

• 论 著 •

## 不同核酸提取方法对 HBV-DNA 检测性能验证情况分析

周文娟<sup>1</sup>, 林 真<sup>1</sup>, 徐建萍<sup>2△</sup>

(1. 福建医科大学附属协和医院检验科, 福建 福州 350001; 2. 福建医科大学医学技术与工程学院, 福建 福州 350001)

**[摘要]** **目的** 评估 2 种乙型肝炎病毒(HBV)-DNA 提取方法及 2 家检测试剂的性能, 有助于选择优化提取试剂和检测试剂。**方法** 2023 年 4 月采用达安全自动核酸提取仪提取法(磁珠法)和手工提取法(一步法), 并用达安和圣湘 2 种 HBV-DNA 试剂检测, 对其进行精密度、正确度、线性范围、检出限及抗干扰能力等性能进行验证和评价。**结果** 达安全自动核酸提取仪提取达安试剂检测、手工提取达安试剂检测和手工提取圣湘试剂检测在精密度、正确度、线性范围、检出限方面验证结果均达标; 达安全自动核酸提取仪提取圣湘试剂检测在低值检测中变异系数大于 5%, 最低检测限验证不合格; 抗干扰能力方面, 全自动核酸提取仪提取的 2.0 g/dL 血红蛋白浓度的样本用达安和圣湘试剂检测结果均不受影响。手工提取甘油三酯浓度达 3 000 mg/dL 的样本用达安和圣湘试剂检测的结果均不受影响。**结论** 不同厂家的提取和检测试剂避免混用, 达安和圣湘试剂对 HBV-DNA 定量检测的结果均符合要求。

**[关键词]** 乙型肝炎病毒-DNA 定量检测; 全自动核酸提取仪法; 手工提取法; 性能验证

DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-5519. 2024. 04. 007

中图法分类号: R446. 62

文章编号: 1009-5519(2024)04-0575-06

文献标识码: A

**Analysis of different nucleic acid extraction methods on the verification  
of HBV-DNA detection performance**

ZHOU Wenjuan<sup>1</sup>, LIN Zhen<sup>1</sup>, XU Jianping<sup>2△</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Fujian Medical University Union Hospital, Fuzhou, Fujian 350001, China; 2. School of Medical Technology and Engineering, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350001, China)

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the performance of two hepatitis B virus (HBV)-DNA extraction methods and two detection reagents, and to help select and optimize the extraction reagents and detection reagents. **Methods** In April 2023, Da'an automatic nucleic acid extractor extraction method (magnetic bead method) and manual extraction method (one-step method) were used to detect HBV-DNA with Da'an and Shengxiang reagents. The precision, accuracy, linear range, detection limit and anti-interference ability were verified and evaluated. **Results** The results showed that the detection results of Da'an automatic nucleic acid extraction instrument extraction of Da'an reagent detection, manual extraction of Da'an reagent detection and manual extraction of Shengxiang reagent detection were up to the standard in terms of precision, accuracy, linear range and detection limit. Shengxiang reagent was extracted by Da'an automatic nucleic acid extraction instrument, coefficient of variability > 5% in the low value detection, the minimum detection limit verification was not qualified. In terms of anti-interference ability, the samples with 2.0 g/dL hemoglobin concentration extracted by the automatic nucleic acid extraction instrument were not affected by the detection results of Da'an and Shengxiang reagents. Samples with triglyceride concentration up to 3 000 mg/dL were extracted manually, and the detection results of both reagents were not affected. **Conclusion** Mixing of extraction and detection reagents from different manufacturers should be avoided. The results of quantitative detection of HBV-DNA by the integrated reagents of Da'an and Shengxiang met the requirements.

