

Discussion on Three Detection Methods of 2019-nCoV

Lei Zhang

State Key Laboratory of Virology, Public Technical Service Center, Wuhan Institute of Virology, CAS, Wuhan, Hubei, 430071, China

Abstract

The outbreak of pneumonia caused by the new coronavirus (2019-nCoV) has entered a critical period in China. Relevant national authorities report daily on confirmed and suspected cases, and initiate a primary response to major public health emergencies. The virus is highly contagious and its clinical manifestations are mainly new coronavirus pneumonia (NCP). At present, the detection methods for this virus are mainly nucleic acid detection and CT detection. In special cases, high-throughput sequencing detection can be used. However, each method has certain limitations, and it is necessary to select an appropriate detection method according to the progress of the patient's condition.

Keywords

2019-nCoV; nucleic acid detection; CT detection; high-throughput detection

2019 新型冠状病毒的三种检测方法探讨

张磊

中国科学院武汉病毒研究所公共技术服务中心, 病毒学国家重点实验室, 中国·湖北 武汉 430071

摘要

新型冠状病毒(2019-nCoV)感染的肺炎突发疫情在中国已进入关键时期, 国家相关部门每日通报确诊和疑似病例, 启动重大突发公共卫生事件一级响应。该病毒具有极高的传染性, 临床主要表现为新型冠状病毒肺炎(NCP)。目前, 对该病毒的检测方法主要为核酸检测、CT检测, 特殊情况下可采用高通量测序检测。但每种方法均有一定的局限性, 需根据病人的病情进展选择合适的检测方法。

关键词

新型冠状病毒; 核酸检测; CT检测; 高通量检测

1 引言

2019年12月, 在中国湖北省武汉市内首次发现“2019新型冠状病毒”, 随着春运人口的大迁移, 该病毒在短时间内迅速蔓延。2020年1月20日, 中国将该病毒纳入乙类传染病, 按照甲类传染病管理。临床上以新型冠状病毒肺炎为主要临床表现, 控制传染源、切断传播途径, 保护易感人群是感染防控的关键环节。如何准确、快速检出感染者, 以进行有效隔离和治疗, 是防控至关重要的一步。

对病毒性肺炎来讲, 其致病原有多种可能, 如流感病毒、呼吸道合胞病毒、腺病毒、冠状病毒等^[1], 临床上, 多以胸部CT检测为主要的筛检和诊断手段。病毒性感染导致的肺部病变征象具有一定的相似之处, 这就增加了仅从CT结果确定致病原的难度。所以, 临床符合病毒感染CT表现的患者在诊

断新型冠状病毒肺炎时必须紧密结合其流行病学史和实验室的核酸检查。

2 检测方案概述

2.1 核酸检测

核酸检测需经过核酸提取和PCR反应两大步, 检测过程对检测实验室及检测人员均有较高的要求。核酸提取工作是整个检测过程中风险最大的一步, 必须在P2级别及以上的实验室里进行。同时, 工作人员必须做好个人防护, 穿防护服, 戴防护面罩, 在生物安全柜里规范操作。核酸提取完后使用检测试剂盒进行PCR反应, 反应完后, 检测人员需对反应的结果进行判读, 确定阴、阳性。一次可批量检测几十个样品不等, 全流程需5-6个小时^[2]。

2. 2 胸部 CT 检测

胸部 CT 检查技术是通过 X 线计算机断层摄影 (CT) 对胸部和肺部进行检查的一种方法。常规胸部 CT 具有较高的密度分辨率, 可对图像进行量化评估。检测时, 病人呈仰卧位, 身体置于床面中间, 两臂上举抱头。CT 机自胸腔入口到肺下界膈面。一次检测一个病人, 整个过程只需几分钟。医生根据扫描结果对病情进行初步诊断。

2. 3 高通量测序法检测

高通量测序技术越来越多地被运用于未知病原的基因组检测, 该技术无需单独对病原分离培养, 通过核酸提取纯化后即可直接进行高通量测序。通量高, 速度快, 可以无偏倚的测出样品中所含有的所有潜在的病原体, 因此在敏感性和准确性方面较传统的检测方法具有不可比拟的优势。

