

6 种不同实时荧光定量 PCR 仪对新型冠状病毒核酸检测性能的影响探讨

陈家颖¹ 耿帜¹ 余丹¹ 陈凤花¹

[摘要] **目的:**探讨 6 种不同型号的实时荧光定量 PCR 仪(分别为 CFX96 DeepWell、GENTIER 96E、Cobas z480、LightCycler 480 II、ABI 7500、QuantStudio 5,依次标为 A、B、C、D、E、F)对新型冠状病毒(2019-nCoV)核酸检测性能的影响,以便选择分析性能佳的检测系统用于临床检测。**方法:**应用 2019-nCoV 阴性混合鼻咽拭子样本将商品化 2019-nCoV RNA 液体室内质控品(假病毒)先 10 倍稀释接着 2.5 倍梯度稀释至 1:10、1:25、1:62.5、1:156.25、1:390.63、1:976.56、1:2441.41 和 1:6103.52 八个不同浓度,连续 3 d 内每天每个浓度做 5 个复孔,共计 15 个复孔,磁珠法提取核酸后应用同一种 2019-nCoV 扩增试剂在 6 种不同实时荧光定量 PCR 仪上进行扩增以评价其检出限;将 1:10 和 1:25 两个稀释度的质控品样本,连续 5 d 内每天每个浓度做 5 个复孔,共计 25 孔,磁珠法提取核酸后应用同一种 2019-nCoV 扩增试剂在 6 种不同实时荧光定量 PCR 仪上进行扩增以评价靶基因循环阈值(Ct)的重复性和实验室内精密度的。**结果:**①6 种实时荧光定量 PCR 仪对 1:10、1:25 和 1:62.5 三个稀释度的质控品样本中 *ORF1ab* 和 *N* 基因的检出率均为 100.0%;而对 1:156.25 稀释样本中 *ORF1ab* 和 *N* 基因的检出率:仪器 A 为 100.0% 和 100.0%,B 为 66.7% 和 86.7%,C 为 100.0% 和 100.0%,D 为 93.3% 和 93.3%,E 为 93.3% 和 93.3%,F 为 100.0% 和 100.0%;对 1:390.63 稀释样本中 *ORF1ab* 和 *N* 基因的检出率:仪器 A 为 60.0% 和 86.7%,B 为 60.0% 和 80.0%,C 为 66.7% 和 73.3%,D 为 73.3% 和 93.3%,E 为 66.7% 和 53.3%,F 为 73.3% 和 93.3%;1:976.56、1:2441.41 和 1:6103.52 三个稀释度的质控品样本中靶基因的检出率分别为 4.00%~60.00%、6.67%~20.00% 和 0~20.00%。②6 种不同实时荧光定量 PCR 仪对 1:10 和 1:25 两个稀释度的质控品样本中 Ct 的重复性和实验室内不精密度均 < 5.00%。**结论:**不同的实时荧光定量 PCR 仪对 2019-nCoV 核酸检测性能存在影响,该 2019-nCoV 扩增试剂在仪器 C、F 上的分析灵敏度优于另外 4 种实时荧光定量 PCR 仪。

[关键词] 新型冠状病毒;实时荧光定量 PCR 仪;检测性能;检出限;精密度

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2023.10.002

[中图分类号] R446.1 **[文献标志码]** A

Effect of six different types of real-time fluorescent quantitative PCR instruments on analytic performance of 2019-nCoV nucleic acid detection

CHEN Jiaying GENG Zhi SHE Dan CHEN Fenghua

(Department of Clinical Laboratory, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430022, China)

