TT)时，其检测结果的可比性不佳；尤其当待检标本在病理水平时，这一现象更为明显。因此同一临床实验室应当使用检测原理相同的血凝分析仪以保证检验结果的可比性，并且应按要求定期对不同检测系统进行比对。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构临床实验室管理办法[Z]. 北京：中华人民共和国卫生部，2006-02-27.

[2] 王霞，江虹，贾劲，等. 应用患者标本对 STA-COMPACT 与 STA-R 全自动血凝分析仪进行比对[J]. 华西医学，2006，21(4)：767-768.

[3] 王贞，刘艳，杨冬，等. CA 系列凝血分析仪凝血三项测定结果的可比性研究[J]. 大连医科大学学报，2010，32(1)：94-96.

[4] 颜存粮，彭黎明，黄海雄. 不同血凝分析仪检测结果的一致性研究[J]. 中华检验医学杂志，2008，31(1)：100-103.

[5] 邓兰平，陈锋，左和宁. 不同凝血分析系统检测结果的临床可接受性评估[J]. 实用预防医学，2008，15(2)：546-548.

(收稿日期：2012-08-08)

· 检验仪器与试剂评价 ·

2 种 HBV-DNA 荧光定量 PCR 检测试剂的比较

荆成宝，禹　梅，刘　婕

(安康市中心医院，陕西安康 725000)

摘　要：目的　分析 2 种 HBV-DNA 试剂在荧光定量 PCR 检测中的相关性，评价其临床应用价值。**方法**　平行测定 160 份血清标本以及梯度稀释的强阳性标本，从定量线性范围、准确度、灵敏度和特异度等方面比较 A 试剂(免核酸提取的“一步法”)与 B 试剂(煮沸浓缩核酸提取法)在临床应用的相关性和差异，并与 ELISA 法结果进行比较。**结果**　在 160 份标本中，2 种试剂检测结果均值差异无统计学意义($P>0.05$)。但病毒载量结果 A 试剂略高于 B 试剂，A 试剂灵敏度高于 B 试剂，检测范围更宽，特异度更高。**结论**　采用“一步法”免核酸提取的 A 试剂，核酸获得率高，且具有检测范围宽、特异度和灵敏度更好、操作简单的特点，值得推广。

关键词：HBV-DNA；　聚合酶链反应；　试剂比对

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.02.038　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2013)02-0206-02

HBV 感染是世界性公共卫生问题，全球约有 3.5 亿人感染[1-3]，其中约有 1/3 的人在中国[4]。HBV 感染可导致急性或慢性乙型肝炎、肝硬化、肝癌[5]，因此，HBV-DNA 检测对 HBV 感染的诊断和治疗尤为重要[6]。HBV-DNA 是反映 HBV 复制的最直接、最可靠的指标；在评价治疗乙型肝炎药物的疗效与预后判定方面具有至关重要的作用。目前国内生产的 HBV-DNA 荧光定量 PCR 试剂有很多种，各试剂的灵敏度、特异度、准确度、检测范围等方面存在一定的差异。本文选用国内厂家中的两种 HBV-DNA 荧光定量 PCR 检测试剂盒，对 160 例临床血清标本进行定量检测，并对其性能进行评价，现报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　收集 160 份均符合《慢性乙型肝炎防治指南(2005)》[7]的本院门诊及住院乙型肝炎患者血清，－20 ℃冰箱保存。

1.2　仪器与试剂

1.2.1　仪器　核酸扩增仪采用美国 Applied Biosystem 公司的 ABI7300 荧光定量 PCR 分析仪；RT-2100 型酶标仪为深圳雷杜生产；上海汇松公司生产的 PW-960 全自动洗板机。

1.2.2　试剂　HBV 核酸荧光定量 PCR 试剂 A 由湖南圣湘生物科技有限公司提供，其采用免核酸提取的方法，最低检测限为 1.58 IU/mL；试剂 B 为中山大学达安基因诊断试剂公司提供的试剂，采用传统的煮沸法提取病毒核酸，最低检测限为 500 IU/mL。HBV 免疫学检测试剂，购自厦门英科新创科技有限公司，采用 ELISA 法。