3 三种检测方法的局限性比较

3. 1 核酸检测

对于目前中国大部分医院, 尤其是地级县市的医院, 尚不具备完备的检测条件^[1]。没有 P2 级别的实验室, 更没有专业的病原微生物学检测人员, 样品只能送往指定的检测室方可检测, 导致具备检测能力的实验室样品积压, 无法快速获取检测结果, 导致病情延误, 对疫情的防控有较大的影响。

3. 2 CT 检测

CT 检测一般在医院进行, 首先需要多台 CT 检测设备, 每位病人检测完后, 需对检测环境进行规范的消毒处理, 以免病人交叉感染。对 CT 检测结果的判断, 难以识别是否是新冠病毒感染还是其他病毒感染, 对医生的诊断能力提出很高的要求。

3. 3 NGS 检测

该检测方法价格昂贵, 对实验操作人员的操作能力和数据分析人员的分析能力都提出更高的要求。其一, 当样本核酸浓度较低或测序深度不足时, 无法对潜在的病原达到有效的覆盖。其二, 样本中含大量非目的病原核酸, 对目的核酸的检测和分析都是极大的干扰。其三, 用于基因组数据对比分析需要极专业的生物信息分析人员, 以及强大的分析用硬、软件设备和完善的参考数据库, 这些条件对于一般的检测实验室而言都不能得到很好的满足。

3. 4 对特殊病人, 可考虑两种或三种检测方法同时使用

根据目前临床数据显示, 部分病人 CT 检测有明显的肺部病变症状, 但是经过几次核酸的病原学检测都为阴性。对这类病人要尤其注意, 因为核酸检测的结果受到两个方面的因素的影响, 一是检测试剂盒, 二是样品。对于检测试剂盒, 不同生产厂家提供的试剂盒, 其准确率、特异性、灵敏度等是有一定的差异的。建议在使用之前, 对多种试剂盒进行平行比较, 最终选用最优的试剂盒。对于样品, 其采样方法、样品保存、运输、存放时间、核酸提取规范操作等都可能影响最终的检测结果。如采样可使用咽拭子擦拭咽部; 或通过肺部灌洗, 获取灌洗液; 或静脉抽血获取血样; 或采集病人痰液、粪便等。以上几种不同的样品, 其采样方法、保存运输等都有严格的要求和规定。另外, 由于新冠病毒是单链 RNA 病毒, RNA 极易降解。所以, 样品的核酸提取过程, 对实验室环境、设施及试剂耗材等也都相应的要求。对于以上这些方面, 如果不能严格按照规定进行操作, 则都有可能影响最终的结果, 导致假阴性的产生。对于使用 CT 和核酸的病原学检测都不能确诊的患者, 可考虑使用高通量测序, 对采集的样品进行宏基因组测序和分析, 以最终确定其致病原因。

4 讨论

自 2002 年 SARS 暴发流行以来, 根据 WHO 应对新发传染病的各类指南, 结合中国国情, 政府及有关部门现已制定出一系列预防和控制新发传染病的策略和规划, 以有效应对突出和肆虐人类的新发传染病。采用快速、准确、灵敏、操作简便的现场检测技术, 对病原体实行特异性强、敏感度高、操作简便的实时检测, 是防控疫情蔓延至关重要的一个环节。

参考文献

- [1] 陈炜. 4 例新型冠状病毒感染病例咽拭子与痰标本病毒核酸检测的比较 [N]. 中国人兽共患病学报, 2020(02):29-32.
- [2] 张曦. 新型冠状病毒 RNA 核酸的检测方法研究及应用 [J]. 上海预防医学杂志, 2005(03):147.
- [3] 施绍瑞. 新型冠状病毒肺炎病例多种生物样本的病毒核酸检测结果 [J]. 华西医学, 2020(02):347-348.