

• 论 著 •

甲、乙型流感病毒两种方法检测结果的一致性分析*

朱 旻¹, 曹国君^{1,2△}, 许 育¹, 陈 瑜¹, 陈 虹³, 武 媚³, 邢志芳¹, 宋晓冬¹

1. 复旦大学附属华山医院检验医学科, 上海 200040; 2. 中国科学院苏州生物医学工程技术研究所, 江苏苏州 215163; 3. 复旦大学附属华山医院儿科, 上海 200040

摘要:目的 将胶体金免疫层析(以下简称胶体金)法和实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)法同时用于甲、乙型流感病毒的检测,比较两种检测方法结果的一致性,并初步评估外周血感染相关指标水平变化对于甲、乙型流感临床诊断的价值。**方法** 收集2019年11月1日至2022年2月20日至复旦大学附属华山医院就诊的流感疑似患者的口咽拭子标本300例,所有受试者均被同时采集双份口咽拭子,分别用胶体金法和qPCR法同步进行检测,比较两种检测方法结果的一致性。采用测序法对检测结果进行验证,并根据测序法的检测结果将受试者分为甲型流感病毒阳性组、乙型流感病毒阳性组和阴性组(甲、乙型流感病毒检测均为阴性),比较3组受试者外周血感染相关指标水平,评估这些指标对甲、乙型流感临床诊断的价值。**结果** 检出甲型流感病毒阳性44例,检出乙型流感病毒阳性122例,阴性134例。针对甲型流感病毒的检测,qPCR法的检测灵敏度和特异度分别为100.00%和99.61%,胶体金法的检测灵敏度和特异度分别为40.91%和100.00%。针对乙型流感病毒的检测,qPCR法检测的灵敏度和特异度分别为100.00%和98.88%,胶体金法的检测灵敏度和特异度分别为34.43%和100.00%。qPCR法与胶体金法的检测结果比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。3组人群外周血中的C反应蛋白和血清淀粉样蛋白A水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),阴性组人群外周血白细胞计数、中性粒细胞绝对值、淋巴细胞绝对值和单核细胞绝对值水平较甲型流感病毒阳性组和乙型流感病毒阳性组高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。针对甲型流感病毒的检测,qPCR法与胶体金法检测结果的一致性一般(Kappa=0.531);针对乙型流感病毒的检测,qPCR法与胶体金法检测结果的一致性差(Kappa=0.375)。**结论** 将胶体金法、qPCR法和外周血感染指标联合应用于流感的诊断,有助于兼顾临床工作中对报告时间与检测结果准确性的要求,提高临床实验室流感的诊断能力。

关键词: 甲型流感病毒; 乙型流感病毒; 实时荧光定量聚合酶链反应; 胶体金免疫层析; 一致性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.04.009 中图法分类号:R446.61

文章编号:1673-4130(2023)04-0425-05

文献标志码:A

Consistency analysis on the results of two methods for the detection of influenza A and B virus*

ZHU Min¹, CAO Guojun^{1,2△}, XU Yu¹, CHEN Yu¹, CHEN Hong³,
WU Mei³, XING Zhifang¹, SONG Xiaodong¹

1. Department of Laboratory Medicine, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China; 2. Suzhou Institute of Biomedical Engineering and Technology, Chinese Academy of Sciences, Suzhou, Jiangsu 215163, China; 3. Department of Pediatrics, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

Abstract: Objective To compare the consistency of the results of colloidal gold immunochromatography (hereafter referred to as colloidal gold method) and real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qPCR) for the detection of influenza A and B virus, and to preliminarily evaluate the clinical diagnostic value of the changes of infection-related indicators in peripheral blood. **Methods** A total of 300 oropharyngeal swabs were collected from suspected influenza patients who were admitted to Huashan Hospital Affiliated to Fudan University from November 1, 2019 to February 20, 2022. Two oropharyngeal swabs were collected from

* 基金项目:上海市科学技术委员会“科技创新行动计划”项目(21Y11900600、20S31902700);中国博士后科学基金项目(2020T130091ZX、2020M681733);上海市“医苑新星”青年医学人才培养资助计划青年医学人才类——临床检验项目(沪卫人事[2021]99号)。