Corresponding author: CHEN Fenghua, E-mail: chfh100@126.com

Abstract Objective: To assess the effect of six different types of real-time fluorescent quantitative PCR instruments including Biorad CFX96 Deep Well, TianLong GENTIER 96E, Roche Cobas z480, Roche LightCycler 480 II, ABI 7500 and QuantStudio 5 (labeled as A, B, C, D, E and F) on analytic performance of 2019-nCoV nucleic acid detection, and select the appropriate detection system with good analytic performance for clinical laboratory. **Methods:** The commercial 2019-nCoV pseudovirus for internal quality control (IQC) was serially diluted with the clinical pooled 2019-nCoV negative nasopharyngeal swab specimens to eight dilutions including 1:10, 1:25, 1:62.5, 1:156.25, 1:390.63, 1:976.56, 1:2441.41 and 1:6103.52, which were extracted and tested five times per day in a single run for 3 consecutive days on six different types of real-time fluorescent quantitative PCR instruments using Sansure 2019-nCoV nucleic acid detection kit. The positive rate of each dilution was counted and the limit of detection (LoD) was evaluated by probit analysis. The two dilutions including 1:10 and 1:25 were extracted and tested five times per day in a single run for 5 consecutive days on six different types of real-time fluorescent quantitative PCR instruments using Sansure 2019-nCoV nucleic acid detection kit, and the repeatability and within-laboratory precision of the cycles threshold (Ct) of *ORF1ab* and *N* genes of 2019-nCoV were calculated

¹ 华中科技大学同济医学院附属协和医院检验科(武汉,430022)

通信作者:陈凤花,E-mail:chfh100@126.com

following EP15-A3. **Results:** ① The detection rates of three dilutions including 1 : 10, 1 : 25 and 1 : 62.5 tested by six different types of real-time fluorescent quantitative PCR instruments were all 100%. The positive rates of *ORF1ab* and *Ngenes* of 2019-nCoV in the 1 : 156.25 diluted sample tested by six different types of real-time fluorescent quantitative PCR instruments were 100.0% and 100.0% for A, 66.7% and 86.7% for B, 100.0% and 100.0% for C, 93.3% and 93.3% for D, 93.3% and 93.3% for E, and 100.0% and 100.0% for F, respectively. The positive rates of *ORF1ab* and *Ngenes* of 2019-nCoV in the 1 : 390.63 diluted sample tested by six different types of real-time fluorescent quantitative PCR instruments were 60.0% and 86.7% for A, 60.0% and 80.0% for B, 66.7% and 73.3% for C, 73.3% and 93.3% for D, 66.7% and 53.3% for E, and 73.3% and 93.3% for F, respectively. The detection rates of target genes in three dilutions including 1 : 976.56, 1 : 2 441.41 and 1 : 6 103.52 were 4.00%-60.00%, 6.67%-20.00% and 0-20.00%, respectively. ② The repeatability and within-laboratory precision(%CV) of the cycles threshold(Ct) of the target genes tested by six different types of real-time fluorescent quantitative PCR instruments were both less than 5%. **Conclusion:** Different real-time fluorescent quantitative PCR instruments had effect on the analytic performance of 2019-nCoV nucleic acid detection, and the analytic sensitivity of the detection system C or F was better than that of the other four types of real-time fluorescent quantitative PCR instruments.

Key words 2019-nCoV; real-time fluorescent quantitative PCR instruments; analytic performance; limit of detection; precision

随着分子生物学的发展,实时荧光定量 PCR 方法在临床中得到大量的应用,具有灵敏度高、特异度高、检测速度快、可以准确定量等优势。目前临床实验室多应用实时荧光定量 PCR 方法检测病原体核酸,检测过程包括样本采集、核酸提取和实时荧光定量 PCR 扩增等,所用的检测系统由提取试剂、全自动核酸提取仪、扩增试剂、实时荧光定量 PCR 仪等组成。而检测同一种病原体核酸来自不同厂家的商品化实时荧光 PCR 试剂盒中的引物、探针上标记的染料、校准品、配套仪器等不同,这些都可能影响检测结果^[1]。实时荧光定量 PCR 仪是核酸检测所需的主要仪器之一,包括温度控制模块、光源和荧光检测模块等,不同类型的实时荧光定量 PCR 仪的这些模块可能稍有差异,是否影响其检测性能有待进一步验证。