**[Key words]** Hepatitis B virus-DNA quantitative detection; Automatic nucleic acid extractor method; Manual extraction method; Performance verification

据最新数据估计,全球约有 2 亿人患有慢性乙型肝炎(乙肝),我国现约有 8 600 万乙肝病毒(HBV)携带者<sup>[1-2]</sup>,每年新增感染病例 150 万例<sup>[3]</sup>,且 HBV 是导致肝硬化和肝癌的主要原因<sup>[4]</sup>。虽然已有许多有效的疫苗和抗病毒药物,但乙肝仍是严重危害我国人民健康的重大传染病之一<sup>[5]</sup>。血清或血浆 HBV-DNA 水平能更准确地反映 HBV 复制状态。HBV-DNA 定量检测对评估乙肝患者疗效具有重要意义,可用于判断患者是否适合抗病毒治疗、监测抗病毒治疗反应和病毒耐药性<sup>[6]</sup>。

当前,对 HBV-DNA 的提取方法主要有手工提取和全自动核酸提取 2 种方法。相同的检测手段因提取方法学的不同导致检测结果的准确性存在差异<sup>[7]</sup>。本研究采用上述 2 种 HBV-DNA 提取方法,用不同的 HBV-DNA 检测试剂、同一实时荧光定量扩增仪进行性能验证,评估检测结果,筛选出适合于 HBV-DNA 的提取检测体系,达到优化 HBV-DNA 检测流程的目的。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验标本** 选取 2023 年 4 月福建某三甲医院乙肝患者 HBV 定值高、低值血清与稀释用阴性血清,无溶血、脂血等现象,且 HBV-DNA、人类免疫缺陷病毒(HIV)、丙型肝炎病毒(HCV)、梅毒螺旋体(TP)等感染性疾病筛查均为阴性。标准物质 S2、S5 均购自北京康彻斯坦公司(批号:202303003)。

**1.1.2 仪器与试剂** 仪器为广州达安基因股份有限公司生产的 Stream SP96 全自动核酸提取仪、Light Cycler 480 荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪等。测试试剂为湖南圣湘生物技术股份有限公司生产的一步式 HBV 核酸提取试剂盒(批号:22035)、HBV 核酸测定试剂盒(批号:20231228),广州达安基因股份有限公司生产的核酸提取或纯化试剂盒(批号:20231118)等。

### 1.2 方法

**1.2.1 检测方法** 根据《医学实验室质量和能力认可准则》《全国临床检验操作规程》等相关规定<sup>[8]</sup>,由同一名工作人员对 HBV-DNA 分别采用全自动核酸提取仪法和手工法进行提取,用广州达安基因股份有限公司和湖南圣湘生物技术股份有限公司生产的 HBV-DNA 定量检测试剂盒进行检测,组合如下:(1)机提达安试剂检测;(2)手工提取达安试剂检测;(3)机提圣湘试剂检测;(4)手工提取圣湘试剂检测。用 Light Cycler 480 实时荧光 PCR 仪进行扩增,对其进行了精密度、正确度、线性范围、检出限及抗干扰能力等方面的性能验证试验。

**1.2.2 精密度评价** 使用低值( $10^2 \sim 10^3$  IU/mL)、高值( $10^5 \sim 10^6$  IU/mL)临床混合样本各 1 份,在较短

时间及稳定条件下同时用全自动核酸提取(磁珠法)与手工提取(一步法),并用达安和圣湘 2 种试剂各分别独立检测 20 次,计算均值、标准差(SD)和变异系数(CV),批内精密度试验, $CV \leq 5\%$ 为合格。

**1.2.3 正确度验证评价** 参考美国临床和实验室标准化协会 EP15-A3《临床实验室定量检测方法的初步评价》<sup>[9]</sup>,对 2023 年上半年参加的福建省室间质评检测的样本按国家卫生健康委员会临床检验中心的判断标准将检测结果与回报结果的靶值及允许范围进行比对,检测结果在允许范围内为合格。

**1.2.4 线性范围验证评价** 选取 1 例 HBV-DNA 高浓度样本( $10^8$  IU/mL),并用阴性血清进行倍比稀释,配制成系列梯度的血清样本,最低浓度为试剂说明的定量线性范围下限,使检出限上的点不少于 5 个。对各样本进行 3 次重复试验,并对结果进行分析。获得 3 次测定结果的平均值和每一个稀释度的期望值,将实际测量均值的对数值设置为 Y,将稀释血清浓度预测值的对数值设置为 X,绘制线性回归曲线并进行回归分析<sup>[10]</sup>。肉眼观察有无异常值,计算线性回归公式: $Y = aX + b$  和相关系数( $R^2$ )。 $R^2 \geq 0.95$  为符合要求, $R^2$  接近 1 的情况下具有良好的相关性。

