181516

(OSID)：

# 炎病毒核酸定量试剂检测性能验证

，董洁，梁小燕，赵倩颖，师志云，张玉英，赵玥，赵志军
夏医科大学总医院医学实验中心，宁夏 银川 750004)

炎病毒核酸定量试剂的检测性能。方法：运用 ABI7500 荧光定量 PCR 仪，按别验证其精密度、正确度、线性及可报告范围和抗干扰能力等指标。结果：精密精密度标准差值均小于 3/5TEa，低浓度和高浓度样本的中间精密度标准差值均

亿人 CV 感染病例约 3.5
万例 关的病例约 35 万
例 数感染者因早期没
有 "2#$此外 !丙型肝
炎 约 75%～85%的感
染 !部分患者病情进
展 !严重危及患者生
命 早诊断和早治疗对
已 临床上主要通过检
测 海等免疫和生化指
标 HCV 窗口期较长%
能确及时的诊断"1#$
PCR 复制的直接证据!
技展 !使得核酸定量
检测也被誉为早期
此 !HCV-RNA 定
普及 !但是 !国内用
存在操作繁琐%费
较污染%核酸易丢
试质试剂相比 !国产
性%线性及可报告
一定差距$为此 !在
!基于磁珠法提取
量试剂成为主流$
体系要求 !新试剂
其主要性能 !以证
试剂的实际检测性
文件要求对其进行

医院医学实验中
RNA 临床血浆样
量检测室内质控品
本$
&中科美菱 !YC-
nic !MDF-U548D-
技有限公司 !AS2-
′!涡旋振荡器 &海
!VORTEX-5′!干
!MK200-4′!高速
控股有限公司!
增仪 &美国 ABI!
定量检

国械注准 20153400085′$

5.K!方法

5.K.5!核酸提取!从冰箱中取出试剂 !室温自然解冻 !充分混匀 !向 RNA 提取液 1 中加入 10 μl !HCV 内标 !充分混匀备用 (依次向 1.5 ml 无菌离心管中加入 600 μl !RNA 提取液 1 混合物%200 μl 待测血浆和 100 μl !RNA 提取液 2 !涡旋震荡充分混匀 !室温静置裂解 30 min !瞬时离心 (磁性分离 3 min !缓慢吸弃溶液 (依次加入 600 μl !RNA 提取液 3 和 200 μl !RNA 提取液 4 !涡旋震荡充分混匀 !瞬时离心 !磁性分离 3 min !从底 @ 3

度和 室间质评评价界限
(靶 误差(TEa),以重复
精 ),中间精密度"4/
5T

5.H 年全年卫计委 10 份
H 结果是否在靶值允
许 值的偏倚是否小于
±

5 取高浓度临床血
浆 ml,再用混合阴性
J 不同浓度的系列样
各浓度样本重复检
比值比较,偏倚应"

样定量5!结 进行回归统计,计
范围内,相关系数

ICV-RNA 浓度为 $10^{3!}$IU/ml 的临床阳性血浆样本混合后分成 5 份,一份不加任何干扰物质作为正常组,另四份分别加入终浓度为 2 g/dl 的血红蛋白、28 mg/dl 的总胆红素、3!000 mg/dl 的甘油三酯、40 g/L 的总 IgG 作为干扰组,各组重复检测 3 次取均值,观察干扰组检测结果的对数转换值是否在正常组±0.4log 范围内。

## 1!结!果

1.5!精密度!低浓度和高浓度两浓度水平的临床样本每天检测 3 次,连续检测 5 天的扩增曲线均呈典型、光滑的"S"型曲线,扩增效率高且重复性好,见图 1。定量结果显示,低浓度和高浓度的重复精密度标准差值分别为 0.0758 和 0.0383,均小于 3/5 TEa;同样! %嗒 卵 !