作者简介:朱旻,男,技师,主要从事病原微生物感染的检测研究。△ 通信作者, E-mail: gjcao@foxmail.com。

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20230208.0917.001.html>(2023-02-08)

all subjects at the same time, and detected by using colloidal gold method and qPCR method simultaneously. The consistency of the results of the two detection methods was compared. According to the results of sequencing method, the subjects were divided into influenza A virus positive group, influenza B virus positive group and negative group (both influenza A and B virus were negative). The levels of infection-related indicators in peripheral blood of the three groups were compared to evaluate the value of these indicators in the clinical diagnosis of influenza A and B. **Results** A total of 44 cases were positive for influenza A virus, 122 cases were positive for influenza B virus, and 134 cases were negative. For the detection of influenza A virus, the sensitivity and specificity of qPCR were 100.00% and 99.61%, respectively, and those of colloidal gold method were 40.91% and 100.00%, respectively. For the detection of influenza B virus, the sensitivity and specificity of qPCR were 100.00% and 98.88%, respectively, and those of colloidal gold method were 34.43% and 100.00%, respectively. The detection results of qPCR method and colloidal gold method were compared, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There was no significant difference in the levels of C-reactive protein and serum amyloid A among the three groups ($P > 0.05$). The levels of white blood cell count, absolute neutrophil count, absolute lymphocyte count and absolute monocyte count in the negative group were higher than those in the influenza A virus positive group and the influenza B virus positive group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). For the detection of influenza A virus, the results of qPCR and colloidal gold method were generally consistent ($Kappa = 0.531$). For the detection of influenza B virus, the consistency between the results of qPCR and colloidal gold method was poor ($Kappa = 0.375$). **Conclusion** The combined application of colloidal gold method, qPCR and peripheral blood infection indicators in the diagnosis of influenza is helpful to meet the requirements of test report time and accuracy of test results in clinical work, and improve the diagnostic ability of influenza in clinical laboratories.

Key words: influenza A virus; influenza B virus; real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction; colloidal gold immunochromatography; consistency

流行性感冒病毒是引起全球流行性感冒(以下简称流感)的病原体,主要通过飞沫传播^[1],易感人群为老年人和儿童^[2]。流感具有潜伏期短、发病迅速、呈季节性流行的特点^[3-4]。流感患者临床表现常为畏寒、头痛等症状,儿童重症病例可出现休克等并发症^[5-8]。由于流感病毒的高频变异导致流感的精准诊断和疫情防控面临诸多挑战^[9]。临床上胶体金免疫层析(以下简称胶体金)法具有操作简便、检测时间短等优点,然而在检测灵敏度和特异度方面存在缺陷,从而可能导致流感的漏诊、误诊。随着分子生物学技术的发展,聚合酶链反应(PCR)技术、质谱技术和测序技术等被陆续应用于病毒的检测^[10-13]。本研究拟将胶体金法和实时荧光定量 PCR(qPCR)法同时应用于流感疑似患者标本的检测,初步评估胶体金法和 qPCR 法在甲、乙型流感病毒检测中的一致性,并评估 C 反应蛋白(CRP)、血清淀粉样蛋白 A(SAA)和白细胞计数等感染相关指标变化对于甲、乙型流感诊断的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2019 年 11 月 1 日至 2022 年 2 月 20 日于复旦大学附属华山医院就诊的、有流感样症状的流感疑似患者 300 例纳入研究并收集其口咽拭子

标本。男 143 例、女 157 例,平均年龄(9.89 ± 10.83)岁。流感样症状的定义:(1)体温 $\geq 38^\circ\text{C}$; (2)有头痛、咳嗽、喉咙痛、流涕、乏力中的一项症状。本研究获得复旦大学附属华山医院伦理委员会的批准,所有纳入研究者及其监护人均对本研究知情同意。

1.2 仪器与试剂 DenoGen LunAmple48 型自动核酸提取仪购自德诺杰亿(北京)生物科技有限公司;SLAN-96S 型全自动医用 PCR 分析系统购自上海宏石医疗科技有限公司;甲型/乙型流感病毒核酸检测试剂盒(PCR 荧光探针法)购自北京卓诚惠生生物科技有限公司,流感病毒抗原检测试剂盒(胶体金法)购自标准诊断(韩国)股份有限公司。