新型冠状病毒肺炎(COVID-19)自爆发以来,对全球的公共卫生事业造成了严重威胁,目前流行的奥密克戎毒株有更强的免疫逃逸和传播能力,虽然其对于肺部的致病力有所下降,但是对于老年人及伴有严重基础疾病等免疫力低下的人群仍有较高的致死率和重症率,因此新型冠状病毒(2019-nCoV)核酸检测作为确诊 COVID-19 患者的首要标准,快速、准确的 2019-nCoV 核酸检测具有重要的临床意义,有助于患者早期诊断、早期干预、避免发展为重症等^[2]。本研究将 2019-nCoV 核酸检测系统中的提取试剂、全自动核酸提取仪和扩增试剂以及操作者等因素均固定,应用 2019-nCoV 阴性混合鼻咽拭子样本将商品化 2019-nCoV RNA 液体室内质控品(假病毒)梯度稀释后进行核酸提取,在 6 种不同型号的实时荧光定量 PCR 仪上进行平行检测,以探讨不同实时荧光定量 PCR 仪对 2019-nCoV 核酸检测性能的影响。

1 材料与方法

1.1 样本

应用 2019-nCoV 阴性混合鼻咽拭子样本将 2019-nCoV RNA 液体室内质控品(广州邦德盛生物科技有限公司)先 10 倍接着 2.5 倍梯度稀释至 1 : 10、1 : 25、1 : 62.5、1 : 156.25、1 : 390.63、1 : 976.56、1 : 2 441.41 和 1 : 6 103.52 八个不同浓度。不同浓度的质控品稀释样本分装后于 -20℃ 保存。

1.2 仪器与试剂

6 种不同实时荧光定量 PCR 仪分别为:A: CFX96 DeepWell(伯乐生命科学公司);B: 天隆 GENTIER 96E(西安天隆科技公司);C: Cobas z480(罗氏公司);D: LightCycler 480 II(罗氏公司);E: ABI 7500(美国应用生物系统公司);F: QuantStudio 5(赛默飞世尔科技公司)。Ex-DNA/RNA 4.0 病毒核酸提取试剂盒(磁珠法,苏苏械备 20151030)及其配套全自动核酸提取仪 GeneRotex96 均来自苏州天隆生物科技有限公司;2019-nCoV 核酸检测试剂盒(荧光 PCR 法)(圣湘生物科技有限公司)。

1.3 核酸提取

应用 2019-nCoV 阴性混合鼻咽拭子样本将商品化 2019-nCoV RNA 液体室内质控品梯度稀释成不同浓度的样本,取 200 μL 应用 Ex-DNA/RNA 4.0 病毒核酸提取试剂盒在 GeneRotex96 上提取核酸,具体步骤严格按照试剂说明书进行。

1.4 核酸扩增

根据 2019-nCoV 核酸检测试剂盒说明书按照比例配制 PCR 混合液(包括 PCR 反应液 26 μL /人份和 PCR 酶混合液 4 μL /人份),每人份反应体系则为 30 μL PCR 混合液和 20 μL 核酸模板,分别在

6 种不同实时荧光定量 PCR 仪上同时进行扩增,反应程序设置见表 1,选择 FAM 通道检测 *ORF1ab* 基因、ROX/VIC 通道检测 *N* 基因、HEX 通道检测内源性内参。

表 1 实时荧光定量 PCR 循环参数设定

步骤	名称	温度/°C	时间	循环数
1	逆转录	50	30 min	1
2	cDNA 预变性	95	1 min	1
3	变性	95	15 s	45
	退火、延伸及荧光信号采集	60	30 s	
4	仪器冷却	25	10 s	1

1.5 结果判读

每批次均设有阴性质控和弱阳性质控,阴、阳性质控品均在控制进一步进行样本结果分析。FAM 或 ROX/VIC 通道检测到典型的 S 型曲线,且循环阈值(cycles threshold, Ct) ≤ 40.0 的样本,判读为 2019-nCoV RNA 阳性。

