

实时定量PCR检测BCR-ABL(P210)转录本水平室内长期质控体系的建立及应用

钟朝琴 何娜 华明强 魏晓东 马道新 纪春岩

【摘要】 目的 制备BCR-ABL(P210)实时定量PCR(RQ-PCR)检测的室内质控物,建立RQ-PCR检测BCR-ABL(P210)转录本水平的室内质控方法。方法 取K562细胞和HL-60细胞,制备RQ-PCR检测BCR-ABL(P210)转录本水平的高、低浓度质控物,2013年8月至2015年10月用RQ-PCR法与临床标本同步检测BCR-ABL(P210) 184次,按试剂批号(批号20130303、20131212、20140411和20150327分别简称为R1、R2、R3、R4)统计分析标准曲线斜率、截距及相关系数,并按试剂批号和质控物批号(批号20130725、20140611分别简称为Q1、Q2)统计分析高、低浓度质控物检测结果,对斜率、截距及质控物检测结果采取Levey-Jennings质控图结合Westgard多规则质控方法进行质控判断。结果 ①标准曲线斜率、截距:R1检测53次,斜率、截距均未失控;R2检测37次,斜率失控6次,且第2~8次在 $\bar{x}-s$ 限值下侧,第12~37次在 \bar{x} 值上侧,截距失控9次,且第1~8次在 $\bar{x}+s$ 限值上侧,第12~37次出现在 \bar{x} 值下侧;R3检测80次和R4检测14次,斜率、截距均未失控。②质控物结果:Q1批号质控物,R1检测49次未失控,R2检测23次失控1次;Q2批号质控物,R2检测14次、R3检测72次及R4检测14次均未失控。结论 利用K562细胞和HL-60细胞制备定量检测BCR-ABL(P210)转录本水平的高、低浓度室内质控物,制备方便,检测结果可靠、稳定,使用质控物检测结果结合标准曲线斜率、截距进行室内质控,可更有效地保证临床检测结果的准确性和稳定性。

【关键词】 实时聚合酶链反应; 融合蛋白质类,BCR-ABL; 室内质量控制; 斜率; 截距
基金项目:国家自然科学基金(81470319)

The establishment and application of internal quality control system for real-time quantitative PCR detection of BCR-ABL (P210) transcript levels Zhong Chaoqin, He Na, Hua Mingqiang, Wei Xiaodong, Ma Daoxin, Ji Chunyan. Department of Hematology, Qilu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, China

Corresponding author: Ma Daoxin, Email: daoxinma@sdu.edu.cn

【Abstract】 Objective To set internal quality control system of BCR-ABL(P210) transcript levels for real-time quantitative PCR (RQ-PCR). **Methods** Using K562 cells and HL-60 cells, we prepared high- and low-level BCR-ABL internal quality control substance. The BCR-ABL(P210) transcript levels of internal quality control substance have been determined for 184 times together with clinical samples from August 2013 to October 2015. The slope rate, intercept and correlation coefficient of standard curve were calculated according to different reagent lots (lots number 20130303, 20131212, 20140411 and 20150327 are called R1, R2, R3 and R4 for short respectively), and the detection results of quality control substance were calculated according to different reagent lots and quality control substance lots (lots number 20130725, 20140611 are called Q1, Q2 for short respectively). Then the results were analyzed by Levey-Jennings quality control chart combined with Westgard multi-rules theory. **Results** ①We analyzed the slope rate and intercept of standard curve. Fifty-three times of the R1 reagent detection, 80 times of the R3 reagent detection and 14 times of the R4 reagent detection were all under control. For 37 times detection of R2 reagent, the slope rate was out of control for 6 times. It was lower than $\bar{x}-s$ for the 2-8 tests and upper the average for the 12-37 tests. The intercept was out of control for 9 times, upper the $\bar{x}+s$ for the 1-8 tests and lower the average for the 12-37 tests. ②According to the detection results of quality control

substance, for Q1 quality control substance, 49 tests by R1 reagent were under control, and 1 out of 23 tests by R2 reagent was out of control. For Q2 quality control substance, 14 tests by R2 reagent detection, 72 tests by R3 reagent detection and 14 tests by R4 reagent were all under control. **Conclusion** The preparation of high- and low-level quality control substance using K562 and HL-60 cells was convenient and the detection results were reliable and stable. The application of quality control substance combined with slope rate and intercept in the internal quality control may contribute to quality assurance for quantitative detection of BCR-ABL (P210) transcript levels.