1.3 方法 核酸提取与 qPCR 法检测采用甲型/乙型流感病毒核酸检测试剂盒,胶体金法检测采用流感病毒抗原检测试剂盒,具体作步骤和检测结果的判读严格按照试剂盒说明书进行。qPCR 法检测在 3 h 内完成检测,胶体金法检测在 20 min 内完成。采用测序法对检测结果进行验证,测序法作为结果判断的“金标准”。根据测序结果,将受试者分为甲型流感病毒阳性组、乙型流感病毒阳性组和阴性组(甲、乙型流感病毒检测均为阴性)。检测并比较 3 组人群外周血 CRP、SAA 水平及白细胞计数、中性粒细胞绝对值、淋

巴细胞绝对值、单核细胞绝对值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *F* 检验, 进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验。计数资料以例数表示, qPCR 法与胶体金法检测结果的比较采用 χ^2 检验 (Fisher 精确检验)。通过 Kappa 值评估两种检测方法检测结果的一致性, Kappa ≥ 0.75 提示两种检测方法的结果一致性好, $0.40 \leq \text{Kappa} < 0.75$ 提示一致性一般, Kappa < 0.4 提示一致性差。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床标本的检测情况及与测序法检测结果的一致性分析 qPCR 法检出甲型流感病毒阳性 45 例 (15.00%), 乙型流感病毒阳性 124 例 (41.30%); 胶体金法检出甲型流感病毒阳性 18 例 (6.00%), 乙型流感病毒阳性 42 例 (14.00%)。将标本送第三方公司测序, 测序法检出甲型流感病毒阳性 44 例 (14.67%), 乙型流感病毒阳性 122 例 (40.67%), 阴性 134 例 (44.67%), 见表 1、2。以测序法检测结果作为“金标准”, 针对甲型流感病毒的检测, qPCR 法的检测灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 100.00%、99.61%、99.78% 和 100.00%, 与测序法检测结果一致性为 99.67% (299/300); 胶体金法的检测灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 40.91%、100.00%、100.00% 和 90.78%, 与测序法检测结果一致性为 91.33% (274/300)。针对乙型流感病毒的检测, qPCR 法的检测灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 100.00%、98.88%、98.39% 和 100.00%, 与测序法检测结果一致性为 99.33% (298/300); 胶体金法检测的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 34.43%、100.00%、100.00% 和 68.99%, 与测序法检测结果的一致性为 73.33% (220/300)。

2.2 qPCR 法与胶体金法检测结果的一致性分析 针对甲型流感病毒的检测, qPCR 法与胶体金法的检

测结果比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 108.149, P < 0.001$), 两种方法检测结果的一致性一般 (Kappa = 0.531)。针对乙型流感病毒的检测, qPCR 法与胶体金法的检测结果比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 69.086, P < 0.001$), 两种方法检测结果的一致性差 (Kappa = 0.375)。见表 3。

2.3 感染相关指标的组间比较 3 组人群外周血 CRP 和 SAA 水平比较, 差异无统计学差异 ($P > 0.05$)。白细胞计数、中性粒细胞绝对值、淋巴细胞绝对值和单核细胞绝对值比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 阴性组上述 4 项指标水平均高于甲型流感病毒阳性组和乙型流感病毒阳性组 ($P < 0.05$), 但乙型流感病毒阳性组与甲型流感病毒阳性组比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 1 qPCR 法与测序法检测结果的一致性分析 (n)

测序法	qPCR 法检测甲型流感病毒		qPCR 法检测乙型流感病毒	
	阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	44	0	122	0
阴性	1	255	2	176
总计	45	255	124	176

表 2 胶体金法与测序法检测结果的一致性分析 (n)

测序法	胶体金法检测甲型流感病毒		胶体金法检测乙型流感病毒	
	阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	18	26	42	80
阴性	0	256	0	178
总计	18	282	42	258

表 3 qPCR 法与胶体金法检测结果的一致性分析 (n)

胶体金法	qPCR 法检测甲型流感病毒		qPCR 法检测乙型流感病毒	
	阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	18	0	42	0
阴性	27	255	82	176
总计	45	255	124	176