1.6 分析灵敏度评价

应用 8 个不同浓度的质控品稀释样本,连续 3 d 内每天每个浓度做 5 个复孔,共计 15 孔,磁珠法提取核酸后应用 2019-nCoV 核酸扩增试剂同时在 6 种实时荧光定量 PCR 仪上扩增以评价不同实时荧光定量 PCR 仪对检出限(limit of detection, LoD)的影响。

1.7 精密度评价

应用 2019-nCoV 阴性混合鼻咽拭子样本将 2019-nCoV RNA 液体室内质控品梯度稀释至 1:10、1:25 两个浓度,按照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)EP15-A3,连续 5 d 内每天每个浓度做 5 个复孔,共计 25 孔,磁珠法提取核酸后应用 2019-nCoV 核酸扩增试剂同时在 6 种实时荧光定量 PCR 仪上进行扩增,根据靶基因 *ORF1ab* 和 *N* 的 Ct 值计算重复性和实验室内不精密度,并对 Ct 值的均值和标准差进行比较。

1.8 统计学分析

应用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。计数资料以例(%)表示;LoD 采用 Probit 分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。柱形图采用 Graph-Pad 进行绘制。

2 结果

2.1 6 种不同实时荧光定量 PCR 仪对 2019-nCoV 核酸检测 LoD 的影响

6 种不同实时荧光定量 PCR 仪检测八个不同稀释度的质控品样本中 2019-nCoV *ORF1ab* 和 *N* 基因的结果见表 2,随着样本中 2019-nCoV 假病毒浓度的降低,靶基因的检出率也逐渐降低,而针对

同一浓度样本,6 种不同实时荧光定量 PCR 仪的检出率存在差异。对于 1:10、1:25 和 1:62.5 三个稀释度样本,6 种不同实时荧光定量 PCR 仪对于 *ORF1ab* 和 *N* 基因的检出率均为 100.0%。对于 1:156.25 稀释样本中 *ORF1ab* 和 *N* 基因的检出率:仪器 A 为 100.0% 和 100.0%,B 为 66.7% 和 86.7%,C 为 100.0% 和 100.0%,D 为 93.3% 和 93.3%,E 为 93.3% 和 93.3%,F 为 100.0% 和 100.0%;对 1:390.63 稀释样本中 *ORF1ab* 和 *N* 基因的检出率:仪器 A 为 60.0% 和 86.7%,B 为 60.0% 和 80.0%,C 为 66.7% 和 73.3%,D 为 73.3% 和 93.3%,E 为 66.7% 和 53.3%,F 为 73.3% 和 93.3%。6 种不同实时荧光定量 PCR 仪对 1:976.56、1:2441.41 和 1:6103.52 稀释样本中靶基因的检出率分别为 4.00%~60.00%、6.67%~20.00%、0%~20.00%。

根据 Probit 分析,分别由 6 种不同实时荧光定量 PCR 仪组成的检测系统检测 *ORF1ab* 和 *N* 基因的 95% 检出的相对 LoD 见表 3,仪器 C 和 F 检测 *ORF1ab* 基因的相对 LoD 分别为 1:193.64 (95%CI 1:317.23~1:78.05) 和 1:217.13 (95%CI 1:339.08~1:92.45),优于其他 4 种不同实时荧光定量 PCR 仪所组成的检测系统。

2.2 6 种不同实时荧光定量 PCR 仪对 2019-nCoV 核酸检测精密度的影响

应用同一种磁珠法核酸提取试剂及其配套提取仪、同一种 2019-nCoV 核酸扩增试剂等分别与 6 种不同型号的实时荧光定量 PCR 仪组成的系统检测 1:10 和 1:25 两个不同稀释度的质控品样本中 2019-nCoV 核酸,根据 *ORF1ab* 和 *N* 两靶基因的 Ct 值计算重复性和实验室内不精密度,结果见表 4。对于 1:10 稀释的质控品样本,6 种实时荧光定量 PCR 仪检测 *ORF1ab* 和 *N* 基因的重复性不精密度分别为 0.81%~1.38% 和 0.64%~0.92%,实验室内不精密度分别为 0.81%~1.96% 和 0.82%~1.21%。对于 1:25 的质控品稀释样本,检测 *ORF1ab* 基因和 *N* 基因的重复性不精密度分别为 0.91%~1.64% 和 0.78%~1.28%,实验室内不精密度分别为 0.98%~2.56% 和 0.99%~1.48%。6 种实时荧光定量 PCR 仪所在的系统检测 1:10 和 1:25 两个稀释度质控品样本中靶基因 Ct 值的重复性和实验室内不精密度均 ≤ 5%。