【Key words】 Real-time polymerase chain reaction; Fusion proteins, BCR-ABL; Internal quality control; Slope rate; Intercept

Fund program: National Natural Science Foundation(81470319)

慢性髓性白血病(CML)是起源于造血干细胞的恶性克隆性疾病, Ph染色体和BCR-ABL融合基因是CML诊断的金标准和治疗的分子靶点^[1]。检测BCR-ABL(P210)转录本水平有助于CML患者的辅助诊断、疗效监测及预后判断,因此确保BCR-ABL(P210)检测结果的准确性、可靠性、稳定性及可比性,具有极其重要的意义^[2-8]。实时定量PCR(RQ-PCR)是目前监测BCR-ABL(P210)水平普遍使用且敏感的分子生物学检测技术,人员、技术、试剂、仪器、环境及内参基因等诸多因素都会影响其检测质量,为保证自身实验室的检测质量,实验室须严格执行标准化操作方案,并进行室内质控^[3-4,6,8-15]。为了实现检测结果的可比性,2013年10月北京大学人民医院作为地区参比实验室,山东大学齐鲁医院血液病研究室用20130303批号试剂获取并验证了国际标准化(IS)的转换系数(CF)0.36,2014年12月用20140411批号试剂再次验证CF保持为0.36^[5-6,15]。更换试剂批号可能会影响检测结果,需要在试剂、标准曲线、质控物三个层次上通过室内质控进行监测^[11,16]。室内质控物是室内质控不可或缺的一部分,目前尚无相应统一的室内质控物,针对本PCR实验室工作的实际情况,我们制备了BCR-ABL(P210)检测的高、低浓度室内质控物,对质控物检测结果及标准曲线的斜率、截距、相关系数进行统计分析,并利用Levey-Jennings质控图结合Westgard多规则质控方法,对BCR-ABL(P210)转录本的定量检测进行室内质控动态监测。

材料与方法

一、仪器、试剂与质控物

ABI7500荧光定量PCR基因扩增仪为美国Life Technologies公司产品。BCR-ABL(P210)融合基因检测试剂盒购自上海源奇生物医药科技有限公司,批号20130303、20131212、20140411和

20150327,分别简称为R1、R2、R3、R4;质控物为本实验室制备,批号20130725、20140611,分别简称为Q1、Q2。

二、室内质控物的制备及分装

1. Q1批号质控物:取本实验室培养的K562细胞[BCR-ABL(P210)阳性]并进行细胞计数,430×g离心5 min,去上清,PBS洗涤2遍,加入TRIzol稀释为 5×10^5 /ml,作为高浓度质控物,其BCR-ABL(P210)预期检测结果相当于CML患者初诊水平^[5,7-8];按同样方法取HL-60细胞[BCR-ABL(P210)阴性],PBS洗涤2遍,加入TRIzol稀释为 1×10^6 /ml,将K562与HL-60细胞按1:1 000、1:2 000、1:3 000、1:4 000稀释,进行RQ-PCR检测,低浓度质控物的选择原则:选取IS转换后BCR-ABL(P210)结果接近主要分子学反应(MMR)即0.1%^[3,5,7-8,10]的稀释倍数作为长期低浓度质控物。将上述2种质控物充分混匀,分别分装于去RNAase的Ep管,每管1 ml,-80℃冰箱冷冻保存。

2. Q2批号质控物:2014年6月11日按上述制备Q1批号质控物的方法制备并分装保存Q2批号质控物。

三、质控物及CML患者标本的检测

1. RNA提取:每批次实验按操作规程严格进行,取高、低浓度质控物各1管,按说明书与临床标本同时提取总RNA。

2. 试剂配制及加样:以ABL为内参基因,按照说明书分别配制ABL和BCR-ABL的PCR反应液,加入PCR反应管内,然后在其中分别加入上述提取的临床标本及高、低浓度质控物的RNA,并设置阴性、空白及阳性对照、ABL质粒标准品(10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 拷贝),反应总体积15 μl。

3. PCR扩增及结果表示:循环条件设置为42℃ 30 min;94℃ 5min;94℃ 15 s,60℃ 60 s,40个循环,37℃ 1 min。反应结束后,阈值设置为

5 000,根据标准曲线,计算出待测标本的BCR-ABL(P210)和内参基因ABL的拷贝数,结果以BCR-ABL(P210)拷贝数/ABL拷贝数 $\times 100\%$ 表示(文中所有结果为IS转换前结果)。