芪蓟L 渔ltQP

表 1 正确度验证结果

! ! ! >)8.%! 1 ! Results of accuracy verification

| 结果对数 | 靶值 | 上下限 | 偏倚 | 结论 |
|---|---|---|---|---|
| 4.31 | 4.20 | 3.80～4.60 | 2.62% | 符合 |
| 3.31 | 3.39 | 2.99～3.79 | −2.36% | 符合 |
| 3.92 | 3.84 | 3.44～4.24 | 2.08% | 符合 |
| 0 | 0 | −1.00～1.00 | 0 | 符合 |
| 0 | 0 | −1.00～1.00 | 0 | 符合 |
| 0 | 0 | −1.00～1.00 | 0 | 符合 |
| 0 | 0 | −1.00～1.00 | 0 | 符合 |
| 0 | 0 | −1.00～1.00 | 0 | 符合 |
| 4.11 | 4.13 | 3.73～4.53 | −0.48% | 符合 |
| 4.68 | 4.64 | 4.24～5.04 | 0.86% | 符合 |

图 1 线性范围验证扩增曲线

olification curve of linear and reportable range

valuation

| 均值 | 理论值 | 偏倚 (%) |
|---|---|---|
| 7.99 | 8.00 | −0.13 |
| 6.86 | 7.00 | −2.00 |
| 5.83 | 6.00 | −2.78 |
| 4.83 | 5.00 | −3.40 |
| 3.84 | 4.00 | −4.00 |
| 2.84 | 3.00 | −5.33 |
| 1.87 | 2.00 | −6.50 |
| 1.55 | 1.70 | −8.82 |

图 K 新型试剂梯度稀释实验线性回归方程

Q'$#'%! K ! Linear regression equation of new reagent gradient dilution experiment

图 L 新型

表 L！抗干扰能力验证结果

！ ！ ！ L！Results of verification of the anti-interference capability

| | 度 | 实测值对数 | | | | 判断标准 | 结论 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 第 1 次 | 第 2 次 | 第 3 次 | 均值 | | |
| N | | 3.84！ | 3.83！ | 3.80！ | 3.82 | / | / |
| N | | 3.80！ | 3.86！ | 3.87！ | 3.84！ | 3.82±0.40 (3.42～4.22) | 符合 |
| | l！ | 3.98！ | 3.86！ | 3.88！ | 3.91 | | 符合 |
| | dl！ | 3.93！ | 3.87！ | 3.91！ | 3.90 | | 符合 |
| | ！ | 3.82！ | 3.90！ | 3.95！ | 3.89 | | 符合 |

K

R 技术检测 HCV-
[9]，但是很多传统
窄、抗干扰能力弱，
而造成 HCV-RNA
感染者的早期诊断

具有 好、正确度高、线性范围 力强等优势，满足ISO 要求，可用于临床样本 推广使用。

参


[1 is: HCV compartmental- r both[J]. Nat Rev Gas- -256.

[ 肝炎中医证候分布规律的 ,28(1):11-13.

[ 型肝炎合并疾病及用药现 6(3):225-232.

. Investigation of the cor- S/Co) with HCV-RNA in ICV) infection[J]. Mik-

V-RNA pcr positivity in rgoing haemodialysis[J]. 30(3):397-400.

stitute. User verifcation ness: approved guideline- 2005.

S-CL02-A009 医学实验 领域的应用说明[S]. 北

[8] NCCLS. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach. Approved guideline NCCLS document EP6-A[S]. Wayne, Pa: NCCLS, 2003.

[9] Sarrazin C, Wedemeyer H, Cloherty G, *et al*. Importance of very early HCV RNA kinetics for prediction of treatment outcome of highly effective all oral direct acting antiviral combination therapy[J]. J Virol Methods, 2015, 214:29-32.

[10] 杨甲，饶慧瑛，魏来.《2018年欧洲肝病学会丙型肝炎治疗推荐意见》介绍及解读[J]. 临床肝胆病杂志，2018，34(8)：1622-1631.

[11] Mikel P, Vasickova P, Kralik P. Methods for preparation of MS2 phage-like particles + $