6 种实时荧光定量 PCR 仪所在的系统检测 1:10 和 1:25 两个稀释度的质控品样本中 *ORF1ab* 和 *N* 基因的 Ct 值见图 1 和图 2,质控品稀释样本中假病毒浓度越低,靶基因的 Ct 均值越大。

表 2 6 种不同实时荧光定量 PCR 仪对不同稀释度的质控品样本中 2019-nCoV 靶基因检出率的影响 例(%)

仪器	不同稀释度的质控品样本							
	1 : 10	1 : 25	1 : 62.5	1 : 156.25	1 : 390.63	1 : 976.56	1 : 2 441.41	1 : 6 103.52
A								
<i>ORF1ab</i>	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	9(60.0)	4(26.7)	3(20.0)	3(20.0)
N	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	13(86.7)	10(66.7)	5(33.3)	0
B								
<i>ORF1ab</i>	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	10(66.7)	9(60.0)	2(13.3)	3(20.0)	1(6.67)
N	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	13(86.7)	12(80.0)	10(66.7)	6(40.0)	2(13.3)
C								
<i>ORF1ab</i>	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	10(66.7)	9(60.0)	2(13.3)	0
N	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	11(73.3)	10(66.7)	2(13.3)	1(6.67)
D								
<i>ORF1ab</i>	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	14(93.3)	11(73.3)	6(40.0)	1(6.67)	1(6.67)
N	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	14(93.3)	14(93.3)	11(73.3)	6(40.0)	1(6.67)
E								
<i>ORF1ab</i>	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	14(93.3)	10(66.7)	5(33.3)	2(13.3)	0
N	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	14(93.3)	8(53.3)	5(33.3)	3(20.0)	1(6.67)
F								
<i>ORF1ab</i>	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	11(73.3)	7(46.7)	1(6.67)	0
N	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	15(100.0)	14(93.3)	9(60.0)	4(26.7)	0

表 3 6 种不同实时荧光定量 PCR 仪检测 2019-nCoV 核酸的相对 LoD 95%CI

仪器	Probit 分析算得的相对 LoD	
	<i>ORF1ab</i> 基因	N 基因
A	1 : 90.79(1 : 170.87~1 : 30.05)	1 : 312.36(1 : 505.26~1 : 122.91)
B	1 : 48.36(1 : 91.56~1 : 16.52)	1 : 121.05(1 : 239.07~1 : 34.14)
C	1 : 193.64(1 : 317.23~1 : 78.05)	1 : 202.57(1 : 343.28~1 : 76.49)
D	1 : 133.50(1 : 228.08~1 : 51.45)	1 : 256.45(1 : 447.14~1 : 89.92)
E	1 : 132.34(1 : 220.50~1 : 397.36)	1 : 88.53(1 : 162.59~1 : 30.53)
F	1 : 217.13(1 : 339.08~1 : 92.45)	1 : 360.52(1 : 562.02~1 : 165.95)

