

新型冠状病毒快速与普通核酸检测系统的 临床组合应用研究^{*}

朱艳秋 张攀 褚明亮 王莎 胡棉

(贵州中医药大学第一附属医院检验科, 贵州 贵阳 550001)

【摘要】 目的 将新型冠状病毒(COVID-19)的快速与普通核酸检测系统不同组合单元混搭应用,分析新冠核酸检测的最优化组合应用。**方法** 将新冠核酸液体质控品稀释到浓度为 200 cp/mL、500 cp/mL、1000 cp/mL 和 2000 cp/mL。将普通检测系统(核酸提取法、普通扩增试剂和普通荧光定量 PCR 仪)和快速检测系统(直接裂解法、快速扩增试剂和快速荧光定量 PCR 仪)中的不同单元,进行混搭组合。通过扩增以上不同浓度的稀释质控品,验证不同混搭组合应用的检测效果。**结果** 全部使用普通检测系统组合单元,其敏感性较好但检测时间较慢(134 min)。全部使用快速检测系统组合单元,其敏感性较差但检测时间较快(56 min),其中直接裂解法是造成敏感性较差的主要原因。进一步的研究发现,使用普通检测系统中的普通核酸提取法,搭配快速检测系统中的快速扩增试剂和快速荧光定量 PCR 仪,该混搭组合系统敏感性较好,且时间较快(59 min)。**结论** 在临床实践中,不建议使用直接裂解法提取核酸,但可使用快速扩增试剂和快速荧光定量 PCR 仪提高检测效率,缩短检测时间。

【关键词】 新型冠状病毒;快速 PCR;核酸检测系统;优化组合

【中图分类号】 R373.1 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2023. 02. 030

Clinical application of rapid and common COVID-19 nucleic acid detection system

ZHU Yanqiu, ZHANG Pan, CHU Mingliang, WANG Sha, HU Mian

(Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Guizhou University of
Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, China)

【Abstract】 Objective To explore the optimal detection method for COVID-19 by comparing different combinations of fast and common nucleic acid detection system. **Methods** COVID-19 nucleic acid liquid quality control reference was diluted to the concentration of 200 cp/mL, 500 cp/mL, 1000 cp/mL and 2000 cp/mL. The common detection system (nucleic acid extraction method, common amplification reagent and common RT PCR instrument) and rapid detection system (direct pyrolysis release method, rapid amplification reagent and rapid RT PCR instrument) were used. The units of common and rapid detection system were mixed and matched to explore the best detection system. **Results** Using the common detection system, the time was the slowest (134 min), but the sensitivity was the best. Using the rapid detection system, the time was the fastest (56 min), but the sensitivity was worst. The reason for the poor sensitivity may be attributed to the direct pyrolysis release method. Further research found that the common nucleic acid extraction, the rapid amplification reagent and rapid RT PCR instrument were the best combined application in COVID-19 nucleic detection. The combination of the detection time was fast (59 min), and the sensitivity was better. **Conclusion** It is not recommended to use the direct lysis-release method to extract nucleic acid. However, the efficiency and time can be improved by using rapid amplification reagent and rapid RT PCR instrument.

【Key words】 COVID-19; Fast PCR; Nucleic acid detection system; Optimal detection

基金项目:贵州省中医药管理局中医药防控新冠肺炎专项科研项目(QZYYXG-2021-2)

通讯作者:褚明亮, E-mail: chumingliang@foxmail.com

引用本文:朱艳秋,张攀,褚明亮,等. 新型冠状病毒快速与普通核酸检测系统的临床组合应用研究[J]. 西部医学, 2023, 35(2): 308-封三.
DOI:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2023. 02. 030

新型冠状病毒(Corona Virus Disease 2019, COVID-19)具有非常强的传染性^[1-5]。加大检测力度,对于及时发现并切断病毒传播至关重要。新冠核酸检测的方法以荧光 PCR 法为主,其检测时间在 1.5~2 h 之间。加上采样时间,核酸提取时间及其他因素等,