1.3　方法　取已知 HBV-DNA 强阳性的血清 1 份，以阴性血清按 10 倍梯度系列稀释，获得系列稀释血清，为原血清及其 10、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、10^7 倍稀释血清。用 2 种试剂分别测定 HBV-DNA 载量，以确定两种方法的灵敏度。

1.3.1　试剂 A　PCR 反应管中加入 5 μL 核酸释放剂，加入 5 μL 标准品、待测标本，吸打混匀，再加入 40 μL PCR 反应液，吸打混匀上机检测即可。

1.3.2　试剂 B　1.5 mL 离心管中加入 100 μL 标本和 30 μL 浓缩提取液，振荡混匀，12 000 r/min 离心 10 min，弃去上清液，在沉淀中加入 30 μL DNA 提取液，随后放置 100 ℃浴箱或沸水浴 10 min，12 000 r/min 速度离心 10 min，取上清液作为 PCR 反应模板，加入分装有 PCR 反应液的反应管中上机检测。

1.3.3　质量控制　每个检测批次都包括阴性质控品，HBV 弱阳质控品和 HBV 强阳质控品的重复检测。

1.4　统计学处理　采用 SPSS11.0 统计软件进行 χ^2 检验。

2　结　　果

2.1　HBV-DNA 检测结果比较　在 160 份标本中，2 种试剂共同测定阳性 158 例，共同测定阴性 1 例，见表 1。对 160 例标本 A、B 试剂检测结果进行统计分析，$\chi^2=0.013\ 5$，$P>0.05$，2 种试剂检测均值差异无统计学意义。

表 1　2 种试剂检测阳性率和检测范围比较

试剂	n	阳性数	阳性率(%)	最大检测值(copy/mL)	最小检测值(copy/mL)	检测灵敏度(copy/mL)
试剂 A	160	159	99.38	2.6×10^9	1.5×10^2	10^{-7}
试剂 B	160	158	98.75	2.3×10^8	8.2×10^2	10^{-6}

2.2　HBeAg、HBeAb 与 HBV-DNA 定量检测的关系　根据 HBeAg、HBeAb 检测结果，将患者分为 3 组，其 HBV-DNA 定量结果见 2。

表 2　各组 HBV-DNA 定量结果(copy/mL)

组别	n	试剂 A	试剂 B
HBeAg(+)	86	8.3×10^8	1.2×10^8
HBeAb 组(+)	58	7.5×10^5	1.8×10^5
HBeAg(-)HBeAb 组(-)	16	4.2×10^4	1.1×10^4

3　讨　论

目前定量检测 HBV-DNA 的方法有很多种,罗氏试剂检测因具有较高的灵敏度、精密度、可重复性好和较宽的定量范围,被国际公认为 PCR 定量方法的参比试剂。由于其成本高、价格贵,在国内大医院或科研机构应用较多,而一般医院仍以国产试剂为主。用于检测 HBV-DNA 最广泛的方法是采用 FQ-PCR,生产检验试剂的厂家很多,各厂家之间还没有统一的检测标准[8-9]。本文从临床实验室用户的角度来探讨 2 种不同厂家的试剂检测结果是否存在差异。A 试剂检测下限为 1.28 IU/mL,其采用一种全新的免核酸提取的扩增方式,又称"一步法"病原体核酸荧光定量 PCR 检测方法,整个标本处理和检验过程在 1 个 PCR 反应管中即可完成,且无需离心、振荡、更换离心管等操作,不但简化了操作步骤、节省了耗材成本,而且减少了加热、移液等导致核酸丢失与污染的操作步骤,标本中的核酸全部参与到 PCR 反应中,与传统方法比较,每批检测可提前近 2 h 报告结果。B 试剂采用传统的"浓缩煮沸法",检测下限为 500 IU/mL,标本处理包含沉淀、高速离心等过程,核酸容易丢失,获得率低,且步骤繁杂费时。

对 2 种试剂检测 160 份标本的结果进行比较和相关性分析,发现 2 种试剂均值差异无统计学意义($P>0.05$),但从表 1 可以看出,由于样本处理步骤繁杂,导致核酸的丢失,试剂 B 结果较试剂 A 偏低;同时试剂 B 有 1 例 1.3×10^3 copy/mL 结果,A 试剂检测为阴性,提示有污染可能。同一份标本用 2 种试剂检测,A 试剂的检测值大于 B 试剂。以 10 倍梯度稀释的乙型肝炎患者阳性血清,考查 2 种试剂的灵敏度,A 试剂可测至 10^7 倍稀释水平,B 试剂仅可测至 10^6 倍稀释水平,说明 A 试剂在灵敏度上更高。

