

·医学数据科学·

流感样病例中流感病毒阳性检出率的影响因素分析

韩捷思

(天津市蓟州区疾病预防控制中心业务办公室,天津 301900)

摘要:目的 分析流感样病例中流感病毒阳性检出率的相关影响因素。方法 于全国流感监测网络系统中收集2018年1月—2020年12月采集的1815份流感样病例咽拭子样本,所有样本均采用实时荧光定量PCR(Real-time PCR)法完成核酸检测,统计其阳性检出率,并对其相关影响因素进行分析。结果 1815份流感样病例咽拭子样本的检测总阳性率为13.06%;流感样病例分年龄段阳性检出率由高到低依次为15~35岁、35岁及以上、14岁及以下;采样时间阳性检出率由高到低依次为第一季度、第四季度、第二季度、第三季度;发病、采样与送检的时间间隔时间越短,阳性检出率越高,差异有统计学意义($P<0.05$);多因素Logistic回归分析显示,流感样病例年龄($OR=1.064, 95\%CI:0.968\sim1.354$)、采样时间($OR=1.342, 95\%CI:0.975\sim1.659$)、采样至送检时间($OR=1.476, 95\%CI:1.362\sim1.603$)为流感阳性检出的危险因素。结论 流感样病例的年龄、采样时间、采样至送检时间可影响其流感阳性检出率。

关键词:流感病毒;咽拭子;阳性检出率;标本采集;采样时间;荧光定量PCR法

中图分类号:R511.7

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2022.17.003

文章编号:1006-1959(2022)17-0012-04

Analysis on Influencing Factors of Positive Detection Rate of Influenza Virus in Influenza-like Illness

HAN Jie-si

(Business Office of Tianjin Jizhou District Center for Disease Control and Prevention, Tianjin 301900, China)

Abstract: **Objective** To analyze the related influencing factors of positive detection rate of influenza virus in influenza-like illness. **Methods** Throat swab samples of 1815 influenza-like cases collected from January 2018 to December 2020 were collected from the national influenza surveillance network system. All samples were tested for nucleic acid by real-time fluorescence quantitative PCR (Real-time PCR). The positive detection rate was counted and its related influencing factors were analyzed. **Results** The total positive rate of 1815 throat swab samples was 13.06%. The positive detection rate of influenza-like illness in different age groups from high to low was 15-35 years old, 35 years old and above, 14 years old and below; the positive rate of sampling time from high to low was the first quarter, the fourth quarter, the second quarter, the third quarter; the shorter the time interval between onset, sampling and submission, the higher the positive detection rate, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that age ($OR=1.064, 95\%CI:0.968\sim1.354$), sampling time ($OR=1.342, 95\%CI:0.975\sim1.659$) and time from sampling to submission ($OR=1.476, 95\%CI:1.362\sim1.603$) were risk factors for positive detection of influenza. **Conclusion** The age, sampling time and sampling to submission time of influenza-like illness can affect the positive detection rate of influenza.

Key words: Influenza virus; Throat swab; Positive detection rate; Specimen collection; Sampling time; Fluorescence quantitative PCR

流感(influenza)是全球范围内重点监测的呼吸道传染病之一,由流感病毒侵袭所致,该病传染性强,易形成暴发式扩散,为国内外公共卫生安全带来了较大隐患^[1]。在此背景下,流感监测已成为我国重点开展的传染病监测项目,其检测准确性将直接影响到后续防疫方案的制定。因此,保证流感样病例中流感病毒的阳性检出效果,是改善其疫情防控效果的重要前提^[2,3]。但有报道显示^[4-6],流感病毒的阳性检出率易受到多方面因素的影响,对此,本研究收集2018年1月—2020年12月采集的1815份流感样病例咽拭子样本,对流感样病例中流感病毒阳性检出率的相关影响因素进行分析,旨在为该病的实验室诊断准确性提升提供参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 于全国流感监测网络系统中收集天

津市蓟州区疾病预防控制中心2018年1月—2020年12月采集的1815份流感样病例咽拭子样本,其中男948例,女867例;年龄1~89岁,平均年龄(17.52 ± 4.13)岁,所有样本均采用实时荧光定量PCR(Real-time PCR)法完成核酸检测,其检测过程均在同一实验室完成。

