

valuation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach: EP6-A [S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.

[14] 中华人民共和国卫生部. 临床化学设备线性评价指南: WS/T408-2012 [S]. 中华人民共和国卫生部, 2012.

[15] ZHANG X M, WANG W J, WEN D M, et al. Analytical

• 短篇论著 •

## HBV-DNA 实时荧光定量 PCR 检测试剂盒性能验证<sup>\*</sup>

杨佳佳, 张彦懿, 刘华伟, 黄江渝<sup>△</sup>

(成都市第三人民医院检验科, 成都 610031)

**摘要:** 目的 基于 ISO15189:2012 要求, 对一种国产 HBV-DNA 实时荧光定量聚合酶链反应检测试剂盒的性能参数进行验证, 以评价其是否可应用于临床检测。方法 依据《医学实验室质量和能力认可准则》相关文件对试剂盒的正确度、精密度、检测下限、线性范围、特异度和抗干扰能力进行性能验证。结果 试剂盒正确度符合要求( $<\text{靶值对数值} \pm 0.4$ )。低值和高值的批内精密度 CV 为 4%、0.65%, 标准差(s)为 0.19、0.04; 低值和高值的中间精密度 CV 为 4.75%、1.33%, s 为 0.17、0.09。HBV-DNA 定量的检测下限定为 100 IU/mL。线性范围为  $1.00 \times 10^2 \sim 5.00 \times 10^8$  IU/mL。特异度符合要求。血红蛋白浓度不大于 28 g/dL、总胆红素浓度不大于 30 mg/dL、三酰甘油浓度不大于 3 200 mg/dL, 对检测结果没有影响( $<\text{靶值对数值} \pm 0.4$ )。结论 试剂盒的性能参数符合厂家声明, 可以应用于临床检测工作。

**关键词:** 乙型肝炎病毒 DNA; 实时荧光定量聚合酶链反应; 试剂盒; 性能验证

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.02.028

**文章编号:** 1673-4130(2018)02-0213-05

**中图法分类号:** R440

**文献标识码:** B

我国是乙型肝炎病毒感染的高发国家, 携带率约为 10%, 慢性乙型肝炎患者 2 000 万至 4 000 万例, 乙型肝炎病毒 DNA 荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测是诊断慢性 HBV 感染、选择抗病毒治疗及判断抗病毒疗效的重要指标<sup>[1-4]</sup>。故, HBV-DNA 定量检测试剂盒性能符合要求具有重要意义。根据《医学实验室质量和能力认可准则》(ISO15189: 2012, CNAS-CL36)5.5.1.2 定量检测方法和程序的分析性能验证内容至少应包括正确度、精密度、线性、测量和/或可报告范围、抗干扰能力等<sup>[5-6]</sup>。本实验室以 CNAS-CL36 为依据, 制定了 HBV-DNA 定量检测试剂盒性能验证方案, 包括正确度、精密度、检测限、线性范围、特异度和抗干扰能力验证。

### 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 用于正确度验证的二级标准物质购自广州邦德盛生物科技有限公司(以下简称 BDS), 其量值可溯源至国家一级标准物质(GBW09150)。用于批内精密度验证的质控物购自达安基因, 用于中间精密度验证的质控物购自康彻思坦。用于检测限(灵敏度)验证, 线性范围验证, 特异度验证, 抗干扰能力验证的二级标准物质和参考品购自 BDS。

**1.2 仪器与试剂** LC COBAS Z480 荧光定量 PCR

performances and heart failure research of the BNP and NT proBNP assays on the cobas e601 and ADVIA centaur[J]. Clin Lab, 2013, 59(7/8): 715-725.

