

不同流感病毒检验方法的应用效果对比

杨凯睿*

(四平市疾病预防控制中心, 四平 136000)

摘要: 目的 对比不同流感病毒检验方法的应用效果。**方法** 选取于2021年1月至2023年6月某院收治的100例流感患者, 随机分为观察组(荧光PCR检验, Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)和对照组(胶体金免疫层析技术检验)各50人。**结果** 相比对照组, 观察组检验阳性率较高($P<0.05$)。**结论** 采用荧光RT-PCR检验流感病毒能够获得更高的检验效果, 提高检验的阳性率。

关键词: 流感病毒; 检验方法; 应用效果

Comparison of application effects of different influenza virus detection methods

YANG Kai-Rui*

(Disease Prevention and Control Center of Siping City, Siping 136000, China)

ABSTRACT: Objective To compare the application effects of different influenza virus detection methods. **Methods** 100 influenza patients admitted to a certain hospital from January 2021 to June 2023 were randomly divided into an observation group (fluorescence RT-PCR test) and a control group (colloidal gold immunochromatographic test), with 50 patients in each group. **Results** Compared with the control group, the observation group had a higher positive rate of testing ($P<0.05$). **Conclusion** Using fluorescence RT-PCR to detect influenza virus can achieve higher detection results and improve the positivity rate of the test.

KEY WORDS: influenza virus; inspection method; application effect

0 引言

流感是由流感病毒引起的一种急性呼吸道传染病。流感病毒可分为甲、乙、丙三型, 其中甲、乙型流感病毒是最常见的两种。流感的主要症状包括突发高热、头痛、肌肉酸痛、咳嗽、喉咙痛、乏力等, 严重时可导致并发症甚至死亡。流感在全球范围内广泛传播, 每年都会出现季节性流感流行。流感的传播途径主要包括飞沫传播和接触传播, 特别是在人群密集的场所更容易传播。虽然流感一般是自限性疾病, 但对于某些人群, 如老年人、儿童、孕妇和患有慢性疾病的人来说, 流感可能会带来更严重的后果, 对公共卫生和个体健康都具有重要影响^[1]。准确、快速地检测流感病毒的存在和类型, 对于指导流感的预防、控制和治疗具有重要意义。通过及时检测, 可以迅速发现流感病毒的感染情况, 为防控措施的制定和实施提供科学依据。这有助于阻止病毒的进一步传播, 降低感染率, 同时, 准确的

检测结果可以帮助医生了解患者的病情和感染类型, 从而制定针对性的治疗方案, 提高治疗效果。

不同的流感病毒检验方法都有其优点和局限性。胶体金法以其操作方法简单、耗时短和费用低。然而, 其漏检率较高, 且无法对流感病毒进行亚型鉴定, 这在一定程度上限制了其应用范围。细胞培养法和鸡胚培养法虽然能够分离到病毒并观察其生物学特性, 但实验耗时长, 对实验人员技术要求较高, 且存在病毒不能长期保存等问题^[2]。荧光RT-PCR法通过荧光信号的实时监测, 能够准确判断样品中是否存在流感病毒, 并有效避免假阳性结果的发生。此外, 荧光RT-PCR法还具有操作简便、自动化程度高等优点, 使得其在流感病毒检测中得到广泛应用。因此, 对不同流感病毒检验方法的应用效果进行对比研究, 对于及时诊断、追踪病毒传播、制定公共卫生策略等方面都具有重要意义^[3]。本文旨在对比不同流感病毒检验方法的应用效果, 帮助选择最适合的方法, 提高流感病毒的检测准确

* 通信作者: 杨凯睿, 硕士, 主管检验师, 研究方向: 病毒检验。E-mail: 15104341076@163.com

*Corresponding author: YANG Kai-Rui, Master, Inspector in Charge, Disease Prevention and Control Center of Siping City, Siping 136000, China. E-mail: 15104341076@163.com

性和效率。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取于2021年1月至2023年6月某院收治的100例流感患者,随机分为观察组男26例、女24例,平均年龄(35.26±6.13)岁;对照组男27例、女23例,平均年龄(35.87±6.19)岁。一般资料无差异, $P>0.05$ 。纳入标准:所有研究对象(家属)均签订知情同意书,流感患者或有流感症状的个体。排除标准:(1)其他呼吸道感染:存在其他已知呼吸道病原体感染,如呼吸道合胞病毒、冠状病毒等;(2)其他慢性疾病:存在其他严重慢性疾病或免疫缺陷状态;(3)孕妇:怀孕的女性,因为流感病毒检验方法可能对胎儿产生潜在风险;(4)未满足样本要求:如样本量不足、采样不规范或样本质量不佳等。本研究已获得伦理委员会的同意及批准。