表 4 6 种不同实时荧光定量 PCR 仪对 2019-nCoV 检测精密度的影响

仪器	重复性精密度				实验室内精密度			
	1 : 10		1 : 25		1 : 10		1 : 25	
	SD	CV/%	SD	CV/%	SD	CV/%	SD	CV/%
A								
<i>ORF1ab</i>	0.26	0.81	0.55	1.64	0.26	0.81	0.55	1.64
N	0.24	0.75	0.43	1.28	0.27	0.82	0.50	1.48
B								
<i>ORF1ab</i>	0.29	0.91	0.33	0.98	0.29	0.91	0.33	0.98
N	0.21	0.64	0.40	1.19	0.33	1.01	0.48	1.42
C								
<i>ORF1ab</i>	0.30	0.94	0.36	1.07	0.64	1.96	0.88	2.56
N	0.31	0.92	0.31	0.89	0.34	1.01	0.42	1.19
D								
<i>ORF1ab</i>	0.28	0.85	0.31	0.91	0.37	1.13	0.75	2.21
N	0.28	0.82	0.38	1.09	0.33	0.98	0.38	1.09
E								
<i>ORF1ab</i>	0.45	1.38	0.35	1.02	0.47	1.43	0.40	1.18
N	0.27	0.84	0.34	0.99	0.27	0.84	0.34	0.99
F								
<i>ORF1ab</i>	0.28	0.85	0.49	1.41	0.37	1.13	0.59	1.70
N	0.26	0.79	0.27	0.78	0.40	1.21	0.35	1.01

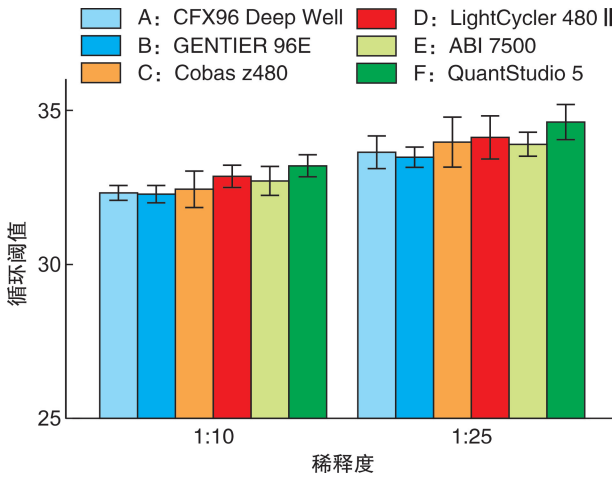


图 1 6 种实时荧光定量 PCR 仪扩增 1 : 10、1 : 25 两个稀释度质控品中 ORF1ab 基因的 Ct 值

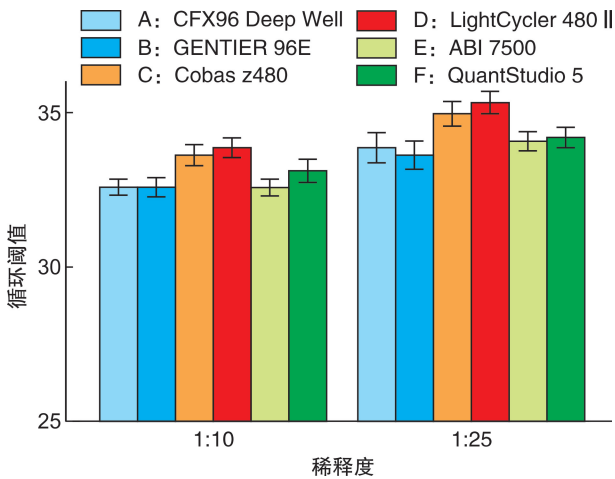


图 2 6 种实时荧光定量 PCR 仪扩增 1 : 10、1 : 25 两个稀释度质控品中 N 基因的 Ct 值

3 讨论

临床实验室在开展临床标本中 2019-nCoV 核酸检测前应对由提取试剂、提取仪、扩增试剂、扩增仪等组成的检测系统进行性能验证[3]。本研究由一位熟练的操作者用同批样本在同一种提取试剂与配套核酸提取仪、同一种扩增试剂分别与 6 台不同型号的实时荧光定量 PCR 仪等组成的检测系统上进行平行检测 2019-nCoV 核酸,评价不同检测系统的精密度和检出限,探讨不同的实时荧光定量 PCR 仪对 2019-nCoV 核酸检测性能的影响。