传统的核酸检测时间多在 6 h 以上。早发现、早隔离、及时阻断病毒的传播、缩短核酸检测时间非常重要^[6]。国内外近期研发了一系列快速核酸检测系统(含试剂、仪器等),并陆续进入临床应用^[7-8]。本研究比较了某品牌的快速检测系统与普通检测系统在新冠核酸扩增敏感性及时间上的差异,为临床检测应用提供部分参考依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 普通检测系统:病毒采样管(粤深械备 20200187);核酸提取(磁珠法)试剂盒(陕西械备 20140007);普通新型冠状病毒核酸检测试剂盒(国械注准 20203400063);磁珠法核酸提取仪(西安天隆科技有限公司,型号:NP968-C);普通荧光定量 PCR 仪(上海宏石医疗科技有限公司,型号:SLAN-96P)。快速检测系统:直接裂解法(粤穗械备 20200113);快速新型冠状病毒核酸检测试剂盒(国械注准 20203400749);快速荧光定量 PCR 仪(国械注准 20203220748)。新型冠状病毒液体质控品(北京康彻思坦生物技术有限公司,型号:S1,浓度 25000 cp/mL)。

1.2 核酸提取方法

1.2.1 核酸提取法 将新冠核酸质控品 S1(浓度 25000 cp/mL),用病毒采样管中的保存液作为稀释液,分别稀释到 200 cp/mL、500 cp/mL、1000 cp/mL 和 2000 cp/mL。按照操作要求,使用核酸提取法试剂盒(qEx-DNA/RNA)在磁珠法核酸提取仪(NP968-C)上进行提取。提取得到的核酸 RNA, -80℃ 保存待用。以上操作,每个浓度的样品重复 3 次。

1.2.2 直接裂解法 将新冠核酸质控品 S1(浓度 25000 cp/mL),用裂解释放剂中的裂解液作为稀释液,分别稀释到 200 cp/mL、500 cp/mL、1000 cp/mL 和 2000 cp/mL。按照直接裂解法的说明要求,震荡裂解释放 15 min, -80℃ 保存待用。以上操作,每个浓度的样品重复 3 次。

1.3 荧光 PCR 扩增

1.3.1 核酸提取法/直接裂解法+普通扩增试剂+普通荧光定量 PCR 仪器 将 1.2.1 核酸提取法和 1.2.2 核酸直接裂解法得到的 RNA,各取 5 μ L,分别加入普通新型冠状病毒核酸检测试剂中,在普通荧光定量 PCR 仪(SLAN-96P)上进行扩增。FAM 和/或 VIC 通道的 Ct 值 ≤ 40 ,且有扩增曲线时,判为 N 基因和/或 ORF1ab 基因阳性(+);FAM 和/或 VIC 通道的 Ct 值位于 40~45 之间,但有明显扩增曲线,则进行复检,复检结果一致则判为 N 基因和/或 ORF1ab 基因弱阳性($\pm$)。

1.3.2 核酸提取法/直接裂解法+快速扩增试剂+普

通荧光定量 PCR 仪器 将 1.2.1 核酸提取法和 1.2.2 核酸直接裂解法得到的 RNA,各取 5 μ L,分别加入快速新型冠状病毒核酸检测试剂中,在普通荧光定量 PCR 仪(SLAN-96P)上进行扩增。FAM 和/或 VIC 通道的 Ct 值 ≤ 30 ,且有扩增曲线时,判为 N 基因和/或 ORF1ab 基因阳性(+);FAM 和/或 VIC 通道的 Ct 值位于 30~32 之间,但有明显扩增曲线,则进行复检,复检结果一致则判为 N 基因和/或 ORF1ab 基因弱阳性($\pm$)。

1.3.3 核酸提取法/直接裂解法+快速扩增试剂+快速荧光定量 PCR 仪器 将 1.2.1 核酸提取法和 1.2.2 核酸直接裂解法得到的 RNA,各取 5 μ L,分别加入快速新型冠状病毒核酸检测试剂中,在快速荧光定量 PCR 仪(AGS8830-16)上进行扩增。判断标准同 1.3.2。

1.4 统计学分析 采用等级资料秩和检验进行统计,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 核酸提取法和直接裂解法两种方法核酸扩增结果的比较

