistic 回归分析结果 对单阴阳组和双阴组之间差异有统计学意义的三组指标 WBC、NEUT% 及 LYMPH% 进行 Logistic 回归分析,结果提示:仅 WBC 差异有统计学意义($P = 0.010$, HR: 1.51, 95% CI: 1.11 ~ 2.06),而 NEUT% ($P = 0.329$, HR: 0.95) 和 LYMPH% ($P = 0.335$, HR: 0.93) 差异无统计学意义。

2.7 外周血 WBC 对甲流快速抗原检测假阴性的诊断价值 血 WBC 诊断甲流快速抗原检测假阴性的 AUC 为 0.890 (95% CI: 0.79 ~ 0.99)。最佳诊断临界值为 $8.5 \times 10^9/L$ (图 1)。

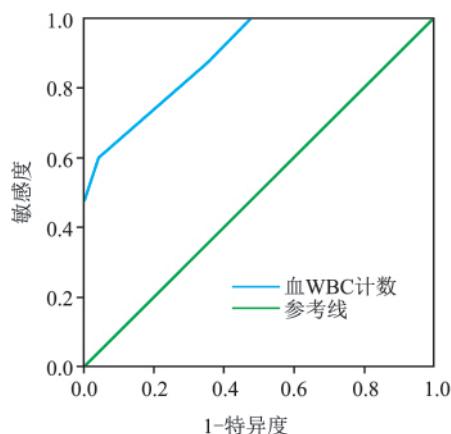


图1 血 WBC 计数鉴别甲流快速抗原检测假阴性的价值

3 讨论

流行性感冒是传播能力极强的一种传染病,甲流由于其病毒易变异,导致传染力更加强烈^[10]。甲流早期症状无异于普通流感^[3-5]。因此,很难从症状上鉴别甲流和普通流感。甲流漏诊会导致小范围流行(如院感)。因此,必须在甲流早期做出快速的诊断。甲流快速抗原检测因其简便、快速的特点,主要用于临床筛查,但容易出现漏诊。而核酸检测法作为金标准,则很少漏诊^[7-9],但该方法价格昂贵且周期长,许多疑似感染者在快速抗原为阴性后便不继续行核酸检测法,为漏诊埋下隐患。

本研究显示单阴阳组 WBC 及 NEUT% 均高于双阴组,而 LYMPH% 则较低。这就说明这部分患者

与正常人的血常规结果几乎是完全不同的,这与先前研究的结果较一致^[11]。而 WBC 结果与姜舒亚等^[12]的结果不一致,这可能是由于本研究对象包含较多成人,而先前研究以儿童为主,成人的免疫系统发育较完善,对病原体入侵相对灵敏。而单阴阳组与双阳组其 WBC、NEUT%、LYMPH% 及 MONO% 均无差异,这说明这部分患者与已经确诊了的甲流患者的血常规结果基本一致。单阴阳组与双阴组其 WBC、NEUT%、LYMPH% 及 MONO% 的差异均有统计学意义。另外,所选取的三组研究对象其血常规与无任何症状与疾病的健康成人对照组相比基本都具有显著的差异。这就表明,即使是抗原和 RNA 检测均为阴性,也必须引起高度重视。

临床上,一般 WBC 或 NEUT% 升高则认为因细菌性感染,WBC 降低或 LYMPH% 升高认为由于病毒感染^[13]。而在本研究中,双阳组的甲流患者其 WBC 高于双阴组的正常人,而 LYMPH% 则降低。这与先前的研究报道有不一致的地方^[14]。

为了筛选能鉴别快速抗原假阴性的独立因素,对单阴阳组和双阴组做了 Logistic 回归分析,结果显示只有外周血 WBC 为独立相关因素。通过 ROC 曲线分析得出 WBC 对预测快速抗原检查假阴性的 AUC 为 0.890 (95% CI: 0.789 ~ 0.991),最佳诊断临界值为 $8.5 \times 10^9/L$ 。因此,当临床上出现甲流疑似患者其快速抗原检测结果为阴性而其血常规中 WBC $\geq 8.5 \times 10^9/L$ 时,应强烈建议其行核酸检测法来确诊,以免漏诊可能带来的严重后果。

本研究存在一些不足,首先是回顾性研究,其本身的局限性会不可避免的对研究结果的准确性造成影响。其次,本研究的样本量较小,特别是根据检测结果分为 3 组之后,每组的样本量更少。最后,该研究对象集中于合肥地区,单个地区的局限性也会影响结果。

综上,本研究证实了血常规可用于鉴别甲流快速抗原检测假阴性,尤其以 WBC 价值最大。对于甲流疑似感染者,且其 WBC 超过 $8.5 \times 10^9/L$,那么即使其快速抗原检测为阴性,也要行核酸检测法来进行进一步确诊。外周血 WBC 对预测甲流快速抗原假阴性具有良好的应用前景。

