

鼻拭子和咽拭子在儿童流行性感 病毒抗原检测中的比较研究

董彩霞 邓永超 向仕婷 聂新民

作者单位: 410007 湖南长沙, 湖南省儿童医院检验中心(董彩霞、邓永超), 儿科医学研究所(向仕婷)

410013 湖南长沙, 中南大学附属湘雅三医院检验科(聂新民)

通信作者: 董彩霞, Email: 769570676@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2021.04.015

【摘要】目的 比较鼻拭子和咽拭子检测儿童流行性感(流感)样病例的流感病毒抗原检出情况。**方法** 回顾分析 2020 年 2 月 1 日—2 月 29 日在湖南省儿童医院就诊的 320 例有流感样症状患儿的临床资料; 同时采集所有患儿鼻拭子和咽拭子, 采用胶体金法检测甲型、乙型流感病毒抗原, 对检测结果为阳性的患儿留取标本进行荧光聚合酶链反应(PCR)验证; 比较两种拭子检测结果的差异。**结果** 320 例患儿的检测样本中, 鼻拭子检出阳性率明显高于咽拭子[20.3%(65/320)比 14.1%(45/320), $P < 0.05$]; 经荧光 PCR 验证的 34 例乙型流感病毒感染患儿中, 鼻拭子抗原检测阳性率为 100.0%(34/34), 明显高于咽拭子抗原检测阳性率[52.9%(18/34)], 差异有统计学意义($P < 0.01$)。0~2 岁组、3~5 岁组、6~17 岁组患儿的阳性检出率分别为 14.4%(32/222)、35.7%(25/70)、28.5%(8/28), 3 组间比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 采集鼻拭子可以提高流感病毒抗原阳性检出率, 特别是对于乙型流感病毒, 可以对患儿进行早发现、早隔离, 并及时给予抗病毒治疗。

【关键词】 咽拭子; 鼻拭子; 流行性感病毒; 乙型流行性感

Comparison of nasopharyngeal swabs and oropharyngeal swabs in detection of influenza virus antigens in children

Dong Caixia, Deng Yongchao, Xiang Shiting, Nie Xinmin. Inspection Center of Hunan Children's Hospital, Changsha 410007, Hunan, China (Dong CX, Deng YC); Institute of Pediatrics, Hunan Children's Hospital, Changsha 410007, Hunan, China (Xiang ST); Department of Clinical Laboratory, Xiangya Third Hospital Affiliated to Central South University, Changsha 410013, Hunan, China

Corresponding author: Dong Caixia, Email: 769570676@qq.com

【Abstract】Objective To compare the detection situation of influenza virus antigen in children of influenza-like cases by nasopharyngeal swabs and oropharyngeal swabs. **Methods** The clinical data of 320 children with influenza-like symptoms who were admitted to Hunan Children's Hospital from February 1 to February 29, 2020 were retrospectively analyzed. Nasopharyngeal and oropharyngeal swabs were collected at the same time. Influenza A and influenza B antigens were detected by influenza colloidal gold rapid antigen method. The samples with positive test results were verified by fluorescence polymerase chain reaction (PCR), and the results of the two kinds of swabs were compared. **Results** Among the test samples of 320 children, the positive rate of nasopharyngeal swabs was significantly higher than that of oropharyngeal swabs [20.3% (65/320) vs. 14.1% (45/320), $P < 0.05$]. Among 34 children infected with influenza B virus verified by fluorescent PCR, the positive rate of nasopharyngeal swab antigen was 100.0% (34/34), which was significantly higher than that of oropharyngeal swab antigen [52.9% (18/34)], and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). The positive rates of 0-2 years old group, 3-5 years old group and 6-17 years old group were 14.4% (32/222), 35.7% (25/70) and 28.5% (8/28), respectively, and there was significant difference among the three groups ($P < 0.01$). **Conclusion** Collecting nasopharyngeal swabs can improve the positive detectable rate of influenza virus antigen, especially for influenza B virus, and early detection, early isolation and timely antiviral treatment can be given to children.

