

胞是否达到在细胞数量及固定部位的细胞类型的出现等方面的评价。TBS 分类法要求采用 TCT 技术检查时,标本的细胞数量必须在一定范围内以上:液基制片约为 5 000 个细胞以上保存完好和形态清晰的鳞状细胞。通常在中央区的涂片范围内用 40 倍视野观察最少应有 10 个视野,估算出每个视野平均细胞数量,而且在遇到空白区时,应估计出这些缺少细胞区的百分数^[7-8]。液基制片又被称作液基薄层细胞制片技术,在二十世纪末被引进。根据制片原理不同,一般分为自然沉降法、膜式法、垂直离心法和水平离心法等四种。它们的共同点是都可以将液基里的细胞标本转移到载玻片上,然后加以染色,制成涂片标本。无论哪一种方法,在进行制片时都强调取材及取材方法的改进。不管是手工还是机器,只要最大限度保持细胞量多和显示细胞结构,阳性率就会提高^[9-10]。就本院情况来看,由于国产膜式制片法的耗材、玻片、仪器对保养液中细胞的影响不同,使得制片效果欠佳,细胞重叠、炎性细胞覆盖现象多见,或者是制片中央细胞稀疏,周围则密集成片,给阅片带来困难。自本院改用自然沉降法制片以来,制片效果得到明显改善,所得涂片细胞平铺均匀,染色蓝绿分明,检测阳性率也得到了提高。

参考文献

[1] 马博文,郭云泉,马丽骊.液基薄层细胞技术对宫颈上皮细胞异常
• 检验技术与方法 •

筛查作用的研究[J].中华病理学杂志,2004,33(3):287-290.
[2] 潘秦镜,李凌,张询,等.液基细胞学筛查宫颈癌的研究[J].中华肿瘤杂志,2001,23(4):309-311.
[3] 周桂华,陈翠兰.液基薄层细胞学(ThinPrep)方法在宫颈癌筛查中的应用[J].中国医学杂志,2004,6(11):1566-1567.
[4] 刘英文,张春梅,张茜.8 266 例宫颈液基细胞学筛查结果分析[J].中外医疗,2010,29(12):169.
[5] 陈湘莲,吴志川.TCT 检查对宫颈上皮内瘤变早期筛查的临床分析[J].实用预防医学,2009,16(3):806-807.
[6] 孔瑛.TCT 取材质量控制对宫颈病变诊断的影响[J].安徽医药,2010,14(9):1047-1048.
[7] 江俐.TCT 联合 HPV 检测在诊断宫颈疾病中的应用[J].中国实用医药,2009,4(4):124-125.
[8] 吕智敏,刘红梅,刘维琴,等.国产膜状薄层液基细胞学技术筛查 4 530 例宫颈病变分析[J].现代妇产科进展,2008,17(2):130-131.
[9] 温寿青,邱立,钟美莲.TCT 制片质量控制和宫颈癌诊断[J].现代肿瘤医学,2009,17(8):1430-1431.
[10] 任玉嫒,周琦.TCT 在宫颈病变筛查中的应用[J].航空航天医药,2009,20(1):36-37.

(收稿日期:2011-03-08)

两种核酸提取方法在 HCV RNA 荧光定量检测中的比较

柴凤霞

(甘肃省酒泉市人民医院检验科 735000)

摘要:目的 比较氯仿-异丙醇法和核酸提取柱法在丙型肝炎病毒(HCV)RNA 荧光定量检测中的灵敏度、重复性和抗干扰性。方法 分别用两种方法提取核酸后,采用荧光定量 PCR 技术检测 HCV RNA 含量,比较两种方法对检测灵敏度、重复性和抗干扰性的影响。结果 两种核酸提取方法的灵敏度相近,但核酸提取柱法的重复性和抗干扰能力明显优于氯仿-异丙醇法。结论 两种核酸提取方法的灵敏度差别不大,基本都能满足临床需要,核酸提取柱法更具优势。

关键词:肝炎病毒,丙型; 核酸提取; 荧光定量聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.12.028

