

新型冠状病毒核酸快速检测与常规 PCR 检测的结果比较*

李育敏,姚洁仪,郭东月,蔡毅华,付晓歌,张秀明[△]

深圳市罗湖医院集团医学检验实验室/广东省深圳市罗湖区人民医院医学检验科,广东深圳 518001

摘要:目的 对新型冠状病毒(以下简称新冠病毒)核酸快速检测(以下简称快检)系统和常规聚合酶链反应(PCR)检测的结果进行比较分析,为临床核酸快检系统的应用及结果判断提供参考。方法 参照 CNAS-CL039《分子诊断检验程序性能验证指南》,对新冠病毒核酸快检和常规 PCR 检测两种方法的检出限进行评价;收集 2022 年 2—8 月在该实验室采用快检和常规 PCR 两种方法平行检测临床新冠病毒核酸样本的结果,计算符合率。结果 新冠病毒核酸快检系统在检出限 500 copy/mL 水平时重复测定 20 次,N 基因全部检出,ORF lab 基因检出率为 65%;常规 PCR 方法检测 N 基因和 ORF lab 基因均可达到厂家声明的检出限;快检和常规 PCR 两种方法检测临床新冠病毒核酸样本的阳性符合率为 76.16%,阴性符合率为 100.00%,总符合率为 99.96%。结论 新冠病毒核酸快检和常规 PCR 两种方法的检测结果一致性总体较好,但对弱阳性样本快检的阳性检出率低于常规 PCR 检测,常规 PCR 检测的灵敏度较快检更高。

关键词:新型冠状病毒;核酸;快速检测;聚合酶链反应**中图分类号:**R446.5**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2023)19-2918-03

全球新型冠状病毒(以下简称新冠病毒)仍在不断发生变异,随着国内疫情防控政策的调整,新型冠状病毒感染诊疗方案(试行第十版)中提出,新冠病毒检测的方法主要有核酸检测和抗原检测^[1],后者操作方便,但前者灵敏度更高,而在其诊断原则中新冠病毒核酸检测阳性仍为确诊的首要标准。新冠病毒核酸快速检测(以下简称快检)目前已被广泛应用于临床,大大缩短了阳性病例的检出时间,使感染者能够得到及时治疗,对于住院患者也能够在早期与其他非感染者进行分区治疗。但由于分子诊断技术的专业性和复杂性,在实际应用和质量管理过程中仍需要对其检测结果的准确性和可靠性进行评价。按照《新型冠状病毒核酸快速检测临床规范化应用专家共识》^[2],本研究通过对新冠病毒核酸快检系统与常规聚合酶链反应(PCR)两种方法平行检测样本的结果进行比较,为临床核酸快检的应用及结果判读提供参考。

1 材料与方法

1.1 样本来源 收集 2022 年 2—8 月在本实验室采用快检试剂和常规 PCR 试剂进行新冠病毒核酸检测的所有咽拭子样本。所有标本均严格按照《新型冠状病毒核酸检测工作手册(试行第二版)》^[3]要求进行采集、送检和保存。国家参考品为中国计量科学研究院新冠病毒核酸标准物质[GBW(E)091089]。

1.2 仪器与试剂 新冠病毒核酸提取仪器为重庆中元核酸提取仪,试剂为仪器配套的重庆中元核酸提取试剂(磁珠法)。新冠病毒核酸快检仪器为杭州安誉

AGS8830-8 型(8 通道)和 AGS8830-16 型(16 通道)实时荧光定量 PCR 仪,试剂为中山大学达安基因新冠病毒核酸快检试剂盒。新冠病毒核酸常规 PCR 检测仪器为上海宏石 SLAN-96S 荧光定量 PCR 仪,试剂为上海伯杰新冠病毒核酸检测试剂盒(荧光 PCR 法)。

1.3 方法

1.3.1 样本处理和检测 快检和常规 PCR 检测两种方法均采用磁珠法提取核酸。将新冠病毒采样管置于振荡器上,振荡 10 min,按照重庆中元核酸提取试剂盒说明书提取核酸后,分别采用快检和常规 PCR 两种方法进行平行检测,按照两种方法的核酸检测试剂盒说明书进行核酸扩增和结果判读。

