

• 论著-临床研究 •

# 基于 PANA 9600E 全自动核酸工作站的超敏 HBV DNA 定量检测性能评价

徐远东<sup>1</sup> 耿帜<sup>1</sup> 包一熙<sup>1</sup> 陈凤花<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:对全自动核酸工作站 PANA 9600E 的超敏 HBV DNA 定量检测性能进行评价,评估其是否满足临床应用要求。方法:参考美国临床和实验室标准化协会(CLSI)和中国合格评定国家认可委员会(CNAS)等相关文件,采用天隆 PANA 9600E 全自动核酸工作站及其配套 HBV DNA 超敏定量检测试剂和 GENTIER 96E 实时荧光定量 PCR 仪,应用 HBV DNA 血清标准物质、临床混合血清样本和乙型肝炎病毒核酸国家标准品,对该检测系统的正确度、精密性、线性范围、定量限、检出限、防交叉污染、抗干扰能力等性能进行评价;同时与 NP968-C 半自动系统检测 56 例临床血清样本进行方法学比对。结果:①PANA 9600E 系统检测 HBV DNA 血清标准物 3 个浓度  $4.60 \times 10^6$ 、 $1.41 \times 10^3$  和  $2.00 \times 10^2$  IU/mL 的均值与靶值的差值绝对值均小于  $0.40 \log_{10}$  IU/mL,正确度满足行业标准;检测  $2.0 \times 10^2$ 、 $2.0 \times 10^3$ 、 $2.0 \times 10^4$  和  $2.0 \times 10^6$  IU/mL 4 个浓度的临床混合血清样本,重复性精密性 CV 分别为 3.93%、1.50%、0.89% 和 0.54%,中间精密性 CV 分别为 5.00%、1.95%、1.36% 和 1.35%,精密性验证通过;②PANA 9600E 系统在  $3.0 \times 10^1$  IU/mL~ $3.0 \times 10^8$  IU/mL 内呈线性,线性回归方程为  $Y=1.0285X-0.0758$ , $R^2=0.9994$ ;定量限为 30 IU/mL,检出限为 10 IU/mL;防交叉污染验证通过,阴性样本检测结果均为阴性;当胆红素 $\leq 512 \mu\text{mol/L}$ 、血红蛋白 $\leq 100 \text{ mg/mL}$ 、甘油三酯 $\leq 18 \text{ mmol/L}$  时对该系统的检测结果无明显影响,抗干扰能力验证通过;③对于 56 例临床血清样本,PANA 9600E 和 NP968-C 系统检出的阳性率分别为 60.71%(34/56)和 57.14%(32/56),差异无统计学意义( $P>0.05$ ),Kappa 值为 0.8526(95% CI:0.7139~0.9914),一致性较好;对于定量范围内的 19 例临床血清样本,PANA 9600E 和 NP968-C 系统的检测值分别为  $3.954 \pm 1.850$ 、 $3.828 \pm 1.916 \log_{10}$  IU/mL,差异有统计学意义( $P<0.05$ );进一步进行 Pearson 相关和 Bland-Altman 图分析,回归方程为  $Y=1.0309X-0.2495$ , $R^2=0.9905$ ;2 种方法检测结果差值为  $(0.1258 \pm 0.1953) \log_{10}$  IU/mL,95% 一致性界限为  $-0.2569 \sim 0.5085 \log_{10}$  IU/mL,94.74%(18/19)的点在 95% 一致性界限以内,界外点数为 1(5.26%)。结论:基于 PANA 9600E 全自动核酸工作站的超敏 HBV DNA 定量检测系统的正确度、精密性、线性范围、定量限、检出限、抗交叉污染、抗干扰能力等性能良好;定量限为 30 IU/mL,检出限为 10 IU/mL,达到超敏检测的要求;与现用的 NP968-C 半自动系统的检测结果具有可比性,相关性和一致性好,可满足临床应用要求。

