

# 两种不同方法对轮状病毒和腺病毒抗原检测的比较\*

伊 洁,解宏杰,徐志鹏,张 睿,窦亚玲,徐英春

(中国医学科学院 北京协和医院检验科,北京 100730)

**摘要:**目的 比较应用自动粪便前处理系统(简称为仪器法)和手工法对轮状病毒(RV)和腺病毒(AdV)抗原检测的结果。方法 收集2014年9月~10月在北京协和医院肠道门诊就诊的腹泻患者粪便标本100份,分别用仪器法和手工法对粪便进行处理后,检测RV和AdV抗原,并用液相芯片法对阳性标本进行核酸检测验证结果。结果 仪器法检测对RV、AdV及二者共同感染的抗原阳性率分别是17.0%(17/100),25.0%(25/100)和12.0%(12/100),手工法的抗原阳性率分别是4.0%(4/100),13.0%(13/100)和2.0%(2/100)。以核酸检测结果为金标准,仪器法检测RV、AdV及二者共同感染的假阳性率分别是23.5%(4/17),20.0%(5/25)和33.3%(4/12),手工法的假阳性率分别是75.0%(3/4),69.2%(9/13)和50.0%(1/2)。采用配对资料的检验进行 $\chi^2$ 统计分析,两种方法检测RV和AdV总阳性率,RV的假阳性率和AdV假阳性率差异均有统计学意义( $\chi^2=15.0, 52.8$ 和 $47.5, P$ 值均 $<0.05$ );两种方法检测结果一致性较差(Kappa值为0.25, Kappa值 $<0.4$ )。结论 仪器法检测RV和AdV抗原阳性率及假阳性率方面均优于手工法,更有利于临床应用。

**关键词:**粪便前处理系统;手工法;轮状病毒;腺病毒

中图分类号:R373.2;R446.13 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2016)01-115-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.01.033

## Comparison of Two Different Methods for Rotavirus and Adenovirus Antigens Detection

YI Jie, XIE Hong-jie, XU Zhi-peng, ZHANG Rui, DOU Ya-ling, XU Ying-chun

(Department of Clinical Laboratory, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China)

**Abstract:** **Objective** To compare the detecting results of rotavirus (RV) and adenovirus (AdV) antigens using auto stool pretreatment system (machine method) and manual method. **Methods** A total of 100 stools collected from diarrheal patients admitted in gastroenterology outpatient department from September 2014 to October 2014 in Peking University Medical College Hospital were detected to identify RV and AdV antigens using machine method and manual method respectively, and the nucleic acids of positive samples were detected by liquid chip method to verify the results. **Results** The RV, AdV and co-infection antigen positive detection rate using machine method were 17.0% (17/100), 25.0% (25/100) and 12.0% (12/100) respectively, whereas those using the manual method were 4.0% (4/100), 13.0% (13/100) and 2.0% (2/100), respectively. Taking the nucleic acids detection as the golden method, the false positive detection rate of RV, AdV and co-infection antigen using machine method were 23.5% (4/17), 20.0% (5/25) and 33.3% (4/12) respectively, whereas those using the manual method were 75.0% (3/4), 69.2% (9/13) and 50.0% (1/2), respectively.  $\chi^2$  test for paired data for RV and AdV positive detection rate, false positive detection rate of RV and false positive detection rate of AdV using two methods were statistically significant ( $\chi^2=15.0, 52.8$  and  $47.5, P$  values  $<0.05$ ). Two methods for detecting RV and AdV had poor consistency (Kappa value was 0.25, Kappa values  $<0.4$ ). **Conclusion** Machine method has much more advantage on RV and AdV positive detection rate and false positive detection rate than manual method, which is good for clinical application.