2.1.1 以普通扩增试剂及普通荧光定量 PCR 仪器为基准,比较核酸提取法和直接裂解法两种方法的扩增结果 样本的初始浓度为 2000 cp/mL 和 1000 cp/mL 时候,核酸提取法和裂解释放提取法两种方法 PCR 的结果都显示有明显的扩增曲线,核酸的 N 基因(蓝色曲线)和 ORF1ab 基因(绿色曲线),都为阳性。当样本的初始浓度为 500 cp/mL 时候,核酸提取法 PCR 的结果显示 N 基因和 ORF1ab 基因阳性;而裂解释放提取法 PCR 的结果 N 基因为弱阳性,ORF1ab 基因为阴性。当样本的初始浓度为 200 cp/mL 时候,核酸提取法 PCR 的结果显示 N 基因阳性,ORF1ab 基因弱阳性;而裂解释放提取法 PCR 的结果 N 基因和 ORF1ab 基因均为阴性(见图 1)。两种方法在 200 cp/mL 和 500 cp/mL 浓度中差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.1.2 以快速扩增试剂及普通荧光定量 PCR 仪器为基准,比较核酸提取法和直接裂解法两种方法的扩增结果 样本的初始浓度为 2000 cp/mL 和 1000 cp/mL 时候,核酸提取法和裂解释放两种方法 PCR 结果显示,核酸的 N 基因(蓝色曲线)和 ORF1ab 基因(绿色曲线)都为阳性或弱阳性。当样本的初始浓度为 500 cp/mL 时候,核酸提取法 PCR 的结果显示 N 基因和 ORF1ab 基因为阳性;而裂解释放法 PCR 的结果显示 N 基因为弱阳性,ORF1ab 基因为阴性。当样本的初始浓度为 200 cp/mL 时候,核酸提取法 PCR 的

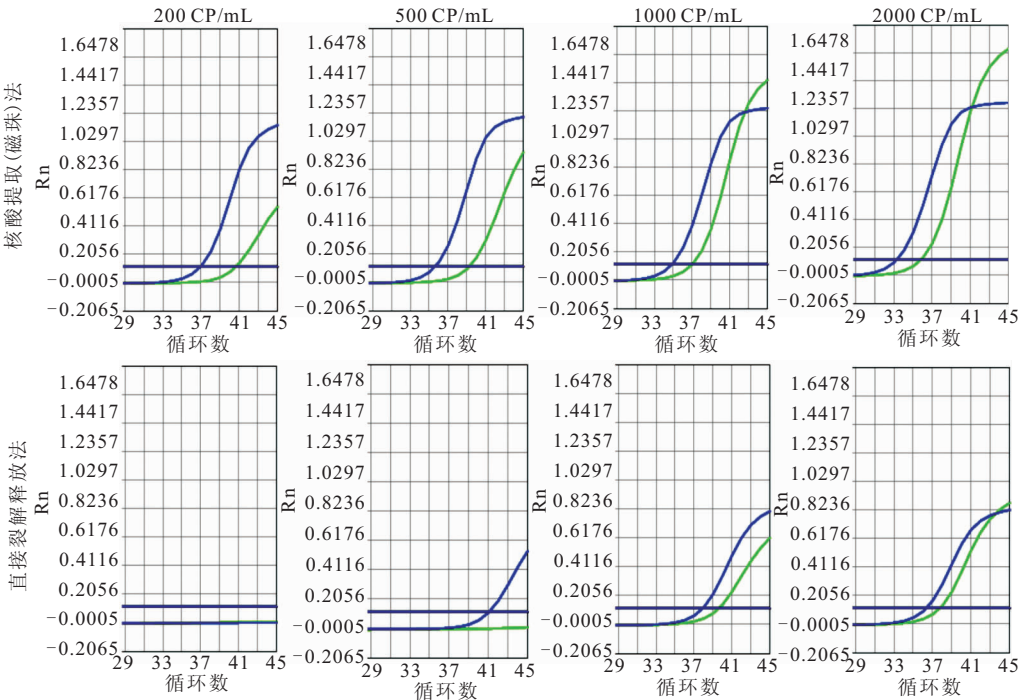


图 1 核酸提取法和直接裂解法得到的核酸在普通扩增试剂及普通荧光定量 PCR 仪器上扩增得到的结果

Figure 1 Amplification results between nucleic acid extraction method and direct lysis method using common amplification reagent and common RT-PCR instrument

注:样本的初始浓度分别为 200 cp/mL、500 cp/mL、1000 cp/mL 和 2000 cp/mL。蓝色曲线表示 *N* 基因,绿色曲线表示 *ORF1ab* 基因