**[关键词]** 乙型肝炎病毒 DNA;定量;性能评价;比对

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2022.04.001

[中图分类号] R512.6 [文献标志码] A

## Performance evaluation of PANA 9600E automatic nucleic acid extraction platform for ultra-sensitive HBV DNA quantitative detection

XU Yuandong GENG Zhi BAO Yixi CHEN Fenghua

(Department of Clinical Laboratory, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430022, China)

Corresponding author: CHEN Fenghua, E-mail: chfh100@126.com

**Abstract Objective:** To evaluate the performance of PANA 9600E automatic nucleic acid extraction platform for ultra-sensitive HBV DNA quantitative detection and assess whether it meets clinical needs. **Methods:** The clinical mixed serum samples, standard materials for serum HBV DNA and national standard for HBV DNA were employed for performance evaluation. The analytical performance, such as trueness, precision, linearity, limit of quantification(LoQ), limit of detection(LoD), cross-contamination and anti-interference capability, was determined using PANA 9600E automatic ultra-sensitive HBV DNA quantification system. Correlation and Bland-Altman plot analysis were carried out to compare the clinical performance of the automatic PANA 9600E system and the semi-automatic NP968-C system. **Results:** ①The differences between the expected and tested concentrations of these three standard materials for serum HBV DNA measured by PANA 9600E platform using ultra-sensitive

<sup>1</sup>华中科技大学同济医学院附属协和医院检验科(武汉,430022)  
通信作者:陈凤花,E-mail:chfh100@126.com

HBV DNA quantitative kit were all within  $0.4 \log_{10}$  IU/mL, which showed high trueness. The repeatability and intermediate precision(% CV) of the PANA 9600E system were 3.93% and 5.00% at  $2.0 \times 10^2$  IU/mL, and 1.50% and 1.95% at  $2.0 \times 10^3$  IU/mL, and 0.89% and 1.36% at  $2.0 \times 10^4$  IU/mL, and 0.54% and 1.35% at  $2.0 \times 10^6$  IU/mL, respectively. ②The linearity of this assay ranged from 30 to  $3.00 \times 10^8$  IU/mL, and the linear regression equation was  $Y=1.0285X-0.0758$  ( $R^2=0.9994$ ). The LoQ was 30 IU/mL, and the LoD was 10 IU/mL. There was no cross-contamination during the checkerboard test. No significant interference was found in the test when bilirubin  $\leq 512 \mu\text{mol/L}$ , hemoglobin  $\leq 100 \text{ mg/mL}$ , or triglyceride  $\leq 18 \text{ mmol/L}$ . ③The detection rates of 56 clinical serum samples obtained by PANA 9600E and NP968-C systems were 60.71% (34/56) and 57.14% (32/56) respectively ( $P>0.05$ ). The kappa value between qualitative results was 0.8526 (95% CI: 0.7139 to 0.9914). The detection values of HBV DNA load obtained by PANA 9600E and NP968-C systems were  $3.954 \pm 1.850$  and  $3.828 \pm 1.916 \log_{10}$  IU/mL, respectively ( $P<0.05$ ). The correlation analysis indicated a significant correlation between both assays ( $Y=1.0309X-0.2495$ ,  $R^2=0.9905$ ). The Bland-Altman plot analysis found the mean difference was  $0.1258 \log_{10}$  IU/mL (95% CI:  $-0.2569$  to  $0.5085$ ); the proportion of the specimens within the 95% limit of agreement was 94.74% (18/19) between both assays. **Conclusion:** The PANA 9600E automatic ultra-sensitive HBV DNA quantification system has good analytic performance with high precision and trueness, good linearity, anti-cross-contamination ability and anti-interference capability, and exhibits good agreement with the semi-automatic NP968-C system in clinical performance, and could meet the clinical needs.