【Key words】 Oropharyngeal swab; Nasopharyngeal swab; Influenza virus; Influenza B

流行性感(流感)是一种急性呼吸道传染病,由流感病毒引起,该病毒属于正黏病毒科,分为甲、乙、丙 3 种类型^[1],其中以甲型流感病毒最常见。

在全球范围内,流感的发病率和病死率均很高^[2],因此被世界卫生组织判定为全球性监测疾病。由于缺乏特异性表现,实验室病原学检测成为流感的主要

诊断依据。目前对病毒的分离和培养鉴定结果是诊断流感的“金标准”^[3],但此方法对实验室条件要求较高,且耗时长,不利于疾病的早期发现和治疗。抗原快速检测法操作简单,分析迅速,结果明确,易于判读,且成本较低,因此在临床上广受欢迎。本研究采集流感样症状患儿的鼻咽部标本,分别经鼻和口采集鼻拭子(nasopharyngeal swabs, NP)和咽拭子(oropharyngeal swabs, OP),进行流感病毒抗原快速检测,比较检出病毒的阳性率,从而探讨两种样本在流感病毒抗原检测中的应用,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象与一般资料 收集 2020 年 2 月 1 日—2 月 29 日在本院急诊科就诊的 320 例流感样病例患儿的临床资料,其中男性 178 例,女性 142 例;年龄 0~17 岁。诊断标准参照国家卫生健康委制定的流行性感冒诊断标准中流感样病例的定义:① 体温 $\geq 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ 者;② 伴咳嗽或咽痛症状之一者;③ 缺乏其他实验室指标检查结果用于确诊的急性上呼吸道感染患者。

1.2 标本采集和处理

1.2.1 鼻拭子 将拭子插入患儿鼻腔中,至分泌物最多处,轻柔转动并向患儿鼻腔内移动拭子,到达鼻甲受阻处(与鼻孔距离约为 2.0~2.5 cm),紧贴鼻腔壁旋转拭子 3 次,取出拭子。

1.2.2 咽拭子 将拭子从患儿口腔完全插入咽喉中,以上颚扁桃体发红部位和咽喉壁为中心,适度擦拭咽后壁及双侧扁桃体,应避免触及舌根,取出拭子。采集拭子后,放入专用的拭子袋内密封,立即送检,采用试剂盒样本提取液进行处理。

1.3 流感病毒抗原快速检测 应用广州万孚生物技术股份有限公司生产的甲型/乙型流感病毒抗原快速检测试剂盒,采用胶体金免疫层析技术定性检测流感病毒抗原。在样本提取管内加入样本提取液,将拭子插入样本溶液中,贴近试管壁旋转。沿提取管内壁挤压棉签头,取出并弃去拭子,向测试卡的加样孔中滴加处理后的提取物。15~20 min 内观察结果,在 30 min 后显示的结果无临床意义。对鼻拭子和咽拭子检测结果不一致的样本进行荧光聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)验证,该试剂由广州达安基因股份有限公司提供。

1.4 伦理学 本研究符合医学伦理学标准,并经本院医学伦理委员会审批(审批号:HCHLL-2021-58),对患儿进行的检测均获得过监护人知情同意。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 24.0 软件对数据进行统计分析。计数资料以例(%)表示,采用配对 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 鼻拭子和咽拭子中流感病毒抗原检测结果比较 320 例患儿提供的鼻拭子和咽拭子样本中,咽拭子检出阳性 45 例,阴性 275 例;鼻拭子检出阳性 65 例,阴性 255 例。鼻拭子抗原检测阳性率明显高于咽拭子[20.3%(65/320)比 14.1%(45/320)],差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 鼻拭子和咽拭子流感病毒抗原检测结果比较

咽拭子	鼻拭子(份)		合计(份)	χ^2 值	P 值
	阴性	阳性			
阴性	255	20	275	18.810	0.001
阳性	0	45	45		
合计	255	65	320		

