

[5] 郭桂兰. 异位妊娠早期血清 β -HCG、孕酮联合测定的临床意义[J]. 微创医学, 2009, 4(1): 58-59.
 [6] 李颖嫦, 罗小娟. 血清 HCG 和孕酮动态定量测定在异位妊娠中的临床意义[J]. 中国妇幼保健杂志, 2010, 25(36): 5424-5425.
 [7] 肖洪洋, 孙巧英. 血清孕酮对异位妊娠的诊断价值探讨

[J]. 中国临床医学, 2003, 10(6): 885-886.
 [8] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 1442.

(收稿日期: 2011-06-21)

• 临床研究 •

乙型肝炎病毒 DNA 定量检测临界室内质控品的制备与初步应用

曹季军, 吕心路, 许爱萍, 杨剑虹, 李晓红, 王金湖 (江苏省太仓市第一人民医院检验科 215400)

【摘要】 目的 制备乙型肝炎病毒(HBV)-DNA 定量检测的临界室内质控品并评价其在日常工作中的应用价值。**方法** 留取健康体检者血清作为基质, 稀释阳性标准品, 与临床标本采用实时荧光定量聚合酶链反应一起检测, 根据结果计算出 \bar{x} 、 s 、 CV 值并在 L-J 室内质控图上作图, 应用 Westgard 多规则质控判断方法。**结果** $\bar{x}=3.55 \times 10^4$ copy/mL, $s=0.24$ (对数值), $CV=5.27\%$ 。**结论** 自制 HBV DNA 临界质控品结果稳定, 具有一定实用价值。

【关键词】 乙型肝炎病毒 4; 荧光定量聚合酶链反应; 室内质控品

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.22.042 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)22-2771-02

长期以来, 我国人群一直呈乙型肝炎病毒(HBV)高感染率, 约有 1.3 亿人感染^[1], 因此乙型肝炎的诊断和治疗显得格外重要。随着科学技术的发展和基因检测技术的成熟, HBV DNA 的检测在乙型肝炎的诊断、治疗和疗效观察方面发挥了不可替代的作用, 尤其是实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)技术。但是为了保证检测的质量, 必须要有严格室内质量控制措施。因 PCR 检测结果为指数增长, 目前尚无统一的室内质控品。本实验室根据自身条件, 自行制备了 HBV DNA 室内质控血清, 并进行了初步应用和评价, 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 血清 健康体检者血清, 要求无黄疸、无溶血、无脂血, 丙氨酸氨基转移酶小于 40 U/mL, HBV 表面抗原阴性, HBV DNA 无扩增趋势。

1.1.2 仪器 DA7600 实时荧光定量 PCR 仪, 由中山医科大学达安基因股份有限公司提供。

1.1.3 试剂 荧光定量 PCR 试剂盒、HBV DNA 基因合成阳性标准品均由深圳匹基生物工程有限公司提供。标准品溯源于 HBV DNA 国家参考品, (2001) 国生参字 0009, 阴性、高值和低值质控品均来源于同一批号的试剂盒中。

1.2 方 法

1.2.1 室内质控的设立 试剂空白、阴性、高值、低值、临界阳性。用 Westgard 多规则来评价是否失控。

1.2.2 临界血清的配制 将体检者血清混合, 在 56 °C 30 min 灭活后, 取 20 mL, 加入深圳匹基公司的阳性标准品 (5.0×10^7 copy/mL) 20 μ L, 此时理论值为 5.0×10^4 copy/mL。血清每管 120 μ L, 加入 500 μ L 的离心管中, -20 °C 保存待用。取出 20 份测定其暂定靶值。

1.2.3 2010 年 1~6 月每次测定临床标本时均同时加入试剂空白、阴性、高值、低值、临界值的室内质控。按照测定值换算成对数在 L-J 图上表示出来。

2 结 果

2.1 准确性评价 每次实验试剂空白和阴性均没有扩增, 高值、低值质控均在控。阳性标准品浓度分别为 5×10^7 、 5×10^6 、 5×10^5 、 5×10^4 copy/mL 为阳性结果, 呈线性关系, $r = -0.999$, 结果见图 1。