**Key words** HBV DNA; quantification; performance evaluation; comparison

据 WHO 报道全球约有 2.57 亿慢性 HBV 感染者<sup>[1]</sup>, 只有 10% 的 HBV 感染者被诊断出, 我国有 8600 万慢性 HBV 感染者<sup>[2]</sup>。慢性 HBV 感染是我国慢性病毒性肝炎、肝硬化和肝细胞癌的主要病因, 积极的抗病毒治疗可有效抑制 HBV 复制, 阻止疾病进展, 减少终末期肝病的发生<sup>[3]</sup>。高灵敏的 HBV DNA 定量检测对于慢性 HBV 感染的全程管理、隐匿性 HBV 感染者的发现、慢性乙型肝炎患者的诊断、治疗及其预后判断等具有重要的临床意义。欧洲肝病学会 (EASL) 和美国肝病学会 (AASLD) 对于 HBV DNA 超敏定量检测的试剂要求包括高灵敏度 5~10 IU/mL、宽线性范围  $1 \sim 9 \log_{10}$  IU/mL、特异性强和重复性好<sup>[4-5]</sup>。目前市面上有多种国产的全自动核酸工作站, 匹配专用的磁珠法核酸提取试剂盒, 全流程全自动化、封闭式操作, 将样本核酸提取、PCR 体系构建于一体。本研究主要拟对实验室新进的 PANA 9600E 全自动核酸工作站结合 GENTIER 96E 实时荧光定量 PCR 仪的超敏 HBV DNA 定量检测性能包括精密度、正确度、线性范围、定量限、检出限、防污染、抗干扰能力等进行评价, 并与原用的 NP968-C 半自动系统进行方法学比对, 评估其是否满足临床应用要求。

## 1 材料与方 法

### 1.1 标本

收集 2020 年 7 月我院收治的慢性 HBV 感染者以及健康体检者血清各若干份。HBV DNA 血清标准物质 GBW(E)090139 (S2;  $4.60 \times 10^6$  IU/mL)、GBW(E)090137 (S5;  $1.41 \times 10^3$  IU/mL) 和 GBW(E)090586 (S7; 200 IU/mL) 购自北京康彻思坦生物技术有限公司。乙型肝炎病毒核酸国家标

准品 (300022-201601) 购自中国食品药品检定研究院。阴性对照及标准品为天隆 HBV 核酸定量检测试剂盒配套。

### 1.2 仪器与试剂

PANA 9600E 全自动核酸工作站及其配套的核酸提取试剂 (陕西械备 20140007)、NP968-C 核酸提取仪及其配套的核酸提取试剂 (苏苏械备 20151030)、GENTIER 96E 实时荧光定量 PCR 仪、乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒 (国械注准 20153400379) 均来自天隆公司。干扰物质甘油三酯 (T9420-626E032)、胆红素 (B8431-828G021) 购自北京索莱宝科技有限公司, 血红蛋白 (A002402-F508BD0319) 购自上海生物工程股份有限公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 HBV DNA 定量检测** ①PANA 9600E 全自动核酸工作站自动提取样本核酸、构建 PCR 反应体系。应用 PANA 9600E 全自动核酸工作站及其专用的磁珠法核酸提取试剂自动完成 200  $\mu\text{L}$  血清样本中的核酸提取、纯化以及分装构建 40  $\mu\text{L}$  反应体系 (包括 16  $\mu\text{L}$  反应混合液 + 4  $\mu\text{L}$  Taq 酶 + 20  $\mu\text{L}$  模板)。②NP968-C 核酸提取仪提取样本核酸, 手工分装体系、加模板核酸, 应用磁珠法核酸提取试剂盒在 NP968-C 提取仪上完成 200  $\mu\text{L}$  血清样本中的核酸提取, 手工分装 PCR 反应体系、加模板核酸。③实时荧光定量 PCR 扩增 HBV DNA。配制好的 PCR 反应体系均在 GENTIER 96E 实时荧光定量 PCR 仪上进行扩增, 扩增条件:  $95^\circ\text{C}$  3 min, 然后  $94^\circ\text{C}$  15 s、 $60^\circ\text{C}$  30 s (FAM 和 HEX 通道检测荧光)、45 个循环。所有步骤严格按照试剂说明书进行, 并确保质控在控后进行结果分析。