2.2 采用鼻拭子和咽拭子检测不同类型流感病毒抗原结果比较 本研究 320 例患儿中,鼻拭子和咽拭子流感病毒抗原检测结果双阳性共 45 例(包括甲型流感 27 例,乙型流感 18 例),与荧光 PCR 检测结果一致;鼻拭子检测阳性、咽拭子检测阴性的患儿有 20 例(包括甲型流感 2 例,乙型流感 18 例),上述 20 例患儿的 PCR 验证结果为甲型流感 2 例,乙型流感 16 例,未测出 2 例。见表 2。乙型流感的鼻拭子阳性检出率明显高于咽拭子,差异有统计学意义($\chi^2 = 14.06, P = 0.001$);甲型流感的鼻拭子与咽拭子阳性检出率比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.50, P = 0.48$)。

表 2 不同类型流感病毒 PCR 阳性标本中鼻拭子和咽拭子检出阳性例数及分布

流感病毒类型	PCR 阳性(例)	NP、OP 均阳性(例)	NP 阳性(例)	OP 阳性(例)	NP 阳性率(%)	OP 阳性率(%)
甲型流感	29	27	29	27	100.0	93.1
乙型流感	34	18	34	18	100.0	52.9 ^a
合计	63	45	63	45	100.0	71.4

注:PCR 为聚合酶链反应, NP 为鼻拭子, OP 为咽拭子;与 NP 阳性率比较, ^a $P < 0.05$

2.3 不同年龄段流感样症状患儿的流感病毒抗原阳性检出率比较 以鼻拭子的检测结果为标准,比较 3 组不同年龄段患儿的流感病毒抗原阳性检出率。3 组间阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2 = 19.20, P = 0.001$);其中 3~5 岁组的阳性检出率最高(35.7%), 6~17 岁组次之,为 28.6%, 0~2 岁组的阳性检出率最低,为 14.4%。见表 3。

表 3 不同年龄段流感样病例患儿鼻拭子阳性检出率比较

年龄(岁)	标本数(份)	阳性数(份)	阳性率(%)	χ^2 值	P值
0~2	222	32	14.4	19.200	0.001
3~5	70	25	35.7		
6~17	28	8	28.6		
合计	320	65	20.3		

3 讨论

流感发病急,传染性强,部分病例可进展为重症流感,患者甚至死于急性呼吸窘迫综合征,5岁以下儿童是重症流感的高危人群^[4]。流感主要表现为头痛、肌痛、发热、全身不适,患者体温可达39~40℃,常有畏寒、寒战、全身乏力、食欲减退等症状,儿童的发热程度通常高于成人,消化道症状也较成人多见,尤其患乙型流感时。新生儿可表现为拒奶、嗜睡、呼吸暂停等^[5]。2020年流感诊疗方案指出,患者发病48h内给予抗病毒治疗可降低并发症的发生率和病死率,缩短住院时间,因此需要尽早明确诊断并给予相应治疗。流感病毒抗原快速检测因时间短(采样后1h即可出结果)而在临床广泛应用,该方法标本采集部位为鼻咽,常经口或鼻取样,比较两种取样方式对检测结果的影响具有重要意义。

本研究显示,鼻拭子流感病毒抗原的阳性检出率明显高于咽拭子,与何肖华等^[6]研究结果一致。分析原因主要为多数呼吸道病毒最主要有在后鼻咽部纤毛柱状上皮细胞内复制,其次为前鼻孔和口咽部纤毛上皮细胞,因此鼻拭子的阳性检出率较咽拭子高^[7];另外从采样手法上来讲,采集咽拭子时大多患儿配合度较低,不能充分暴露咽喉深部,样本刷难以取到足量细胞,且易触碰到舌部,沾取唾液而影响采样结果;经鼻取样时家长只需固定患儿头部,护士便很容易到达目标部位,采集足量细胞。