(收稿日期:2017-08-20 修回日期:2017-10-28)

仪(瑞士罗氏公司)。试剂购自中山大学达安基因股份有限公司的乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法), 批号为 2016001, 按试剂盒说明书进行操作。

#### 1.3 方法

**1.3.1 正确度验证** 在测定范围内选择 5 个已知浓度的样本, 其中包括 4 个二级标准物质样本和 1 个阴性样本进行正确度检测。计算测量平均值与靶值偏差, 按照国家卫计委临床检验中心的判断标准, 结果在小于靶值对数值  $\pm 0.4$  为通过。

**1.3.2 精密度验证** 选择达安基因乙型肝炎病毒室内质控物两个浓度( $10^4$ 、 $10^6$ )进行批内精密度检测, 同一天每个样本重复提取 20 次, 检测 20 次。选择康彻思坦室内质控物两个浓度( $10^3$ 、 $10^6$ )进行中间精密度检测, 质控品随样本检测日一起检测, 检测 20 次。计算低、高两浓度样本对数值变异系数(CV)和标准差(s), 应符合检测浓度对数值的  $CV < 5\%$ , 批内精密度  $s \leq 3/5 \text{TEa}(0.24)$ , 中间精密度  $s \leq 4/5 \text{TEa}(0.32)$ , 反之试剂性能评估不通过。

**1.3.3 检测限(灵敏度)验证** 以 HBV 二级标准物质, 编号: GBW(E)090664 作为基础样本, 用配套的 DNA 样品稀释液进行倍比稀释, 按照试剂说明书要

\* 基金项目: 四川省卫生和计划生育委员会科研课题(16PJ049)。

△ 通信作者, E-mail: jiangyuhuang@163.com。

本文引用格式: 杨佳佳, 张彦懿, 刘华伟, 等. HBV-DNA 实时荧光定量 PCR 检测试剂盒性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(2): 213-217.

求,稀释后的样本浓度分别为 100、30 IU/mL,每份样本使用 200  $\mu$ L 进行检测,每个浓度重复提取检测 30 次,分析各浓度标本的检出率(即阳性率),实验结果 30 次检测结果符合阳性判定标准,以检出率为 100% 作为判断标准,反之试剂性能评估不通过。

**1.3.4 线性范围验证** BDS 提供的性能参考品 (L0~L5) 浓度分别为  $1.00 \times 10^8$ ,  $5.00 \times 10^7$ ,  $2.00 \times 10^6$ ,  $2.00 \times 10^5$ ,  $2.00 \times 10^4$ ,  $2.00 \times 10^3$  IU/mL, 并用配套的 DNA 样品稀释液将  $2.00 \times 10^3$  IU/mL 稀释到  $2.00 \times 10^2$  和  $1.00 \times 10^2$  IU/mL, 另有临床样本  $5.00 \times 10^8$  IU/mL, 按浓度由低到高标记为 1~9, 每一浓度样本重复检测 3 次。根据《中华人民共和国医药行业标准 YY/T 1182-2010 核酸扩增检测用试剂盒》计算每一浓度的对数值和 Ct 均值,以浓度的对数值均值为 Y, Ct 均值为 X, 进行线性拟合,计算其线性相关系数 (r),结果应符合的线性相关系数  $|r| \geq 0.980$  要求,反之试剂性能评估不通过。

**1.3.5 特异度验证** 选择 10 份含有常见 B、C1、C2、C3 等 HBV 不同型别样本 (P1~P10) 和 10 份 HBV 阴性样本 (N1、N2 为 HCV 阳性标本; N3、N4 为 HC-MV 阳性标本; N5、N6 为 EBV 阳性标本; N7、N8 为

HSV2 阳性标本; N9、N10 为 HBV 阴性标本; 10 份阴性样本做复管检测), 分别检测乙肝核酸量, 要求阳性标本结果全为阳性, 阴性标本结果全为阴性, 否则试剂性能评估不通过。

**1.3.6 抗干扰能力验证** BDS 提供的干扰物参考品 G1 含血红蛋白 (28 g/dL), G2 含总胆红素 (30 mg/dL), G3 含三酰甘油 (3 200 mg/dL), 对比的样本 B1 为 GBW(E)090665, G1、G2、G3 和 B1 中 HBV-DNA 浓度均为  $2.00 \times 10^4$  IU/mL; 将 4 份样本分别稀释 2 倍和 4 倍, 加上原样得到总共 12 份带检样本。按照卫生部室间质评要求标准(靶值对数值  $\pm 0.4$ ) 进行评估。