**1.3.2 性能验证方法** ①正确度评价: 将 GBW

(E)090139 ( $4.60 \times 10^6$  IU/mL)、GBW(E)090137 ( $1.41 \times 10^3$  IU/mL)和GBW(E)090586 ( $2.00 \times 10^2$  IU/mL)每个浓度水平HBV DNA血清标准物质重复测定3次,计算实测均值与靶值的差值。判断标准为检测均值与靶值的差值绝对值 $\leq 0.4 \log_{10}$  IU/mL,即正确度验证通过。②精密度评价:将 $2.0 \times 10^2$ 、 $2.0 \times 10^3$ 、 $2.0 \times 10^4$ 和 $2.0 \times 10^6$  IU/mL 4个浓度水平的临床混合血清样本,每种浓度水平样本检测20次计算重复性精密度,每种浓度水平样本每天检测5次,连续检测4 d,计算中间精密度。判断标准为:重复性和中间精密度CV均 $\leq 5\%$ ,并且重复性精密度 $SD \leq 3/5TEa$ ,中间精密度 $SD \leq 4/5TEa$ 。③线性范围:应用混合阴性血清将已测高值标本( $3.0 \times 10^8$  IU/mL)10倍梯度稀释至30 IU/mL,共计8个浓度。每个浓度样本重复检测3次,取各浓度检测结果的均值,与预测值进行线性回归分析,计算回归方程 $Y = aX + b$ 。判断标准为: $R^2 \geq 0.98$ , $a$ 位于 $0.97 \sim 1.03$ , $b$ 值趋向于0,即厂家声称的线性范围( $3.0 \times 10^1$  IU/mL $\sim 1.0 \times 10^8$  IU/mL)验证通过。④定量限:将 $1.0 \times 10^8$  IU/mL HBV核酸国家标准品用合格献血者血浆梯度稀释至30 IU/mL后进行20次检测。判断标准为:检测均值与靶值的差值在 $\pm 0.4 \log_{10}$  IU/mL的范围内,即定量限验证通过。⑤检出限:将 $1.0 \times 10^8$  IU/mL HBV核酸国家标准品用合格献血者血浆梯度稀释至10 IU/mL后进行25次检测。判断标准为:检出率 $> 95\%$ ,即检出限验证通过。⑥防交叉污染能力:将HBV DNA定量高值( $10^8$ )临床混合血清样本和合格献血者血浆样本间隔放置(棋盘法),各做48个测试。判断标准为:阳性样本检出率为100%,阴性样本均为阴性,即防交叉污染能力验证通过。⑦抗干扰能力:分别将总胆红素( $10\ 240 \mu\text{mol/mL}$ )、血红蛋白( $2000 \text{ mg/mL}$ )、甘油三酯( $360 \text{ mmol/L}$ )、生理盐水(对照)加入2个已知浓度为 $4.50 \times 10^3$ 和 $5.10 \times 10^5$  IU/mL的临床混合血清样本中,得到分别含胆红素 $512 \mu\text{mol/mL}$ 、血红蛋白 $100 \text{ mg/mL}$ 、甘油三酯 $18 \text{ mmol/L}$ 、生理盐水的临床混合样本血清,每个样本检测3次。判断标准为:含干扰物质的样本与对照样本的检测结果偏倚在 $\pm 7.5\%$ 内,即抗干扰能力验证通过。⑧方法学比对:将56例临床血清样本分成2份,1份用PANA 9600E全自动核酸工作站及其配套扩增试剂检测,另1份用NP968-C核酸提取仪提取核酸后用其配套扩增试剂检测,均在GENTIER 96E实时荧光定量PCR仪上扩增HBV DNA。

#### 1.4 统计学处理

定性结果采用配对 $\chi^2$ 检验和Kappa一致性检验。定量结果均以 $\log_{10}$  IU/mL表示,用Excel计

算均值、标准差、偏倚和变异系数;采用配对 $t$ 检验、Pearson相关及Bland-Altman图分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 正确度验证结果

