

基于 Probit 回归的核酸检测系统分析灵敏度验证

苏武锦¹ 罗必泰¹ 邱昌文¹ 姜莹¹

[摘要] 目的:基于 Probit 回归,计算核酸血液检测系统所能检测到的分析物最低浓度,以验证核酸检测试剂在血站实验室常规使用中的分析灵敏度与试剂说明书中声明的一致性,保证核酸检测的质量。方法:使用核酸试剂对核酸系列分析灵敏度血清盘进行检测,统计 HBV-DNA、HIV-RNA、HCV-RNA 等每个浓度样本的重复检出率,应用 SPSS 统计学软件的 Probit 模块,计算出每个项目的 95% 检出限。结果:HBV-DNA 的 95% 检出限为 4.568 IU/ml, HIV-RNA 的 95% 检出限为 46.000 IU/ml, HCV-DNA 95% 检出限为 46.600 IU/ml,均优于试剂说明书中声明的 95% 检出限。结论:基于 Probit 回归,使用核酸试剂对核酸系列分析灵敏度血清盘进行检测,能够准确计算出检测项目的 95% 检出限,直观判断实验室分析灵敏度是否在可接受范围之内。

[关键词] Probit 回归;分析灵敏度;血清盘;95% 检出限;核酸检测系统

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2019.02.020

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Sensitivity analysis of nucleic acid detection system based on Probit regression

SU Wujin LUO Bitai QIU Changwen JIANG Ying

(Nanning Blood Center, Nanning, 530003, China)

Abstract Objective: To calculate the lowest concentration of analyte detected by nucleic acid blood test system based on Probit regression, and verify the consistency between the analytical sensitivity of nucleic acid testing reagents in routine use in blood station laboratories and the declaration in reagent specifications to ensure the quality of nucleic acid testing. **Method:** Nucleic acid reagents were used to detect the sensitivity of serum plates for nucleic acid series analysis. The repeated detection rates of HBV-DNA, HIV-RNA, HCV-RNA and other samples were calculated. Using the Probit module of SPSS statistical software, the 95% detection limit of each item was calculated. **Result:** The detection limit of HBV-DNA, HIV-RNA and HCV-DNA was 4.568 IU/ml, 46.000 IU/ml and 46.600 IU/ml respectively, which were all better than the 95% limit stated in the reagent specification. **Conclusion:** Based on Probit regression, nucleic acid reagents can be used to detect the sensitivity of serum plate of nucleic acid series analysis. The detection limit of 95% of the items can be calculated accurately, and the sensitivity of laboratory analysis can be directly judged within the acceptable range.

Key words Probit regression; analysis sensitivity; serum disk; 95% detection limit; nucleic acid detection system

我国《卫生事业发展“十二五”规划》的要求,2015 年底实现采供血机构,血液筛查核酸检测基本覆盖全国,因此,近几年来,核酸检测系统已经成为血站常用检测系统之一。按《血站技术操作规程(2015)》中“血液检测”部分的 4.3 要素规定“核酸检测系统正式投入使用之前,还应进行分析灵敏度验证”。但是,由于核酸检测技术在国内相对于国外还是一种新的血液检测技术,在行业内开展时间相对较短,目前还缺乏一个统一的验证方法。笔者结合核酸实验室工作的需要,基于 Probit 回归对核酸检测系统的分析灵敏度验证方法进行探讨,报告如下。

1 材料与方法

1.1 仪器

新购进的科华核酸血液检测系统 1 套(上海科华生物工程股份有限公司)。

1.2 试剂

配套核酸检测试剂盒(上海科华生物工程股份

有限公司生产的,批号:20160411)。

1.3 评价样本

北京康彻斯坦生物技术有限公司生产的核酸系列分析灵敏度血清盘 1 套(批号:201606006),其中包含 HBV, HIV, HCV 3 种病毒标本,其中 HBV WHO 标准品(10/264:8.50E+05 IU/ml)的 3 个浓度梯度分别为 7.5、5.0、2.5 IU/ml; HIV WHO 标准品(10/152:1.85E+05 IU/ml)的 3 个浓度梯度分别为 75、50、25 IU/ml; HCV WHO 标准品(06/102:2.60E+05 IU/ml)的 3 个浓度梯度分别为 75、50、25 IU/ml。每种病毒每个浓度均有 20 支重复样本,每支 2.0 ml,使用前将血清保存于 -70℃。

1.4 检测项目

HBV-DNA, HIV-RNA, HCV-RNA。

1.5 检测方法

采用全自动模式进行确认,对每个浓度的 HBV/HIV/HCV 样本进行单人份检测 20 次,统计每个浓度样本的重复检出率。

¹ 南宁中心血站(南宁, 530003)

1.6 统计学处理

基于 Probit 回归,应用 SPSS 20.0 统计学软件计算每个项目的 95% 检出限,并进行拟合优度检验 χ^2 ,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HBV-DNA 分析灵敏度