四、统计学处理

1. 统计学分析:按试剂批号统计分析标准曲线斜率、截距和相关系数,并按试剂批号和质控物批号统计分析高、低浓度质控物检测结果,对标准曲线斜率、截距及质控物检测结果分别用SPSS19.0统计软件进行不同试剂批号间两两比较的方差齐性分析和 t 检验,以 $P < 0.05$ 为两批号结果差异有统计学意义。并用Graphpad Prism 5软件做直方图,分别对Q1、Q2批号质控物检测结果进行不同试剂批号间的比较。

2. 质控判断:用Excel做标准曲线斜率、截距及质控物结果的折线图,并对质控数据采用Levey-Jennings质控图结合 $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_{1s}/10_x$ 的Westgard多规则质控方法进行评价^[17]。质控结果超过 $\bar{x} \pm 2s$ 限值时,为“警告”信号,提示本批结果可能有问题,如需进一步判断质控数据是否失控,则启动 1_{3s} 、 2_{2s} 、 R_{4s} 、 4_{1s} 、 10_x 质控规则(1_{3s} 失控规则:当质控物数据超过 $\bar{x} \pm 3s$ 限值时,为失控; 2_{2s} 失控规则:同一质控物连续两次同方向超出 $\bar{x} \pm 2s$ 限值,或同批两个质控物结果同方向超出 $\bar{x} \pm 2s$ 限值,为失控; R_{4s} 规则:同一批中两个质控结果之差超出 $4s$ 范围; 4_{1s} 失控规则:同一质控物连续4次同方向超出 $\bar{x} \pm s$ 限值,或两个质控物结果同时同方向连续2次超出 $\bar{x} \pm s$ 限值,为失控; 10_x 失控规则:同一质控物结果连续10次落在 \bar{x} 值同一侧,或两个质控物包括本批次两个测定值在内的连续10个测定值落在 \bar{x} 值同一侧,为失控)。

结 果

一、实验体系的可靠性

每次实验结果,阴性和空白对照为阴性,阳性对照为阳性,且数值在规定范围内,标准品及高、低

浓度质控物的扩增曲线呈S型,说明每次实验均成功。

二、质控物浓度的选择

K562与HL-60细胞系列稀释后检测结果如表1所示,根据选择原则,最终以1:3 000稀释作为长期低浓度质控物。

表1 K562细胞与HL-60细胞系列稀释后BCR-ABL检测结果比较(%)

| 浓度 | 均数 | 国际标准化值 |
|---------|------|--------|
| 1:1 000 | 1.84 | 0.66 |
| 1:2 000 | 0.83 | 0.30 |
| 1:3 000 | 0.31 | 0.11 |
| 1:4 000 | 0.19 | 0.07 |

三、标准曲线的结果分析

1. 不同批号试剂盒间斜率、截距的差异分析:不同批号试剂盒标准曲线的斜率、截距、相关系数结果如表2所示,各批号试剂盒间标准曲线差异均有统计学意义或接近统计学意义,说明不同批号试剂存在差异。

2. 斜率、截距不同批号试剂盒间的校正转换及质控图的延续:分别用R1检测53次的标准曲线的斜率、截距绘制L-J质控图即图1、2,R2标准曲线的斜率、截距与R1比较差异无统计学意义($P > 0.05$),直接使用图1、2,R3和R4标准曲线与R1比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),斜率分别通过倍数0.98、0.96,截距分别通过倍数0.96、0.94转换后使用图1、2。

3. 斜率、截距的质控判断:不同批号试剂盒标准曲线斜率和截距质控图如图1、2所示。R1检测53次,斜率第48次出现“警告”,Westgard分析未失控,其余无“警告”、“失控”;R2检测37次,斜率失控6次(第7、11、22、30、31、34次),且第2~8次在 $\bar{x}-s$ 限值下侧,第12~37次在 \bar{x} 值上侧,截距失控9次(第4、7、28、29、30、31、34、36、37次),且第1~8次在 $\bar{x}+s$