1.2 纳入和排除标准 纳入标准:①受检者均符合《全国流感监测方案(2010年版)》^[7]中流感样病例定义(体温 $\geq 38\text{ }^{\circ}\text{C}$,且伴咳嗽、咽痛症状);②病例检测资料完整。排除标准:①无典型症状者;②未按标准采集者;③信息资料不全或有误者。

1.3 方法

1.3.1 样本采集 于受检者发病3 d内采集其流感样病例标本,采用专用病毒咽拭子棉签,于咽后壁及两侧扁桃体部位进行拭抹,避免触及舌部,随后迅速将棉签置入外螺旋盖采样管中,采样管内提前注入保存液(5%牛血清维持液)3~5 ml,后续送至实验室进行检测,保存温度 $<4\text{ }^{\circ}\text{C}$;超过48 h不能送检则置于 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下保存,所有样本需在1周

作者简介:韩捷思(1984.2-),女,天津人,硕士,主管医师,主要从事传染病流行病学、免疫规划的研究

内完成送检。

1.3.2 指标检测 实验室接收样本后,于 3 d 内完成检测,采用 Qiagen 核酸提取试剂盒(Rneasy mini kit,货号:74104)进行病毒 RNA 提取,通过实时荧光定量 PCR 法对其病毒进行基因分型检测,仪器为 ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司),酶试剂为 One Step PrimeScript™ RT-PCR Kit(Takara, Japan,货号:RR064A)。分型结果包括甲型流感病毒中的 H₁N₁、H₃N₂ 亚型及乙型流感病毒中的 Victoria、Yamagata 型,该探针与引物均由天津市疾病预防控制中心提供。反应程序为 45 ℃条件下逆转录 10 min,95 ℃条件下预热 10 min,95 ℃条件下变性 15 s,60 ℃条件下扩增 45 s,于 45 ℃检测荧光值,共循环 42 个,对其实时荧光进行测定,以此绘制 S 型扩增曲线,当 CT 值小于 40,结果判定阳性。以上任一亚型病毒阳性,既判定为流感病毒阳性。

1.4 观察指标 分析流感样病例咽拭子样本的阳性检出结果、流感病毒阳性检出率的单因素及多因素危险因素(性别、年龄、采样时间、发病、采样与送检的时间间隔)。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件对数据进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较行 *t* 检验,计数资料以[n(%)]表示,组间比较行 χ^2 检验,流感病毒阳性检出率的相关因素采用多因素 Logistic 逐步回归分析,*P*<0.05 表明差异有统计学意义。

2 结果

2.1 流感样病例咽拭子样本的检测结果 1815 份流

感样病例咽拭子样本的检测结果显示,流感病毒阴性 1578 份,流感病毒阳性 237 份,总阳性率为 13.06%,其中季节性 H₃ 型病毒 90 份(5.70%)、新甲型 H₁ 流感病毒 88 份(5.58%)、Yamagata 乙型流感病毒 35 份(2.22%)、Victoria 病毒 23 份(1.46%)、未分型 1 份(0.06%)。

2.2 流感病毒阳性检出率的单因素分析

2.2.1 性别 不同性别流感样病例的阳性检出率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.151, P=0.697$),见表 1。

表 1 不同性别流感样病例的检测结果显示[n(%)]

检测结果		男(<i>n</i> =948)	女(<i>n</i> =867)
分型	阴性	827(87.24)	751(86.62)
	阳性	121(12.76)	116(13.38)
分型	季节性 H ₃	44(4.64)	46(5.31)
	新甲型 H ₁	47(4.96)	41(4.73)
	Yamagata	18(1.90)	17(1.96)
	Victoria	11(1.16)	12(1.38)
	未分型	1(0.11)	0

2.2.2 年龄 不同年龄段流感样病例的阳性检出率比较,差异有统计学意义(*P*<0.05);阳性检出率由高到低依次为 15~35 岁、35 岁及以上、14 岁及以下,见表 2。

2.2.3 采样时间 不同采样时间样本的阳性检出率比较,差异有统计学意义(*P*<0.05),其阳性检出率由高到低依次为第一季度、第四季度、第二季度、第三季度,见表 3。

