

实时荧光定量聚合酶链反应检测乙型肝炎病毒 DNA 室内质控累积数据的评价

祁金友, 樊 卫(江苏省淮安市楚州医院检验科 223200)

【摘要】 目的 对实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测乙型肝炎病毒(HBV)DNA 室内质控累积的数据进行评价。**方法** 用 Taqman 实时荧光定量 PCR 法检测 2010 年 1~12 月两个批号的质控血清 HBV DNA, 计算每次阳性质控结果的常用对数、标准曲线的斜率、截距和相关系数(r)及相关结果的均值($\bar{x}$)、标准差(s)和变异系数(CV)。**结果** 本室 2010 年测定的室内质控物结果对数的累计数据 $\bar{x} \pm 2s$ 范围为 4.470~5.429, 在参考范围内, 符合要求。**结论** 本实验室采用 Taqman 实时荧光定量 PCR 法检测 HBV DNA 实验中, 选用的质控方法和质控品稳定性良好, 能可靠有效地为临床提供准确的结果。

【关键词】 聚合酶链反应; 室内质控; 相关系数; 斜率; 截距
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.15.027 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)15-1845-02

Evaluation of cumulated data of indoor quality control for HBV-DNA by FQ-PCR QI Jin-you, FAN Wei (Department of Clinical Laboratory, Chuzhou Hospital, Huaian, Jiangsu 223200, China)

【Abstract】 Objective To evaluate cumulated data of indoor quality control for HBV-DNA by real-time fluorescent quantitative PCR (FQ-PCR). **Methods** Serum HBV DNA from January 2010 to December 2010 was detected by FQ-PCR. Results of positive control mean value ($\bar{x}$), standard deviation (s) and coefficient (r) of variability (CV) of slope rate, intercept and correlation coefficient of standard curve were calculated. **Results** The logarithm 's $\bar{x} \pm 2s$ of cumulated data of indoor quality control for 2010 was all from 4.470-5.429 according with reference range. **Conclusion** The product and the method are as good as positive indoor quality control for clinic appliance by FQ-PCR.

【Key words】 polymerase chain reaction; indoor quality control; correlation coefficient; slope rate; intercept

实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)作为分子生物学的一种检测技术, 凭其高度的敏感性与特异性现已广泛应用于临床^[1]。这一检测技术的出现使临床对抗病毒治疗疗效的判断达到了病毒核酸的定量水平, 有助于监测患者的疗效^[2]。实时荧光定量 PCR 是目前核酸定量检测较为理想和便捷的方法之一, 但其结果受模板浓度及扩增反应体系的批间差异影响较大^[3], 因此良好的质控方法和质控品对结果的稳定性和可靠性起着至关重要的作用。2010 年采用中山大学达安基因股份有限公司生产的乙型肝炎病毒(HBV)DNA 分子生物学室内质控物, 对 HBV DNA 检测进行累积数据评价, 就 2010 年 1~12 月两个批号的质控血清 HBV DNA 检测结果分析如下。

1 材料与方法

1.1 试剂盒和室内质控物 均购自中山大学达安基因股份有限公司。

1.2 仪器 ABI 公司生产的 ABI Prism 7000。

1.3 试验方法

1.3.1 质控物保存 于 -20℃, 使用前充分复溶, 按照血清样本对待, 进行核酸的提取和纯化。

1.3.2 取 PCR 反应管, 加入处理后的质控物 4 μL, 8 000 r/min 离心 30 s, 放入仪器样品槽。

1.3.3 循环条件的设置 93℃, 2 min; 93℃ 45 s, 55℃ 60 s, 10 个循环; 93℃ 30 s, 55℃ 45 s, 30 个循环。

1.4 分析方法 采用普通线图 line diagram, 在 EXCEL 里完成数据统计和分析, 计算质控物结果的常用对数、标准曲线的斜率、截距和相关系数(r)及相关结果的均值($\bar{x}$)、标准差(s)和变异系数(CV); 对两个不同批号的质控物相关结果的均值

($\bar{x}$)、标准差(s)和变异系数(CV)采用 SPSS13.0 软件进行 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 2010 年 1~12 月共进行了 105 次检测, 105 次累计数据的分析结果见表 1。

表 1 2010 年 1~12 月质控结果分析

项目	平均数($\bar{x}$)	标准差(s)	变异系数(CV)
质控物结果对数	4.949	0.239	4.84%
相关系数	0.994	0.005	0.51%
斜率	-2.995	0.207	6.91%
截距	31.340	1.000	3.19%

其中, 室内质控物参考值数据如下: 室内质控物结果对数靶值为 4.96, 标准差(s)为 0.32, 变异系数(CV)为 6.45%, $\bar{x} \pm 2s$ 范围为 4.32~5.60。2010 年测定的室内质控物结果对数的累计数据 $\bar{x} \pm 2s$ 范围为 4.470~5.43, 在参考范围内, 符合要求。因为数据过多, EXCEL 生成的散点图无法放置在本文中。105 次结果对数值中的部分结果 Westgard 图见图 1。结果显示均在参考值范围内, 没有超出失控限的点。

2.2 室内质控物两个批号结果的常用对数、标准曲线的斜率、截距和相关系数(r)相对应结果的均值($\bar{x}$)、标准差(s)和变异系数(CV)应用 SPSS13.0 做 χ^2 检验, 检验两个批号之间差异是否存在统计学意义, 以 $P < 0.05$ 为前 50 次和后 55 次结果差异有统计学意义。