**1.4 统计学处理** 所有数据先进行以 10 为底的对数转换, 然后进行统计学分析。采用 SPSS16.0 软件对数据进行分析,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 正确度评估结果** HBV-DNA 实时荧光定量检测试剂盒正确度评估结果见表 1。阴性样本本室三次结果、靶值均为 0 IU/mL, 正确度评估结果为通过; 其余 4 个阳性样本正确度评估结果全部通过, 结果符合要求。

表 1 HBV-DNA 正确度评估结果

样本编号	本室结果		靶值		评价结果
	浓度(IU/mL)	对数	浓度(IU/mL)	对数	
GBW(E)090664	$1.02 \times 10^3$	3.01	$2.10 \times 10^3$	$3.32 \pm 0.4$	通过
	$2.37 \times 10^3$	3.37			
	$2.79 \times 10^3$	3.45			
GBW(E)090665	$3.62 \times 10^4$	4.56	$2.10 \times 10^4$	$4.32 \pm 0.4$	通过
	$2.92 \times 10^4$	4.47			
	$3.19 \times 10^4$	4.50			
GBW(E)090666	$2.71 \times 10^5$	5.43	$2.10 \times 10^5$	$5.32 \pm 0.4$	通过
	$2.75 \times 10^5$	5.44			
	$2.18 \times 10^5$	5.34			
GBW(E)090667	$3.07 \times 10^6$	6.49	$2.10 \times 10^6$	$6.32 \pm 0.4$	通过
	$2.88 \times 10^6$	6.46			
	$2.86 \times 10^6$	6.46			

**2.2 精密度评估结果** 批内精密度评估结果见表 2, 中间精密度评估结果见表 3。计算得出  $10^4$  样本组批内 CV 为 4% (该组中 3.31 为离群值, 剔除 3.31),  $s$  为 0.19, 均值为 4.79;  $10^6$  样本组批内 CV 为 0.65%,  $s$  为 0.04, 均值为 6.84。而  $10^3$  质控组中间 CV 为 4.75%,  $s$  为 0.17, 均值为 3.54,  $10^6$  质控组中间 CV 为 1.33%,  $s$  为 0.09, 均值为 6.99。可见不同浓度的 CV 均小于 5%, 批内精密度  $s$  小于或等于  $3/5$  TEa (0.24), 中间精密度  $s$  小于或等于  $4/5$  TEa (0.32), 均在可接受的范围内。

**2.3 检测限(灵敏度)评估结果** 根据实验结果, 100 IU/mL 的定量检测灵敏度参考品, 测量 30 个, 检出 30 个, 平均检测值 99.38 IU/mL, 符合试剂盒的要求

标准。30 IU/mL 的检测下限, 测量 30 个, 检出 30 个, 平均检测值 17.34 IU/mL。见表 4。

表 2 HBV-DNA 批内精密度评估结果

$10^4$ 样本组		$10^6$ 样本组	
浓度(IU/mL)	对数	浓度(IU/mL)	对数
$7.36 \times 10^4$	4.87	$6.22 \times 10^6$	6.79
$9.02 \times 10^4$	4.96	$7.16 \times 10^6$	6.85
$7.06 \times 10^4$	4.85	$6.28 \times 10^6$	6.80
$7.91 \times 10^4$	4.90	$6.76 \times 10^6$	6.83
$6.97 \times 10^4$	4.84	$7.04 \times 10^6$	6.85
$3.74 \times 10^4$	4.57	$5.80 \times 10^6$	6.76
$2.02 \times 10^3$	3.31	$7.00 \times 10^6$	6.85
$9.26 \times 10^4$	4.97	$6.29 \times 10^6$	6.80
$3.30 \times 10^4$	4.52	$6.09 \times 10^6$	6.78