表2 不同批号试剂标准曲线斜率、截距及相关系数

| 试剂批号 | 检测次数 | 斜率 | | | 截距 | | | 相关系数 | | |
|------|------|---------------------|------|-------|----------------------|------|-------|--------|--------|--------|
| | | \bar{x} | s | CV(%) | \bar{x} | s | CV(%) | Q25 | M | Q75 |
| R1 | 53 | -3.46 | 0.12 | 3.34 | 41.73 | 0.82 | 1.96 | 0.9989 | 0.9993 | 0.9997 |
| R2 | 37 | -3.40 | 0.18 | 5.41 | 41.25 | 1.44 | 3.48 | 0.9980 | 0.9991 | 0.9996 |
| R3 | 80 | -3.38 ^a | 0.08 | 2.25 | 40.13 ^{ab} | 0.52 | 1.30 | 0.9976 | 0.9988 | 0.9996 |
| R4 | 14 | -3.33 ^{ac} | 0.09 | 2.70 | 39.04 ^{abd} | 0.43 | 1.11 | 0.9979 | 0.9988 | 0.9995 |

注:与R1批号比较,^a $P < 0.01$;与R2批号比较,^b $P < 0.01$;与R3批号比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

限值上侧,第12~37次都在 \bar{x} 值下侧,说明R2不稳定;R3检测80次和R4检测14次,其斜率、截距均无“警告”、“失控”。

四、室内质控物的检测结果分析

不同批号试剂检测不同批号质控物结果见

表3。

1. Q1批号质控物检测结果不同批号试剂的比较:如图3A所示,R2的检测结果偏高于R1,差异有统计学意义($P_{高}=0.000, P_{低}=0.001$);R3与R1接近($P_{高}=0.089, P_{低}=0.184$);R2的检测结果偏高于R3