1.2 方法

荧光RT-PCR技术是一种在常规PCR基础上发展起来的定量PCR技术。通过在PCR反应体系中加入荧光基团,利用荧光信号累积,实时监测整个PCR进程,最后根据CT值和标准曲线,对未知模板进行定量分析。这种技术特别适用于RNA病毒的检测,如流感病毒。荧光RT-PCR检验流感病毒的原理为:首先,从疑似流感患者的样本(如鼻咽拭子)中提取流感病毒的RNA。使用逆转录酶将提取的流感病毒RNA反转录成cDNA。使用特异性引物和探针,通过PCR扩增cDNA。在PCR反应体系中加入荧光基团,实时监测PCR进程。根据荧光信号的强弱,判断样本中是否存在流感病毒。同时,通过CT值和标准曲线,对流感病毒进行定量分析。胶体金免疫层析技术在检验流感病毒方面也具有一定的应用。胶体金免疫层析技术利用胶体金作为显色媒介,结合免疫学中抗原抗体特异性结合的原理。在层析过程中,样品中的流感病毒与胶体金标记的特异性抗体结合,抑制抗体和检测线(T线)上偶联抗原的免疫反应,从而导致检测线颜色深浅的变化。通过比较检测线与控制线(C线)的颜色深浅,可以对样品中的流感病毒进行定性检测^[4]。

对照组应用胶体金免疫层析技术检验:采集患者咽拭子、鼻拭子或其他相应的标本,根据临床需要选择合适的样本类型。

将胶体金试剂、稀释液和其他必要试剂按照说明书中的要求准备好,确保试剂在规定的温度下保存。将采集的样本加到提取缓冲液中,混匀后待用。根据具体试剂盒的要求,可能需要对样本进行离心等处理。取出测试条,使用吸管或移液器将处理后的样本滴在样本加载口处。根据说明书上的要求,滴加适量的样本。等待一定时间(通常几分钟),让样本在测试条上进行反应。观察测试窗口中是否出现线条(阳性结果)或无线条(阴性结果)。线条的颜色强度可能表示病毒量的多少。根据试剂盒使用说明书中的标准,判断结果为阳性、阴性或无效。阳性结果可能需要进行确认检测或其他进一步的检查。

观察组应用荧光RT-PCR检验:采集患者咽拭子、鼻拭子或其他相应的标本,确保标本采集过程符合无菌操作规范。使用相应的核酸提取试剂盒,提取样本中的核酸。按照试剂盒说明书的要求进行核酸提取步骤。准备RT-PCR反应液,包括逆转录试剂、PCR酶、引物、探针等。根据实验方案和试剂盒说明书准备反应液。将提取的核酸与逆转录试剂混合,在适当的温度条件下进行逆转录反应,将病毒RNA转录成相应的DNA。将逆转录反应产生的cDNA用作PCR反应的模板,引物和探针将目标基因扩增并检测。设定合适的PCR程序和温度梯度。在PCR反应过程中,使用荧光探针或染料监测PCR产物的累积情况。荧光信号的变化反映了靶基因的扩增情况。通过荧光信号的强度和特定的阈值判断样本是否为阳性或阴性。通常会比较样本的荧光信号与阳性对照的信号来确定结果。根据实验数据和结果,判断样本是否为流感病毒阳性,以及可能的亚型信息。最后,对比上述两种检验方法的检验阳性率。

1.3 统计学分析

运用SPSS22.0统计学软件,用“($\bar{x} \pm s$)”、 $[n(\%)]$ 表示,“ t 检验”、“ χ^2 检验”, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

检验阳性率:观察组高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表1。主要原因在于荧光RT-PCR检验流感病毒能够检测到极微量的流感病毒RNA,通过特异性引物和探针的设计,确保检测结果的准确性。

表1 检验阳性率 $[n(\%)]$
Table 1 Positive test rate $[n(\%)]$

分组	n	阳性例数	阴性例数	阳性率
观察组	50	47	3	47(94)
对照组	50	39	11	39(78)
χ^2	—	—	—	6.352
P	—	—	—	<0.05

3 讨论与结论

流感病毒是一种RNA病毒,属于正粘病毒科。这种病毒会引起流感,这是一种高度传染性的呼吸道疾病。流感病毒主要

通过空气中的飞沫、人与人的接触或接触被污染物品进行传播。病毒侵入人体后,会引起一系列症状,包括发热、咳嗽、喉咙痛、鼻塞、肌肉疼痛、疲劳等^[5]。流感病毒有多种不同的亚型,其中最常见的是A、B和C型。A型流感病毒在人和多种动物中