续表 2 HBV-DNA 批内精密度评估结果

10 <sup>4</sup> 样本组		10 <sup>6</sup> 样本组	
浓度(IU/mL)	对数	浓度(IU/mL)	对数
2.81×10 <sup>4</sup>	4.45	6.31×10 <sup>6</sup>	6.80
3.98×10 <sup>4</sup>	4.60	7.11×10 <sup>6</sup>	6.85
4.16×10 <sup>4</sup>	4.62	8.07×10 <sup>6</sup>	6.91
5.70×10 <sup>4</sup>	4.76	6.65×10 <sup>6</sup>	6.82
8.19×10 <sup>4</sup>	4.91	7.36×10 <sup>6</sup>	6.87
8.80×10 <sup>4</sup>	4.94	7.05×10 <sup>6</sup>	6.85
7.56×10 <sup>4</sup>	4.88	6.93×10 <sup>6</sup>	6.84
2.40×10 <sup>4</sup>	4.38	8.44×10 <sup>6</sup>	6.93
9.44×10 <sup>4</sup>	4.97	7.08×10 <sup>6</sup>	6.85
7.90×10 <sup>4</sup>	4.90	7.92×10 <sup>6</sup>	6.90
8.15×10 <sup>4</sup>	4.91	5.96×10 <sup>6</sup>	6.78

表 3 HBV-DNA 中间精密度评估结果

10 <sup>3</sup> 质控组		10 <sup>6</sup> 质控组	
浓度(IU/mL)	对数	浓度(IU/mL)	对数
1.87×10 <sup>3</sup>	3.27	9.05×10 <sup>6</sup>	6.96
3.34×10 <sup>3</sup>	3.52	1.17×10 <sup>7</sup>	7.07
2.99×10 <sup>3</sup>	3.48	9.88×10 <sup>6</sup>	6.99
6.23×10 <sup>3</sup>	3.79	1.42×10 <sup>7</sup>	7.15
2.70×10 <sup>3</sup>	3.43	1.30×10 <sup>7</sup>	7.11
2.89×10 <sup>3</sup>	3.46	8.15×10 <sup>6</sup>	6.91
1.74×10 <sup>3</sup>	3.24	7.83×10 <sup>6</sup>	6.89
3.08×10 <sup>3</sup>	3.49	1.09×10 <sup>7</sup>	7.04
6.33×10 <sup>3</sup>	3.80	1.51×10 <sup>7</sup>	7.18
3.60×10 <sup>3</sup>	3.56	8.65×10 <sup>6</sup>	6.94
5.80×10 <sup>3</sup>	3.76	7.75×10 <sup>6</sup>	6.89
1.98×10 <sup>3</sup>	3.30	8.54×10 <sup>6</sup>	6.93
4.89×10 <sup>3</sup>	3.69	1.28×10 <sup>7</sup>	7.11
3.65×10 <sup>3</sup>	3.56	8.84×10 <sup>6</sup>	6.95
2.90×10 <sup>3</sup>	3.46	9.04×10 <sup>6</sup>	6.96
5.38×10 <sup>3</sup>	3.73	1.15×10 <sup>7</sup>	7.06
3.15×10 <sup>3</sup>	3.50	8.13×10 <sup>6</sup>	6.91
3.20×10 <sup>3</sup>	3.51	7.84×10 <sup>6</sup>	6.89
3.21×10 <sup>3</sup>	3.51	8.25×10 <sup>6</sup>	6.92
5.66×10 <sup>3</sup>	3.75	9.00×10 <sup>6</sup>	6.95

表 4 HBV-DNA 检测限(灵敏度)评估结果

HBV-DNA 样本浓度	检验数 (n)	平均检测值 (IU/mL)	检出数 (n)	检出率 (%)
100 IU/mL	30	99.38	30	100
30 IU/mL	30	17.34	30	100