PANA 9600E系统检测3个水平HBV DNA血清标准物质所得到的实测均值与靶值的差值绝对值均小于 $0.4 \log_{10}$  IU/mL,见表1,正确度验证通过。

表1 PANA 9600E检测系统正确度验证结果  $\log_{10}$  IU/mL

HBV DNA 国家标准物质	检测均值	靶值	差值
GBW(E)090139(S2)	6.34	6.66	-0.32
GBW(E)090137(S5)	3.13	3.15	-0.02
GBW(E)090586(S7)	2.01	2.30	-0.29

### 2.2 精密度验证结果

PANA 9600E系统检测 $2.0 \times 10^2$ 、 $2.0 \times 10^3$ 、 $2.0 \times 10^4$ 和 $2.0 \times 10^6$  IU/mL 4个浓度水平的临床混合血清样本,精密度验证结果见表2,均在厂家声称的 $CV \leq 5\%$ 范围内,同时以我国NCCL室间质量评价标准 $0.4 \log_{10}$  IU/mL作为允许总误差( $TEa$ ),重复性精密度 $SD \leq 3/5TEa$  ( $0.24 \log_{10}$  IU/mL),中间精密度 $SD \leq 4/5TEa$  ( $0.32 \log_{10}$  IU/mL),精密度验证通过。

表2 PANA 9600E检测系统精密度验证结果

浓度 (IU/mL)	重复性精密度		中间精密度	
	$\bar{X} \pm S$	CV/%	$\bar{X} \pm S$	CV/%
$2.0 \times 10^2$	$2.27 \pm 0.09$	3.93	$2.18 \pm 0.11$	5.00
$2.0 \times 10^3$	$3.21 \pm 0.05$	1.50	$3.19 \pm 0.06$	1.95
$2.0 \times 10^4$	$4.16 \pm 0.04$	0.89	$4.23 \pm 0.06$	1.36
$2.0 \times 10^6$	$6.12 \pm 0.03$	0.54	$6.32 \pm 0.09$	1.35

### 2.3 线性范围验证结果

对8个浓度梯度的HBV DNA样本进行线性回归分析(图1), $3.0 \times 10^1$  IU/mL $\sim 3.0 \times 10^8$  IU/mL内呈线性,线性回归方程为 $Y = 1.0285X - 0.0758$ , $R^2 = 0.9994$ ,厂家声称的定量线性范围( $30$  IU/mL $\sim 3.0 \times 10^8$  IU/mL)验证通过。

### 2.4 定量限(LoQ)验证结果

稀释HBV核酸国家标准品得到30 IU/mL ( $1.48 \log_{10}$  IU/mL)的样本,20次检测结果为 $1.65 \pm 0.13 \log_{10}$  IU/mL,检测均值与靶值的差值为 $0.17 \log_{10}$  IU/mL,在 $\pm 0.4 \log_{10}$  IU/mL范围内,定量限验证通过。

### 2.5 检出限(LoD)验证结果

稀释HBV核酸国家标准品得到10 IU/mL的样本,25次均检出,检出率 $> 95\%$ ,厂家声称的

LoD 10 IU/mL 验证通过。

### 2.6 抗干扰能力验证结果

含干扰物质的样本与对照样本的检测结果偏倚均在±7.5%(表 3),提示胆红素≤512 μmol/L、血红蛋白≤100 mg/mL、甘油三酯≤18 mmol/L 情况下,对检测结果无明显影响。