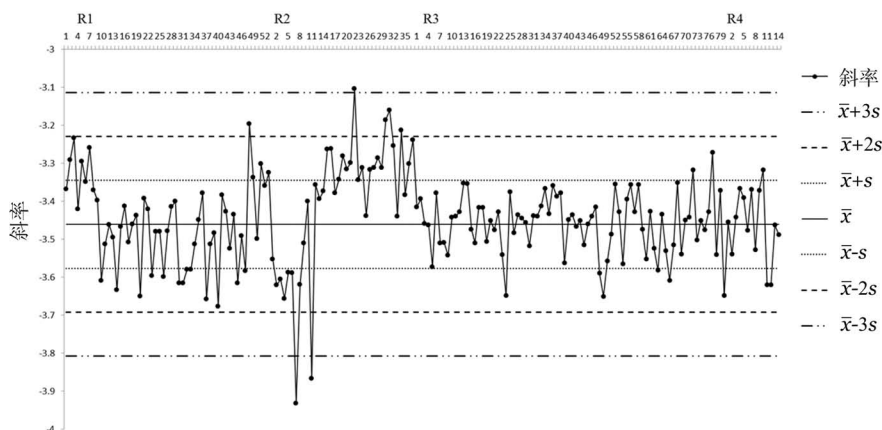


图1 标准曲线斜率L-J质控图

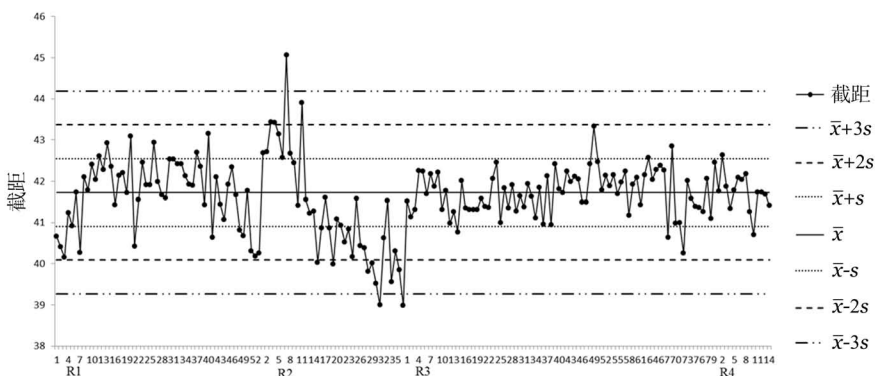


图2 标准曲线截距L-J质控图

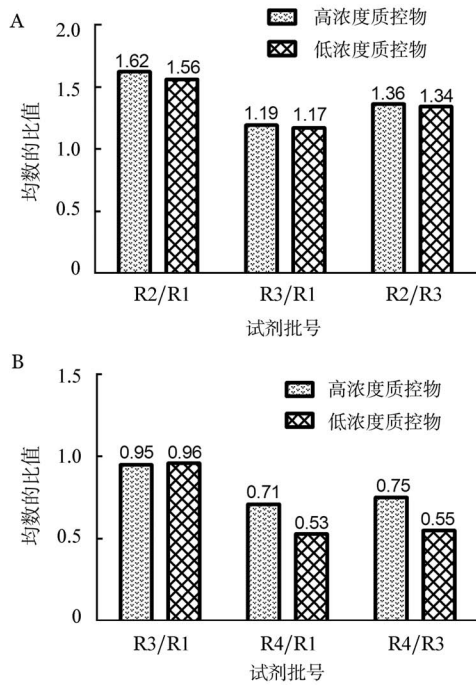
表3 不同质控物批号及试剂批号质控物检测结果分析

| 试剂批号 | 质控物批号 | 时间段 | 检测次数 | 浓度水平 | 检测结果(%) | | | P值(\bar{x} 的倍数) |
|------|-------|-----------------------|------|------|-----------|--------|-------|--------------------|
| | | | | | \bar{x} | s | CV | |
| R1 | Q1 | 2013-08-20-2014-04-11 | 49 | 高 | 185.95 | 54.46 | 29.29 | |
| | | | | 低 | 0.34 | 0.11 | 31.14 | |
| | Q2 | 2014-07-21-2014-07-28 | 4 | 高 | 242.76 | 41.18 | 16.96 | |
| | | | | 低 | 0.51 | 0.22 | 42.34 | |
| R2 | Q1 | 2013-12-31-2014-04-11 | 23 | 高 | 300.52 | 102.37 | 34.06 | 0.000(1.62) |
| | | | | 低 | 0.53 | 0.22 | 41.56 | 0.001(1.56) |
| | Q2 | 2014-06-13-2014-08-01 | 14 | 高 | 246.10 | 38.78 | 15.76 | 0.000(1.32) |
| | | | | 低 | 0.36 | 0.11 | 30.94 | 0.575(1.05) |
| R3 | Q1 | 2014-08-01-2014-08-26 | 8 | 高 | 221.11 | 43.67 | 19.75 | |
| | | | | 低 | 0.40 | 0.15 | 38.61 | |
| | Q2 | 2014-06-13-2015-10-13 | 72 | 高 | 229.93 | 52.27 | 22.73 | 0.000(1.24) |
| | | | | 低 | 0.49 | 0.11 | 21.54 | 0.000(1.44) |
| R4 | Q2 | 2015-04-07-2015-10-28 | 14 | 高 | 172.30 | 27.75 | 16.11 | 0.211(0.93) |
| | | | | 低 | 0.27 | 0.05 | 19.53 | 0.001(0.79) |

注:P值(\bar{x} 的倍数)为更换试剂或质控物批号时,与R1检测Q1质控物结果均数的比较

($P_{高}=0.005, P_{低}=0.126$)。

2. Q2批号质控物检测结果不同批号试剂的比



A:Q1批号质控物;B:Q2批号质控物
图3 不同批号试剂检测不同批号质控物结果

较:如图3B所示,R3的检测结果与R1接近($P_{高}=0.631, P_{低}=0.858$);而R4与R1比较,质控物结果偏低($P_{高}=0.001, P_{低}=0.111$),R4与R3比较,质控物结果偏低($P_{高}=0.000, P_{低}=0.000$)。

3. 更换试剂或质控物批号时质控物结果的校正转换和质控图的延续:分别用R1检测Q1批号质控物49次的高、低浓度质控物结果绘制L-J质控图,即图4、图5。如表3所示,更换试剂批号或质控物批号时,与R1检测Q1比较,质控物结果差异均有统计学意义,因此分别将R2检测Q1、R2检测Q2、R3检测Q2及R4检测Q2的质控物结果用表3所示均数的倍数转换后使用图4、图5。

4. 质控物结果的质控判断:如图4、图5所示,R1检测Q1批号质控物49次,高浓度质控物结果第7、12次“警告”,低浓度质控物结果第40、41次“警告”,经Westgard判断未失控;R2检测Q1批号质控物23次,高浓度质控物结果第2次“警告”,低浓度质控物结果第2、5、8次“警告”,经Westgard判断第2次失控;R2检测Q2批号质控物14次,低浓度质控物结果第10次“警告”,经Westgard判断未失控;R3检测Q2批号质控物72次及R4检测Q2批号质控物14次,质控物结果均无“警告”、“失控”。