**2.4 线性范围评估结果** HBV-DNA 线性范围评估结果见表 5, 计算每一浓度的对数值和 Ct 均值, 以浓度的对数值均值为 Y, Ct 均值为 X, 进行线性拟合, 计算其线性相关系数(r), 结果见图 1。根据三组平行管测定数据的定量平均值和样本靶值, 得出两组数据的相关系数为 0.999, 说明实测结果和理论样本靶值差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。由于线性相关系数  $|r| \geq 0.980$ , 因此本实验室 HBV-DNA 定量测定验证

的线性范围为  $1.00 \times 10^2 \sim 5.00 \times 10^8$  IU/mL。

表 5 HBV-DNA 线性范围评估结果

样本靶值 (IU/mL)	测量结果 1 (IU/mL)	测量结果 2 (IU/mL)	测量结果 3 (IU/mL)	浓度均值 (IU/mL)	对数均值
1.00×10 <sup>2</sup>	6.99×10 <sup>1</sup>	3.12×10 <sup>2</sup>	8.32×10 <sup>1</sup>	1.55×10 <sup>2</sup>	2.09
2.00×10 <sup>2</sup>	2.46×10 <sup>2</sup>	1.97×10 <sup>2</sup>	1.73×10 <sup>2</sup>	2.05×10 <sup>2</sup>	2.31
2.00×10 <sup>3</sup>	9.65×10 <sup>2</sup>	1.79×10 <sup>3</sup>	1.76×10 <sup>3</sup>	1.51×10 <sup>3</sup>	3.16
2.00×10 <sup>4</sup>	2.74×10 <sup>4</sup>	2.62×10 <sup>4</sup>	2.28×10 <sup>4</sup>	2.55×10 <sup>4</sup>	4.40
2.00×10 <sup>5</sup>	2.36×10 <sup>5</sup>	2.12×10 <sup>5</sup>	1.81×10 <sup>5</sup>	2.10×10 <sup>5</sup>	5.32
2.00×10 <sup>6</sup>	2.73×10 <sup>6</sup>	2.63×10 <sup>6</sup>	1.99×10 <sup>6</sup>	2.45×10 <sup>6</sup>	6.38
5.00×10 <sup>7</sup>	4.96×10 <sup>7</sup>	4.85×10 <sup>7</sup>	4.59×10 <sup>7</sup>	4.80×10 <sup>7</sup>	7.68
1.00×10 <sup>8</sup>	1.02×10 <sup>8</sup>	1.12×10 <sup>8</sup>	5.73×10 <sup>7</sup>	9.04×10 <sup>7</sup>	7.94
5.00×10 <sup>8</sup>	3.84×10 <sup>8</sup>	3.58×10 <sup>8</sup>	4.00×10 <sup>8</sup>	3.81×10 <sup>8</sup>	8.58

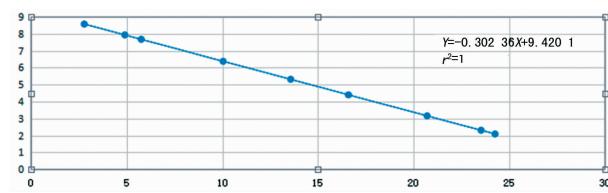


图 1 HBV-DNA 线性范围

**2.5 特异度评估结果** HBV-DNA 阳性样本特异度评估结果见表 6, P1~P10 均为阳性结果。N1~N10 HBV-DNA 荧光定量结果均为 0 IU/mL。本试剂盒可以检出常见的 HBV B、C1、C2、C3 型样本, 对临床阴性样本也能正确区分, 测定时与 HCV、HCMV、EBV、HSV2 等病原体无交叉反应, 对结果不会产生影响, 试剂满足临床特异度需求。

表 6 HBV-DNA 特异度评估结果

标本	HBV-DNA 荧光定量结果(IU/mL)
P1	1.63×10 <sup>6</sup>
P2	1.75×10 <sup>5</sup>
P3	1.60×10 <sup>6</sup>
P4	1.08×10 <sup>6</sup>
P5	5.98×10 <sup>5</sup>
P6	1.28×10 <sup>6</sup>
P7	2.67×10 <sup>5</sup>
P8	5.70×10 <sup>5</sup>
P9	1.75×10 <sup>6</sup>
P10	1.74×10 <sup>6</sup>