**Keywords:** stool pretreatment system; manual method; rotavirus; adenovirus

轮状病毒(rotavirus, RV)和腺病毒(adenovirus, AdV)是引起儿童胃肠炎和腹泻的主要病原体<sup>[1,2]</sup>,其中RV A组和AdV F组的40型和41型是最主要的病原体,在成人腹泻中也占有一定比例,但是国内外的研究较少<sup>[3]</sup>。由于RV和AdV具有感染力强、传播快、潜伏期短、发病急、病后免疫力不能持久等特点,极易造成疾病的大流行,因

此临床诊断上应用快速的筛查方法对腹泻病毒检测显得尤为重要。目前针对RV和AdV的主要快速检测方法为粪便的抗原检测,并且在大多数医院均采用手工法进行检测<sup>[7,8]</sup>。但是手工法对粪便抗原检测存在一定的弊端,比如粪便中病毒分布不均可能会导致检测结果的假阴性,存在检验人员感染的生物安全风险等。本研究使用自动粪便前处理

\* 基金项目:卫生公益性行业科研专项(项目编号:201402001)。

作者简介:伊 洁(1983—),女,博士,主要从事病原微生物和肿瘤分子检测。

通信作者:徐英春,研究员, E-mail: xycpumch@139.com。

系统(简称为仪器法)和手工法同时对 RV 和 AdV 抗原进行检测,并对抗原检测为阳性的标本进行核酸检测验证分析,结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2014 年 9~10 月就诊于北京协和医院肠道门诊的 96 例腹泻患者的粪便标本 100 份,其中>5 岁男性 31 例,女性 55 例,≤5 岁的儿童为 10 例,男性 4 例,女性 6 例。本研究所用粪便标本为常规检测后的剩余标本,冻存于-20℃,经北京协和医院伦理委员会审核通过。

1.2 试剂与仪器 仪器法使用苏州海路生物科技有限公司的 f-180 型号仪器,RV 和 AdV 抗原试剂为深圳市惠安生物科技有限公司生产的轮状病毒(A 组)/腺病毒检测试剂盒(胶体金法),液相芯片法为 Luminex 公司 xTAG gastrointestinal pathogen panel 试剂。稀释粪便标本采用 0.9 g/dl 生理盐水。

1.3 方法 采用仪器法和手工法分别对 100 份粪便进行 RV 和 AdV 抗原检测,阳性的标本分别用液相芯片法检测粪便中 RV 和 AdV 的核酸进行验证。所有实验均严格按照仪器厂家和试剂说明书进行操作。

1.4 统计学分析 采用 SPSS17.0 软件进行数据分析。仪器法和手工法的抗原检测结果对比采用配对资料的  $\chi^2$  检验进行统计分析,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。以 Kappa 值作为两种方法一致性好坏的评价标准( $\geq 0.75$  一致性极佳, $\leq 0.4$  一致性差, $0.4<Kappa<0.75$  中、高度一致)。

2 结果

2.1 仪器法检测与手工法检测结果 仪器法检测 RV 抗原阳性率为 17.0%(17/100),AdV 抗原阳性率为 25.0%(25/100),总阳性率为 42.0%(42/100),其中 RV 和 AdV 共同感染率为 12.0%(12/100)。手工法检测 RV 抗原阳性率为 4.0%(4/100),AdV 抗原阳性率为 13.0%(13.0/100),总阳性率为 17.0%(17/100),其中 RV 和 AdV 共同感染率为 2.0%(2/100),仪器法和手工法对 RV 和 AdV 抗原检测的总阳性率差异有统计学意义( $\chi^2=15.0,P<0.001$ )。采用 Kappa 值作为两种方法一致性好坏的评价标准,仪器法与手工法的值为 0.25, $Kappa<0.4$ ,表示两种方法检测结果一致性差。

2.2 核酸检测验证结果 见表 1。将仪器法与手工法检测阳性的标本用液相芯片法进行核酸检测,结果显示,以核酸检测为金标准,仪器法检测 RV,AdV 及 AdV 和 RV 共同感染的假阳性率分别是 23.5%,20.0% 和 33.3%,手工法检测 RV,AdV

及 AdV 和 RV 共同感染的假阳性率分别是 75.0%,69.2% 和 50.0%,仪器法和手工法检测 RV 假阳性率,AdV 的假阳性率差异均有统计学意义( $\chi^2=52.8,47.5$ ,均  $P<0.001$ )。