结果 *N* 基因为阳性, *ORF1ab* 基因为阴性;而裂解释放法 PCR 的 *N* 基因和 *ORF1ab* 基因均为阴性(见图

2)。两种方法在 200 cp/mL 和 500 cp/mL 浓度中差异有统计学意义($P<0.05$)。

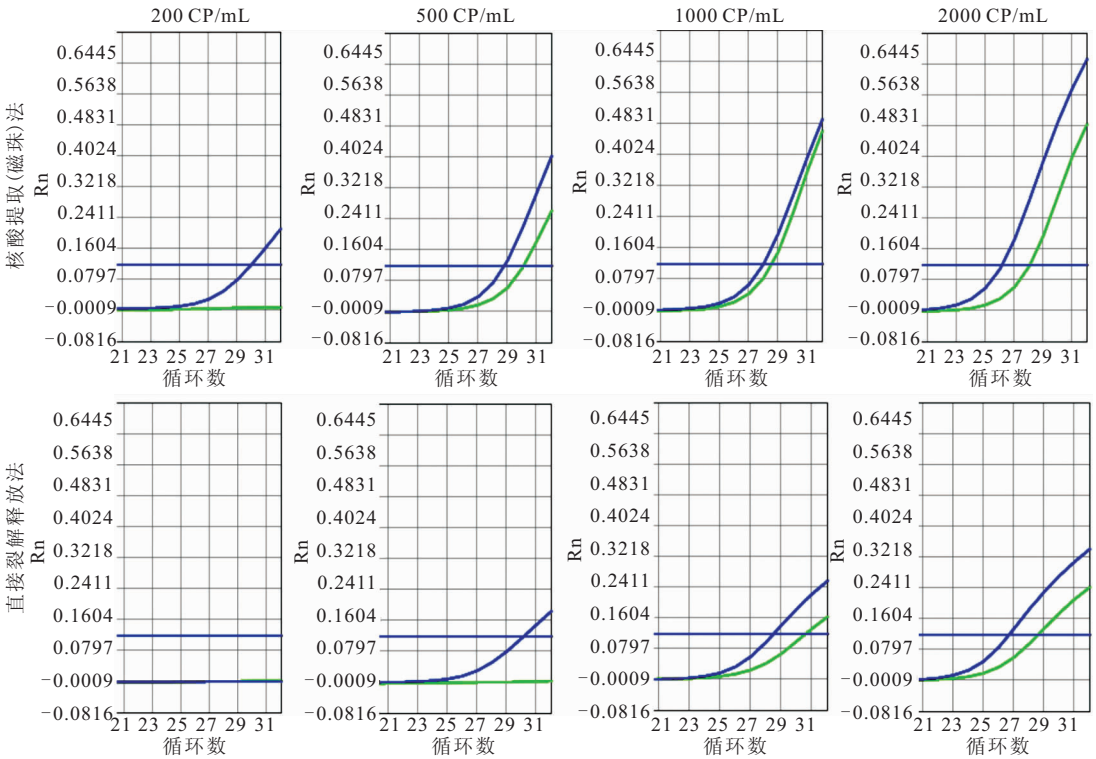


图 2 核酸提取法和直接裂解法得到的核酸在快速扩增试剂及普通荧光定量 PCR 仪器上扩增得到的结果

Figure 2 Amplification results between nucleic acid extraction method and direct lysis method using rapid amplification reagent and common RT-PCR instrument

注:样本的初始浓度分别为 200 cp/mL、500 cp/mL、1000 cp/mL 和 2000 cp/mL。蓝色曲线表示 *N* 基因,绿色曲线表示 *ORF1ab* 基因

2.1.3 以快速扩增试剂及快速荧光定量 PCR 仪器为基准,比较核酸提取法和直接裂解法两种方法的扩增结果 样本的初始浓度为 2000 cp/mL 和 1000 cp/mL 时候,核酸提取法和裂解释放两种方法 PCR 结果显示,核酸的 *N* 基因(黑色曲线)和 *ORF1ab* 基因(黄色曲线)都为阳性。当样本的初始浓度为 500 cp/mL 时候,核酸提取法 PCR 的结果显示 *N* 基因和 *ORF1ab*

基因为阳性;而裂解释放法的 *N* 基因为阳性,*ORF1ab* 基因为阴性。当样本的初始浓度为 200 cp/mL 时候,核酸提取法 PCR 的结果显示 *N* 基因阴性,*ORF1ab* 基因阳性;而裂解释放法 PCR 结果的 *N* 基因和 *ORF1ab* 基因均为阴性(见图 3)。两种方法在 200 cp/mL 和 500 cp/mL 浓度中差异有统计学意义($P < 0.05$)。