**2.6 抗干扰能力评估结果** HBV-DNA 抗干扰能力评估结果, 干扰物参考品原液(G1 含血红蛋白、G2 含总胆红素、G3 含三酰甘油)、干扰物稀释两倍、干扰物稀释四倍评估结果分别见表 7~9。评估结果显示, 血红蛋白浓度不大于 28 g/dL、总胆红素浓度不大于 30 mg/dL、三酰甘油浓度不大于 3 200 mg/dL, 对检测结果没有明显影响。

表7 HBV-DNA 抗干扰原液评估结果

对比项目	靶值	B1	G1(28 g/dL)	G2(30 mg/dL)	G3(3 200 mg/dL)	结论
浓度(IU/mL)	$2.00 \times 10^4$	$2.65 \times 10^4$	$1.28 \times 10^4$	$1.67 \times 10^4$	$9.30 \times 10^3$	通过
对数值	4.30	4.42	4.11	4.22	3.97	通过

表8 HBV-DNA 抗干扰稀释两倍评估结果

对比项目	靶值	B1	G1(14 g/dL)	G2(15 mg/dL)	G3(1 600 mg/dL)	结论
浓度(IU/mL)	$1.00 \times 10^4$	$1.47 \times 10^4$	$7.95 \times 10^3$	$9.37 \times 10^3$	$6.79 \times 10^3$	通过
对数值	4.00	4.17	3.90	3.97	3.83	通过

表9 HBV-DNA 抗干扰稀释四倍评估结果

对比项目	靶值	B1	G1(7 g/dL)	G2(7.5 mg/dL)	G3(800 mg/dL)	结论
浓度(IU/mL)	$5.00 \times 10^3$	$4.30 \times 10^3$	$5.49 \times 10^3$	$5.34 \times 10^3$	$3.87 \times 10^3$	通过
对数值	3.70	3.63	3.74	3.73	3.59	通过

### 3 讨 论

CNAS文件要求,新试剂和新项目必须进行性能验证,并明确了定量检测方法和程序的分析性能验证的必要内容。本实验室采用瑞士罗氏公司COBAS Z480荧光定量PCR仪,此PCR仪可采用开放试剂,试剂采购于中山大学达安基因股份有限公司的乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法)。为确认试剂盒的性能参数是否符合要求,特进行性能验证,通过便可用于临床标本检测。

正确度是测量均值与真值的接近程度,反映测量结果中系统误差大小的程度。根据CLISEP15-A2的要求,本实验室采用能溯源至国家一级标准物质的二级标准物质进行正确度的验证,结果符合要求<sup>[7]</sup>。精密度是反映检测结果的重复性的指标,分为批内精密度和中间精密度,均采用二级标准物质进行验证。结果显示不同浓度的CV<5%,批内精密度s≤3/5TEa(0.24),中间精密度s≤4/5TEa(0.32),均在可接受的范围内。

根据检测下限的实验结果,100 IU/mL的定量检测参考品的平均检测值为99.38 IU/mL,符合试剂盒的要求标准,故此试剂盒的定量检测下限为100 IU/mL。而30 IU/mL的定量检测参考品的平均检测值为17.34 IU/mL,离理论值差距较大。其原因可能是此浓度已不在线性范围之内,故定量浓度有所偏差。对于30 IU/mL这样低浓度的样本,30个数据全部检测出,按照试剂说明书性能以及临床结果判定的方便,将HBV-DNA定量的分析灵敏度定为30 IU/mL,符合试剂盒的要求标准。