表 1 液相悬浮芯片法核酸检测结果(例)

方法	RV		AdV		RV+AdV		RV 假阳	AdV 假阳	AdV+RV 假
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	性率(%)	性率(%)	阳性率(%)
仪器法	13	4	20	5	8	4	23.5(4/17)	20.0(5/25)	33.3(4/12)
手工法	1	3	4	9	1	1	75.0(3/4)	69.2(9/13)	50.0(1/2)

3 讨论 RV 和 AdV 是社区获得性腹泻的常见重要病原,同时是医院内感染的主要病原之一。本研究结果显示,利用手工法分别对 RV 组 A 抗原和 AdV 抗原进行检测,阳性率为 4%和 13.0%,低于叶卉初等<sup>[4,5]</sup>人对儿童腹泻的研究结果,高于陈美芳等<sup>[3]</sup>人对成人腹泻的研究结果,这与入组患者年龄的分布有关。96 名入组患者中,既有儿童患者,也有成人患者,这样有利于更好地对两种方法进行比较。根据检测结果分析,仪器法能将 RV 和 AdV 阳性率分别提高 13.0%和 12.0%,因而仪器法检测病毒总阳性率显著高于手工法(42.0% vs 17.0%, $P<0.001$ )。混合感染在病毒性腹泻中较多见,存在两种或多种病毒的感染<sup>[6]</sup>,本研究中仪器法检测出 12 例 RV 与 AdV 共同感染,比手工法多 10 例。仪器法在检测前可以将粪便标本进行充分混匀并定量检测,避免手工检测因粪便均质性不好和定量不准确造成假阴性的缺点,大大提高了抗原检测的阳性率。

本研究中的两种方法检测结果的一致性较差( $Kappa<0.4$ ),为了比较两种方法阳性率的准确性,本文将抗原阳性标本进行核酸检测。结果显示,无论仪器法还是手工法都存在假阳性,这与粪便成份复杂,易干扰抗原检测结果有关。但是与手工法相比,无论是 RV 还是 AdV,仪器法的假阳性率均明显较低(23.5% vs 75.0%,20.0% vs 69.2%,均  $P<0.05$ )。

综上所述,采用仪器法和手工法检测 RV 和 AdV,在抗原阳性率和假阳性率方面前者均优于后者。此外,仪器法还具有对标本进行批量操作,节省人力成本,降低检验人员被感染的风险等优点。因此仪器法可以替代手工法进行粪便的前处理操作,并用于 RV 和 AdV 抗原的常规检测。

参考文献:

[1] Gonzales SC,Bada MC,Rojas GR,et al. Clinical practice guideline on the diagnosis and treatment of infectious acuts diarrhea in children Peru-2011[J]. Rev Gastroenterol Peru,2011,31(3):258-277.  
[2] Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis[J]. (下转 120 页)

参考文献:

[1] 刘 非,梁绮华,姜志勇,等.血小板分布异常原因分析及对血小板计数的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2014,35(6):726-728.

Liu F,Liang QH,Jiang ZY,et al. The reasons of abnormal platelet distribution and the effects on the platelet count[J]. Int J Lab Med, 2014, 35(6): 726-728.

[2] 肖 芸,王小中,李 静,等. Sysmex XE-2100 测定血小板体积分布宽度参考区间的调查[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(11):1238-1239,1241.

Xiao Y,Wang XZ,Li J,et al. Investigation of reference interval of platelet volume distribution width examined by hematology analyzer Sysmex XE-2100[J]. Int J Lab Med,2010,31(11):1238-1239,1241.

[3] 李友琼,覃桂芳,阳文辉,等. 血细胞分析仪检测血小板计数正常而其他参数不显示的原因探讨[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(12):1490-1491.

Li YQ,Tan GF,Yang WH,et al. The discussion of the cause of normal platelet count and abnormal parameters in the blood cell analyzer[J]. Int J Lab Med, 2012,33(12):1490-1491.

[4] 戴晓云. 肝硬化患者血小板参数检测及其临床意义[J]. 中外医学研究,2011,9(33):9-11.