综上所述,在 2 种试剂对比中,B 试剂存在纯化标本步骤繁琐、核酸易丢失、获得率低且费时、报告周期长等缺点。而 A 试剂采用"一步法"免核酸纯化的方法,核酸获得率高,操作简便,并具有很高的灵敏度和准确度,具有较高的临床应用和推广价值。

参考文献

[1] Ganem D,Prince AM. Hepatitis B virus infection--natural history and clinical consequences[J]. N Engl J Med,2004,350(11):1118-1129.

[2] Tangkijvanich P,Sa-Nguanmoo P,Mahachai V,et al. A case-control study on sequence variations in the enhancer Ⅱ/corepromoter/precore and X genes of hepatitis B virus in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Hepatol Int,2010,4(3):577-584.

[3] Yim HJ,Lok AS. Natural history of chronic hepatitis B virus infection:what we knew in 1981 and what we hnow in 2005[J]. Hepatology,2006,43(2):173-181.

[4] Lai CL,Ratziu V,Yuen MF,et al. Viral hepatitis B[J]. Lancet,2003,362(9401):2089-2094.

[5] Lee WM. Hepatitis B virus infection[J]. N Engl J Med,1997,337(24):1733-1745.

[6] Hochberger S,Althof D,Gallegos de Schrott R,et al. Fully automated quantitation of hepatitis B virus(HBV)DNA in human plasma by the COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan system[J]. J Clin Virol,2006,35(4):373-380.

[7] 中华医学会肝病分会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志,2005,13(12):881-891.

[8] 李金明,王露楠,邓巍. 标本处理对聚合酶链反应测定乙肝病毒核酸的影响[J]. 中华检验医学杂志,2000,23(6):337-339.

[9] 李金明. 聚合酶链反应临床应用的优越性和局限性[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(3):225-227.

(收稿日期:2012-09-18)

· 检验仪器与试剂评价 ·

LightCycler 480Ⅱ型实时荧光定量 PCR 仪性能评价

方　莉[1,2],汤洪波[2],许　媛[1],贺　巧[2],赵维姣[1],姜远凤[2],唐　中[1,2△]

(1. 川北医学院附属医院检验科,四川南充 637007;2. 川北医学院医学检验系,四川南充 637007)

摘　要:目的　对 Roche LightCycler480Ⅱ型实时荧光定量 PCR 仪(Roche 480)主要性能指标进行评价,为该仪器检测结果的可靠性提供依据。**方法**　按照美国临床实验室标准化委员会(CLSI)文件制定的评价标准,分别对 40 例标准血清和 40 例临床标本定量检测 HBV-DNA,评价其精密度、准确度、灵敏度、线性和可比性。**结果**　精密度:批内变异系数($CV_{批内}$)为 1.40%～2.10%,批间变异系数($CV_{批间}$)1.17%～1.40%,总变异系数(CV)为 1.40%～1.83%;准确度:与标准品比较,相对偏差为 0.35%～0.41%;灵敏度:对血清 HBV-DNA 浓度大于或等于 4×10^3 IU/mL 的标本检出率为 100%,对血清 HBV-DNA 浓度为 4×10^2 IU/mL的标本检出率为 90%;线性:相关系数为 0.999,直线回归方程为 $Y=1.007\ 3X-0.048\ 7$;Roche 480 和 Roche LightCycler 1.2(Roche1.2)2 台 PCR 仪的可比性:$P=0.113$,相关系数为 0.995,线性比对直线回归方程为 $Y=0.923\ 0X+0.339\ 7$。**结论**　Roche 480 具有良好的精密度、准确度、灵敏度、线性,与 Roche 1.2 检测系统有良好的相关性,能够满足临床需要。

关键词:聚合酶链反应;　实验室;　性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.02.039　　**文献标识码:**A　　**文章编号:**1673-4130(2013)02-0207-03

随着 PCR 技术的不断发展,该项技术已广泛应用于生命科学的各个领域。HBV-DNA 检测对乙型肝炎的临床诊断和

△　通讯作者,E-mail:tz5331@163.com。