**1.2.5 最低检测限验证评价** 参考美国临床和实验室标准化协会 EP17-A《检出限和定量检出限确定方案》<sup>[11]</sup>,使用阴性血清将标准物质( $1.41E+03$  IU/L)稀释到试剂说明书声明的检测下限( $30$  IU/mL),稳定条件下及在较短时间内进行独立检测(全自动核酸提取和手工提取 2 种方法,达安和圣湘 2 种检测试剂各 20 次),若阳性率大于或等于 95%则为合格。

**1.2.6 抗干扰实验验证评价** 取 HBV-DNA 阴性全血样本反复冻融导致完全溶血后,用全自动血细胞分析仪测定血红蛋白浓度,用阴性血清稀释到血红蛋白浓度为  $2.0$  g/dL(试剂盒声明的不会影响检测结果的最大的血红蛋白浓度)备用;用脂肪浓度为  $3000$  mg/dL [试剂盒声明的不会影响检测结果的最大的甘油三酯(TG)浓度]的纯牛奶作为高浓度 TG HBV-DNA 阴性样本;以无溶血、脂血的阴性血清对高浓度 HBV-DNA 倍比稀释的样本为原液样本。用高血红蛋白血清和高 TG 浓度样本及无溶血、脂血的阴性血清分别对  $10^7$  浓度样本(无溶血、脂血)倍比稀释为  $10^6$ 、 $10^5$ 、 $10^4$ 、 $10^3$ ,对比分析溶血和高血脂对样品提取与扩增的影响。稀释前后检测结果  $\Delta \lg < \pm 0.4$  为符合标准<sup>[12]</sup>。

**1.3 统计学处理** 对每个 HBV-DNA 定量检测实验结果均进行以 10 为底的对数转换,并使用 Excel2007 软件进行数据分析,计算平均数、SD、CV 等,绘制各组合函数关系的线性回归曲线, $R^2 \geq 0.95$  表示具有良好的相关性。

## 2 结果

**2.1 精密度验证** 低值样本 HBV-DNA 批内精密度评估结果见表 1。除机提圣湘试剂检测的  $CV > 5\%$  外,其他组合  $CV$  值均小于  $5\%$ ;高值样本 HBV-DNA 批内精密度评估结果见表 2。4 种组合的高值批内  $CV$  值均小于  $5\%$ ,均在可接受范围内,符合临床检测标准。机提圣湘试剂检测的低、高值结果均低于其他 3 个组合结果。

**2.2 正确度验证** 2023 年上半年参与福建省临床检验中心 HBV-DNA 室间质评的 5 个样品的检测结果:除机提圣湘试剂检测结果不合格外,其他 3 个组合检测结果均在允许范围内,达到了规定的标准。见表 3。

**2.3 线性范围** 梯度稀释的样本浓度为  $10 \sim 10^8$  IU/L,分别用机提达安试剂检测、手工提取达安试剂检测、机提圣湘试剂检测及手工提取圣湘试剂检测。3 次重复检测结果的平均值取对数作为  $X$  轴,每个稀释梯度的预期理论值取对数后为  $Y$  轴,绘制 5 个组合检测值与理论值间的线性回归曲线,见图 1。机提达安试剂检测实际值与理论值的直线回归方程为  $Y = 1.0295X + 0.1950, R^2 = 0.9972$ ;手工提取达安试剂检测实际值与理论值的直线回归方程为  $Y = 1.0482X + 0.1315, R^2 = 0.9980$ ;机提圣湘试剂检测实际值与理论值的直线回归方程为  $Y =$

$0.8845X + 1.9106, R^2 = 0.9683$ ;手工提取圣湘试剂检测实际值与理论值的直线回归方程为  $Y = 0.926X + 0.4574, R^2 = 0.9980$ 。实际检测值与预期理论值比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );实验结果符合 HBV-DNA 定量试剂说明书要求。

**2.4 最低检测限验证** 机提达安试剂检测、手工提取达安试剂检测阳性率均为  $100\%$ ,符合检测要求。手工提取圣湘试剂检测阳性率为  $95\%$ ,机提圣湘试剂检测阳性率为  $0$ ,均为不合格。见表 4。

表 1 低值 HBV-DNA 批内精密度评估结果

项目	机提达安试剂检测	手工提取达安试剂检测	机提圣湘试剂检测	手工提取圣湘试剂检测
均值(log10)	3.20	3.57	2.58	3.46
SD	0.112	0.129	0.228	0.092
CV(%)	4.05	4.96	8.65	3.66