表 4 3 组人群外周血标本感染相关指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CRP (mg/L)	SAA (mg/L)	白细胞计数 ($\times 10^9/L$)	中性粒细胞绝对值 ($\times 10^9/L$)	淋巴细胞绝对值 ($\times 10^9/L$)	单核细胞绝对值 ($\times 10^9/L$)
甲型流感病毒阳性组	9.46 \pm 6.72	75.00 \pm 74.02*	7.74 \pm 2.88*	3.74 \pm 2.59*	1.56 \pm 0.87*	0.84 \pm 0.34*
乙型流感病毒阳性组	10.83 \pm 34.20	56.90 \pm 70.13*	6.24 \pm 2.49*	2.20 \pm 2.13*	1.61 \pm 0.70*	0.72 \pm 0.34*
阴性组	11.66 \pm 12.43	72.36 \pm 87.36	8.25 \pm 2.95	4.84 \pm 2.72	2.20 \pm 1.10	0.95 \pm 0.59
<i>F</i>	0.088	0.84	9.689	11.671	14.225	6.963
<i>P</i>	0.916	0.434	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与阴性组比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨 论

流感的大流行通常具有暴发突然、传染性强和流行性广等特点,为社会和家庭带来沉重的负担,甚至危及到患者生命安全。对流感进行早期、快速、准确的实验室诊断不仅有助于临床医生尽早地控制患者病情,减少流感相关的死亡事件,减少阴性患者不必要的经验性用药,节约医疗资源,还有助于及时隔离流感患者,切断传染源,早期遏制疫情的蔓延,避免疫情的扩大。

流感相关的实验室检测方法多种多样。常见的血常规检测可通过不同功能细胞的数量与形态的变化对患者的病情进行初步评估。CRP 和 SAA 都是由肝细胞产生的急性时相反应蛋白,当机体发生感染或损伤时其水平会迅速升高,已被临床广泛用作非特异的炎症标志物。CRP 水平升高见于细菌感染,病毒及支原体等病原体感染,其水平的升高早于血常规相关炎症指标异常的出现^[14],具有更好的灵敏度。机体内 SAA 的水平升高常见于细菌、病毒、真菌和支原体等感染^[15],尤其是多见于病毒感染性疾病,其升高的速度和幅度显著高于 CRP,48 h 可升高数百倍以上,因此 SAA 比 CRP 反应更灵敏。现有研究已表明,血常规感染相关指标、CRP 和 SAA 等不同指标的联合检测对于提高流感的实验室诊断率具有重要意义^[15-17]。白细胞在机体的免疫防御中发挥着重要作用,而流感病毒为了更好地“生存”,可能会通过引起淋巴细胞凋亡和白细胞总数降低等方式抑制机体的免疫^[18]。本研究结果显示:与阴性组相比,甲型流感病毒阳性组和乙型流感病毒阳性组白细胞计数、中性粒细胞绝对值、淋巴细胞绝对值、单核细胞绝对值均有明显的降低,其对于临床流感的鉴别诊断具有一定的帮助,此结论与陈小桥等^[19]的研究结果基本一致。然而与之前的文献^[15-17]不同的是:本研究中未发现 3 组间 CRP 和 SAA 水平差异有统计学意义($P > 0.05$),因此某些情况下依靠 CRP 和 SAA 两个指标并不能很好地区分甲型流感、乙型流感和其他病原体引发的呼吸道感染,流感的准确诊断仍要依赖于更加特异的实验室检测指标。针对流感病毒进行靶向检测的技术包括病毒分离培养法、胶体金法、qPCR 法、测序法、质谱技术、恒温扩增技术和芯片技术等^[10-13,20],其中以胶体金法和 qPCR 法在临床实验室中的应用最为广泛,而测序技术多被用作“金标准”方法。由于测序技术检测成本高、检测周期长、检测通量低而难以被临床实验室广泛应用。本研究发现,针对甲型流感病毒和乙型流感病毒的检测,胶体金法的检测灵敏度不足 50.00%,而特异度很好,达到了 100.00%;qPCR 法的灵敏度达到 100.00%,特异度达到 98.00%以上,