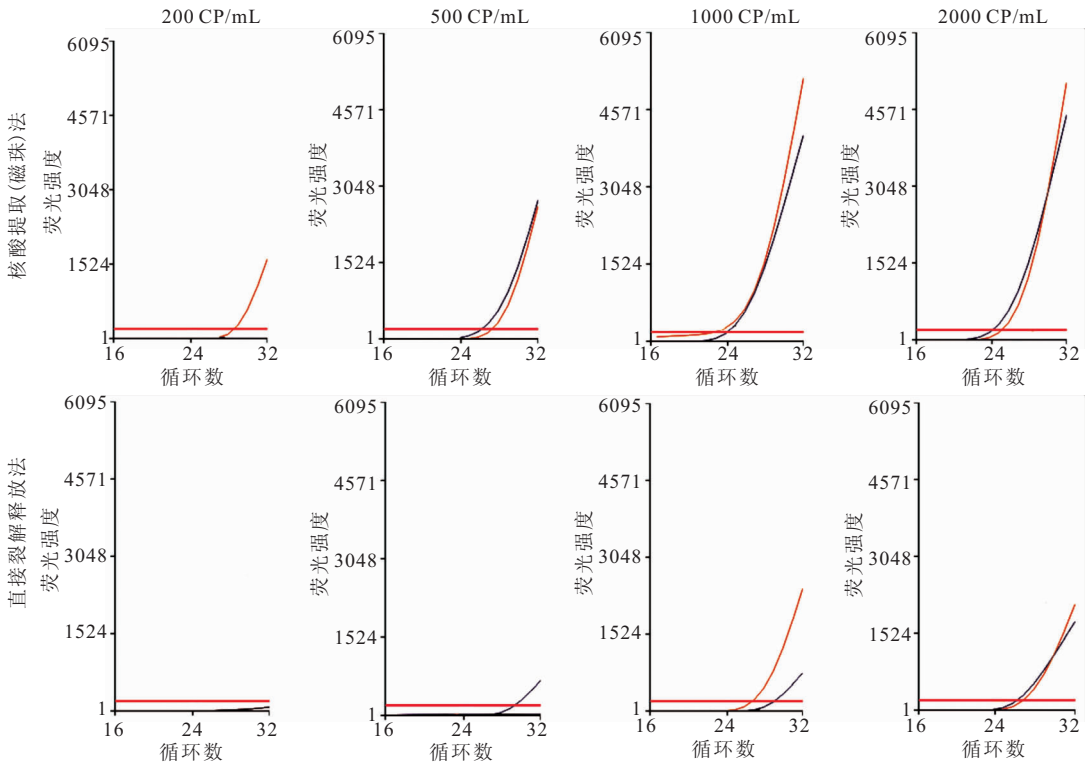


图 3 核酸提取法和直接裂解法得到的核酸在快速扩增试剂及快速荧光定量 PCR 仪器上扩增得到的结果

Figure 3 Amplification results between nucleic acid extraction method and direct lysis method using rapid amplification reagent and rapid RT PCR instrument

注:样本的初始浓度分别为 200 cp/mL、500 cp/mL、1000 cp/mL、2000 cp/mL。黄色曲线表示 *N* 基因,黑色曲线表示 *ORF1ab* 基因

2.2 普通扩增试剂和快速扩增试剂的比较

2.2.1 以核酸提取法提取的核酸及普通荧光定量 PCR 仪器为基准,比较普通扩增试剂和快速扩增试剂的扩增结果 样本的初始浓度为 500 cp/mL、1000 cp/mL、2000 cp/mL 的时候,普通扩增试剂和快速扩增试剂两种试剂 PCR 结果的 *N* 基因和 *ORF1ab* 基因都为阳性。当样本浓度为 200 cp/mL 时候,普通扩增试剂 PCR 结果的 *N* 基因为阳性,*ORF1ab* 基因为弱阳性;而快速扩增试剂 PCR 结果的 *N* 基因为阳性,*ORF1ab* 基因为阴性(见图 1 核酸提取法和图 2 核酸提取法)。两种方法之间仅在 200 cp/mL 浓度中差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2.2 以直接裂解法的核酸及普通荧光定量 PCR 仪器为基准,比较普通扩增试剂和快速扩增试剂的扩增结果 样本的初始浓度为 200 cp/mL、500 cp/mL、