表 2 高值 HBV-DNA 批内精密度评估结果

项目	机提达安试剂检测	手工提取达安试剂检测	机提圣湘试剂检测	手工提取圣湘试剂检测
均值(log10)	6.11	6.17	5.23	6.39
SD	0.046	0.276	0.075	0.036
CV(%)	0.75	4.48	1.20	0.56

表 3 福建省临床检验中心 2023 年上半年 HBV-DNA 室间质评结果

样本编号	机提达安试剂检测		手工提取达安试剂检测		机提圣湘试剂检测		手工提取圣湘试剂检测		允许范围
	浓度(IU/mL)	结果对数	浓度(IU/mL)	结果对数	浓度(IU/mL)	结果对数	浓度(IU/mL)	结果对数	
23101	4.19E+05	5.62	4.63E+05	5.67	1.16E+04	4.06	7.61E+05	5.88	5.94±0.40
23102	2.26E+03	3.35	2.22E+03	3.35	7.29E+02	2.86	4.00E+03	3.60	3.70±0.40
23103	2.17E+07	7.43	1.06E+07	7.03	1.08E+06	6.03	2.96E+07	7.47	7.40±0.40
23104	0	—	0	—	0	—	0	—	0
23105	3.03E+07	7.48	1.11E+07	7.05	1.99E+06	6.30	2.86E+07	7.46	7.40±0.40

注:—表示无此项。

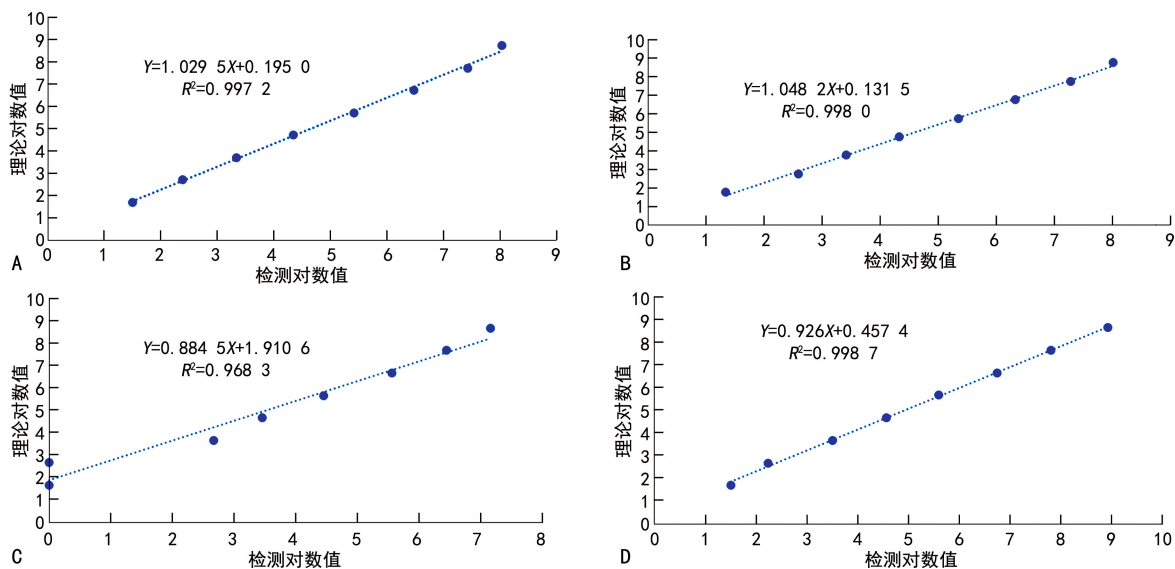
表 4 HBV-DNA 最低检测限评估结果

检测方式	HBV-DNA 样本浓度(IU/mL)	检出数(n)	平均检测值(IU/mL)	检出数(n)	检出率(%)
机提达安试剂检测	30	20	20.20	20	100
手工提取达安试剂检测	30	20	27.70	20	100
机提圣湘试剂检测	30	20	0	0	0
手工提取圣湘试剂检测	30	20	39.50	19	95