qPCR 法所检测到的 1 例甲型流感假阳性和 2 例乙型流感假阳性均为弱阳性,推测并不是真正的假阳性结果,而是由于测序法的检测灵敏度低于 qPCR 法所致,鉴于本实验的样本量有限,未来的研究中将扩大样本量,对目前的研究结论作进一步的验证。造成胶体金法灵敏度差的主要原因:(1)qPCR 法检测是通过保守区域序列扩增来实现病毒核酸检测的,在流感病毒 HA 和 NA 核酸序列发生变异时对检测结果影响较小,但核酸序列变异会引起病毒抗原漂移,导致抗原检测出现假阴性结果^[21]。(2)抗原检测受抗原表达情况的限制,感染初期和后期受免疫清除的影响,抗原表达水平低,而核酸可以大量游离于外周血中,因此 qPCR 检测相比于抗原检测具有更早、灵敏度更高的特点,同时可以对治疗效果进行监测。与 qPCR 技术相比,胶体金法操作简便、检测成本低、检测速度快、无需辅助设备和专门的实验室,标本随到随检,具有更多的灵活性,能帮助部分病毒载量高的患者就诊当天就可以实现流感的快速、准确诊断,对于患者病情的控制具有重要意义,对于流感疫情的防控工作也具有不可忽略的价值。

综上所述,为了实现流感病毒的快速、准确诊断,临床实验室可以采用胶体金法、qPCR 法和实验室常规感染指标联合使用的策略。多种检测方法的联合使用有助于兼顾临床工作中对报告时间与检测结果准确性的要求,提高实验室诊断率,减少流感的漏诊和误诊。

参考文献

- [1] 国家卫生和计划生育委员会,国家中医药管理局. 流行性感 冒诊疗方案(2018 年版)[J]. 中国感染控制杂志,2018, 17(2):181-184.
- [2] 乔鹏,韩雪,王琳. 上海市杨浦区 2010—2015 年哨点医院 儿童流感监测结果[J]. 上海预防医学,2016,28(7):476- 478.
- [3] 周慧,武宇辉,于芹,等. 儿童流感病毒合并革兰阳性菌感 染的临床特征及危险因素分析[J]. 中国小儿急救医学, 2022,29(3):192-198.
- [4] 周倩倩,赵建玉,隋文君,等. 甲型流感病毒抗原及核酸检 测联合应用研究[J]. 中华检验医学杂志,2021,44(2): 126-131.
- [5] 盛鄂湘,陈良君,段勇威,等. 武汉市流感病毒流行特征及 检测方法的比较[J]. 国际检验医学杂志,2021,42(4): 444-446.
- [6] 殷荣,张涛,戴鸽,等. 711 例流感病毒肺炎患儿临床特点 及重症危险因素分析[J]. 国际儿科学杂志,2022,49(2): 135-139.
- [7] 张月新. 探讨实时荧光定量 PCR 仪用于流感病毒检测的 效果分析[J]. 中国医疗器械信息,2022,28(2):62-64.