表 2 两个批号之间的差异分析

项目	质控物结果对数		相关系数		斜率		截距	
	前 50 次	后 55 次	前 50 次	后 55 次	前 50 次	后 55 次	前 50 次	后 55 次
平均数($\bar{x}$)	4.944	4.954	0.995	0.994	-3.044	-2.950	31.590	31.115
标准差(s)	0.243	0.237	0.004	0.006	0.235	0.166	0.914	1.021
变异系数(CV)	4.92%	4.77%	0.45%	0.56%	7.72%	5.62%	2.89%	3.28%
χ^2	1.778		0.750		0.087		0.002	
P	0.411		0.687		0.958		0.999	

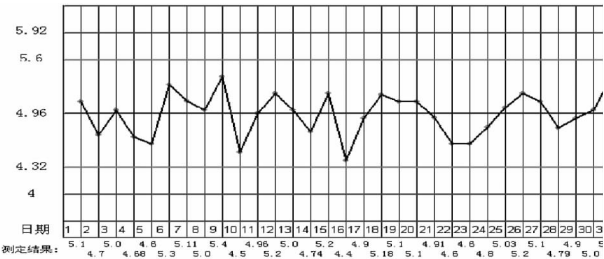


图 1 部分质控结果对数值 Westgard 图

对比室内质控物两个批号结果的常用对数、标准曲线的斜率、截距和相关系数(r)相对应结果的均值($\bar{x}$)、标准差(s)和变异系数(CV),前 50 次和后 55 次结果差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨 论

3.1 在 2010 年所测室内质控物的数据中,有 3 次的非连续超出警戒限 $\bar{x} \pm 2s$ 。经原因排查,在排除了试剂和核酸提取中的问题后^[4],确定为仪器的问题:ABI Prism 7000 仪器若干孔内的清洁度达不到要求,用 95%乙醇清洁后室内质控物达到质量标准。

3.2 本研究结果显示,所有质控结果均在 2 个标准差范围内,并且标准差也符合要求,说明该质控品性质稳定,并且在整个 PCR 过程中,质控品和待检标本同条件检测,这样使得批内重复性和批内精密度都能得到最大限度的保证^[5],从而确保临床测定过程及结果在偏差和精密度方面达到预定的标准^[6]。

3.3 质控动态图波动一般较大,PCR 检测结果容易受到操作人员、试剂质量、提取方法等一系列因素影响,而导致批内和批

间差异较大,重复性较差^[7],所以室内质控尤为重要。在日常进行实时荧光定量 PCR 检测中,可同时用阳性质控的对数结果,标准曲线中的斜率和截距作动态趋势图,联合建立动态监测方法,并以 $\bar{x} \pm 3s$ 为失控限, $\bar{x} \pm 2s$ 为告警限进行室内控制。室内质控数据除作为日常质控外,定期评价累积数据能够检测操作中的长期变化趋势,及时发现测定过程中存在的问题,并且及时解决,为临床提供可靠有效的结果。

参考文献

[1] 任广睦,王英元. 实时荧光定量 PCR 技术的研究进展[J]. 临床医药实践,2007,16(4):243-245.
[2] 何晓清. 实时荧光定量 PCR 室内质控方法的探讨[J]. 现代医院,2010,10(7):116-117.
[3] 黄学忠. Excel2000 散点图用于定量 PCR 室内质控的动态分析[J]. 中华检验医学杂志,2003,26(4):238.
[4] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006.
[5] 李美兰,杨旭,胡莹. HBV-DNA 定量检测的室内质控分析[J]. 海南医学,2010,21(18):107-108.
[6] 郭向华,黄雁翔,靳海英. HBV DNA 荧光定量 PCR 室内质控分析[J]. 中国卫生检验杂志,2010,20(2):437-438.
[7] 苏荣,谢小梅. 实时荧光定量聚合酶链式反应室内质控方法的研究[J]. 南方医科大学学报,2010,30(7):1752-1753.

(收稿日期:2011-01-21)

• 短篇与个案 •

输卵管血肿扭转坏死误诊卵巢囊肿蒂扭转 1 例

惠海英(青海省湟源县人民医院妇产科 812100)

【关键词】 输卵管血肿扭转; 卵巢囊肿蒂扭转; 误诊

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.15.028 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)15-1846-01

作者遇到输卵管血肿扭转坏死误诊卵巢囊肿蒂扭转 1 例,报道如下。

1 临床资料

患者,女,32 岁,因体检时发现下腹部包块 2 个月,伴疼痛 4 d 为主诉,门诊诊断为下腹部包块性质待查:卵巢囊肿蒂扭转或急性盆腔炎,收住妇科。患者 2 个月前体检时发现下腹部包块,在门诊口服消炎药后症状缓解,近 4 d 来下腹部疼痛加重,伴肛门坠胀痛,恶心,胃痛。妇科检查:外阴:经产型,阴道:畅

通,宫颈:肥大、无糜烂、内口有一 0.5 cm×0.5 cm 大小的息肉,宫体:前位,正常大小、活动欠佳、质中,压痛(+),附件:右侧附件区可触及一约 7 cm×8 cm 大小的包块,质硬,压痛(+)活动正常,左侧附件未触及明显异常。B 超提示:盆腔炎、宫颈肥大、右侧卵巢囊肿。血常规示:白细胞 $13.7 \times 10^9/L$,中性粒细胞比例 88%,红细胞 $4.47 \times 10^{12}/L$,血小板 $146 \times 10^9/L$,血红蛋白浓度 124 g/L。(1)初步诊断:①右侧卵巢囊肿蒂扭转;②急性盆腔炎。入院后急诊在硬膜外麻下行(下转第 1848 页)