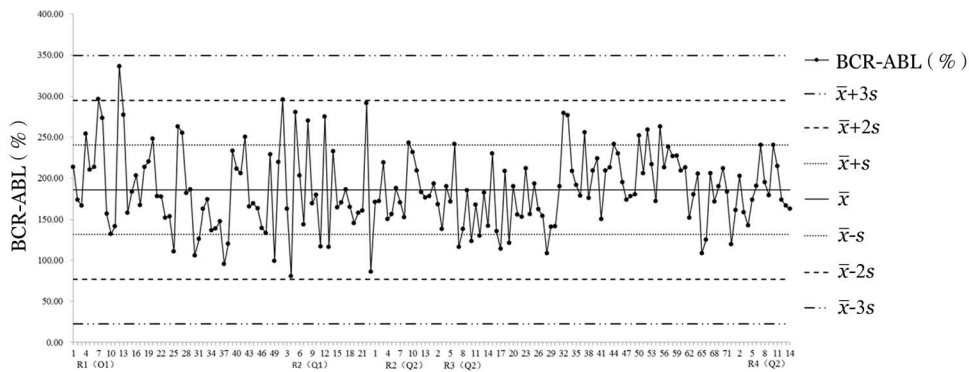


图4 高浓度质控物结果L-J质控图

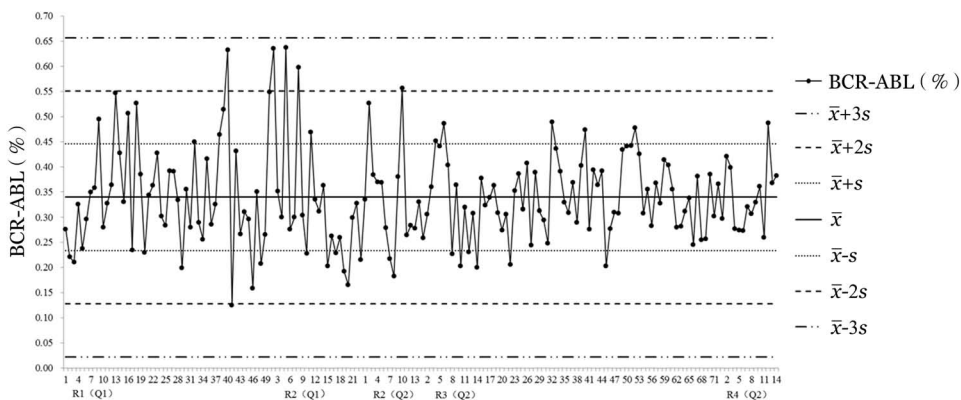


图5 低浓度质控物结果L-J质控图

讨 论

目前室内质控在 HBV、HCV、CMV 的核酸定量检测方面已相当成熟,多数研究仅采用质控物结果进行质控判断,亦有文献利用质控物结果结合标准曲线斜率、截距作为室内质控的监测手段^[16, 18-19]。BCR-ABL(P210)转录本水平定量检测的室内质控,目前正处于探索阶段,虽然 Adelaide 实验室等在此方面做了一定工作^[3, 8-10],但目前尚无统一的 BCR-ABL(P210)室内质控标准。

本实验室根据自身情况并结合相关研究制备了高、低浓度质控物^[3, 9-11, 13]。有文献报道,BCR-ABL 转录本水平较高时,内参基因的不同可造成检测结果被高估或低估,因而 CF 值仅适用于 BCR-ABL^{IS}≤10% 时;基于 MMR 的临床指导意义及 CF 值的适用范围,我们认为低浓度质控物意义更大^[3, 6-8]。每次检测临床标本时,应同条件进行质控物检测,以保证检验结果的准确性,使得批内重复性和精密度得到最大限度保证^[18]。

试剂稳定是进行质量控制和临床检测的前提,试剂稳定性可根据扩增反应的标准曲线斜率、截距的质控来进行判定和动态监控^[20-21]。在保证试剂、标准曲线有效后,可对质控物结果进行质控判断,从而决定 PCR 结果是否可靠,报告单能否发放。本实验中我们共使用了 4 批试剂、两批质控物,质控物结果的变异系数与国际权威的 Adelaide 实验室一致^[3]。R1 检测 Q1、R3 检测 Q2 及 R4 检测 Q2 的质控物结果均无失控,说明质控结果满意,两批号质控物分装、保存后稳定性好。R1、R3 及 R4 标准曲线的斜率、截距均无失控,说明这三个批号试剂稳定可靠。R2 检测的 37 次,标准曲线斜率变异系数大于 5%,且斜率、截距变异系数均大于其余三批试剂,结合斜率、截距及质控物的质控判断结果,标准曲线失控 11 次(违背 1_s、2_s、4_{is}、10_r规则),且多次连续落在 \bar{x} 值一侧甚至超出 $\bar{x}+s$ 或 $\bar{x}-s$ 限值,存在严重系统误差和随机误差^[12-13, 17];虽然利用 R2 得到的质控物结果仅失控 1 次,但总体波动较大,且低浓度质控物结果多次出现“警告”,因而判定 R2 批号试剂不稳定,需及时进行更换。