Dai XY. Clinical significance of platelet parameters in patients with cirrhosis[J]. Chinese and Foreign Medical Research,2011,9(33):9-11.

[5] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[S].

3 版. 南京:东南大学出版社,2006:10.

Ye YW,Wang YS,Shen ZY. National guide to clinical laboratory procedures[S]. 3th Ed. NanJing:Publishing House of Southeast University,2006:10.

[6] 瞿 珍. 血细胞分析仪检测红细胞、白细胞、血小板、血红蛋白的性能评价[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(22):3055-3056.

Qu Z. The performance evaluation of the red blood cells,white blood cells,platelets,hemoglobin tests by Blood cell analyzer[J]. Int J Lab Med,2013,34(22): 3055-3056.

[7] 王宜海. 仪器法血小板计数假性减少的相关性分析及对策[J]. 中国医药指南,2014,12(29):48-49.

Wang YH. Analysis and countermeasures of reducing platelet count by pseudo correlation instrument[J]. Guide of China Medicine,2014,12(29):48-49.

[8] 王修石,何思春,邹立新,等. EDTA 依赖性血小板聚集成因及对策[J]. 现代检验医学杂志,2010,25(1):154-155.

Wang XS,He SC,Zou LX,et al. Causes and countermeasures of EDTA dependent platelet aggregation [J]. J Mod Lab Med,2010,25(1):154-155.

[9] 秦学文. 血小板直方图异常对计数结果的影响[J]. 吉林医学,2012,33(1):80-81.

Qin XW. The influence of abnormal platelet histogram on the counting results[J]. Jilin Med J, 2012,33(1):80-81.

收稿日期:2015-07-17

修回日期:2015-08-12

(上接 116 页)

Clin Microbiol Infect,2003,9(4):247-262.

[3] 陈美芳,高 燕,丛 旭,等. 成人散发性病毒性胃肠炎的病原学分析[J]. 中华医学杂志,2008,88(4):265-267.

Chen MF,Gao Y,Cong X,et al. Etiological study on sporadic viral gastroenteritis among adult in Beijing [J]. Natli Med J China,2008,88(4):265-267.

[4] 叶卉初,刘玉华. 2010~2012 年北京地区儿童轮状病毒腹泻的流行病学研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2012,26(6):432-434.

Ye HC,Liu YH. Epidemiological study of rotavirus diarrhea in Beijing area from 2010 to 2012[J]. Chinese J Exp Clin Viro,2012,26(6):432-434.

[5] 陈军政. 免疫胶体金法快速检测轮状病毒腹泻的结果分析[J]. 现代预防医学,2007,34(9):1763-1764.

Chen JZ. Results analysis of rotavirus diarrhea by immune colloidal gold rapid test method[J]. Mod Pre Med,2007,34(9):1763-1764.

[6] Bhattacharya R,Sahoo GC,Nayak MK,et al. Detec-

tion of genogroup I and II human picobirnaviruses showing small genomic RNA profile causing acute watery diarrhoea among children in Kolkata, India [J]. Infection Genetics and Evolution, 2007, 7(2): 229-238.

[7] 刘泽滨,王 琼,胡 琴,等. 四种腹泻病毒抗原联检技术在临床儿童腹泻诊断中的应用价值[J]. 现代检验医学杂志,2014,29(3):91-93.

Liu ZB,Wang Q,Hu Q,et al. Application value of antigen detection technology of four kinds of diarrhea virus in clinical diagnosis of children diarrhea[J]. J Mod Lab Med,2014,29(3):91-93.

[8] 刘爱胜,陈荣贵,郭强忠,等. 深圳宝安地区婴幼儿腹泻大便中轮状病毒检出率及临床意义[J]. 现代检验医学杂志,2012,27(2):134-136.

Liu AS,Chen RG,Guo QZ,et al. Positive rate and clinical significance of human rotavirus with infants diarrhea stool in Bao'an district of Shenzhen[J]. J Mod Lab Med,2012,27(2):134-136.

收稿日期:2015-08-12

修回日期:2015-08-17