2.2 质控品均一性评价 每次检测 5 份, 分 4 次完成, 共 20 份自制临界质控血清, $\bar{x} = 3.63 \times 10^4$ copy/mL, $s = 0.23$ (对数值), $CV = 5.04\%$, 质控品均一性较好。

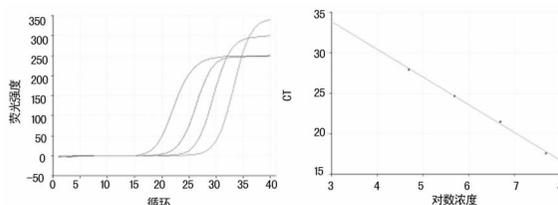


图 1 HBV DNA 标准品扩增曲线和标准曲线图

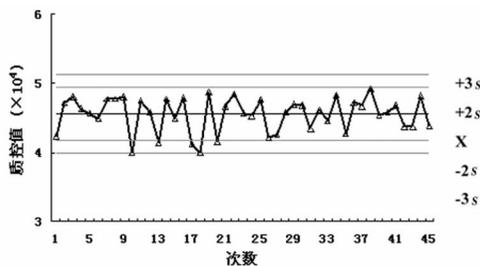


图 2 自制 HBV DNA 室内质控图

2.3 自制 HBV DNA 室内质控图 见图 2。质控图与临床标本一起测定时 $\bar{x} = 3.55 \times 10^4$ copy/mL, $s = 0.24$ (对数值), $CV = 5.27\%$ 。在 Excel 表中绘制出 L-J 质控图, 依据其原则定 $\bar{x} \pm 2s$ 为警告限, $\bar{x} \pm 3s$ 为失控限, 并用粉红色表示警告限, 橘红色表示失控限。将每批所做质控结果取对数值后输入该表中, 将自动显示本次质控结果在质控图中的位置, 判断每次实

验质控结果情况及质控趋势。

3 讨 论

乙型肝炎作为国内最为常见的感染性疾病,抗病毒治疗是其常用的治疗方法。为检测抗病毒治疗的有效性,需要定量检测患者血清(浆)中的 HBV DNA。目前国内使用最普遍的是实时荧光定量 PCR 技术^[2]。为了保证检验结果的有效性,必须通过实验室的室内质量控制和室间质量控制来评价,而实验室的室内质量控制是由实验室工作人员采用一系列的方法,连续评价本实验室工作的可靠程度,控制本实验室的重复性、精密度,确定报告能否发出,是临床检验质量控制的核心。室内质量控制多借助于室内质控血清进行,因此选择室内质控血清尤为关键^[3]。

理想的室内质控样本的条件为:基质与待测标本一致,所含待测物浓度应接近试验的决定水平,有很好的稳定性,靶值或预期结果已定,无已知的生物传染危险性,单批可大量获得^[4]。本室自制的质控品为基因合成的标准品与人混合血清的复合物。该质控物去除了基质效应,而且血清经过了灭活,没有已知的生物传染的危险性。尽管已有直接利用 HBV DNA 阳性血浆(清)为基质配制标准品和质控品的报道^[2,5],但该方法存在着潜在的生物传染可能。其次是待测物浓度方面,李金明等^[6]认为目前定量 PCR 测定 HBV DNA 弱阳性质控样本的拷贝数以 10^5 copy/mL 较为合适。此次实验质控品的浓度为 3.63×10^4 copy/mL,与他们的要求一致。再是本次实验自制的质控品在未加任何防腐剂的情况下半年内能够保持稳定。如图 2 所示,在 45 次测试中没有出现超出 $3s$ 的现象,超出 $2s$ 的有 3 次,基本符合正态分布的要求。最后就是质控品的靶值与预测值及单批可大量获得的问题,该质控品的靶值通过 20 次试验的测定可得暂定靶值,再以暂定靶值为靶值做下个月的质控,而且在配制的过程中,可以计算出他的预测值。本次试验计算的预测值为 5.0×10^4 copy/mL,实际的靶值为 3.63×10^4 copy/mL,差异无统计学意义($P > 0.05$)。关于单批大量