2000 cp/mL 的时候,普通扩增试剂和快速扩增试剂两种试剂 PCR 结果完全一致,都为阴性、弱阳性或阳性。当样本浓度为 1000 cp/mL 时候,普通扩增试剂 PCR 结果的 *N* 基因和 *ORF1ab* 基因均为阳性;而快速扩增试剂 PCR 结果的 *N* 基因为阳性,*ORF1ab* 基因为弱阳性(见图 1 裂解释放法和图 2 裂解释放法)。两种方法之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 普通荧光定量 PCR 仪器和快速荧光定量 PCR 仪器的比较

2.3.1 以核酸提取法提取的核酸及快速扩增试剂为基准,比较普通荧光定量 PCR 仪器和快速荧光定量 PCR 仪器的扩增结果 样本的初始浓度为 500 cp/mL、1000 cp/mL、2000 cp/mL 的时候,普通荧光定量 PCR 仪器和快速荧光定量 PCR 仪器两种仪器的结果完全一致,都为阳性。当样本浓度为 200 cp/mL 时

候,普通荧光定量 PCR 仪器和快速荧光定量 PCR 仪器的 PCR 结果的 *N* 基因和 *ORF1ab* 基因或者阳性或者阴性(见图 2 核酸提取法和图 3 核酸提取法)。两种方法之间差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3.2 以直接裂解法的核酸及快速扩增试剂为基准,比较普通荧光定量 PCR 仪器和快速荧光定量 PCR 仪器的扩增结果 样本的初始浓度为 200 cp/mL、500 cp/mL、1000 cp/mL、2000 cp/mL 的时候,普通荧光定量 PCR 仪器和快速荧光定量 PCR 仪器两种仪器的结果基本一致,都为阴性、弱阳性或阳性(见图 2 裂解释放法和图 3 裂解释放法)。两种方法差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 不同试剂、仪器及提取方法核酸检测时间的比较 核酸提取法需要 18 min,直接裂解法需要 15 min。普通扩增试剂在普通 PCR 仪器上扩增时间为 116 min,快速扩增试剂在普通 PCR 仪器上扩增时间为 69 min,快速扩增试剂在快速 PCR 仪器上扩增时间为 41 min。因此,理论上最快的检测时间为 56 min(41 min+15 min),最慢的检测时间为 134 min(116 min+18 min)。而核酸提取法+快速扩增试剂+快速 PCR 仪器扩增时间的理论最快时间为 59 min。仅仅比直接裂解法的总时长 56 min 多出 3 min 时间。

3 讨论

新冠核酸检测对于及时发现传染源、降低疫情扩散风险具有重要意义^[9-11]。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要求规范检测技术^[12-13]并要求使用高灵敏度的试剂(检测限 ≤ 500 cp/mL)并提高新冠核酸检测的时效性。快速 PCR 可以在更短时间内完成对核酸分子的扩增。近年来快速 PCR 技术从核酸扩增试剂(PCR 聚合酶的改进、添加剂的开发)和热循环仪的革新创造等方面进行了大量卓有成效的研究^[14-19]。

本研究的新冠核酸快速检测系统,由直接核酸裂解释放试剂、快速扩增试剂和快速荧光定量 PCR 仪组成。其快速荧光定量 PCR 仪(AGS 8830)和快速扩增试剂可缩短整个实验扩增时间到 41 min;并且样本的核酸提取直接简化为裂解释放提取法。直接裂解法在临床 DNA 核酸提取检测方面有着广泛的应用,如乙型肝炎病毒^[20]、结核分枝杆菌^[21-22]、EB 病毒^[23]等;但同时也发现,直接裂解释放提取的 RAN 很容易降解,不适用于丙型肝炎病毒、新冠等 RNA 核酸的检测^[24-27]。杨超杰等^[25]特意比较了临床常用的新冠核酸提取方法,发现直接裂解法(一步法)虽步骤简单,但漏检率高,不建议临床使用。本实验亦表明,如果