参考文献

- [1] 曾祥兴,李康生. 流感百年: 20 世纪流感大流行的回顾与启示[J]. 医学与社会, 2010, 23(11): 4-6.
- [2] Taubenberger J K, Morens D M. Influenza: the once and future pandemic[J]. Public Health Rep, 2010, 125(Suppl 3): 16-

- 26.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 甲型 H1N1 流感诊疗方案(2009 年第三版) [J]. 环球中医药, 2010, 3(1): 28-30.
- [4] 陶然, 尚世强. 人感染甲型 H1N1 流感病毒的研究进展 [J]. 中国循证儿科杂志, 2009, 4(3): 250-2.
- [5] 叶冬青. 甲型 H1N1 流感的流行与应对 [J]. 中华疾病控制杂志, 2009, 13(3): 215-8.
- [6] Wu Q F, Zhu W R, Yan Y L et al. Anti-H1N1 influenza effects and its possible mechanism of Huanglian Xiangru Decoction [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 185: 282-8.
- [7] 俞晓燕, 吕建新, 谭文杰. 呼吸道病毒感染核酸检测技术及其应用进展 [J]. 生物技术通讯, 2011, 22(5): 743-6.
- [8] 孔梅, 邢长永, 王莹. 直接免疫荧光法与多重逆转录聚合酶链反应对呼吸道感染常见病毒的诊断价值 [J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(23): 5422-3.
- [9] Henrickson K J. Advances in the laboratory diagnosis of viral respiratory disease [J]. *Pediatr Infect* 2004, 23(Suppl 1): S6-10.
- [10] Mc Cullers J A, Van De Velde L A, Allison K J, et al. Recipients of vaccine against the 1976 "swine flu" have enhanced neutralization responses to the 2009 novel H1N1 influenza virus [J]. *Clin Infect Dis*, 2017, 50(1): 1487-92.
- [11] 申学基, 李成德, 刘健, 等. 甲型流感患者感染初期血常规分析及临床意义 [J]. 实验与检验医学, 2016, 34(5): 663-5.
- [12] 姜舒亚, 杨霞, 曾昭成, 等. 甲型 H1N1 流感患儿血常规、血清淀粉样蛋白 A 及 C 反应蛋白水平 [J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(1): 61-6.
- [13] 陈文彬, 潘祥林, 康熙雄, 等. 诊断学 [M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 253-9.
- [14] 寇翰林, 陈耐新, 南京柱, 等. 155 例甲型流感疑似患者血常规结果不典型变化分析 [J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(10): 1783-6.

Value of blood routine examination in distinguishing false negative of rapid antigen in influenza A(H1N1)

Zhang Yang, Xu Xiang, Chen He, et al

(Dept of Inspection, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract The Influenza A H1N1 suspected patients who underwent Influenza A H1N1 influenza rapid antigen detection and RNA detection were incorporated into this study. All incorporated suspected patients were classified into 3 groups: single positive or negative group (antigen detection negative and RNA detection positive group), both negative group, both positive group. 44 normal persons without any disease who underwent healthy examination at the same time were selected as the control group. Univariate and multivariate analysis of White blood cells (WBC), Neutrophils (NEUT%), Lymphocyte (LYMPH%) and Monocyte (MONO%) were carried out to compare the statistical differences among these four groups. Meanwhile, receiver operating characteristic curves were drawn (ROC curve). The WBC and NEUT% of single positive or negative group were higher than both negative group (both $P < 0.05$), while the LYMPH% of single positive or negative group was lower than both negative group ($P = 0.023$). There was no difference in these four factors between single positive or negative group and both positive group. The WBC and NEUT% of both negative group were lower than both positive group (both $P < 0.05$), while the LYMPH% and MONO% of both negative group were higher than both positive group (both $P < 0.05$). The WBC and NEUT% of single positive or negative group were higher than control group (both $P < 0.05$), while the LYMPH% of single positive or negative group was lower than control group ($P < 0.001$). The WBC, NEUT% and MONO% of both negative group were higher than control group (both $P < 0.05$), while the LYMPH% of both negative group was lower than control group ($P < 0.001$). The WBC and NEUT% of both positive group were higher than control group (both $P < 0.05$), while the LYMPH% and MONO% of both positive group were lower than control group (both $P < 0.05$). Based on the logistic regression analysis of single positive or negative group and both negative group, only WBC had statistical significance ($P = 0.010$, HR: 1.51, 95% CI: 1.11 ~ 2.06). The area under ROC curve (AUC) of WBC in the diagnosis of false negative antigen detection was 0.890 (95% CI: 0.79 ~ 0.99). The best cutoff value of WBC was $8.5 \times 10^9/L$. If the result of antigen detection is negative but the WBC is greater than or equal to $8.5 \times 10^9/L$, the RNA detection is needed to make the correct diagnosis.

Key words influenza A H1N1; influenza rapid antigen detection; RNA detection; false negative; ROC curve; WBC