获得的问题,可根据需要自行设定。

根据李金明^[1]所述,临床 PCR 检验的室内质控品要求除了有阴性质控品外,还应有高、中、低值 3 种浓度的质控样本。在本次试验中,只对临界阳性的质控品进行了制备及应用,应用结果可达到临床的要求,同时,也可用同样的方法进行高、中和低值质控品的制备和应用,相信亦能达到满意的结果。

综上所述,本实验室自制的临界阳性质控品能够满足临床实验室的需求。一个好的质控品,不仅为实验室的质量控制提供了基本的保障,而且也节约了实验室的成本。但是如果要把实验室的质量控制做好、做强,单单有好的质控品是不够的,这还需要检验人员对质量控制的思想意识上的强化。只有真正意识到质量的重要性,树立一切为了患者,服务患者的观念,才能够配合好临床,为临床出具更多及时、准确的检验报告。

参考文献

- [1] 李金明. 实时荧光 PCR 技术[M]. 北京:人民军医出版社,2007:190.
- [2] 王露楠,邓巍,申子瑜,等. 乙型肝炎病毒 DNA 标准物质的研究[J]. 中华肝脏病杂志,2007,15(2):107-110.
- [3] 杨继明. 乙肝抗原、抗体免疫测定室内质控品的制备及使用[J]. 实验与检验医学,2009,27(2):201-202.
- [4] 申子瑜,李金明. 临床基因扩增检验技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:145-146.
- [5] 孔令和,钟小萍,高素香. 自制临界血清坚持乙肝病毒 DNA 定量检测室内质控[J]. 江西医学检验,2006,24(1):627-628.
- [6] 李金明,邓巍,王露楠,等. PCR 测定乙型肝炎病毒 DNA 弱阳性质控血清的适用性研究[J]. 临床检验杂志,2000,18(1):6-7.

(收稿日期:2011-06-23)

· 临床研究 ·

高频电波刀电圈切除术诊治宫颈上皮内瘤变的临床观察

陈宁静¹,涂千卿²(1. 重庆现代女子医院 400060;2. 重庆市中山医院 400013)

【摘要】 目的 探讨高频电波刀电圈切除术(LEEP)诊断和治疗宫颈上皮内瘤变(CIN)的临床效果。方法 选择重庆现代女子医院 2008 年 6 月至 2010 年 3 月就诊的 CIN 患者 56 例行 LEEP,观察其疗效。并将术后切除病变组织病理检查结果与该患者术前阴道镜下点状活检结果进行比对。结果 56 例 CIN I ~ II 级患者治愈率 96.43%(54/56)。术前和术后病理诊断结果一致者 33 例,占 58.93%(33/56),术后诊断级别上升者 17 例,占 30.36%(17/56),术后诊断级别下降者 6 例,占 10.71%(6/56),差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 LEEP 用于诊治 CIN 是一种较理想的方法,操作简单、安全、有效、并发症少、微创、痛苦小、不需住院、康复快,值得临床推广应用。

【关键词】 高频电波刀电圈切除术; 宫颈上皮内瘤变; 疗效; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.22.043 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)22-2772-03

宫颈癌是妇女恶性肿瘤中仅次于乳腺癌而居第 2 位的癌症,严重威胁着广大妇女的健康。随着宫颈细胞学检查技术提高,阴道镜下活检及宫颈高频电波刀电圈切除术(LEEP)在宫颈上皮内瘤变(CIN)诊治中的应用,得以早期诊断、早期治疗,有效阻止了宫颈癌前病变发展成为宫颈癌,使宫颈癌的发病率

明显下降^[1]。本文对 2008 年 6 月至 2010 年 3 月在本院门诊行阴道镜下多点活检,诊断为 CIN 的 56 例患者行 LEEP,观察其疗效,并将术后切除病变组织做病理检查与该患者术前宫颈活检结果比对,探讨 LEEP 诊断和治疗 CIN 的效果,现报道如下。