低水平浓度 (2.50 IU/ml) 样本检出率 75%, 中水平浓度 (5.00 IU/ml) 样本检出率 95%, 高水平浓度 (7.50 IU/ml) 样本检出率 100%, 经过 Probit 回归分析, 95% 的检出限为 4.568 IU/ml, 拟合优度检验 $\chi^2 = 0.249$, $P = 0.618 > 0.05$, 模型拟合好 (表 1), 优于试剂说明书中声明的 95% 检出限 (5 IU/ml) (表 2)。

2.2 HIV-RNA 分析灵敏度

低水平浓度 (25 IU/ml) 样本检出率 70%, 中

水平浓度 (50 IU/ml) 样本检出率 95%, 高水平浓度 (75 IU/ml) 样本检出率 100%, 经过 Probit 回归分析, HIV-DNA 的 95% 检出限为 46.000 IU/ml, 拟合优度检验 $\chi^2 = 0.201$, $P = 0.654 > 0.05$, 模型拟合好 (表 1), 优于试剂说明书中声明 DE 95% 检出限 (50 IU/ml) (表 2)。

2.3 HCV-DNA 分析灵敏度

低水平浓度 (25 IU/ml) 样本检出率 70%, 中水平浓度 (50 IU/ml) 样本检出率 95%, 高水平浓度 (75 IU/ml) 样本检出率 100%, 经过 Probit 回归分析, HIV-DNA 的 95% 检出限为 46.600 IU/ml, 拟合优度检验 $\chi^2 = 0.201$, $P = 0.654 > 0.05$, 模型拟合好 (表 1), 优于试剂说明书中声明 DE 95% 检出限 (50 IU/ml) (表 2)。

表 1 HBV-DNA、HIV-RNA 及 HCV-RNA 对 WHO 标准株稀释后浓度的检出率

检测总数	HBV-DNA			HIV-RNA			HCV-RNA		
	检出数	浓度/ (IU · ml ⁻¹)	检出率 /%	检出数	浓度/ (IU · ml ⁻¹)	检出率 /%	检出数	浓度/ (IU · ml ⁻¹)	检出率 /%
20	15	2.50	75	14	25	70	14	25	70
20	19	5.00	95	19	50	95	19	50	95
20	20	7.50	100	20	75	100	20	75	100

表 2 科华检测试剂对 WHO 标准株的分析灵敏度

WHO 标准株	验证的 95% 检出限 /(IU · ml ⁻¹)	试剂说明书中声明的 95% 检出限/(IU · ml ⁻¹)
HBV	4.568	5
HIV	46.600	50
HCV	46.600	50

3 讨论

核酸检测 (NAT) 的对象为病毒的遗传物质, 本次验证的核酸系统为上海科华生物有限公司生产的系统, 预期用途是利用 PCR-荧光法检测血液标本的乙型肝炎病毒 (HBV)、丙型肝炎病毒 (HCV) 及人类免疫缺陷病毒 (HIV), 检测原理是病毒提取采用磁珠分离、纯化技术, 扩增检测采用 TaqMan PCR 技术, 当中有一个很重要的概念, 即是循环阈值 [(Ct 值), C 代表 Cycle, t 代表 threshold (阈值, 临界值)], Ct 值是指每个反应管内的荧光信号到达设定阈值时所经历的循环数。根据厂家说明声明, 该系统测定 Ct 值 ≥ 50 或无数值, 且内标 < 50 的样本为阴性, 测定 Ct 值 < 40 的样本为阳性 (即 HBV 测定 Ct 值 < 40 的样本为 HBV DNA 阳性样本, HCV 测定 Ct 值 < 40 的样本为 HCV RNA 阳性样本, HIV 测定 Ct 值 < 40 的样本为 HIV RNA 阳性样本), 如果使用全自动模式进

行确认, HBV、HIV、HCV 的检测灵敏度 (95% 检出限) 分别为 5 IU/ml、50 IU/ml、50 IU/ml。

验证所使用的血清盘为北京康彻斯坦生物技术有限公司生产的核酸系列分析灵敏度血清盘, 根据血清盘浓度梯度和厂家声明的灵敏度, 将 HBV 3 个浓度梯度 7.5 IU/ml、5.0 IU/ml、2.5 IU/ml 分别定义为 HBV 项目的高、中、低 3 个浓度水平, 将 HIV 和 HCV 的 3 个浓度梯度 75 IU/ml、50 IU/ml、25 IU/ml 分别定义为 HIV 和 HCV 的高、中、低 3 个浓度水平。

目前, Probit 回归在国外医药研究领域的应用越来越广泛^[1-2], 本文正是基于 Probit 回归对核酸检测系统进行分析灵敏度验证。实验主要通过以 WHO 标准品为溯源的原料, 样本浓度以 WHO 标物标定原料浓度为依据, 按理论稀释比例推算出一系列覆盖高中低病毒浓度的样本, 对每个浓度样本进行多次重复检验, 统计每个浓度样本的重复检出率, 在 SPSS 等统计学软件中通过调用 Probit 模块计算出该病毒有 95% 概率可被检测出来的浓度, 即是每个项目的 95% 检出限, 直观判断实验室分析灵敏度是否在可接受范围之内, 直接反映出了检测系统的实际最低检出能力。