线性范围指标本在没有进行任何预处理的情况下可以准确检测出待测物的浓度范围。EP6-A2指出验证线性范围的样本应覆盖整个线性范围<sup>[8]</sup>。试剂盒的线性范围为 $1.00 \times 10^2 \sim 5.00 \times 10^8$  IU/mL。BDS提供的性能参考品(L0~L5)浓度范围分别为 $1.00 \times 10^8$ 、 $5.00 \times 10^7$ 、 $2.00 \times 10^6$ 、 $2.00 \times 10^5$ 、 $2.00 \times 10^4$ 、 $2.00 \times 10^3$  IU/mL,均为二级标准物质,用DNA样品稀释液将 $2.00 \times 10^3$  IU/mL稀释到 $2.00 \times 10^2$ 和

$1.00 \times 10^2$  IU/mL。但是最高浓度为 $1.00 \times 10^8$  IU/mL,本实验室临床样本有 $5.00 \times 10^8$  IU/mL,并且与通过ISO15189的实验室做过比对,结果在±0.4对数值内,故以此临床标本为线性范围的上限, $r^2$ 约等于1,证实检测系统在这个浓度范围呈线性,也进一步证实临床样本浓度为 $5.00 \times 10^8$  IU/mL的可靠性。故认为试剂盒线性范围符合厂家声明。

试剂盒对临床阴性样本能正确区分,与HCV、HCMV、EBV、HSV2等病原体无交叉反应,满足临床特异度需求。抗干扰能力是检测HBV-DNA试剂盒特异度的另一体现,试剂盒声明血红蛋白浓度不大于28 g/dL、总胆红素浓度不大于30 mg/dL、三酰甘油浓度不大于3 200 mg/dL,对检测结果不影响。故本实验室选择分别含血红蛋白(28 g/dL)、总胆红素(30 mg/dL)、三酰甘油(3 200 mg/dL),HBV-DNA浓度均为 $2.00 \times 10^4$  IU/mL的干扰物参考品进行抗干扰能力验证。结果显示,样本中血红蛋白浓度不大于28 g/dL、总胆红素浓度不大于30 mg/dL、三酰甘油浓度不大于3 200 mg/dL,对HBV-DNA检测结果没有明显的影响,与研究报道一致<sup>[9-10]</sup>。

综上所述,HBV-DNA定量检测试剂盒性能指标包括正确度、精密度、检测限、线性范围、特异度和抗干扰能力等均符合要求,可以用于临床检测。

### 参考文献

- [1] LAPINSKI T W, POGORZELSKA J, FLISIAK R. HBV mutations and their clinical significance[J]. Adv Med Sci, 2012, 57(1): 18-22.
- [2] 李金明. 实时荧光PCR技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2007: 190-198.
- [3] WANG L, PAN Y, ZHANG K, et al. A 10-year human hepatitis B virus nucleic acid test external quality assessment in China: continual improvement[J]. Clin Chim Acta, 2013, 425(1): 139-147.
- [4] 魏留柱. 乙型肝炎病毒核酸实时荧光定量PCR检测在临床诊断中的价值[J]. 转化医学电子杂志, 2015, 2(1): 134-135.

[5] 王利新,潘琳,魏军,等.医学实验室质量管理体系研究[J].检验医学与临床,2013,10(6):754-756.

[6] 徐淑贞,陈明涛,姚铁敏.浅谈医学实验室检测系统的性能验证[J].中医药管理杂志,2011,20(12):1154-1155.

[7] Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification of performance for precision and trueness; approved guideline-second edition: EP15-A2[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2005.

[8] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of the linearity of quantitative analytical methods;

• 短篇论著 •

EP6-A2[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.

[9] 郝维敏,刘杰,杨晓春.标本因素对荧光定量 PCR 检测 HBV DNA 的影响[J].蚌埠医学院学报,2011,36(3):295-297.

[10] 于倩,杜菁,王蓓.溶血和脂血两种因素对 HBV-DNA 实时荧光定量 PCR 方法的影响[J].中外医学研究,2015,13(6):58-59.