**2.5 抗干扰实验结果** 血红蛋白抗干扰性实验结果见表 5。手工提取血红蛋白浓度达  $2.0 \text{ g/dL}$  的样本用达安和圣湘试剂检测结果均受影响,检测  $10^3$ 、 $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$  IU/mL 4 个水平浓度的样本检测值较原值均低一个数量级,特别是手工提取达安试剂检测,肉眼观察阳性样本的荧光值非常低,严重影响结果计算。

全自动核酸提取仪提取的同样高血红蛋白浓度的样本用达安和圣湘试剂检测的结果均不受影响。TG 抗干扰实验结果见表 6。全自动核酸提取仪提取 TG 浓度达  $3000 \text{ mg/dL}$  的样本,用达安和圣湘试剂检测  $10^3$ 、 $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$  IU/mL 4 个水平浓度的样本结果均较原值低,而同样 TG 浓度的样本手工提取 2 种试剂

检测的结果均不受影响。



注：A. 机提达安试剂检测；B. 手工提取达安试剂检测；C. 机提圣湘试剂检测；D. 手工提取圣湘试剂检测。

图 1 实际检测值与预期理论值回归曲线

表 5 血红蛋白抗干扰实验结果

检测方式	序号	测定值(IU/mL)	测定对数值	理论值(IU/mL)	理论对数值	Δlg	Δlg 是否小于±0.4
机提达安试剂检测	1	2.60E+03	3.41	5.10E+03	3.71	-0.29	是
	2	2.62E+04	4.42	3.78E+04	4.58	-0.16	是
	3	3.52E+05	5.55	4.55E+05	5.66	-0.11	是
	4	3.28E+06	6.52	4.29E+06	6.63	-0.12	是
手工提取达安试剂检测	1	1.79E+02	2.25	3.20E+03	3.51	-1.25	否
	2	1.66E+03	3.22	2.15E+04	4.33	-1.11	否
	3	1.25E+04	4.10	2.69E+05	5.43	-1.33	否
	4	9.33E+05	5.97	4.04E+06	6.61	-0.64	否
机提圣湘试剂检测	1	5.67E+02	2.75	4.73E+02	2.67	0.08	是
	2	2.27E+03	3.36	2.86E+03	3.46	-0.10	是
	3	2.14E+04	4.33	2.83E+04	4.45	-0.12	是
	4	2.30E+05	5.36	3.62E+05	5.56	-0.20	是
手工提取圣湘试剂检测	1	3.59E+02	2.55	3.32E+03	3.52	-0.97	否
	2	4.09E+03	3.61	3.76E+04	4.57	-0.96	否
	3	3.70E+04	4.57	4.05E+05	5.61	-1.04	否
	4	5.25E+05	5.72	5.71E+06	6.76	-1.04	否

表 6 TG 抗干扰实验结果

检测方式	序号	测定值(IU/mL)	测定对数值	理论值(IU/mL)	理论对数值	Δlg	Δlg 是否小于±0.4
机提达安试剂检测	1	8.70E+02	2.94	5.10E+03	3.71	-0.77	否
	2	7.10E+03	3.85	3.78E+04	4.58	-0.73	否
	3	6.27E+04	4.80	4.55E+05	5.66	-0.86	否
	4	7.30E+05	5.86	4.29E+06	6.63	-0.77	否
手工提取达安试剂检测	1	1.69E+03	3.23	3.20E+03	3.51	-0.28	是
	2	2.21E+04	4.34	2.15E+04	4.33	0.01	是
	3	2.05E+05	5.31	2.69E+05	5.43	-0.12	是

续表 6 TG 抗干扰实验结果

检测方式	序号	测定值(IU/mL)	测定对数值	理论值(IU/mL)	理论对数值	$\Delta\lg$	$\Delta\lg$ 是否小于 $\pm 0.4$
机提圣湘试剂检测	4	2.78E+06	6.44	4.04E+06	6.61	-0.16	是
	1	0.00E+00	0.00	4.73E+02	2.67	-2.67	否
	2	3.14E+02	2.50	2.86E+03	3.46	-0.96	否
	3	2.20E+03	3.34	2.83E+04	4.45	-1.11	否
手工提取圣湘试剂检测	4	1.55E+04	4.19	3.62E+05	5.56	-1.37	否
	1	3.92E+03	3.59	3.32E+03	3.52	0.07	是
	2	5.55E+04	4.74	3.76E+04	4.57	0.17	是
	3	5.18E+05	5.71	4.05E+05	5.61	0.11	是
	4	6.82E+06	6.83	5.71E+06	6.76	0.08	是