表 2 不同年龄流感样病例的检测结果显示[n(%)]

检测结果		14 岁及以下(<i>n</i> =1068)	15~35 岁(<i>n</i> =478)	35 岁及以上(<i>n</i> =269)
分型	阴性	940(88.02)	402(84.10)	236(87.73)
	阳性	128(11.99)	76(15.90)	33(12.27)
分型	季节性 H ₃	54(5.06)	32(6.69)	4(1.49)
	新甲型 H ₁	41(3.84)	26(5.44)	21(7.81)
	Yamagata	16(1.50)	12(2.51)	7(2.60)
	Victoria	16(1.50)	6(1.26)	1(0.37)
	未分型	1(0.09)	0	0

表 3 不同采样时间样本的检测结果显示[n(%)]

检测结果		第一季度(<i>n</i> =630)	第二季度(<i>n</i> =197)	第三季度(<i>n</i> =205)	第四季度(<i>n</i> =783)
分型	阴性	465(73.81)	192(97.46)	205(100.00)	716(91.44)
	阳性	165(26.19)	5(2.54)	0	67(8.56)
分型	季节性 H ₃	31(4.92)	1(0.51)	0	58(7.41)
	新甲型 H ₁	80(12.70)	0	0	8(1.02)
	Yamagata	35(5.56)	0	0	0
	Victoria	19(3.02)	4(2.03)	0	0
	未分型	0	0	0	1(0.13)

2.2.4 发病、采样与送检的时间间隔 发病、采样与送检的时间间隔越短,病毒阳性检出率越高,差异有统计学意义($P<0.05$),见表4。

2.3 流感病毒阳性检出率的多因素分析 以流感病

毒阳性检出结果为应变量(阳性=1,阴性=0),结合上述单因素分析结果进行多因素 Logistic 逐步回归分析,结果显示,年龄、采样时间、采样至送检时间为流感阳性检出的危险因素($P<0.05$),见表5。

表4 发病、采样和送检时间间隔与流感病毒阳性检出率的关系[n(%)]

时间间隔(d)	n	阴性	阳性
发病至采样			
≤1	1802	1565(86.85)	237(13.15)
>1	13	13(100.00)	0
采样至送检			
≤1	1101	953(86.56)	148(13.44)
>1	714	625(87.54)	89(12.46)

表5 流感病毒阳性检出率相关因素的多元 Logistic 逐步回归分析

影响因素	β	标准差	Wald	P	OR	95%CI
年龄	0.76	0.17	5.607	0.022	1.064	0.968~1.354
采样时间	0.33	0.35	4.018	0.012	1.342	0.975~1.659
发病至采样时间	0.38	0.41	3.760	0.683	1.125	1.074~1.238
采样至送检时间	0.49	0.28	8.240	0.001	1.476	1.362~1.603

3 讨论

流感通常发病突然,且传染性强、传播速度快、流行面积大,易导致局部疫情的产生,现已被我国列为丙类法定传染病,及时检测、隔离与治疗是控制该病传播趋势的重要方案^[8,9]。目前,流感病毒的实验室检测多以实时荧光定量 PCR 法为主,可完整记录 PCR 过程中的每个循环数据,其检测灵敏度及特异度均较高,且操作简单、检测速度快,现已成为流感样病例标本的首选筛检方法^[10-12]。为了进一步提高流感样病例中流感病毒的阳性检出率,本研究基于实时荧光定量 PCR 法检测结果对其阳性率影响因素进行了分析,结果显示 1815 份流感样病例咽拭子标本的阳性检出率为 13.06%,其中以新甲型 H₁ 流感病毒及季节性 H₃ 型病毒最为常见,分析原因为新甲型 H₁ 病毒及季节性 H₃ 型病毒均为近两年优势毒株,因而阳性检出率相对较高这与天津地区流感疾病的流行特点一致。此外,经单因素及多因素分析,年龄、采样时间、采样至送检时间均是影响流感阳性检出的独立危险因素,具体分析如下:

3.1 年龄 本研究中不同年龄段流感样病例的阳性检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$),其阳性检出率由高到低依次为 15~35 岁年龄段、35 岁及以上年龄段、14 岁及以下年龄段,经多因素 Logistic 回归分析显示,年龄是流感阳性检出的危险因素($P<0.05$)。分析认为,年龄对流感病毒的表达存在一定影响,在儿童群体中,引起流感样症状的致病因素相对较多。同时,由于年龄较小,其样本采集也相对较为困难,咽拭子标本不合格是导致阳性检出率降低的重要原因^[13,14]。此外,从本研究数据来看,35 岁及

以上年龄段的阳性检出情况多集中在新甲型 H₁ 病毒,这是由于该病毒与我国甲型 H₁ 亚型流感病毒疫苗株亲缘关系较远。故,我国人群既往免疫疫苗对新甲型 H₁N₁ 流感可能无法提供有效保护,成人亦伴有一定的感染风险,与既往研究一致^[15,16]。

3.2 采样时间 本研究结果显示,不同采样时间样本的阳性检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$),其阳性检出率由高到低依次为第一季度、第四季度、第二季度、第三季度,经多因素 Logistic 回归分析,采样时间为流感阳性检出的危险因素($P<0.05$),显示这与流感的流行病学特征存在直接关联,我国处于温带地区,流感大多发生于冬春季节,因而该阶段的阳性检出率最高。刘静等^[17]报道显示,2017 年天津地区哨点医院流感高发季节为 1~3 月份、11~12 月份,这与本研究结果相对应。分析原因为冬春季节温度低、雨水少,空气干燥,低温、低湿可增加病毒的传播效率,导致阳性检出率的增高^[18]。同时,流感病毒对温度较为敏感,其环境温度越高,病毒存活时间越短^[19]。此外,夏秋季节光照强度相对较高,其阳光中的紫外线对病毒具有较强的杀灭作用,可降低该病毒的阳性检出率^[20]。门玉梅等^[21]研究显示,呼吸道病毒检出率在不同季节分布比较,差异有统计学意义($P<0.05$),其中冬季呼吸道病毒检出率最高,而后依次为春季、夏季与秋季,其病毒总检出率与月平均气温及月降水量呈显著负相关($P<0.05$)。且据刘天等^[22]研究显示,流行季节是影响流感病毒核酸检测阳性率的主要因素。本研究与该研究结果相符,表明气候与环境因素对病毒的流行具有重要的影响作用,其阳性检出率可随着季节性高峰的到来而升高。

3.3 采样至送检时间 本研究中不同送检时间样本的阳性检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$),其间隔时间越短,阳性检出率越高,经多因素 Logistic 回归分析,采样至送检时间是流感阳性检出的独立危险因素($P<0.05$)。在 PCR 检测中,其病毒分离的阳性率取决于病毒存活强度,但随着样本放置时间的延长,其细胞存活概率也逐渐下降,对其阳性检出率造成了较大影响^[23]。实时荧光定量 PCR 技术通常需进行多次扩增循环,以收集足够数据,建立实时扩增曲线,进而明确其 CT 值,做到 DNA 准确定量。但实际工作中,由于检测样本数量较少或人员不足等原因,通常需集中一定数量的样本后再行检测,由此可引起采样至送检时间间隔的延长,导致部分病毒失活,影响其检测准确性^[24,25]。此外,拭子类标本大多具有采样量少、易干等特点,若送检间隔较长,易导致细菌死亡,且样本放置时间的延长可引起一定的污染风险,对其检验准确性造成了较大影响^[26,27]。表明病例标本越早采集,其检测阳性率越高,及既往研究结果一致^[28]。此外,据《全国流感监测方案(2010 年版)》要求,最佳送检时间均保证在 48 h 内,其送检越及时,阳性检出率越高。

综上所述,流感样病例的年龄、采样时间、采样至送检时间可影响其流感阳性检出率,需充分考量其对检测结果的影响作用,以提高检测阳性率,实现早发现、早诊断。

参考文献:

[1]唐钧,曹红梅.甲型 H₁N₁ 流感病毒 RNA 检测方法的建立及临床应用[J].检验医学,2021,36(7):738-742.
[2]Bui CM,Chughtai AA,Adam DC,et al.An overview of the epidemiology and emergence of influenza A infection in humans over time[J].Archives of Public Health,2017,75(1):15.
[3]陆丽芬,盛迪,朱春婷,等.发热门诊中流行性感冒病毒检测阳性 912 例临床特征分析[J].中华危重症医学杂志(电子版),2021,14(1):60-62.
[4]刘宁,张立丽,赵艳明,等.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[J].检验医学与临床,2019,16(2):184-186,190.
[5]郑雅旭,姜晨彦,毛盛华,等.流感样病例定义对流感监测结果影响的比较分析[J].中华疾病控制杂志,2017,21(9):895-899.
[6]李琨,刘亚楠,田国保,等.临床实验室流感病毒检测的相关影响因素分析[J].国际病毒学杂志,2017,24(5):331-335.
[7]中华人民共和国卫生部.全国流感监测方案(2010 年版)[J].国际呼吸杂志,2011,1(2):85-88.
[8]闭福银,王静,康宁,等.广西流感样病例呼吸道病毒检测结果分析[J].应用预防医学,2018,24(6):473-475.
[9]Iuliano AD,Roguski KM,Chang HH,et al.Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling

study[J].The Lancet,2018,391(1):1285.

[10]高鑫,朱武洋,卢学新.实时荧光定量 PCR 在病毒检测中的应用[J].中国人兽共患病学报,2018,34(7):660-667.
[11]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.
[12]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.
[13]于娟,李红,饶华祥,等.流感高发季节 150 例流感病毒核酸阴性的流感样病例鼻咽分泌物呼吸道病毒检测分析[J].山东医药,2018,58(31):40-43.
[14]刘江艺,刘艺端,李锋平,等.2006-2017 年福建泉州市流感病原特征及检出率影响因素[J].公共卫生与预防医学,2018,29(4):32-35.
[15]武润松,原杰,贺婷婷,等.流感暴发期间 5447 例成人流感样病例的流感病毒检测结果与分布特征[J].中华医院感染学杂志,2018,28(23):3521-3526.
[16]蒋小仙,李均,罗琴,等.2326 例流感样病例流感病毒检测结果分析[J].浙江预防医学,2016,28(1):63-64.
[17]刘静,李艳.2017 年天津地区流感样病例病原学检测结果分析[J].中国卫生检验杂志,2019,29(10):1264-1266.
[18]修璟威,李望晨,崔庆霞,等.2010-2018 年山东省流感发病的季节性特征[J].山东大学学报(医学版),2020,58(1):112-117.
[19]王越,郎兴莹,孙楠,等.大连市 2014 年-2017 年监测年度流感病毒核酸检测结果分析[J].中国卫生检验杂志,2018,28(11):1397-1400.
[20]Cunningham MJ,李伟,资海荣,等.2009-2013 年南京市流感流行病学特征分析[J].中华疾病控制杂志,2017,21(1):3-7.
[21]门玉梅,董鹏,李文秀,等.陕西省旬邑地区儿童呼吸道感染病毒病原学分析[J].山西医药杂志,2021,50(7):1061-1064.
[22]刘天,翁熹君,张丽杰,等.湖北省荆州市流感监测哨点监测质量及流感病毒核酸检测阳性率影响因素分析[J].疾病监测,2019,34(10):891-894.
[23]王小丽,李锋,韩同武,等.2009-2018 年郑州市流感样病例病原学监测结果分析[J].河南预防医学杂志,2020,31(4):296-298,301.
[24]史大伟,张艳茹,董艳,等.多重 PCR 检测方法在儿童流感样病例病原检测中的临床价值(附 94 例报告)[J].中国实用儿科杂志,2020,35(11):881-884.
[25]孙颖,陈丹,黄珮琚,等.尿液标本保存时间对巨细胞病毒 DNA 检测的影响[J].实用心脑血管病杂志,2016,24:270.
[26]宋倩,谢勇,严威敏,等.流感病毒咽拭子处理方式对其病毒分离率影响的研究[J].现代预防医学,2018,45(21):3945-3948.
[27]张蓉,史海霞.标本因素对荧光定量 PCR 检测 HBV-DNA 的影响[J].国际检验医学杂志,2017,38(19):2775-2777.
[28]王晶,白江涛,张政,等.手足口病病例标本阳性检出率的影响因素分析[J].国际病毒学杂志,2018,25(2):122-126.

收稿日期:2021-08-23;修回日期:2021-09-30

编辑/肖婷婷