1.3.2 检出限 参照 CNAS-CL039《分子诊断检验程序性能验证指南》^[4],使用定值标准物质(国家参考品)的样本,梯度稀释至厂家声明的检出限水平(快检试剂和常规 PCR 试剂均为 500 copy/mL),采用新冠病毒核酸快检和常规 PCR 两种检测方法分别对该水平样本进行 20 次重复测定,室内质控在控时数据可接受。判断标准为至少检出 18 次靶核酸。

1.3.3 方法符合率 参照 CNAS-CL039《分子诊断检验程序性能验证指南》^[4],通过对快检和常规 PCR 检测两种方法平行检测样本的结果进行比较,计算符合率,所统计的阳性样本均为送至深圳市疾病预防控制中心(CDC)或深圳市罗湖区 CDC 复核后结果为阳性的样本。

2 结果

2.1 两种方法检出限验证 新冠病毒核酸快检系统

* 基金项目:广东省深圳市医学重点学科建设经费(SZ XK054)。

[△] 通信作者,E-mail:zxm0760@163.com。

在 500 copy/mL 水平重复测定 20 次,双靶标(ORF lab 和 N 基因)同时检出率为 65%(13/20),其中单靶标 N 基因检出率为 100%(20/20),达到厂家声明的检出限;单靶标 ORF lab 基因检出率为 65%(13/20),未达到厂家声明的检出限。新冠病毒核酸常规 PCR 检测试剂在 500 copy/mL 水平重复测定 20 次,双靶标(ORF lab 和 N 基因)同时检出率为 100%(20/20),达到厂家声明的检出限。

2.2 临床样本检测 2022 年 2—8 月经新冠病毒核酸快检和常规 PCR 两种方法平行检测共 189 600 例样本,快检检出阳性 230 例,常规 PCR 检出阳性 302 例;快检检出的 230 例阳性样本经常规 PCR 检测均为阳性,另有 72 例样本快检检测为阴性,常规 PCR 检测为阳性,其中 41 例快检阴性样本经常规 PCR 检测为双靶标阳性(38 例 Ct 值 > 35, 3 例 Ct 值 < 35); 31 例经常规 PCR 检测为单靶标阳性(20 例单靶标 N 基因阳性, 11 例单靶标 ORF lab 基因阳性)。

2.3 方法符合率 对 189 600 例样本的检测结果进行比较分析,两种方法的阳性符合率为 76.16%,阴性符合率为 100.00%,总符合率为 99.96%。见表 1。

表 1 新冠病毒核酸快检和常规 PCR 检测结果的比较(n)

快检	常规 PCR 检测		合计
	阳性	阴性	
阳性	230	0	230
阴性	72	189 298	189 370
合计	302	189 298	189 600

3 讨 论

按照《新型冠状病毒核酸快速检测临床规范化应用专家共识》^[2],新冠病毒核酸快检相对于常规 PCR 检测,检测时间短、仪器便携。目前国家药品监督管理局批准的新冠病毒核酸快检试剂采用的方法有荧光 PCR 法、恒温扩增-实时荧光法和全集成蝶式芯片法。尚有许多核酸快检新兴技术也在不断研究发展^[5-8]。国家卫生健康委临床检验中心发布的 2022 年全国新冠病毒核酸快检室间质评结果报告显示,参与的 2 389 家实验室中,成绩合格的有 2 373 家(99.3%)。

本研究首先对新冠病毒核酸快检系统和常规 PCR 检测两种方法的检出限进行了评价,结果表明核酸快检对 N 基因检测可达到厂家声明的检出限,但对 ORF lab 基因检测则未达到检出限,而常规 PCR 方法检测 N 基因和 ORF lab 基因均可达到厂家声明的检出限。进一步对 189 600 例临床样本的新冠病毒核酸检测结果进行比对分析,快检和常规 PCR 两种方法的阳性符合率为 76.16%,阴性符合率为 100.00%,总符合率为 99.96%,在快检阴性、常规 PCR 检测阳性 72 例样本中,有 41 例为双靶标阳性,但其中 38 例 Ct 值 > 35,仅 3 例 Ct 值 < 35,另外 31 例为单靶标阳性。