使用直接裂解法,配合普通/快速扩增试剂和普通/快速荧光 PCR 仪器,其敏感性均较差,不能满足临床最低检测限 ≤ 500 cp/mL 的疫情防控要求(医疗机构新冠核酸检测工作手册(试行第二版 2020.12.30)。而如果使用核酸提取法,配合普通/快速扩增试剂和普通/快速荧光 PCR 仪器,其敏感性均较好,可以满足检测限 ≤ 500 cp/mL 的要求。实验亦发现普通扩增试剂和快速扩增试剂在 500 cp/mL 浓度的时候,没有差异;在 200 cp/mL 时候快速扩增试剂敏感性高于普通扩增试剂,这可能与此时配套使用的是快速荧光 PCR 仪器相关。而普通荧光 PCR 仪器和快速荧光 PCR 仪器之间的比较,发现在检测敏感性之间没有显著差异。以上说明,该快速检测系统中,快速扩增试剂和快速荧光 PCR 仪器的技术成熟稳定,但是直接裂解法效果不佳。因此,实践中,应该使用核酸提取法配合使用快速扩增试剂和快速荧光 PCR 仪器,这样其总检测时间可以从传统方法的 134 min 缩短为 59 min,且能满足检测限 ≤ 500 cp/mL 的防控要求。

4 结论

在临床实践中,不建议使用直接裂解法提取核酸。但是可以使用某些适配性广的快速扩增试剂和快速荧光定量 PCR 仪,从而缩短检测时间,满足临床防控要求。

【参考文献】

- [1] WANG M Y, ZHAO R, GAO L J, *et al.* SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020,10:587269.
- [2] 魏剑浩,朱召芹.新型冠状病毒肺炎实验室检测技术进展[J].上海医药,2021,42(17):6-10.
- [3] 吴侃,刘珏,刘民,等.新型冠状病毒 Omicron 变异株的流行病学特征及防控研究[J].中国全科医学,2022,25(1):14-19.
- [4] HU B, GUO H, ZHOU P, *et al.* Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19[J]. Nat Rev Microbiol, 2021,19(3):141-154.
- [5] HARRISON A G, LIN T, WANG P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis[J]. Trends Immunol, 2020,41(12):1100-1115.
- [6] 宋江勤,陈玫君,曹伟伟,等.提高新型冠状病毒核酸检测能力与效率的策略[J].中华临床实验室管理电子杂志,2021,9(3):129-132,149.
- [7] 王瑞营,王新新,侯亚文,等.新型冠状病毒病原学特点及其核酸检测的分析[J].国际检验医学杂志,2021,42(S02):196-200.
- [8] 朱镭,朱庆义.新型冠状病毒及其分子生物学诊断新技术[J].中华临床实验室管理电子杂志,2021,9(3):174-181.
- [9] 赵雨佳,廖滢毅,范培蕾,等.新型冠状病毒核酸检测方法及标准物质的研究进展[J].计量科学与技术,2022,66(1):3-8.
- [10] 潘峰.核酸检测和疫苗接种在新冠疫情防控中发挥着重要作用[J].中国当代医药,2021,28(34):1-3.

- [11] 柴瑜,唐继海. 核酸检测技术在 SARS-CoV-2 检测中研究进展[J]. 安徽预防医学杂志, 2021,27(3):223-228.
- [12] 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. 新冠病毒核酸 10 合 1 混采检测技术规范[J]. 中国病毒病杂志, 2020,10(5):330-332.
- [13] 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. 新冠病毒核酸筛查稀释混样检测技术指引[J]. 中国病毒病杂志, 2020,10(5):329,332.
- [14] 杨文超,张晓东. 快速 PCR 研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2007,27(4):99-103.
- [15] 张敬如. 介绍一种快速反转录聚合酶链反应[J]. 第三军医大学学报, 2001,23(6):745-746.
- [16] 巴华杰,朱爱华,刘亚楠,等. 快速 PCR 仪与普通 PCR 仪扩增效果的比较研究[J]. 中国法医学杂志, 2017,32(4):382-384.
- [17] 马亮,崔淑娟,韩呈武,等. 核酸快速检测系统在新型冠状病毒检测中的应用评价[J]. 中华预防医学杂志, 2021,55(2):219-225.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 罗心静,徐克前. 一种简单、快速提取乙肝病毒 DNA 的方法[J]. 医学临床研究, 2004(8):938-939.
- [21] 彭学勤,崔园园,褚明亮. 快速提取石蜡组织中结核分枝杆菌 DNA 方法体系的建立及评估[J]. 甘肃医药, 2020,39(1):63-64.
- [22] DE LAMBALLERIE X, ZANDOTTI C, VIGNOLI C, *et al.* A one-step microbial DNA extraction method using "Chelex 100" suitable for gene amplification[J]. Research in microbiology, 1992,143(8):785-7890.
- [23] 文亦磊,廖文莉,张志兴,等. Chelex-100 法快速提取石蜡组织中 EB 病毒基因组 DNA[J]. 实用医学杂志, 2012,28(11):1790-1792.
- [24] 王效红. 血清丙型肝炎病毒核糖核酸二种提取方法的比较[J]. 山西医药杂志, 2016,45(19):2310-2312.
- [25] 杨超杰,刘威,瞿良,等. 新型冠状病毒样本核酸检测及核酸提取方法效果评价[J]. 国际药学研究杂志, 2020,47(6):424-429.
- [26] 李森,李慧源,杨勇,等. 3 种新型冠状病毒核酸提取方法的比较[J]. 国际检验医学杂志, 2021,42(S02):233-235.
- [27] 张洪洪,秦维超,游凤霞,等. 4 种核酸提取方法对 3 种新型冠状病毒核酸检测试剂检测性能的比较与分析[J]. 检验医学与临床, 2020,17(19):2760-2763.

