

荧光定量 PCR 仪在乙型流感病毒检测中的效果评价

刘志高

(湖北省石首市疾病预防控制中心)

【摘要】目的：探讨分析荧光定量PCR仪在乙型流感病毒检测中的效果评价。方法：研究年限：2023年7月-2024年2月；选择于石首市人民医院（省级流感哨点监测医院）收治的80例乙型流感患者作为本次研究对象，利用单双数字抽签法分组，分为荧光组（n=40）与免疫组（n=40）。荧光组采用荧光定量PCR仪检测，免疫组采用免疫学法检测。比较两组表现症状的分布情况、检出敏感性、检出准确性。结果：咳嗽表现症状共80例、占比100.00%，发热表现症状共77例、占比96.25%、咽喉疼痛表现症状共54例、占比67.50%、呼吸异常表现症状共42例、占比52.50%，流涕表现症状共24例、占比30.00%，腹泻腹痛表现症状共13例、占比16.25%，咳痰表现症状共7例、占比8.75%，乏力表现症状共6例、占比7.50%，胸痛表现症状共5例、占比6.25%。荧光组检出敏感性是97.50%、免疫组检出敏感性是82.50%，荧光组敏感性检出率明显高于免疫组，（ $P < 0.05$ ）视为差异有统计学意义。荧光组检出准确性是100.00%，免疫组检出准确性是90.00%，荧光组准确性检出率明显高于免疫组，（ $P < 0.05$ ）视为差异有统计学意义。结论：荧光定量PCR仪检测乙型流感病毒的准确性和敏感性较高，可以为乙型流感病毒的诊断提供参考依据，该检测技术取得一定临床价值，建议广泛推广。

【关键词】 荧光定量PCR仪；乙型流感病毒检测；效果

Evaluation of the effect of fluorescence quantitative PCR instrument in the detection of influenza B virus

Zhi-gao liu

The Shishou City Center for Disease Control and Prevention, Hubei Province

[Abstract] Objective: To evaluate the effect of fluorescence quantitative PCR instrument in the detection of influenza B virus. Methods: Study years: July 2023-February 2024; 2024; 80 cases of influenza B admitted to Shishou People's Hospital (provincial influenza sentinel surveillance hospital) were selected as the study subjects and divided into fluorescent group (n=40) and immunization group (n=40). The fluorescent group was detected by fluorescence quantitative PCR instrument and the immunogroups by immunological assay. The distribution of presenting symptoms, detection sensitivity, and detection accuracy were compared between the two groups. Results: 80 cases of cough symptoms, accounting for 100.00%, 77 cases of fever, 96.25%, 54 cases, 67.50%, 42 cases, 30.00%, 24 cases of diarrhea and abdominal pain, 16.25%, 7 cases, 8.75%, 6 cases of fatigue symptoms, 7.50%, 5 cases of chest pain and 6.25%. The detection sensitivity of the fluorescence group was 97.50% and that of the immune group was 82.50%, and the sensitivity detection rate of the fluorescence group was significantly higher than that of the immune group. ($P < 0.05$) was considered statistically significant. The detection accuracy of the fluorescence group was 100.00%, and the detection accuracy of the immune group was 90.00%. The accuracy detection rate of the fluorescence group was significantly higher than that of the immune group. ($P < 0.05$) was considered statistically significant. Conclusion: The accuracy and sensitivity of influenza B virus detection are high, which can provide a reference for the diagnosis of influenza B virus. This detection technology has obtained some clinical value and is suggested to be widely promoted.

[Key words] fluorescence quantitative PCR instrument; influenza B virus detection; effect

乙型流感病毒（influenza B virus）是一种致病菌，感染后可引起乙型流感，属于急性的呼吸系统传染性疾病，具有很强的传染性^[1]。该疾病在冬季多发，儿童、孕妇、老年人等特殊群体是易感人群，病情严重的患者具有死亡的危险。发病后，可引起咳嗽咳痰、发热、肌肉酸痛、腹泻等症状^[2]。临床上，对于乙型流感病毒的诊断通过咽拭子、含漱液来实现，将病毒接种到动物细胞中，培养后检测病毒水平，该检查过程所消耗的时间比较长，且诊断具有很大的局限性，病毒复制后的低度比较低，不宜储存，并不能及时、有效的诊

断乙型流感病毒^[3]。近些年，出现很多新型的检验学技术，例如荧光定量 PCR 技术（fluorescent quantitative per）。荧光定量 PCR 技术诊断乙型流感病毒的时间很快，操作过程非常便捷，可以及时提供明确的诊断，从而为进一步的治疗提供参考依据^[4]。本文旨在研究分析荧光定量 PCR 仪在乙型流感病毒检测中的效果评价。现报道如下。