### 2.7 防交叉污染能力验证结果

阳性样本检出率为 100%,阴性样本检测结果均为阴性,防交叉污染能力验证通过。

### 2.8 方法学比对结果

对于 56 例临床血清样本,PANA 9600E 和 NP968-C 系统检出的阳性率分别为 60.71%(34/56)和 57.14%(32/56),经配对  $\chi^2$  检验,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),Kappa 值为 0.852 6,95%可信区间 0.713 9~0.991 4,一致性较好。对于两者定量范围内的 19 例临床血清样本,PANA 9600E 和 NP968-C 系统的检测结果分别为  $3.954 \pm 1.850$ 、 $3.828 \pm 1.916 \log_{10} \text{IU/mL}$ ,经配对  $t$  检验,差异有统计学意义( $P<0.05$ );进一步进行 Pear-

son 相关性以及线性回归分析,回归方程为  $Y = 1.030 9X - 0.249 5$ (图 2), $R^2 = 0.990 5$ ;应用 Bland-Altman 图分析 2 种方法的一致性(图 3),2 种方法检测结果差值平均值为  $0.125 8 \log_{10} \text{IU/mL}$ ,差值标准差为  $0.195 3 \log_{10} \text{IU/mL}$ ,95%一致性界限为  $-0.256 9 \sim 0.508 5 \log_{10} \text{IU/mL}$ ,94.74%(18/19)的点在 95%一致性界限以内,界外点数为 1(5.26%)。

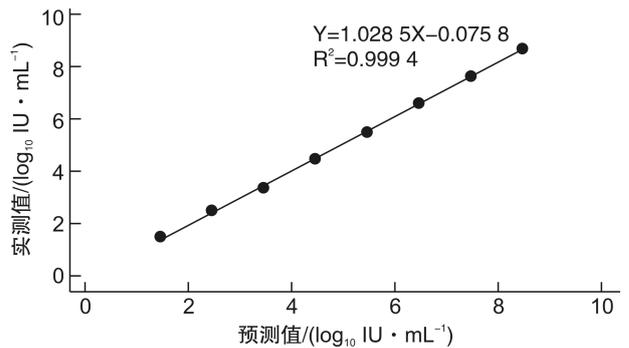


图 1 PANA 9600E 检测系统线性范围验证结果

表 3 PANA 9600E 系统抗干扰能力验证结果

$\log_{10} \text{IU/mL}, \bar{X} \pm S$

变量	胆红素(512 μmol/L)		血红蛋白(100 mg/mL)		甘油三酯(18 mmol/L)	
	3.65	5.71	3.65	5.71	3.65	5.71
对照组	$3.66 \pm 0.05$	$5.71 \pm 0.09$	$3.66 \pm 0.05$	$5.71 \pm 0.09$	$3.66 \pm 0.05$	$5.71 \pm 0.09$
干扰组	$3.61 \pm 0.01$	$5.74 \pm 0.06$	$3.60 \pm 0.03$	$5.73 \pm 0.01$	$3.66 \pm 0.02$	$5.67 \pm 0.08$
偏倚/%	-1.38	0.49	-1.83	0.41	0.07	-0.67

