

[文章编号] 1000-2200(2011)03-0295-03

· 检验医学 ·

标本因素对荧光定量 PCR 检测 HBV DNA 的影响

郝维敏, 刘 杰, 杨晓春

[摘要]目的:探讨标本溶血、黄疸、脂血对荧光定量 PCR 检测乙型肝炎病毒(HBV) DNA 的影响。方法:荧光定量 PCR 检测无溶血、无黄疸、非脂血血清和溶血、黄疸、高脂血清标本的 HBV DNA。结果:溶血、黄疸、高脂血清与无溶血、无黄疸、非脂血血清 HBV DNA 定量检测结果差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论:标本溶血、黄疸、脂血对荧光定量 PCR 检测 HBV DNA 无干扰。

[关键词] 黄疸; 溶血; 脂血; 荧光定量聚合酶链反应; 乙型肝炎病毒; 脱氧核糖核酸

[中国图书资料分类法分类号] R 442.4

[文献标识码] A

Sample factors affecting fluorescence quantitative PCR detection of HBVDNA

HAO Wei-min, LIU Jie, YANG Xiao-chun

(Department of Clinical Laboratory, Suzhou Municipal Hospital, Suzhou Anhui 234000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of abnormal sample characters, such as hemolysis, icterus and lipemia, on fluorescence quantitative PCR (FQ-PCR) detection of HBV DNA. **Methods:** Levels of serum HBV DNA in hyperlipemia with hemolysis, icterus and normal serum samples were detected by FQ-PCR. **Results:** There were no significant differences of HBV DNA level among the groups of hyperlipemia with hemolysis, icterus and the control ($P > 0.05$). **Conclusions:** Hemolysis, icterus and lipemia of serum sample have no interference on FQ-PCR detection of HBV DNA.

[Key words] hemolysis; icterus; lipemia; fluorescence quantitative-polymerase chain reaction; hepatitis B virus DNA

乙型肝炎是一种由乙型肝炎病毒(HBV)感染引起的传染病,我国属 HBV 感染高流行区,一般人群的 HBsAg 阳性率为 9.09%^[1]。荧光定量 PCR 技术把 PCR、杂交及光谱技术相融合,通过对荧光的采集和分析达到了对原始模板定量的目的^[2]。HBV DNA 是乙型肝炎的遗传物质,实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)是检测 HBV 灵敏且直接的方法,是目前医院临床实验室检测 HBV DNA 的主要方法之一,此方法具有定量范围宽、结果重复性好、

操作简单、实时监测等优点。影响 PCR 测定重复性和准确性的因素,除了 PCR 本身因素外,还有标本因素^[3]。日常检验工作中我们注意到标本溶血、黄疸、脂血等会影响生化试验的结果,本文主要探讨标本溶血、黄疸、脂血对荧光定量 PCR 检测 HBV DNA 是否有影响,为临床标本检测提供依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 选取临床确诊乙型肝炎大三阳患者 10 例,其中男 5 例,女 5 例;年龄 18~40 岁。空腹抽取静脉血 3 ml,离心取血清供试验使用。检测 HBV DNA 拷贝数大于 2×10^3 copies/ml,生化检验总胆红素、血脂都在正常范围内,无溶血。

[收稿日期] 2010-05-06

[作者单位] 安徽省宿州市立医院 检验科 234000

[作者简介] 郝维敏(1968-),女,副主任检验技师。

没有必然的联系,两者的异常不一定同时出现在 AA 患者中,而对于它们的异常是否直接导致 AA 的发病还需进一步的研究。

【参 考 文 献】

- [1] 张学光,傅晋翔.再生障碍性贫血免疫致病机制的研究进展[J].中国免疫学杂志,2000,16(10):517-520.
- [2] 张之南,沈悌.血液病诊断与疗效标准[M].3版.北京:科学出版社,2007:19-23.
- [3] Hsu HC, Tsai WH, Chen LY, et al. Production of hematopoietic regulatory cytokines by peripheral blood mononuclear cells in patients with aplastic anemia[J]. Exp Hematol, 1996, 24(1): 31-36.

- [4] Tang X, Zhang Y, Shao J. Detection of interleukin-8 level in peripheral blood of patients with aplastic anemia[J]. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi, 1998, 19(4): 184-185.
- [5] Tripathy NK, Nityanand S, Vibhuti. Bone marrow and blood plasma levels of IL-8 in aplastic anemia and their relationship with disease severity[J]. Am J Hematol, 2005, 79(3): 240-242.
- [6] Broxmeyer HE, Coopes S, Cacalano G, et al. Involvement of Interleukin (IL) 8 receptor in negative regulation of myeloid progenitor cells in vivo: evidence from mice lacking the murine IL-8 receptor homologue[J]. J Exp Med, 1996, 184(5): 1825-1832.