### 3 讨 论

每年我国新增 41 万肝癌患者<sup>[13]</sup>,其中 90% 的肝癌是由 HBV 感染所致<sup>[14]</sup>。乙肝患者长期(1 年以上)接受规范一线口服抗 HBV 药物治疗后,使用荧光定量 PCR 法检测血清 HBV-DNA,仍持续或间歇地检出阳性(2 000 IU/mL 以下)就是低病毒血症。低水平 HBV-DNA 是纤维化进展的独立危险因素<sup>[15]</sup>。

HBV-DNA 定量检测主要用于评估 HBV 感染者病毒复制水平,是抗病毒治疗适应证选择及疗效判断的重要指标。对筛查出的 HBsAg 阳性者及已开始抗病毒治疗的慢性乙肝患者,采用高灵敏的实时定量 PCR 方法检测 HBV-DNA,有助于检出低病毒载量者,以便尽早开始抗病毒治疗或及时调整治疗方案。

真实、可靠的 HBV-DNA 检测结果不仅是预防感染 HBV 的关键,也是监测乙肝患者疗效的关键指标。检测系统的性能验证是检验工作中保证检测质量的前提。本研究根据 GB/T37871-2019《核酸检测试剂盒质量评价技术规范》和 CANS-CL02-A009:2018《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》要求,对所用 HBV-DNA 提取和检测系统的精密性、正确性、检测限及线性范围进行了验证评估,结果显示,达安全自动核酸提取仪提取和手工提取的核酸用达安 HBV-DNA 定量检测试剂检测及手工提取的核酸用圣湘 HBV-DNA 定量检测试剂检测,低、高值同批次分别重复检测 20 次,计算批内精密性 CV<5%,符合要求;正确性方面,2023 年上半年参与福建省临床检验中心 HBV-DNA 室间质评的 5 个样品的检测结果均在允许范围内;最低检出限方面,均能检测到试剂说明书声明的 30 IU/mL 浓度;线性范围方面,也均能达到各自说明书声明范围,且线性关系良好。对达安全自动核酸提取仪提取圣湘 HBV-DNA 定量检测试剂检测结果的性能验证指标,特别是低值的检测结果均不理想。分析原因为主要是不同厂家的试剂加样量和扩增体系不同造成的失真结果。

本研究抗干扰实验采用自制脂肪血和溶血阴性样本,对无溶血、无脂血  $10^7$  IU/mL 浓度样本梯度稀释成  $10^6$ 、 $10^5$ 、 $10^4$ 、 $10^3$  IU/mL 4 个样本连续检测 3 次,各项目均可以 100% 检出。但数值方面,对试剂盒声明的不影响检测最大血红蛋白浓度(2.0 g/dL)的溶血样本用手工提取检测结果较原值结果不符合  $\Delta\lg < \pm 0.4$ ;试剂盒声明的不影响检测结果的最大的 TG 浓度(3 000 mg/dL)的脂血样本用全自动核酸提取仪提取检测结果较原值结果不符合  $\Delta\lg < \pm 0.4$ ,二者均较原值低。分析原因为:高浓度血红蛋白超过手工提取物中的特异性抗抑制 DNA 聚合酶活性物质,使抑制物不能被完全消除,从而造成影响,使检测结果偏低;由于 TG 是脂溶性,特别是 TG 高浓度样本,因张力影响磁珠的吸附率,进而影响全自动核酸提取仪的提取效率,从而造成 HBV-DNA 检测结果偏低。因此,对高浓度溶血或脂血样本要选择合适的提取方法,避免漏检。

综上所述,为更好地避免低水平 HBV-DNA 的漏检,在选择合适扩增试剂的同时,还应按需求选择合适的核酸提取方法,按《CNAS-GL039 分子诊断检验程序性能验证指南》<sup>[16]</sup>要求选用一体化提取和扩增试剂,在满足试剂性能验证条件下,根据各自实验室条件和需求选择手工或全自动核酸提取仪提取。

### 参考文献

- [1] HSU Y C, HUANG D Q, NGUYEN M H. Global burden of hepatitis B virus: Current status, missed opportunities and a call for action [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2023, 20 (8): 524-537.
- [2] 李亚萍,刘晨瑞,郝苗,等. 乙肝临床治愈: 欣喜与期待[J]. 世界华人消化杂志, 2023, 31(20): 837-845.
- [3] 胡小小,石小枫. 乙型肝炎表面抗原清除后与疾病长期临床结局的关系[J]. Advances in Clinical

cal Medicine, 2023, 13: 4123-4128.