由于核酸检测技术在国内相对于国外还是一种新的血液检测技术, 在行业内开展时间相对较短, 目前还缺乏一个统一的验证方法, 也有其他专

自体浓缩红细胞在 Rh(D) 阴性患者中的应用探讨

王帅¹ 王振芳¹ 王亚¹ 杨连莲¹ 胡佳丽¹

【摘要】 目的:探讨术前 1 d 采自体浓缩红细胞在 Rh(D) 阴性患者择期手术中的应用效果,以解决 Rh(D) 阴性患者术中输血难题。**方法:**采集 2016-07—2017-12 择期手术 Rh(D) 阴性患者 10 例,采用 NGL XCF-3000 血液成分分离机,采集 2~3 U 浓缩红细胞,同时将分离出的血浆回输予患者。把采集的浓缩红细胞贮存袋内加入适量的血液保存液,置 4℃ 自体贮血专用冰箱保存备用。对采血前后及术中输血前后血液的有关指标进行比较分析。**结果:**10 例 Rh(D) 阴性患者术前采集自体浓缩红细胞 2~3 U,术中将预采的浓缩红细胞回输,手术顺利完成。采血前后及回输前后血液有关指标比较意义无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**自体浓缩红细胞术前 1 d 采集贮存,术中应用于 Rh(D) 阴性患者,是一种安全、有效的好方法。

【关键词】 Rh(D) 阴性患者;自体输血;浓缩红细胞;临床应用

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2019.02.021

【中图分类号】 R555 **【文献标志码】** A

Application of autologous concentrated red blood cells in Rh(D) negative patients

WANG Shuai WANG Zhenfang WANG Ya YANG Lianlian HU Jiali

(Department of Blood Transfusion, Jizhong Energy Xingtai Mining Group General Hospital, Xingtai, 054000, China)

Corresponding author: WANG Zhenfang, E-mail: zyywangzhenfang@sina.com

Abstract Objective: To discuss the application effect of autologous concentrated red blood cells collected 1 day before surgery in the Rh(D) negative patients undergoing elective surgery, and resolve blood transfusion problems for Rh(D) patients. **Method:** Ten Rh(D) negative patients with elective surgery were selected from July 2016 to December 2017, and 2-3 U concentrated red blood cells were collected using NGL XCF 3000 blood cell separator, and the separated plasma were reinfused to the patients. The collected concentrated red blood cells were stored in storage bags added with the proper amount of preservation solution at 4 °C storage refrigerator specific for autologous blood. And related blood indicators before and after blood collection as well as before and after blood transfusion during surgery were compared. **Result:** 2-3 U concentrated red blood cells of 10 cases of Rh(D) negative patients were collected before surgery, and the collected concentrated red blood cells were reinfused to the patients during surgery. The surgeries were completed successfully. The comparisons of blood indicators between before and after

¹ 冀中能源邢台矿业集团总医院输血科(河北邢台, 054000)
通信作者: 王振芳, E-mail: zyywangzhenfang@sina.com

家^[3-4], 参考目前 ELISA 法采用弱阳性质控品来监控检测实验的有效性和稳定性原则, 采用定值核酸质控品进行验证核酸筛查系统的分析灵敏度。从成本考量, 确实具有经济、方便、可操作性等优点, 但是却无法对检测系统的检测灵敏度(95% 检出限)进行量化, 无法反映出检测系统的实际最低检出能力。因此, 笔者认为基于 Probit 回归对核酸检测系统的分析灵敏度验证方法是一种准确的、有效的、直观的分析方法, 值得推广应用。

在本次试验中, 新购进的科华核酸血液检测系统 HBV、HIV、HCV 项目的分析灵敏度分别为 4.568 IU/ml、46.600 IU/ml、46.600 IU/ml, 所有项目的 95% 检出限均优于试剂说明书中声明的 95% 检出限, 说明新购进的科华核酸检测系统在分析灵敏度方面达到预期效果, 满足血液筛查的需要。

参考文献

- [1] Lee S, Hwang KA, Ahn JH, et al. Evaluation of EZ-plex MTBC/NTMReal-Time PCR kit: diagnostic accuracy and efficacy in vaccination[J]. Clin Exp Vaccine Res, 2018, 7: 111-118.
- [2] Gitto L, Noh YH, Andrés AR. An Instrumental Variable Probit(IVP) analysis on depressed mood in Korea; the impact of gender differences and other socio-economic factors[J]. Int J Health Policy Manag, 2015, 4: 523-530.
- [3] 田耘博, 李维, 秦伟斐, 等. 血液病毒核酸检测仪器使用前的性能确认[J]. 临床血液学杂志, 2015, 28(2): 112-114.
- [4] 许守广, 孙海英, 高晶晶, 等. 定值核酸质控品用于血液核酸筛查分析灵敏度验证结果分析[J]. 临床血液学杂志, 2017, 30(4): 276-278.

(收稿日期: 2018-10-21)