以上研究结果表明,两种方法检测结果的一致性总体较好,但对于弱阳性样本核酸快检阳性检出率低于常规 PCR 检测,说明常规 PCR 检测方法的灵敏度较快检更高。

本研究在进行检出限评价时,发现在 500 copy/mL 水平时重复测定 20 次,N 基因可全部检出,而 ORF lab 基因检出率为 65%,这可能与 ORF lab 基因和 N 基因检测灵敏度的差异、ORF lab 基因的拷贝数较低和多靶点扩增引物之间相互竞争等有关^[9-10]。对快检系统检出单靶标基因的弱阳性样本复核时,一方面可采取常规 PCR 试剂进行复核,另一方面可重复测定,如再次检测出双靶标阳性,可判断为阳性;如仍为单靶标 N 基因阳性,按照国家相关文件规定重新采样复核^[2]。另外核酸提取和扩增效率也可影响靶基因的检出率^[11-12],部分厂家的核酸快检系统可采用直接配套的核酸释放剂,但有研究表明释放剂法比磁珠法检出的 Ct 值更大^[11]。磁珠法具有自动化、操作简单、快速等优势,释放的核酸经磁珠富集和纯化后水平和纯度均较高,更适用于不同水平及不同类型(单采和混采)的样本检测。本研究采用磁珠法提取核酸,再进行快检试剂扩增检测,重复性较好。此外,复阳个体体内存在非活病毒,病毒序列不完整,检测结果可能差异较大,如:不同的试剂检出不同的单靶标;同一种试剂重复测定检出不同的单靶标;检出阳性后,重新采样检测阴性,连续多日阴性后又检出阳性等。但是若个体再次感染新冠病毒变异株,体内可能为活病毒。

新冠病毒核酸快检并不完全等同于即时检验,其对实验室建设和生物安全要求仍需遵循国家相关文件规定^[2]。

参考文献

- [1] 国家卫生健康委办公厅,国家中医药局综合司. 关于印发新型冠状病毒感染诊疗方案(试行第十版)的通知(国卫办医急函[2023]4 号)[EB/OL]. (2023-01-05)[2023-04-02]. https://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2023-01/06/content_5735343.htm.
- [2] 中国医学装备协会基因检测分会,中国医学装备协会现场快速检测(POCT)装备技术分会,国家医学检验临床医学研究中心,等. 新型冠状病毒核酸快速检测临床规范化应用专家共识[J]. 中华检验医学杂志,2021,44(8):698-702.
- [3] 国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制医疗救治组. 关于印发医疗机构新型冠状病毒核酸检测工作手册(试行第二版)的通知(联防联控机制医疗发[2020]313 号)[EB/OL]. (2020-12-28)[2023-01-02]. <http://ws.jkw.hebei.gov.cn/zcfg2/375051.jhtml>.
- [4] 中国合格评定国家认可委员会. 分子诊断检验程序性能验证指南:CNAS GL039:2019[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会,2019.

- [5] 焦洋,王恒伟,李崇,等. BMD-PCR 技术在新型冠状病毒病毒核酸快速检测中的应用[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2021, 35(6): 664-668.
- [6] 李欢,徐秋月,王云娟,等. 利用逆转录环介导恒温扩增技术建立新型冠状病毒核酸快速检测方法[J]. 昆明医科大学学报, 2021, 42(9): 25-31.
- [7] 夏永胜,朱红年,沈小俊,等. 新型冠状病毒 SARS-CoV-2 的快速核酸检测技术[J]. 生命的化学, 2022, 42(3): 502-512.
- [8] LU S, TONG X, HAN Y, et al. Fast and sensitive detection of SARS-CoV-2 RNA using suboptimal protospacer adjacent motifs for Cas12a[J]. Nature Biomedical Engineering, 2022, 6(3): 286-297.
- [9] 熊丹, 阚丽娟, 王萌萌, 等. 七种国产新型冠状病毒核酸检测 · 临床探讨 · DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2023. 19. 034
- 测试剂盒的一致性和检出能力评价研究[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(8): 787-793.
- [10] SOLA I, ALMAZÁN F, ZÚNIGA S, et al. Continuous and discontinuous RNA synthesis in coronaviruses[J]. Annu Rev Virol, 2015, 2(1): 265-288.
- [11] 于河山,任峰,张艺凡. 六种新型冠状病毒核酸检测试剂的性能评价及其与核酸提取试剂匹配性分析[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(9): 841-848.
- [12] 黄裕游,何雪芳. 4 种不同核酸提取试剂在自建新型冠状病毒核酸检测系统中性能比较[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(13): 1813-1815.