(收稿日期:2022-01-20;修回日期:2022-04-06;编辑:王小菊)

(上接第 307 页)

- [10] CHEN L, ZHAO N, XU S. Research progress of imaging technologies for ischemic cerebrovascular diseases[J]. J Int Med Res, 2021,49(3):601-608.
- [11] 彭越,刘慧勤,王冰. 老年高血压脑出血血肿清除术后患者并发生脑梗死的影响因素分析[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2019,28(1):24-27.
- [12] XIN Y, SHI S, YUAN G, *et al.* Application of CT Imaging in the Diagnosis of Cerebral Hemorrhage and Cerebral Infarction Nerve Damage[J]. World Neurosurg, 2020,138(11):714-722.
- [13] SALMAN E, KADOTA A, HISAMATSU T, *et al.* The Sessa Research Group F. Relationship of Four Blood Pressure Indexes to Subclinical Cerebrovascular Diseases Assessed by Brain MRI in General Japanese Men[J]. J Atheroscler Thromb, 2021,18(5):1253-1258.
- [14] MOHAMMADZADEH A, FARZANEH M, ZAHEDMEHR A, *et al.* Coronary CT Angiography and Dual-Energy Computed Tomography in Ischemic Heart Disease Suspected Patients[J]. Arch Iran Med, 2019,22(7):376-383.
- [15] 王宗宝,李斌,王永胜. 微创软通道血肿穿刺引流术治疗中少量基底核区高血压脑出血的效果观察[J]. 中国临床实用医学, 2020,11(1):37-41.
- [16] MA X, KONG Q, WANG C, *et al.* Predicting asymptomatic coronary artery stenosis by aortic arch plaque in acute ischemic cerebrovascular disease: beyond the cervicocephalic atherosclerosis? [J]. Chin Med J, 2019,132(8):905-913.
- [17] WEI L, ZHANG J, GENG J, *et al.* Hemoglobin Concentration Affects Hypertensive Basal Ganglia Hemorrhage After Surgery: Correlation Analysis in a High-Altitude Region[J]. World Neurosurg, 2019,127(5):835-842.
- [18] FERRO D, MATIAS M, NETO J, *et al.* Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Predicts Cerebral Edema and Clinical Worsening Early After Reperfusion Therapy in Stroke[J]. Stroke, 2021,52(3):130-139.
- [19] SUN G, LI X, CHEN X, *et al.* Comparison of keyhole endoscopy and craniotomy for the treatment of patients with hypertensive cerebral hemorrhage[J]. Medicine, 2019,98(2):e14123.
- [20] WANG J, PAN LJ, ZHOU B, *et al.* Crossed cerebellar diaschisis after stroke detected noninvasively by arterial spin-labeling MR imaging[J]. BMC Neurosci, 2020,21(1):1125-1129.
- [21] 刘建,陈昱灿,李俊鹏. 急性期脑梗死患者 CT 及 MRI 影像学特点分析[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2019,17(5):22-25.
- [22] 刘涛,刘顺帆,崔华. CT, MRI 检测早期腔隙性脑梗死的价值研究[J]. 贵州医药, 2020,44(3):142-144.
- [23] 李凤陈,张伟. 增强磁共振血管造影联合磁共振灌注加权成像对后循环缺血的诊断价值[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020,18(4):686-690.
- [24] 吴昊,孟心怡,赵仁亮. 磁共振弥散加权成像阴性的急性缺血性卒中:临床特征和影像学检查策略[J]. 国际脑血管病杂志, 2020,28(10):780-785.

(收稿日期:2021-08-12;修回日期:2022-04-22;编辑:王小菊)