(本文编辑 姚仁斌)

1.2 仪器与试剂 HBV DNA 荧光定量 PCR 试剂盒(广州达安基因公司产品) 实时荧光定量 PCR 检测系统(杭州博日科技公司生产 型号 FQD-33A)。

1.3 溶血、黄疸、脂血血清制备 溶血血清制备方法:把阳性血液离心取 400 μl 作为对照血清,然后采用搅拌、冷冻、溶解的办法制取不同溶血程度的血清各 400 μl ; 黄疸血清制备方法:选取高胆红素血清,再用正常血清稀释成高、中、低不同浓度; 脂血血清制备方法:选取乳糜状血清,再用正常血清稀释成高、中、低不同浓度; 正常血清要求无溶血、无黄疸、非脂血。

1.4 检测方法 将不同程度溶血的血清与未溶血的血清标本同时检测 HBV DNA。取不同浓度的胆红素血清各 100 μl , 加入乙肝患者血清 100 μl 混合, 作为黄疸试验组, 然后每份各取 100 μl 用于 HBV DNA 定量检测, 另 100 μl 用于检查总胆红素; 无黄疸对照组取乙肝患者血清 100 μl 加入正常血清 100 μl 进行 HBV DNA 定量检测。取不同浓度的甘油三酯血清各 100 μl , 加入乙肝患者血清 100 μl 混合, 作为高脂血试验组, 然后每份各取 100 μl 用于 HBV DNA 定量检测, 余下 100 μl 用于检查甘油三酯; 非脂血对照组取乙肝患者血清 100 μl 加入正常血清 100 μl 进行 HBV DNA 定量检测, 严格按照仪器和试剂盒说明书操作。

1.5 统计学方法 数据经对数转换采用 t 检验。

2 结果

溶血、黄疸、高脂血清与无溶血、无黄疸、非脂血清 HBV DNA 定量检测结果差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (见表 1)。

表 1 溶血、黄疸、高脂血清与无溶血、无黄疸、非脂血清 HBV DNA 定量检测结果比较 ($\lg \bar{x} \pm s$)

血清标本	HBV DNA (copies/ml)
未溶血血清	5.53 \pm 1.08
溶血血清	5.56 \pm 1.10
t	0.542
P	>0.05
正常胆红素血清	5.22 \pm 0.95
黄疸血清	5.25 \pm 1.06
t	0.597
P	>0.05
甘油三酯正常血清	5.60 \pm 0.83
脂血血清	5.59 \pm 0.59
t	0.415
P	>0.05

3 讨论

PCR 体外扩增技术直接用于检测患者标本的 HBV DNA, 它能正确反映患者体内的 HBV 感染和治疗恢复情况, 指导临床医生诊疗^[4]。该方法采用完全闭管检测, 不需 PCR 后处理, 避免了交叉污染, 定量准确性极高, 是检测乙型肝炎病毒和其他传染病的新技术^[5]。影响 PCR 准确性的因素很多, 除了 PCR 本身因素及反应体系外, 标本状态也可能对 HBV DNA 的检测结果产生影响。在 HBV DNA 检测中, 最常遇到的情况是溶血、黄疸和脂血。本研究结果显示, 标本溶血、黄疸、脂血对荧光定量 PCR 检测 HBV DNA 均无干扰 ($P > 0.05$)。

有报道, 血红素通过其卟啉环与 Taq 酶不可逆结合而抑制 Taq 酶的活性, 降低 PCR 扩增效率, 导致检验结果偏低^[6], 但我们试验中观察, 对不同溶血程度的 HBV 阳性血清进行 HBV DNA 定量检测, 其结果与未溶血血清差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 可能是由于 100 $^{\circ}\text{C}$ 10 min 致卟啉环被破坏, 从而不能与 Taq 酶结合或 Hb 已经变性, 经过离心沉淀后, 待测上清液中仅存其衍生物; 另一原因可能是在提取核酸前, 已先用浓缩液经高速离心沉淀 HBV 病毒颗粒并弃去上清, 大大减少干扰物质包括 Hb 的含量^[3]。

脂血血清标本混浊主要是血液中的低密度脂肪(乳糜微粒等)增多引起, 人血清乳糜微粒中 84% ~ 88% 是甘油三酯(TG), TG 水平可以客观的反映脂血程度, 因此本试验主要讨论 TG 对 HBV DNA 测定影响。有报道^[7]认为血脂中乳糜微粒能同光散射而导致的荧光淬灭作用使荧光信号强度降低并能通过抑制 Taq 酶活性, 降低扩增效率。但我们试验标本中 TG 浓度为 7.21 ~ 23.46 mmol/L, 对检测结果均没有影响。原因可能是标本在冷冻或冷藏保存后经高速低温离心, 由于 TG 的密度低漂浮在上层, 在弃去上清的时候大部分被去除, 这与高峰等^[8]报道的高速低温离心方法去除高脂血对荧光定量 PCR 检测 HBV DNA 的影响相似。同时标本处理过程中经多次稀释干扰物质变得极少。