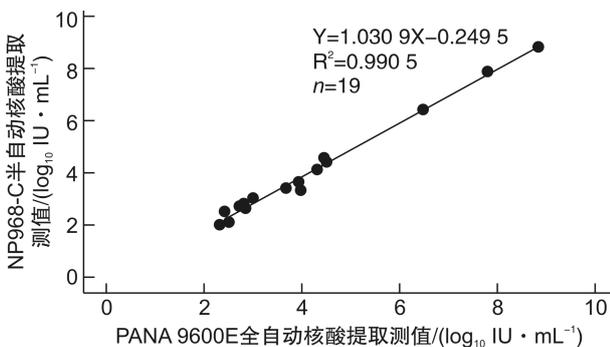


图 2 2 种方法定量检测 HBV DNA 结果的相关性分析

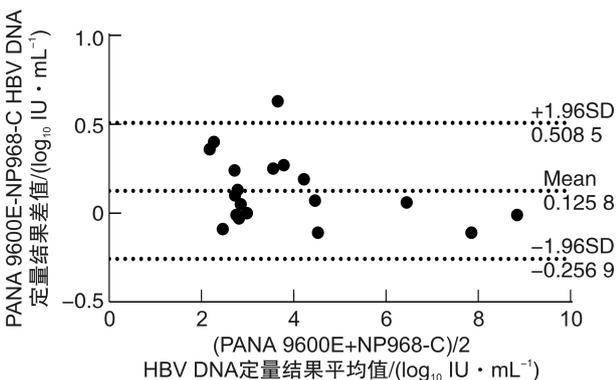


图 3 2 种方法定量检测 HBV DNA 结果的 Bland-Altman 图分析

### 3 讨论

慢性 HBV 感染是全球关注的重大公共卫生问题,是肝硬化和肝细胞癌(HCC)的风险因素,其治疗目标是最大限度地长期抑制 HBV DNA 复制,防止疾病进展和肝细胞癌发生,从而提高生存率和改善生活质量<sup>[4]</sup>。血清 HBV DNA 的定量检测,贯穿慢性 HBV 感染自然病程全程管理。我国《慢性乙型肝炎防治指南(2019 年版)》推荐:血清 HBV DNA 阳性,ALT 持续异常(>ULN)且排除其他原因所致者,建议行抗病毒治疗(B1)<sup>[3]</sup>。慢性 HBV 感染的功能性治愈是指经有限疗程治疗完成后血清中 HBsAg 和 HBV DNA 持续检测不到,伴或不伴有 HBsAg 血清学转换<sup>[6]</sup>。因此,高灵敏 HBV DNA 定量检测对于慢性乙型肝炎患者的治疗、连续监测、个体化管理和隐匿性 HBV 感染者的发现以及 HBV 再激活患者的治疗管理等均起着重要的作用。对于医疗机构的临床实验室,选择灵敏度高、临床检测性能佳的 HBV DNA 定量检测系统至关重要。

根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI)EP15-A2、EP17-A2、EP6-A、EP9-A3 以及中国合格评定国家认可委员会(CNAS)CNAS-GL039《分

子诊断检验程序性能验证指南》、GL02-A009《医学实验室质量和能力认可准则在分子诊断领域的应用说明》和CNAS-GL037《临床化学定量检验程序性能验证指南》等相关文件,本研究对基于PANA 9600E全自动核酸工作站的超敏HBV DNA定量检测的性能包括正确度、精密度、线性范围、定量限、检出限、抗干扰、防污染等进行评价,并与现用的已通过性能验证的NP968-C半自动系统进行方法学比对<sup>[7]</sup>,评估其是否满足临床应用要求。

本研究发现,应用PANA 9600E系统进行超敏HBV DNA定量检测,以我国NCCL室间质量评价合格范围(靶值 $\pm 0.4 \log_{10}$  IU/mL)作为正确度验证标准,3种浓度水平的HBV DNA血清标准物质的检测均值与靶值的差值均在 $\pm 0.4 \log_{10}$  IU/mL范围内;对于4个浓度水平的临床混合血清样本,HBV DNA定量检测的重复性和中间精密度均满足 $CV \leq 5\%$ ,同时发现随着样本中HBV DNA浓度升高而精密度 $CV$ 越小,以我国NCCL室间质量评价标准 $0.4 \log_{10}$  IU/mL作为允许总误差( $TEa$ ),重复性精密度 $SD \leq 3/5TEa$  ( $0.24 \log_{10}$  IU/mL),中间精密度 $SD \leq 4/5TEa$  ( $0.32 \log_{10}$  IU/mL),正确度、精密度均验证通过;在验证的定量范围 $3.0 \times 10^1 \sim 3.0 \times 10^8$  IU/mL内线性良好,线性回归方程为 $Y = 1.0285X - 0.0758$ , $R^2 = 0.9994$ ;通过稀释HBV核酸国家标准品,分别得到30 IU/mL和10 IU/mL的样本,30 IU/mL样本20次检测均值与靶值的差值均在 $\pm 0.4 \log_{10}$  IU/mL内,10 IU/mL样本100% (25/25)检出,厂家声称的定量限(LoQ)30 IU/mL和检出限(LoD)10 IU/mL均验证通过;通过添加胆红素、血红蛋白和甘油三酯干扰物分别评估了黄疸、溶血、脂血三种临床异常标本对HBV DNA定量检测的干扰情况,发现胆红素 $\leq 512 \mu\text{mol/L}$ 、血红蛋白 $\leq 100 \text{ mg/mL}$ 、甘油三酯 $\leq 18 \text{ mmol/L}$ 情况下,对检测结果无明显影响,抗干扰能力较强;应用棋盘法将强阳性标本与阴性标本间隔放置,检测发现阳性标本100%检出,阴性标本检测结果均为阴性、无假阳性检出,防污染验证通过。