- [8] KALIL A C, THOMAS P G. Influenza virus-related critical illness: pathophysiology and epidemiology [J]. Crit Care, 2019, 23(1): 258.
- [9] LYONS D M, LAURING A S. Mutation and epistasis in influenza virus evolution [J]. Viruses, 2018, 10(8): 407.
- [10] SACZYNSKA V, BIERCZYNSKA-KRZYSIK A, CECUDA-ADAMCZEWSKA V, et al. Production of highly and broad-range specific monoclonal antibodies against hemagglutinin of H5-subtype avian influenza viruses and their differentiation by mass spectrometry [J]. Virol J, 2018, 15(1): 13.
- [11] YAO Y, CHEN X, ZHANG X, et al. Rapid detection of influenza virus subtypes based on an integrated centrifugal disc [J]. ACS Sens, 2020, 5(5): 1354-1362.
- [12] DOS SANTOS BEZERRA R, DE MELO JORGE D M, CASTRO I A, et al. Detection of influenza A (H₃N₂) virus RNA in donated blood [J]. Emerg Infect Dis, 2020, 26(7): 1621-1623.
- [13] LEWANDOWSKI K, XU Y, PULLAN S T, et al. Metagenomic nanopore sequencing of influenza virus direct from clinical respiratory samples [J]. J Clin Microbiol, 2019, 58(1): e00963-19.
- [14] 于福荣. C 反应蛋白和血常规检测的临床意义 [J]. 质量安全与检验检测, 2022, 32(1): 90-92.
- [15] 程娟, 吴颖, 潘秋辉, 等. 血清淀粉样蛋白 A 对儿童流感辅助诊断及疗效监测的评价 [J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(7): 860-864.
- [16] 费凤英, 衣萍, 林见敏. 血清淀粉样蛋白 A 与 C 反应蛋白联合检测的临床应用价值 [J]. 检验医学, 2014, 29(10): 1031-1033.
- [17] 鄢青, 黄良坚, 徐和模. 血清淀粉样蛋白 A 和 C-反应蛋白联合检测在小儿感染性疾病早期鉴别中的临床应用价值 [J]. 中国现代医生, 2021, 59(32): 71-73.
- [18] 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): 61-66.
- [19] 陈小桥, 林杰, 王静, 等. 2017—2018 年冬季流感患儿临床特点和血常规表现 [J]. 国际病毒学杂志, 2019, 26(2): 90-92.
- [20] 盛鄂湘, 陈良君, 段勇威, 等. 武汉市流感病毒流行特征及检测方法的比较 [J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(4): 444-446.
- [21] MA L, LIU Y P, GENG C Z, et al. Undifferentiated embryonal sarcoma of liver in an old female: case report and review of the literature [J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(47): 7267-7270.

(收稿日期: 2022-08-29 修回日期: 2022-12-22)

(上接第 424 页)

情进展, 而且安全可靠, 值得临床推广应用。

参考文献

- [1] 李玉静, 杨涛. 炙甘草汤加减治疗冠心病并发心律失常的临床疗效研究 [J]. 中国全科医学, 2020, 23(S1): 224-226.
- [2] 陈善夫, 邓林华, 李梦蕾, 等. 通脉养心丸治疗心律失常疗效的系统评价与 Meta 分析 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(2): 252-258.
- [3] 杨洞洞, 张青, 刘福存. 甘草浓煎治疗附子中毒致心律失常的回顾性临床研究 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(1): 417-419.
- [4] 汪海燕, 王喆, 李慧芳, 等. 益心舒片联合伊伐布雷定治疗慢性稳定型心绞痛的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(3): 648-651.
- [5] 鲁端, 黄元铸. 实用临床心律失常诊断和治疗指南 [M]. 上海: 复旦大学出版社, 2003.
- [6] 王永炎, 鲁兆麟. 中医内科学 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [7] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则 [M]. 北京: 中国医药科研究出版社, 2002.
- [8] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准 [M]. 南京: 南京大学出版社, 1994.
- [9] 徐惠梅, 路瑞华, 刘宁, 等. 安律胶囊抗心律失常疗效及作用机制 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(12): 2836-2838.
- [10] 黄力. 中西医结合在心房颤动治疗中的优势 [J]. 中国中西医结合杂志, 2020, 40(3): 102-104.
- [11] 张义全, 雷芳, 陈亮. 心脉隆注射液联合芪苈强心胶囊对老年慢性心力衰竭患者血清 BNP、NF- κ B 及胱抑素 C 水平的影响 [J]. 西部中医药, 2018, 31(2): 1-5.
- [12] 杨阳, 金明磊, 宋灵燕, 等. 芪苈强心胶囊治疗扩张型心脏病的抗心室重构作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(13): 99-104.
- [13] 毛亮, 张威, 刘光辉, 等. 眼针疗法治疗冠心病心绞痛的疗效及对血 CRP、TNF- α 的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(9): 38-41.
- [14] 申凤霞. 基于系统药理学解析益心舒片治疗心血管疾病的分子机制 [D]. 西安: 西北大学, 2018.
- [15] 曾会萍. 益心舒片治疗病毒性心肌炎患者的临床疗效 [J]. 中国医药指南, 2020, 18(22): 159-160.
- [16] 吕杰. 益心舒片联合曲美他嗪治疗对慢性心力衰竭心功能参数及 Adropin 蛋白水平的影响 [J]. 中国临床保健杂志, 2019, 22(6): 783-786.

(收稿日期: 2022-09-11 修回日期: 2022-12-26)