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)12-1469-02

目前临床上常选用的丙型肝炎病毒(HCV)RNA 荧光定量检测试剂盒中,核酸的提取基本采用了氯仿-异丙醇法和核酸提取柱法。本研究比较了这两种提取方法在 HCV RNA 荧光定量检测中的灵敏度、重复性和抗干扰性,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 HCV RNA 强阳性血清来自本院住院部丙型肝炎患者;HCV RNA 阴性血清来自无肝病史且 HCV RNA 阴性的健康体检者。

1.2 仪器与试剂 Roche 公司 LightCycler 荧光定量 PCR 分析仪。氯仿-异丙醇法和核酸提取柱法提取试剂及扩增试剂均购自凯杰生物工程(深圳)有限公司,试剂盒最低检测限为 5.0×10² IU/mL。

1.3 方法

1.3.1 灵敏度比较 HCV RNA 强阳性血清及用阴性血清 10 倍倍比稀释的系列稀释血清标本 7 份,分别用上述两种方法提取核酸,进行荧光定量 PCR 检测,定量结果计算对数值比较两种方法提取的灵敏度。

1.3.2 重复性比较 取上述中等含量的 HCV RNA 标本 1 份,分别用上述两种方法各提取核酸 10 次,进行荧光定量 PCR 检测,定量结果计算对数值比较两种方法提取的重复性。

1.3.3 干扰试验 用 HCV RNA 强阳性血清对非丙型肝炎患者的高浓度黄疸血清和溶血标本进行 10 倍稀释,并同样处理 1 份正常血清(血红蛋白 0.0 g/L,总胆红素 6.0 μmol/L)作为对照,分别用上述两种方法各提取核酸 2 次,进行 HCV RNA 荧光定量 PCR 检测,比较两种提取方法的抗干扰能力。

1.4 统计学处理 应用 SPSS15.0 软件进行统计学分析,组间比较采用 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 灵敏度比较 两种核酸提取方法的灵敏度差别不大,基本都能满足临床需要,但核酸提取柱法检测限更低,对临界值附近的低浓度标本提取效果更好,见表 1。

2.2 重复性比较 取中等含量的 HCV RNA 标本 1 份,分别两种方法各提取核酸 10 次,进行定量 PCR 检测,定量结果的对数值分别为:氯仿-异丙醇法为 4.16,变异系数(CV)为 36.12%;核酸提取柱法为 4.48,CV 为 12.86%。

表 1 两种提取方法的灵敏度比较

方法	稀释倍数							回归系数(<i>r</i>)
	未稀释	10	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	
氯仿-异丙醇法	7.12	6.51	5.14	4.53	3.60	—	—	0.987
核酸提取柱法	7.84	6.96	5.88	4.81	3.98	2.88	—	0.999

—: 低于检测限。

2.3 干扰试验结果 血清中黄疸的干扰对两种提取方法差异无统计学意义($P>0.05$)。在血清中血红蛋白浓度在 6.0 g/L 时,对两种提取方法的干扰差异无统计学意义($P>0.05$),血红蛋白浓度在 60.0 g/L 时,对两种提取方法的干扰差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 黄疸和溶血对两种提取方法的干扰*

干扰物质	干扰物浓度	氯仿-异丙醇法	核酸提取柱法
总胆红素	22.0 μmol/L	6.51	6.98
	220.0 μmol/L	6.60	6.99
血红蛋白	6.0 g/L	6.55	6.99
	60.0 g/L	5.61	6.92

*: 检测结果以定量结果的对数值表示;氯仿-异丙醇法的对照标本检测结果为 6.50,核酸提取柱法的对照标本检测结果为 6.96。

3 讨 论

近年来临床上多采用荧光定量 PCR 技术进行 HCV RNA 定量检测,这种方法闭管操作,不易引起产物污染,具有敏感、特异、快速的优点^[1]。荧光定量 PCR 的实验要求较高,其中提取核酸作扩增反应模板是其重要的前期步骤,处理方法的差异可直接影响 PCR 扩增效果与实验检测结果^[2]。本研究采用了氯仿-异丙醇法和核酸提取柱法两种方法提取 HCV RNA 后进行荧光定量检测,实验结果表明,这两种核酸提取方法的灵敏