(收稿日期: 2023-01-31 修回日期: 2023-04-28)

膝关节骨性关节炎术后患者希望水平及相关影响因素分析*

陈 露

江西省萍乡市第二人民医院关节创伤科, 江西萍乡 337000

摘要:目的 探究膝关节骨性关节炎(KOA)术后患者希望水平及其相关影响因素。方法 选取 2020 年 3 月至 2022 年 7 月于该院接受手术治疗的 80 例 KOA 患者, 采用 Herth 希望量表(HHI)评估患者术后 3 个月复诊时的希望水平, 并收集相关资料, 比较不同特征 KOA 患者的希望水平, 分析 KOA 患者术后希望水平的相关影响因素。结果 80 例 KOA 患者术后 HHI 评分为(28.68±2.85)分, 为中等希望水平。不同年龄、受教育程度、应对方式、负面情绪、社会支持度的 KOA 患者 HHI 评分比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 不同性别、医疗支付方式、合并症的 KOA 患者 HHI 评分比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。多元线性回归分析显示, 年龄 >60 岁、高中及以下文化程度、消极应对、有负面情绪、社会支持度低下是 KOA 患者术后希望水平不高的影响因素($P < 0.05$)。结论 KOA 患者术后希望水平为中等水平, 其希望水平不高与患者年龄 >60 岁、高中及以下文化程度、消极应对、有负面情绪、社会支持度低下有关。

关键词: 膝关节骨性关节炎; 希望水平; 应对方式; 负面情绪; 社会支持度

中图分类号: R684.3

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2023)19-2920-03

膝关节骨性关节炎(KOA)的发生与骨质增生、膝关节软骨退变有关, 随着疾病进展, KOA 患者会出现关节疼痛、活动受限等症状, 如不尽早治疗, 可能会导致下肢残疾, 严重影响患者健康^[1]。目前, 关节置换术是治疗 KOA 的常用方式, 可减轻病症, 改善患者肢体功能, 但术后患者仍需接受长期的康复治疗及护理, 以促进其肢体功能早日恢复^[2]。希望是机体相信自身解决困难的信念, 有研究指出, 希望是影响患者术后心理及身体健康的重要因素之一^[3]。部分 KOA 患者术后受多种因素影响会出现希望水平低下的情况, 导致患者丧失治疗信心, 消极应对各项治疗及护理措施, 严重影响其康复进度^[4]。而明确 KOA 患者术后希望水平的相关影响因素有利于临床采取相应措施来提高患者的希望水平。基于此, 本研究旨在探究 KOA 患者术后希望水平及相关影响因素, 以期为

KOA 患者的术后护理提供指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 3 月至 2022 年 7 月于本院接受手术治疗的 80 例 KOA 患者。其中男 37 例, 女 43 例; 年龄 60~80 岁, 平均(68.52±5.35)岁; 合并高血压 22 例, 合并糖尿病 8 例。纳入标准: (1) 均符合 KOA 诊断标准^[5]; (2) 首次接受膝关节置换术治疗; (3) 意识清晰, 有读写能力。排除标准: (1) 合并心、肝、肾功能障碍者; (2) 近期遭受重大心理应激事件者; (3) 合并恶性肿瘤者; (4) 痴呆或精神疾病者; (5) 语言障碍者。本研究经本院医学伦理委员会批准[2020 审(038)号], 患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 希望水平评估 采用 Herth 希望量表(HHI)^[6]评估患者术后 3 个月复诊时的希望水平, 该量

* 基金项目: 江西省萍乡市科技计划项目(2022py064)。