(收稿日期:2017-06-20 修回日期:2017-09-28)

## 1 868 例孕妇羊水细胞染色体检测指征及结果分析<sup>\*</sup>

刘明艳,徐贵江,李茜,胡苏伟<sup>△</sup>

(扬州大学医学院附属医院扬州市妇幼保健院,江苏扬州 225002)

**摘要:**目的 探讨孕妇孕中期羊水细胞染色体检测指征及核型分析结果在产前诊断中的应用价值。

**方法** 收集该院 2015—2016 年 1 868 例进行孕中期羊水细胞 G 显带染色体核型分析检测的孕妇病例资料,对孕妇的产前诊断指征及核型分析结果进行回顾性分析。**结果** 2016 年检测指征前 3 位由高到低依次为高龄孕妇、母血清学产前筛查高危、超声筛查高危。2015 年检测指征前 3 位由高到低依次为母血清学产前筛查高危、高龄孕妇、无创检查阳性。2016 年检测指征以高龄孕妇为主。羊水细胞核型分析结果显示,1 868 例孕妇中共检出 79 例胎儿染色体核型异常,异常率为 4.23%。2015、2016 年高龄孕妇染色体核型异常率均超过母血清学产前筛查高危孕妇染色体核型异常率,染色体非整倍体为最主要的异常核型。**结论** 孕中期羊水细胞染色体检测可降低新生儿出生缺陷率,对产前诊断、优生优育具有重要的意义。

**关键词:**产前诊断; 羊膜腔穿刺; 染色体核型

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.02.029

**文章编号:**1673-4130(2018)02-0217-03

**中图法分类号:**R714.5

**文献标识码:**B

我国每年出生缺陷发生率占出生人口总数的 4%~6%,全世界每年有 500 多万出生缺陷儿,特别是“二孩政策”放开后,高龄妊娠增多。染色体疾病是最常见的出生缺陷疾病,诊断染色体异常最常用的方法是孕中期羊水细胞染色体检测。孕妇在孕中期进行羊水细胞遗传学检测,具有检测结果准确的优点,可及早发现染色体异常,因此在临幊上被广泛应用<sup>[1-2]</sup>。本文回顾性分析 2015—2016 年共计 1 868 例进行孕中期羊水细胞染色体检测孕妇的病历资料,对产前诊断指征及核型分析结果进行统计分析。现将结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2015 年 1 月至 2016 年 12 月于本院进行羊水细胞染色体检测的孕妇共 1 868 例,年龄 18~34 岁 1 057 例,35~48 岁 811 例,孕周为 19~23 周。孕妇均签署知情同意书后行羊膜腔穿刺术。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本采集** 确定孕周后,在超声引导下,选择

合适的进针位置,穿刺针通过孕妇腹壁进入羊膜腔,先抽取 2 mL 羊水丢弃,更换注射器抽取 20 mL 羊水,分别注入 2 个 15 mL 无菌离心管中。

**1.2.2 羊水细胞培养** 抽取的羊水以 1 200 r/min 离心 8 min,弃去上清液,留取 4 mL 混匀细胞悬液,加入 4 mL 细胞培养液,移入平底细胞培养瓶,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养 7 d,继续培养观察到有 6 个克隆岛以上,镜下较多视野有闪亮细胞,即可加入秋水仙素继续培养 45 min 后进行收获、制片、常规 G 显带,计数 20 个细胞分裂相,至少分析 5 个核型图。

### 2 结 果

**2.1 羊水细胞培养成功率** 外观正常羊水 1 846 例,胎粪样羊水 1 例,血性羊水 21 例。羊水细胞有 8 例培养失败,成功率为 99.57%。

**2.2 羊水细胞染色体检测指征** 2016 年高龄孕妇构成比(46.37%)高于母血清学产前筛查高危孕妇构成比(45.26%);2015 年母血清学产前筛查高危孕妇构

\* 基金项目:江苏省妇幼健康科研项目(F201672);扬州市重点研发计划社会发展项目(YZ2016064)。

△ 通信作者,E-mail:husuwei2004@126.com。

本文引用格式:刘明艳,徐贵江,李茜,等.1 868 例孕妇羊水细胞染色体检测指征及结果分析[J].国际检验医学杂志,2018,39(2):217-219.