1 一般资料与方法

1.1 一般资料

研究年限: 2023年7月-2024年2月; 选择于石首市人民医院收治的80例乙型流感患者作为本次研究对象, 利用单双数字抽签法分组, 分为荧光组(n=40)与免疫组(n=40)。荧光组中男性病患17例、女性病患23例; 年龄最小20岁, 年龄最大67岁, 平均年龄(45.91±1.27)岁; 文化程度: 小学6例、初中5例、高中12例、大学及以上17例。免疫组中男性病患19例、女性病患21例; 年龄最小21岁, 年龄最大67岁, 平均年龄(45.92±1.24)岁; 文化程度: 小学7例、初中6例、高中13例、大学及以上14例。比较两组性别、年龄、文化程度等一般资料, (P>0.05)视为差异无统计学意义。

纳入标准: (1) 知晓且同意, 签订协议书。(2) 符合流感样病例定义。

排除标准: (1) 精神疾病者。(2) 伴随恶性肿瘤。(3) 依从性不佳。(4) 器质性疾病。(5) 沟通、交流障碍。

1.2 方法

收集80例病患的咽拭子, 将咽拭子经过口腔插入至咽喉, 擦拭咽扁桃体后壁, 共擦拭两根咽拭子, 一根放到病毒采样试剂管中, 另一根放入胶体金测试裂解液中, 在零下4℃的条件下保存, 以待检查。

免疫组采用免疫学法检测: 将样本管中的咽拭子放入提取液中, 将样本和液体摇匀, 充分混合, 在测试卡上用力按挤咽拭子, 加入病毒采集管, 等待检验结果, 大约20min左右, 出现双条红线视为阳性, 出现单红线则视为阴性。

荧光组采用荧光定量PCR仪检测: 检查操作设备, 打扫实验室的卫生, 避免发生污染, 校准移动液。用提取仪获取流感病毒的RNA, 完成裂解、吸附、洗涤等过程。用混合酶和混合液处理样本, 反复扩增50次, 获取3-15个循环的荧光信号值, 40以下是阳性, 40以上视为阴性。

两组在检测的过程中应严格执行操作规范, 履行实验室的规章制度。

1.3 观察指标

(1) 比较所有患者表现症状的分布情况, 包括咳嗽、发热、咽喉疼痛、呼吸异常、流涕、腹泻腹痛、咳痰、乏力、胸痛。

(2) 比较两组检出敏感性, 敏感性=真阳性/(真阳性+假阴性)×100%。

(3) 比较两组检出准确性, 准确性=(真阳性+真阴性)/总例数×100%。

1.4 统计学分析

选择SPSS 21.0统计学软件对数据进行处理与分析, 计数资料运用例数(n)与百分数(%)表示, 实施 χ^2 检验, 计量资料运用平均数±标准差表示, 实施t检验, (P<0.05)视为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 所有患者表现症状的分布情况

咳嗽表现症状共80例、占比100.00%, 发热表现症状共77例、占比96.25%、咽喉疼痛表现症状共54例、占比67.50%、呼吸异常表现症状共42例、占比52.50%, 流涕表现症状共24例、占比30.00%, 腹泻腹痛表现症状共13例、占比16.25%, 咳痰表现症状共7例、占比8.75%, 乏力表现症状共6例、占比7.50%, 胸痛表现症状共5例、占比6.25%。详见表1。

表1 所有患者表现症状的分布情况分析 [(n)%]

表现症状	例数 (n=80)	占比 (%)
咳嗽	80	100.00
发热	77	96.25
咽喉疼痛	54	67.50
呼吸异常	42	52.50
流涕	24	30.00
腹泻腹痛	13	16.25
咳痰	7	8.75
乏力	6	7.50
胸痛	5	6.25

2.2 比较荧光组与免疫组检出敏感性

荧光组检出敏感性是97.50%、免疫组检出敏感性是82.50%, 荧光组敏感性检出率明显高于免疫组, (P<0.05)视为差异有统计学意义。详见表2。

表2 两组检出敏感性对比如下 [(n)%]

组别	例数	敏感性	占比 (%)
荧光组	40	39	97.50
免疫组	40	33	82.50
χ^2 值	-		5.0000
P值	-		0.0253

2.3 比较荧光组与免疫组检出准确性

荧光组检出准确性是100.00%, 免疫组检出准确性是90.00%, 荧光组准确性检出率明显高于免疫组, (P<0.05)视为差异有统计学意义。详见表3。

表3 两组检出准确性对比如下 [(n)%]