都有发现，如禽类、猪、马、海豹等，其变异性较强，常常导致流感的大流行。B 型主要感染人类，而 C 型则引起较轻微的疾病。病毒的基因组由 8 段 RNA 分子组成，这种结构使得病毒有机会在宿主细胞中发生突变和重组，进而增强免疫逃避性，使人们更容易被新型流感病毒感染。国内外研究显示^[6-7]，对于某些人群，特别是年老或患有慢性疾病的人，流感病毒可能会导致严重的并发症，如肺炎和心脏问题，流感对人类健康和社会稳定构成严重威胁。随着科学技术的不断发展，多种流感病毒检验方法应运而生，包括胶体金法、细胞培养法、鸡胚培养法以及荧光 RT-PCR 法^[8]。这些方法各具特色，但在实际应用中，其效果差异显著^[9]。

本文通过对比不同流感病毒检验方法的应用效果，结果显示，观察组检验阳性率高于对照组 ($P < 0.05$)。原因为：首先，荧光 RT-PCR 检验可以在极低的病毒载量下检测出流感病毒的存在，甚至能够在病毒感染初期或患者处于无症状时期，就能准确诊断。这对于及时控制疫情传播、防止疾病恶化具有重要意义。相比之下，胶体金免疫层析技术的灵敏度相对较低，可能在病毒载量较低时无法准确检测。其次，荧光 RT-PCR 检验能够精确识别流感病毒的核酸序列，有效区分不同亚型的流感病毒，甚至能够检测出病毒的变异情况。这为疫情溯源、病毒监测和疫苗研发提供了重要的科学依据。而胶体金免疫层析技术虽然操作简便，但可能在区分不同病毒或亚型方面存在局限性。此外，荧光 RT-PCR 检验还具有高通量的特点。它可以在短时间内处理大量样本，满足大规模筛查和监测的需求。而胶体金免疫层析技术虽然操作简便，但在处理大量样本时可能效率较低。最后，荧光 RT-PCR 检验的结果更加准确可靠。它采用实时荧光信号监测，可以直观反映病毒核酸的扩增情况，有效避免假阳性或假阴性结果的出现。同时，荧光 RT-PCR 技术已经广泛应用于临床实验室，技术成熟，结果稳定可靠。因此，荧光 RT-PCR 检验在流感病毒检测中具有显著的优势特点，适用于临床实验室和科研机构的流感病毒检测和监测工作。然而，荧光 RT-PCR 对实验室环境和仪器要求较高，且操作相对复杂，需要专业人员操作，所以在实际应用中需要根据实际情况进行选择^[10]。

相比胶体金免疫层析技术检验，采用荧光 RT-PCR 检验流感病毒能够获得更高的检验效果。

参考文献

- [1] 王顺东,王开宇,罗小莉,等.探讨分析和比较不同流感病毒检验方法的实际应用效果[J].医药前沿,2018,8(12):49-50.
- [2] 郭文丽.不同流感病毒检验方法的应用效果对比[J].临床医药文献电子杂志,2019,6(49):156,158.
- [3] 秦中华.流感病毒检验及相关方法的研究进展[J].首都食品与医药,2020,27(17):8-9.
- [4] 梁小凤.流感病毒检验及相关方法的研究进展[J].保健文汇,2021,22(19):252-253.
- [5] 胡瑞,张艳亮,张娟.甲、乙型流感病毒检测方法的研究进展[J].系统医学,2023,8(02):178-182,198.
- [6] 宋晓冬,曹国君,朱旻,等.两种分子POCT产品在流感病毒核酸快速诊断中的应用评价[J].国际检验医学杂志,2024,45(02):146-149,154.
- [7] NEIFFER D, HEWLETT J, BUSS P, *et al.* Antibody prevalence to African swine fever virus, *Mycobacterium bovis*, foot-and-mouth disease virus, rift valley fever virus, influenza A virus, and *Brucella* and *Leptospira* spp. in free-ranging warthog (*Phacochoerus africanus*) populations in South Africa [J]. *J Wildlife Dis*, 2021, 57(01): 60-70.
- [8] 朱旻,曹国君,许育,等.甲、乙型流感病毒两种方法检测结果的一致性分析[J].国际检验医学杂志,2023,44(04):425-429.
- [9] 刘望阳,杨修登.未成年发热患者流感病毒感染的风险预测模型的建立与验证[J].临床检验杂志,2023,41(09):710-714.
- [10] 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.

作者简介



杨凯睿，硕士，主管检验师，研究方向：病毒检验。