本研究中45例患儿鼻拭子、咽拭子同时阳性,20例患儿鼻拭子检测为阳性,咽拭子为阴性,PCR验证显示,有2例乙型流感未测出,推测原因可能为样本保存和处理不当,导致核酸降解。本研究结果显示,乙型流感的鼻拭子阳性检出率较高,与陈丽萍^[8]研究结果一致。不同流感病毒对定植部位有一定嗜性,导致不同型别检出率在不同采样部位有差别。本研究结果提示,乙型流感病毒多定植在患儿鼻腔底部。此外,本研究甲型流感病毒在鼻拭子和咽拭子中检出率比较差异无统计学意义,虽然我们并未对甲型流感进行分型,但根据国家流感中心发布的2020年2月流感监测情况,甲型流感病毒主要类型为H3N2。有研究显示,H1N1的咽拭子阳性

率较高,而H3N2的鼻拭子、咽拭子阳性检出率比较差异无统计学意义^[8]。

本研究结果显示,流感病毒的阳性检出率在不同年龄组患儿中比较差异有统计学意义,以3~5岁组患儿检出率最高,这与梁大立等^[9]研究结果一致,其次为6~17岁组患儿,分析原因为相比婴幼儿,6~17岁儿童活动范围更广,接触人群更多,因此受感染的概率更大;3~5岁患儿的免疫力相对中小学生对生较弱,因此感染率最高。孙树梅等^[4]研究表明,预防流感及其并发症的最有效手段是接种疫苗。

本研究同时收集流感样病例患儿的鼻拭子和咽拭子,能较好地比较鼻拭子和咽拭子在流感病毒检出方面的差异,但也存在一定局限性:①本研究在2020年2月中上旬进行,处于流感季尾声,流感病毒以乙型流感为主,需要在新的流感季节扩大时间范围研究;②本研究结果仅针对广州万孚生物技术股份有限公司生产的甲型/乙型流感快速抗原检测试剂盒有意义,不同品牌的胶体金试剂由于敏感度和特异度存在差异,需要分别进行验证。

综上所述,在儿童流感病毒筛查过程中,特别是乙型流感病毒流行时期,优先选择鼻拭子对提高病毒的阳性检出率具有重要意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 秦厚应,李梦蝶,郑凌,等. 37例重症流感患者的临床特点及预后分析[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32(10): 1253-1256. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200428-00344.
- 段甲利,杨跃杰,侯淑娅,等. 流行性感合并急性呼吸衰竭患者的临床特征及预后分析[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32(11): 1304-1309. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200827-00598.
- 李珺,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. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4092.2017.05.010.
- 孙树梅. 关注儿童流感,重视疫苗接种——AAP感染性疾病委员会《儿童流感的预防与控制建议(2018-2019年)》解读[J]. 中国全科医学, 2019, 22(6): 621-626. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2019.00.010.
- 国家卫生健康委员会,国家中医药管理局. 流行性感合并急性呼吸衰竭患者(2020年版)[J]. 传染病信息, 2020, 33(5): 385-390. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2020.05.001.
- 何肖华,刘冬兰,郭楚怡,岳智慧. 不同采样部位对儿童流感病毒抗原检测阳性率的影响研究[J]. 母婴世界, 2020, 20(12): 3-4.
- JORGENSEN J H, PFALLER M A. 临床微生物学手册[M]. 王辉,马筱玲,钱渊,等. 译. 11版. 北京: 中华医学电子音像出版社, 2017: 1811-1833.
- 陈丽萍. 采用PCR和细胞培养方法比较流感样病例不同标本的流感病毒检出观察[J]. 中国医药科学, 2015, 5(15): 147-149.
- 梁大立,陆灶其,徐森玲,等. 七种呼吸道病毒抗原检测在儿童呼吸道感染中的分析[J]. 实用检验医师杂志, 2015, 7(4): 216-220. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.04.005.

(收稿日期: 2021-07-19)

(本文编辑: 邵文)