本研究显示, 标本溶血、黄疸、脂血对荧光定量 PCR 检测 HBV DNA 均无统计学意义, 但是要注意标本的处理方法。建议各实验室对自己试验条件(试剂、仪器、标本处理方法等不同)进行比对, 为本实验室的临床标本检测提供正确结果。

原发性高血压患者服药依从性影响因素分析

王 琴¹ 周 静² 谢 晖³

[摘要]目的:调查影响原发性高血压患者服药依从性的相关因素,为开展健康教育提供依据。方法:采用自行设计的高血压知识及服药依从性问卷,对 2009 年 3~5 月在蚌埠医学院第一附属医院诊治的 120 例原发性高血压患者进行调查。结果:原发性高血压患者服药依从性平均分为 2.15 ± 0.47 ,服药依从性主要受职业、高血压分期、病程、知识影响($P < 0.01$),文化程度、医疗费用与服药依从性得分均无明显关系($P > 0.05$)。结论:原发性高血压患者普遍存在着服药依从性差的问题,应加强患者及家属的知识教育,合理使用高血压药物,采取行为治疗措施,加强社区高血压的管理、监测和健康教育。

[关键词] 高血压;健康教育;服药依从性;相关因素

[中国图书资料分类法分类号] R 544.1 [文献标识码] A

Analysis of drug compliance in patients with essential hypertension factors

WANG Qin¹ ZHOU Jing² XIE Hui³

(1. Department of Otorhinolaryngology 2. Department of Cardiovascular Diseases, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004; 3. Faculty of Nursing, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the drug compliance in patients with essential hypertension to provide the basis for health education. **Methods:** Using the self-designed questionnaire for hypertension knowledge and drug compliance, 120 patients with essential hypertension at the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College from March to May 2009 were investigated. **Results:** The average score of drug compliance in patients with essential hypertension was 2.15 ± 0.47 , drug compliance was mainly affected by occupation, stage, course of disease, knowledge, education degree, medical expenses had no obvious relationship with drug compliance ($P > 0.05$). **Conclusions:** the poor drug compliance is prevalent in patients with essential hypertension, knowledge education in patients with essential hypertension and their families, reasonable use of antihypertensive drug, behavior treatment, community hypertension management, monitoring and health education should be strengthened.

[Key words] essential hypertension; health education; drug compliance; related factors

高血压是常见的心血管疾病,是心血管疾病患病率及病死率高的一个主要危险因素^[1-3],也是终身性疾病。有研究^[4]证明,高血压如能坚持长期、及时、合理地用药,可提高患者的生活质量,延长寿

命。我国高血压普查资料显示,高血压患者中降压药服药率城市为 17.1%,农村为 5.4%^[1]。为进一步了解影响原发性高血压患者服药依从性的相关因素,为开展健康教育提供依据,我们对原发性高血压患者的服药依从性进行了调查,现作报道。

[收稿日期] 2010-09-07

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 1. 耳鼻喉科 2. 心血管内科,安徽 蚌埠 233004; 3. 蚌埠医学院 护理学系,安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 王 琴(1970-),女,主管护师。

[通讯作者] 谢 晖,硕士研究生导师,副教授。

1 资料与方法

1.1 一般资料 按照便利抽样的原则,随机选取 2009 年 3~5 月在蚌埠医学院第一附属医院诊治

[参 考 文 献]

[1] 中华医学会肝病学会,感染病学会.慢性乙型肝炎防治指南[J].肝脏 2005,10(4):348-357.

[2] Mackay IM, Arden KE, Nitsche A. Real-time PCR in virology[J]. Nucleic Acids Res 2002,30(6):1292-1305.

[3] 郑建中,王青,王风华.标本因素对荧光定量 PCR 法测定乙肝病毒 DNA 的影响[J].医学检验与临床 2008,19(5):58-59.

[4] 周维霞,陈红艳,马瑞宣.PCR 体外扩增法和 SPRIA 法在乙肝病毒检测中的运用[J].标记免疫分析与临床 2009,16(5):305.

[5] 韩梅,侯佩强,张雪峰.三种乙肝病毒检测方法相互关系的研

究[J].医学检验与临床 2008,19(5):69-70.

[6] 喻晶,曾南阳,吴夏枫,等.溶血对检测不同含量乙肝病毒 DNA 干扰作用的研究[J].现代检验医学杂志 2009,24(6):78-81.

[7] 尹琦,徐玉蝉.影响 HBV DNA 测定的标本因素[J].临床检验杂志 2008,26(2):133-134.

[8] 高峰,高慧华,杨学文.脂血因素对荧光定量 PCR 乙型肝炎病毒 DNA 的影响及解决措施[J].临床检验杂志 2007,25(5):359-360.

(本文编辑 刘畅)