HBV DNA定量检测的准确性、可比性,也是检测系统的重要性能。不同HBV DNA定量检测试剂所用的引物和探针位置不同,可能影响核苷(酸)类似物治疗的患者检测结果<sup>[8]</sup>。本研究中将PANA 9600E和NP968-C系统进行方法学比对,所用的HBV DNA定量检测试剂为同一厂家,引物和探针都是相同的,两系统检测56例临床血清样本的阳性率分别为60.71%和57.14% ( $P > 0.05$ ),Kappa值为0.8526,一致性较好;对于两者定量范围内的19例临床血清样本,PANA 9600E系统的检测均值明显高于NP968-C系统 ( $P <$

0.05),提示这种差异可能主要是由两系统核酸提取效率不同以及NP968-C系统的手工加样、分装PCR反应体系、加核酸模板与PANA 9600E系统全自动化操作的差异所致;线性回归方程为 $Y = 1.0309X - 0.2495$ , $R^2 = 0.9905$ ;2种方法检测结果差值平均值为 $0.1258 \log_{10}$  IU/mL,差值标准差为 $0.1953 \log_{10}$  IU/mL,95%一致性界限为 $-0.2569 \sim 0.5085 \log_{10}$  IU/mL,94.74% (18/19)的点在95%一致性界限以内,界外点数为1(5.26%)。

综上所述,基于PANA 9600E全自动核酸工作站的超敏HBV-DNA定量检测系统的正确度、精密度、线性范围、检出限、定量限、抗交叉污染、抗干扰能力等性能良好;定量限为30 IU/mL,检出限为10 IU/mL,达到超敏检测的要求;与现用的NP968-C半自动系统的检测结果具有可比性,相关性和一致性好,可满足临床应用要求。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] World Health Organization (WHO). WHO global hepatitis report 2017 [EB/OL]. [2021-07-18]. <https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report-2017/en/>.
- [2] Polaris Observatory Collaborators. Global prevalence, treatment, and prevention of hepatitis B virus infection in 2016: a modelling study[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2018, 3(6): 383-403.
- [3] 中华医学会感染病学分会, 中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(12): 2648-2669.
- [4] European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu, European Association for the Study of the Liver. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection[J]. J Hepatol, 2017, 67(2): 370-398.
- [5] Terrault NA, Lok A, McMahon BJ, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance[J]. Hepatology, 2018, 67(4): 1560-1599.
- [6] Cornberg M, Lok AS, Terrault NA, et al. Guidance for design and endpoints of clinical trials in chronic hepatitis B-Report from the 2019 EASL-AASLD HBV Treatment Endpoints Conference[J]. J Hepatol, 2020, 72(3): 539-557.
- [7] 肖圣达, 耿帆, 徐远东, 等. HBV DNA超敏定量检测试剂盒的性能验证[J]. 临床血液学杂志, 2021, 34(2): 81-85.
- [8] Liu Y, Liu H, Hu Z, et al. Hepatitis B Virus Virions Produced Under Nucleos(t)ide Analogue Treatment Are Mainly Not Infectious Because of Irreversible DNA Chain Termination[J]. Hepatology, 2020, 71(2): 463-476.

(收稿日期:2021-08-04 修回日期:2021-09-27)