根据 Westgard 多规则判定方法,检测结果没有超出 $\bar{x}+2s$ 限值不属于失控,但如果出现倾向性改变,则提示系统误差,检验人员应尽快寻找原因予以纠正^[14, 17]。本研究中,除 R2 斜率、截距多次连续落在 \bar{x} 值一侧甚至超出 $\bar{x}+s$ 或 $\bar{x}-s$ 限值外, R1、R3、

R4 的标准曲线斜率、截距及质控物结果也出现倾向性改变,我们发现后及时排查原因,发现与更换加样器、操作人员变动等有关,纠正后恢复正常。

本实验主要为回顾性研究,实际工作中可用前 20 次的结果绘制 L-J 图,结合 Westgard 多规则质控方法进行质控判断,随检测次数增加,定期调整均值、标准差并绘制 L-J 质控图。更换试剂或质控物批号时,应以新的质控物或试剂重新检测至少 20 次,累积数据绘制新质控图,也可校正转化后使用原质控图。然而,在质控图的延续方面可能存在很多困难,李金明等^[22]提出可以利用回归方程来解决这一问题。本实验更换试剂批号或质控物批号时,与前一一批号试剂或质控物在工作日交叉检测,并同时检测约 10 次,通过对数据进行比较和差异分析,再通过均数的倍数转换后使用原质控图,质控结果满意,我们认为这种转换方法可行,实验室应结合自身情况探索质控图延续方法。

试剂更换可能会影响 BCR-ABL 转录本水平的检测值,影响 CF 值,因此不要频繁更换试剂批号,更不要轻易更换生产厂家。要保证获得的 CF 值持续有效,自身实验室须严格执行标准化操作方案,严格进行室内质控,一旦检测方案有变化,需重新验证 CF 值^[3-4, 6, 9-10, 15]。若 CF 值未及时再确认,在保证检测结果准确、可靠的前提下,可将临床标本检测结果经质控物结果均数的倍数转换后使用原 CF 值,以保证检测结果的可比性。

因而,室内质控物是否在控是能否发放报告最常用也是最主要的依据,室内质控在临床检测中具有极其重要的地位,本实验室制备了高、低浓度质控物,利用其检测结果结合标准曲线斜率、截距进行室内质控,并采用 Levey-Jennings 质控图结合 Westgard 多规则质控方法进行质控判断,能更有效地保证 BCR-ABL(P210)转录本水平检测结果的可靠性、准确性。

参 考 文 献

- [1] Melo JV, Hughes TP, Apperley JF. Chronic myeloid leukemia [J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2003:132-152.
- [2] Press RD, Love Z, Tronnes AA, et al. BCR-ABL mRNA levels at and after the time of a complete cytogenetic response (CCR) predict the duration of CCR in imatinib mesylate-treated patients with CML [J]. Blood, 2006, 107 (11):4250-4256. doi: 10.1182/blood-2005-11-4406.
- [3] Branford S, Fletcher L, Cross NC, et al. Desirable performance