• 检验技术与方法 •

度差别不大,基本都能满足临床需要;但核酸提取柱法的重复性明显优于氯仿-异丙醇法。

黄疸和溶血是血清检测中最常见的影响因素,在检测过程中,标本的成分含量差异、生产厂家试剂采用的不同核酸提取方法,都可影响标本中 HCV RNA 模板的质量,以致检测结果出现较大的差异^[3]。干扰试验结果表明,上述两种核酸提取方法对黄疸标本的抗干扰能力较强,但对溶血较严重的标本提取核酸时,核酸提取柱法更具有优势,该法操作简便快速,防止了 RNA 的降解,能去除标本中存在的干扰物质(胆红素和血红蛋白等),使核酸模板纯化效率高、误差小,保证了 HCV RNA 荧光定量检测的准确性。

参考文献

[1] 姚磊,张征,黄绍光,等. 乙型肝炎不同血清学模式 HBV DNA 定量检测及其与 Pre-S1 关系的研究[J]. 重庆医学,2006,35(1):60-62.
[2] 李金明. 实时荧光 PCR 技术[M]. 北京:人民军医出版社,2007.
[3] 刘佳,徐军,王雪飞,等. 3 种 HBV DNA 提取方法对荧光定量 PCR 检测结果影响的比较[J]. 中华检验医学杂志,2008,31(7):780-783.

(收稿日期:2012-05-15)

某型号尿液分析仪计数脑脊液红细胞和白细胞的可行性分析

孙子涵,胡成进,胡志德

(中国人民解放军济南军区总医院实验诊断科,济南 250031)

摘 要:**目的** 评价 UF-1000i 尿液分析仪用于检测脑脊液红细胞和白细胞计数的可行性。**方法** 以 UF-1000i 尿液分析仪对 396 例脑脊液标本进行细胞计数,并与手工计数结果进行比对。采用 Spearman 法和 Bland-Altman 法分析两种检测方法之间是否具有可比性。**结果** 两种方法检测结果之间白细胞和红细胞计数的 Spearman 相关系数(r^2)分别为 0.96 和 0.99(P 均小于 0.01)。Bland-Altman 分析发现,当脑脊液细胞计数越低,两种方法的一致性越好。**结论** UF-1000i 尿液分析仪对脑脊液细胞计数与手工计数法之间具有较高的一致性,可以用于脑脊液细胞计数,尤其是当脑脊液细胞计数较低时。

关键词: 红细胞计数; 白细胞计数; 脑脊液; 尿液分析仪; 显微镜检查

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.12.029 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)12-1470-03

脑脊液红细胞和白细胞计数对于各种中枢神经细胞疾病的诊断和治疗监测具有十分重要的意义^[1]。传统的细胞计数方法主要是采用 Neubauer 血细胞计数板对脑脊液红细胞和白细胞进行计数。虽然手工计数法在临床上已经得到了广泛的应用,但是也或多或少存在一些缺陷,主要表现在:(1)检验过程相对繁琐;(2)检测结果受检验者主观因素影响较大,不同检验技师对同一标本的细胞计数结果可能存在较大差异。因此,特别需要一种快速、客观的脑脊液细胞计数方法,以为中枢神

经细胞疾病的诊断提供科学的依据^[2]。已有少量的研究表明,Sysmex 公司生产的 UF-100i 尿液分析仪对于脑脊液细胞计数结果总体上相差不大^[3-5],但是这些研究的样本量相对偏小,且未对 UF-100i 计数与手工计数之间的相关性和一致性作出评价。UF-1000i 是日本 Sysmex 公司生产的较为高端的尿液分析仪,其采用红色半导体激光、核酸荧光染色等方法计数,结合流式检测原理,可以短时间内实现对尿液有形成分的定量分析,其性能较 UF-100i 有较大改