检出限是病原体核酸定性检测系统的重要性能之一。研究发现美国 CDC 推荐的 2019-nCoV 核酸检测方法的 LoD 为 85~499 copies/mL,取决于所用的核酸提取方法和实时荧光定量 PCR 仪[4]。根据 Probit 分析,本研究中 6 种不同型号的实时荧光定量 PCR 仪 A、B、C、D、E 和 F 的 95% 检出 ORF1ab 基因的相对 LoD 分别为 1 : 90.79、1 : 48.36、1 : 193.64、1 : 133.50、1 : 132.34、

1 : 217.13,其中 C 和 F 的相对 LoD 明显低于另外 4 种 PCR 仪,表明本研究中所用的核酸提取试剂及配套提取仪、扩增试剂分别与 C 或 F 组成的检测系统的分析灵敏度更好,对于低病毒载量的临床样本在这 2 套系统上进行检测,漏检的概率大大降低。

精密性是检测系统的重要分析性能之一,影响精密性的因素包括操作者、核酸提取试剂及提取仪、扩增试剂及其所用的实时荧光定量 PCR 仪、检测程序、试剂批次、实验室温度、湿度等。本研究中将检测系统中的其他因素固定,分别在 6 种不同实时荧光定量 PCR 仪上扩增 2019-nCoV 核酸,这些不同的检测系统检测靶基因 Ct 的重复性和实验室内不精密度均 < 5%,提示该扩增试剂与 6 种不同实时荧光定量 PCR 仪匹配均具有非常好的精密性。

理论上讲,核酸检测过程中的任一环节变化都可能影响检测系统的分析性能,包括试剂批号及配制、核酸提取试剂和提取仪、操作人员的水平、实时荧光定量 PCR 仪、实验室环境等,本研究通过固定检测系统中的其他因素,对 6 种不同型号的实时荧光定量 PCR 仪分别所组成的检测系统进行性能评价,发现 6 种实时荧光定量 PCR 仪的检测结果均能达到临床应用要求,但是其性能评价的结果存在差异,6 种不同的实时荧光定量 PCR 仪对 2019-nCoV 核酸检测性能存在影响,该 2019-nCoV 扩增试剂在仪器 C、F 上的分析灵敏度优于另外 4 种实时荧光定量 PCR 仪(即 A、B、D 和 E)。我们前期研究发现固定检测系统的其他因素后不同类型的实时荧光定量 PCR 仪对临床基因扩增检测仍有显著影响:两款实时荧光定量 PCR 仪 Mx3000P 和 Cobas z480 同时检测临床外周血样本中 HLA-B27 基因,Mx3000P 的漏检率高达 53.85%(35/65)[5];罗氏公司的两款实时荧光定量 PCR 仪 Cobas z480 和 LightCycler 480 II 同时定量检测临床外周血标本中 EB 病毒 DNA,Cobas z480 的检测结果平均比 LightCycler 480 II 的高 0.216 log₁₀ copies/mL[6]。因此,在实际工作中,对于自建的检测系统,临床基因扩增实验室应对所有在用的检测系统进行全面的性能评价,同时应定期对实时荧光定量 PCR 仪进行维护、保养和校准,以保证其检测性能。注意每台实时荧光定量 PCR 仪的使用频率不同,维护校准周期可能不同。在检测低浓度或可疑样本时,可以根据多种自建系统的性能评价结果选择分析性能更优异的检测系统进行检测,减少漏检,以获得更可靠的检测结果。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

(下转第 706 页)