- characteristics for BCR-ABL measurement on an international reporting scale to allow consistent interpretation of individual patient response and comparison of response rates between clinical trials [J]. Blood, 2008, 112 (8):3330-3338. doi: 10.1182/blood-2008-04-150680.
- [4] 秦亚涛. 慢性髓性白血病分子监测国际标准化的意义[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35 (2): 102-103. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.02.008.
- [5] 秦亚涛, 程辉, 岑建农, 等. 定量检测 bcr-abl (P210) 转录本水平多中心对比研究[J]. 中华血液学杂志, 2013, 34 (2):104-108. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2013.02.004.
- [6] 秦亚涛, 林振兴, 岑建农, 等. 用于转换国际标准的 BCR-ABL (P210) 转录本水平的转换系数多中心确认研究[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35 (2):134-137. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.02.016.
- [7] Müller MC, Cross NC, Erben P, et al. Harmonization of molecular monitoring of CML therapy in Europe [J]. Leukemia, 2009, 23 (11):1957-1963. doi: 10.1038/leu.2009.168.
- [8] Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results [J]. Blood, 2006, 108 (1):28-37. doi: 10.1182/blood-2006-01-0092.
- [9] Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program [J]. Leukemia, 2003, 17 (12):2318-2357. doi: 10.1038/sj.leu.2403135.
- [10] Stanoszek LM, Crawford EL, Blomquist TM, et al. Quality control methods for optimal BCR-ABL1 clinical testing in human whole blood samples [J]. J Mol Diagn, 2013, 15 (3):391-400. doi: 10.1016/j.jmoldx.2013.02.004.
- [11] 黄学忠. 荧光定量 PCR 室内质控体系的概念及方法 [J]. 国外医学 (临床生物化学与检验学分册), 2005, 26 (7):478. doi: 10.3969/j.issn.1673-4130.2005.07.045.
- [12] 李金明. 临床免疫检验的质量保证 [J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29 (11):1053-1056. doi: 10.3760/j.issn:1009-9158.2006.11.032.
- [13] 秦晓光. 室内质控的主要工具--质量控制图 [J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26 (11):710-712. doi: 10.3760/j.issn:1009-9158.2003.11.037.
- [14] 莫培生. 室内质量控制和基本统计学 [J]. 中华医学检验杂志, 1996, 19 (1):49-51.
- [15] 秦亚涛, 马道新, 王云贵, 等. 转换国际标准的 BCR-ABL (P210) 转录本水平的转换系数多中心再确认研究 [J]. 中华血液学杂志, 2015, (10):814-817. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.10.002.
- [16] 尤崇革, 李飞, 潘云燕, 等. HBV-DNA 定量检测的室内质量控制 [J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25 (3):152-153, 156. doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2010.03.056.
- [17] 王惠民. 临床实验室管理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2012: 13-24.
- [18] 祁金友, 樊卫. 实时荧光定量聚合酶链反应检测乙型肝炎病毒 DNA 室内质控累积数据的评价 [J]. 检验医学与临床, 2011, 8 (15):1845-1846. doi: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.15.027.
- [19] 夏吉荣, 杨双双, 罗志鑫. 多参数在实时荧光定量 PCR 检测乙型肝炎病毒 DNA 室内质控中的应用 [J]. 激光杂志, 2013, (4): 123-124. doi: 10.3969/j.issn.0253-2743.2013.04.056.
- [20] 黄学忠, 杜笑雅, 吴祥. 荧光定量 PCR 试剂盒质量评估方法建立及初步应用 [J]. 浙江检验医学, 2003, 1 (4):37-39.
- [21] 黄学忠, 杜笑雅, 吴祥. 利用标准曲线斜率与截距对 HBV DNA 荧光定量 PCR 实施质量监控 [J]. 临床检验杂志, 2004, 22 (3): 232-233. doi: 10.3969/j.issn.1001-764X.2004.03.046.
- [22] 李金明, 郑怀竟, 王露楠, 等. 乙型肝炎表面抗原定性测定室内质控物浓度的选择方法 [J]. 中华肝脏病杂志, 2003, 11 (4): 228-231. doi: 10.3760/j.issn:1007-3418.2003.04.012.

(收稿日期:2015-12-21)

(本文编辑:王叶青)

·读者·作者·编者·

作者投稿须知

1. 按本刊要求写作: 登录《中华血液学杂志》网站 (<http://www.hematoline.com>), 参见首页作者中心栏中的“投稿须知”及“写作指导”栏目。
2. 作者注册: 请打开本刊网站首页点击“在线投稿”即进入中华医学会网站 (<http://www.cma.org.cn>)。在网站首页注册并申请为杂志作者(用户名和密码为您在中华医学会统一的登录信息, 请牢记! 忘记密码可通过电子信箱索取)。
3. 投稿: 注册成功后进入“业务中心”。点击【远程稿件管理系统】, 相应的功能即显示在下方。点击“作者投稿”, 按要求填写内容, 摘要在字数允许范围内尽可能详细, 并上传原稿(点击“暂存”稿件进入【我的草稿】模块)。选择《中华血液学杂志》, 并点击“投稿”。
4. 邮寄纸稿及介绍信: 请在投稿平台上下载论文投送介绍信及授权书, 签字盖章后连同原稿打印件(注明稿件编号)一并寄至本刊编辑部。