

(OSID):

新型冠状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

宁夏医科大学总医院医学实验中心, 宁夏 银川 750004)

新型冠状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

亿例
万例
例
有
炎
染
展
命
已
注
注

HCV 感染病例约 3.5 万例，其中约 35 万例患者因早期没有发现而延误治疗。此外，丙型肝炎的 75%~85% 的患者病情进展，严重危及患者生命。早期诊断和早治疗对临床上主要通过检测 HCV 抗体等免疫和生化指标。HCV 窗口期较长，准确及时的诊断是复制的直接证据。随着核酸定量检测技术的发展，使得核酸定量检测也被誉为早期诊断。HCV-RNA 定量检测普及，但是国内用存在操作繁琐、费用较高、污染、核酸易丢失、试剂相比国产试剂线性及可报告范围有一定差距。为此，在基于磁珠法提取核酸试剂成为主流。新体系要求新试剂其主要性能以证实试剂的实际检测性能文件要求对其进行

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 μ l HCV 内标，充分混匀备用。依次向 1.5 ml 无菌离心管中加入 600 μ l RNA 提取液 1 混合物，200 μ l 待测血浆和 100 μ l 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 μ l RNA 提取液 3 和 200 μ l 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

医院医学实验中
RNA 临床血浆样
检测室内质控品
本

中科美菱！YC-
nic！MDF-U548D-
支有限公司！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！
定量检测

度和
(靶
精
5T
5.4
H
许
±
5
类
!

样定量5!结果

室间质评评价界限
误差(TEa),以重复
,中间精密度"4/
非全年卫计委10份
结果是否在靶值允
差的偏倚是否小于

!取高浓度临床血
ml,再用混合阴性
不同浓度的系列样
各浓度样本重复检
值比较,偏倚应"
进行回归统计,计
范围内,相关系数

ICV-RNA 浓度为

10³ 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、3000 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!%嗜卵!

芪葛L 漁ltQP

表 1 正确度验证结果

表 1 正确度验证结果

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

图 1 线性范围验证扩增曲线

图 1 线性范围验证扩增曲线

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

图 K 新型试剂梯度稀释实验线性回归方程

图 L 新型试剂

表 L 1 抗干扰能力验证结果

L 1 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	/	/
M	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

R 技术检测 HCV-
及^[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
范围
ISO
本

参

[1]

[2]

[3]

好、正确度高、线性
力强等优势,满足
要求,可用于临床样
推广使用。

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 per positivity in
r going haemodialysis[J].
30(3):397-400.

stitute. User verification
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 measure-
ment 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 out-
come of highly effective all oral direct acting antiviral combi-
nation 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 + \$