组别	例数	准确性	占比 (%)
荧光组	40	40	100.00
免疫组	40	36	90.00
χ^2 值	-		4.2105
P值	-		0.0401

3 结论

乙型流感是感染乙型流感病毒而引起的疾病, 是急性的呼吸道疾病, 与甲型流感相比, 其只感染人类, 不会感染牲

畜,所以不会引起大面积的爆发^[5]。乙型流感好发于人群密集的场所,乙型流感患者是主要的传染源,感染后的7d内均有传染性质,发病后的2-3d是传染性最强的时期。该疾病主要通过飞沫传播,也可通过污染的用品传播,5岁以下的儿童和年龄超过65岁的老年人容易发展成重症,若病情未得到有效的控制,将会导致患者死亡。乙型流感可引起全身性症状,例如头痛、发热、寒战等等,局部症状主要表现为鼻塞、流涕、咳嗽咳痰等等^[6]。乙型流感的表现症状与其他呼吸道疾病的表现症状很相似,容易混淆,所以发病后应及时明确诊断。常规的乙型流感病毒检测主要依靠免疫学检测,免疫学检测包括多种形式,例如酶联免疫吸附法、凝聚抑制试验等等,将病毒移植到动物体内,在动物细胞上进行培养,检测过程需要10-15d才能得到最终的结果,没有准确的诊断结果,就无法进行对症治疗,导致耽误病情^[7]。荧光定量PCR技术是新型的检测技术,利用荧光素标记与荧光定量PCR仪进行检测,整个检测过程可以在计算机下进行,并且能够达到动态检测,在乙型流感病毒的检测中有着重要的临床意义^[8]。

RT-PCR是荧光定量PCR技术发展的前身,在RT-PCR的基础上进行优化和改良,从而形成荧光定量PCR技术。该检测技术在PCR反应体系中,加入荧光基团,用荧光信号检测产物水平,运用标准曲线进行定量分析^[9]。整个检测过程是在密闭的条件下进行的,可以很好的避免样本污染等情况,从而保证检测的准确率。乙型流感病毒在荧光定量PCR仪的检测下,仅需3h即可完成诊断。荧光定量PCR仪能够区分呼吸道合胞病毒、乙型流感病毒以及禽流感病毒,

所以几乎不会发生误诊情况^[10]。

实验结果如下:咳嗽表现症状共80例、占比100.00%,发热表现症状共77例、占比96.25%、咽喉疼痛表现症状共54例、占比67.50%、呼吸异常表现症状共42例、占比52.50%,流涕表现症状共24例、占比30.00%,腹泻腹痛表现症状共13例、占比16.25%,咳痰表现症状共7例、占比8.75%,乏力表现症状共6例、占比7.50%,胸痛表现症状共5例、占比6.25%。荧光组检出敏感性是97.50%、免疫组检出敏感性是82.50%,荧光组敏感性检出率明显高于免疫组,($P < 0.05$)视为差异有统计学意义。荧光组检出准确性是100.00%,免疫组检出准确性是90.00%,荧光组准确性检出率明显高于免疫组,($P < 0.05$)视为差异有统计学意义。

在本次出研究当中,运用荧光定量PCR仪与胶体金法检测进行比较,荧光定量PCR仪诊断的敏感性更高,其是在封闭的环境下完成检测过程的,从而能够避免检验样本被污染,也能避免交叉感染,胶体金法检测具有一定局限性,操作不当,将会导致样本被污染,从而降低诊断的准确性。荧光定量PCR仪的检测速度非常快,但在样本的转运和检测的过程中,要严格执行操作流程,必要时可以采用酒精和紫外线消毒物品的表面。荧光定量PCR仪对于操作技术有一定要求,在检测的过程中应尽量保证精密度。

综上所述,荧光定量PCR仪在乙型流感病毒检测中的应用取得较高的临床价值,该检查方式方便、快捷,诊断的时间比较短,其诊断的敏感性、准确性很高,可以为该疾病的诊断提供参考。

参考文献:

- [1]夏成静,李宝花,郭燕姝等.基于流式量子点微球技术的甲乙型流感病毒抗原检测方法的建立和初步应用分析[J].现代检验医学杂志,2024,39(01):126-130.
- [2]林俐娜.研究分析荧光定量PCR仪在乙型流感病毒检测中的应用效果[J].中国医疗器械信息,2023,29(16):96-98.
- [3]张卫源,裴保河,王静等.多重核酸即时检测系统在新型冠状病毒和甲/乙型流感病毒联合检测中的应用评价[J].现代疾病预防控制,2023,34(08):603-607.
- [4]吴亚斌,杜世杰,王铮华.抗原检测及聚合酶链反应在医院甲乙型流感病毒检测中的应用[J].实用医技杂志,2023,30(07):523-527.
- [5]年悬悬,周辉,李军英等.乙型流感病毒荧光定量RT-PCR检测方法的建立及验证[J].中国生物制品学杂志,2022,35(09):1090-1095+1101.
- [6]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(02):62-64.
- [7]罗周正,张丽艳,李贺等.探讨实时荧光定量PCR仪用于流感病毒检测的效果分析[J].中国医药指南,2020,18(16):96-97.
- [8]杨郝亮,郭楠,李宝萍等.3260例老年呼吸道感染患者甲型和乙型流感病毒的IgM抗体检测结果分析[J].中国卫生检验杂志,2020,30(09):1075-1078.
- [9]陈韵颖,叶先飞,周俊等.2357例流感样患儿甲乙型流感病毒检测结果及病毒载量分析[J].中华医院感染学杂志,2020,30(02):278-282.
- [10]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(02):184-186+190.
- [12]高洁,严敏,付婷等.TapMan荧光定量RT-PCR快速检测乙型流感病毒核酸方法的建立及意义[J].中国现代药物应用,2018,12(11):52-53.