- [8] Tripolt NJ, Kolesnik E, Pferschy PN, et al. Impact of EMPagliflozin on cardiac function and biomarkers of heart failure in patients with acute MYocardial infarction-The EMMY trial[J]. *Am Heart J*, 2020, 221: 39-47.
- [9] Robich MP, Iribarne A, Leavitt BJ, et al. Intensity of glycemic control affects long-term survival after coronary artery bypass graft surgery [J]. *Ann Thorac Surg*, 2019, 107(2): 477-484.
- [10] Reaven PD, Emanuele NV, Wiitala WL, et al. Intensive glucose control in patients with type 2 diabetes-15-year follow-up[J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(23): 2215-2224.
- [11] Nauck MA, Meier JJ. MANAGEMENT OF ENDOCRINE DISEASE: are all GLP-1 agonists equal in the treatment of type 2 diabetes? [J]. *Eur J Endocrinol*, 2019, 181(6): R211-R234.
- [12] Husain M, Birkenfeld AL, Donsmark M, et al. Oral semaglutide and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes[J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(9): 841-851.
- [13] Spence JD, Viscoli CM, Inzucchi SE, et al. Pioglitazone therapy in patients with stroke and prediabetes: a post hoc analysis of the IRIS randomized clinical trial[J]. *JAMA Neurol*, 2019, 76(5): 526-535.
- [14] Sheng ZX, Zhou P, Liu C, et al. Relationships of coronary culprit-plaque characteristics with duration of diabetes mellitus in acute myocardial infarction: an intravascular optical coherence tomography study[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2019, 18(1): 136.
- [15] Rawshani A, Rawshani A, Sattar N, et al. Relative prognostic importance and optimal levels of risk factors for mortality and cardiovascular outcomes in type 1 diabetes mellitus [J]. *Circulation*, 2019, 139(16): 1900-1912.
- [16] Qin JY, Tian JL, Liu GH, et al. Association between 1p13 polymorphisms and peripheral arterial disease in a Chinese population with diabetes [J]. *J Diabetes Investig*, 2018, 9(5): 1189-1195.
- [17] Rospleszcz S, Schafnitzer A, Koenig W, et al. Association of glycemic status and segmental left ventricular wall thickness in subjects without prior cardiovascular disease: a cross-sectional study [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2018, 18(1): 162.
- [18] Huang CJ, Wang WT, Sung SH, et al. Blood glucose reduction by diabetic drugs with minimal hypoglycaemia risk for cardiovascular outcomes: evidence from meta-regression analysis of randomized controlled trials [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2018, 20(9): 2131-2139.
- [19] Goncalves E, Bell DSH. Combination treatment of SGLT2 inhibitors and GLP-1 receptor agonists: symbiotic effects on metabolism and cardiorenal risk [J]. *Diabetes Ther*, 2018, 9(3): 919-926.
- [20] Raghavan S, Liu WG, Ho PM, et al. Coronary artery disease severity modifies associations between glycaemic control and both mortality and myocardial infarction [J]. *J Diabetes Complications*, 2018, 32(5): 480-487.

(收稿日期: 2023-02-23)

(上接第 701 页)

参考文献

- [1] Pavšič J, Devonshire AS, Parkes H, et al. Standardization of nucleic acid tests for clinical measurements of bacteria and viruses [J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(7): 2008-2014.
- [2] 国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制综合组. 新型冠状病毒肺炎防控方案(第 9 版) [EB/OL]. (2022-06-28) [2022-08-10]. http://www.gov.cn/xinwen/2022-06/28/content_5698168.htm.
- [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. 医疗机构新型冠状病毒核酸检测工作手册(试行第 2 版) [EB/OL]. (2020-12-28) [2022-08-10]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7659/202012/b89bcd0813da41788688eb14787b3c72.shtml>.
- [4] Fung B, Gopez A, Servellita V, et al. Direct comparison of SARS-CoV-2 analytical limits of detection across seven molecular assays [J]. *J Clin Microbiol*, 2020, 58(9): e01535-20.
- [5] 耿帆, 周志明, 肖圣达, 等. 两款荧光定量 PCR 仪检测 HLA-B27 基因结果比对分析 [J]. *临床血液学杂志*, 2019, 32(8): 593-596.
- [6] 徐远东, 耿帆, 周志明, 等. 不同实时荧光定量 PCR 仪对外周血中 EB 病毒 DNA 检测结果的影响 [J]. *临床血液学杂志*, 2022, 35(2): 87-89, 95.

(收稿日期: 2023-04-13)