

《疾病监测》审稿意见与作者答复

题目：高敏 HBV DNA 定量检测在低病毒载量乙型肝炎患者治疗监测中的应用

作者：金速速 陈占国 余坚 白伟伟 陈碎朋 谢振迪 李向阳

——审稿专家意见与答复——

初审专家意见及作者修改说明：

请您说明一下您论文与《HBV-DNA 及 HBsAg 定量对低病毒载量慢性乙肝的临床意义》相比较的先进性或者不同之处。

答：李敏伟在《HBV-DNA 及 HBsAg 定量对低病毒载量慢性乙肝的临床意义》这篇文章中采用的是 Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan 高敏核酸定量系统检测 HBV DNA，是国际主流参比实验室首选的核酸定量检测系统。但是该方法存在成本高，需要专用设备，难以在各级实验推广。而本文采用国产全自动核酸提纯及荧光 PCR 分析系统是一个基于临床大规模微量基因定量分析而推出的一种流水线式核酸检测平台。从标本录入开始到 PCR 定量出报告全程自动化，完全闭管检测，减少交叉污染。具有检测通量大、检测效率高等优点，且成本相对低廉，适用于各个实验室的推广和应用。根据 2013 版《医学实验室质量和能力认可准则在基因扩增检验领域的应用说明》对此方法学进行性能评估，显示其性能可靠，适合于低病毒载量的乙型肝炎患者治疗监测。因此，本文所采用的方法适合中国国情，适合各级实验室及基层医院的推广和使用。

复审专家意见及作者修改说明：

1、为什么最低检测限做 20 次，定量检测限做 25 次，防污染验证做 12 次？是否参考文献 4 的要求？

答：根据 CNAS-CL36：医学实验室质量和能力认可准则在基因扩增检验领域的应用说明，定量检测方法和程序的分析性能验证内容至少应包括精密度、正确度、线性测量和/或可报告范围、抗干扰能力等。根据浙江省临检中心发布的 HBV DNA 性能验证试验方案，最低检测限检测 20 次，定量检测限检测 25 次，防污染验证检测 80 个标本。我们防污染验证是 4 份和阴性血清 4 份，按照（阴-阳-阴-阳-阴-阳-阴）的顺序交叉放置，重复检测 12 次，共 96 个标本（注：提取仪最大孔位为 96 个）。具体文件见附件。

2、20IU/ml 不一定是最低检测限，也有可能低于 20IU/ml（请结合乙肝治疗的指南，看是否有最低检测限要求）

答：最低检测限的实验方法：使用小牛血清稀释 HBV 3 次方标准品至最低灵敏度浓度 20 IU/ml，重复检测 20 次。对以上实验结果统计检出率，要求总检出率至少为 95%。而我们在实际检测过程中，也能检出低于 20IU/ml，但阳性检出率为 65%，检出率不稳定，数据只能作为参考。另外，根据《慢性乙型肝炎防治指南(2015 年版)》，20 IU/ml 已满足临床需求。我们的检出限低于浙江省临床检验

中心规定的要求，即 HBV DNA 定量检测试剂的最低检测限为 30 IU/ml。

3、厦门安普利的核酸提取和检测效果需与其它国内外的实验研究比较，不仅仅是罗氏金标准

答：已在文中相应位置添加厦门安普利与湖南圣湘的实验研究比较，并用红色标记。根据湖南圣湘的乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒说明书中的线性范围、精密度、灵敏度、最检测出限、准确性方面均与本研究所使用的厦门安普利性能接近，但成本稍贵。

4、HBsAg 是参考指标

答：已对这句话进行修改，并用红色标记标出。

5、该仪器是否适合基层卫生服务机构推广？

答：该仪器适用于各级具备临床基因扩增实验室的医院推广使用。实验室要有分区，分为标本接收室、试剂配制室、标本处理室、扩增，产物分析室。该仪器应摆放在标本处理室。

-----定稿会意见与答复-----

定稿会意见：

本文经这次修改后，基本达到要求，可以发表，谢谢！