- [4] 谢晓, 陆伦根. 乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗的进展[J]. 实用肝脏病杂志, 2018, 21(1): 140-144.
- [5] SCHWEITZER A, HORN J, MIKOLAJCZYK R T, et al. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: A systematic review of data published between 1965 and 2013[J]. Lancet, 2015, 386(10003): 1546-1555.
- [6] 谢艳迪, 封波, 饶慧瑛. 《慢性乙型肝炎防治指南(2022 年版)》解读[J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(7): 1553-1559.
- [7] 任亚萍, 胡敏. ISO15189:2012 与临床实验室定量检测程序分析性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(2): 209-213.
- [8] 胡婷婷, 刘维薇. 医学实验室质量和能力认可准则(ISO15189:2012)专用要求概述[J]. 临床检验杂志, 2013, 31(11): 867-871.
- [9] AGUIRRE J J, NESS K, ALGECIRAS-SCHIMNICH A. Application of the CLSI EP15-A3 guideline as an alternative troubleshooting tool for verification of assay precision[J]. Am J Clin Pathol, 2019, 152(Suppl 1): S88.
- [10] 李艳梅, 江忠勇, 李志强. 实时荧光定量 PCR HBV-DNA 检测系统性能验证方法的探讨[J]. 西南国防医药, 2018, 28(12): 1177-1179.
- [11] MORETTI M, SISTI D, ROCCHI M B, et al. CLSI EP17-A protocol: A useful tool for better understanding the low end performance of total

prostate-specific antigen assays[J]. Clin Chim Acta, 2011, 412(11/12): 1143-1145.

- [12] 史露宾, 毛逸琪, 李世宝, 等. 全自动核酸提取及荧光定量多聚酶链式反应分析系统对 HBV-DNA 试剂盒检测性能的验证及评价[J]. 临床与病理杂志, 2022, 42(2): 263-273.
- [13] 王世越, 董晨, 常楚迪, 等. 中国原发性肝癌基层筛查的机遇与挑战[J]. 中国全科医学, 2023, 26(36): 4498.
- [14] 孙学华. 慢乙肝患者怎样做才能最大程度的预防肝癌发生? [J]. 肝博士, 2023(1): 38.
- [15] SUN Y, WU X, ZHOU J, et al. Persistent low level of hepatitis B virus promotes fibrosis progression during therapy[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2020, 18(11): 2582-2591.
- [16] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL039 分子诊断检验程序性能验证指南[S/OL]. (2019-02-15) [2023-10-24]. [https://wenku.baidu.com/view/a91b85a96d85ec3a87c24028915f804d2b16879e.html?\\_wks\\_ = 1703489996965 & bdQuery=CNAS-GL039+%E5%88%86%E5%AD%90%E8%AF%8A%E6%96%AD%E7%A8%8B%E5%BA%8F%E6%80%A7%E8%83%BD%E9%AA%8C%E8%AF%81%E6%8C%87%E5%8D%97 & needWelcomeRecommand=1](https://wenku.baidu.com/view/a91b85a96d85ec3a87c24028915f804d2b16879e.html?_wks_ = 1703489996965 & bdQuery=CNAS-GL039+%E5%88%86%E5%AD%90%E8%AF%8A%E6%96%AD%E7%A8%8B%E5%BA%8F%E6%80%A7%E8%83%BD%E9%AA%8C%E8%AF%81%E6%8C%87%E5%8D%97 & needWelcomeRecommand=1).

(收稿日期: 2023-11-24 修回日期: 2023-12-31)

(上接第 574 页)

- [29] BUTRYM A, KRYCZEK I, DLUBEK D, et al. High expression of CC chemokine receptor 5 (CCR5) promotes disease progression in patients with B-cell non-Hodgkin lymphomas[J]. Curr Probl Cancer, 2018, 42(2): 268-275.
- [30] CHEN R, ZINZANI P L, FANALE M A, et al. Phase II study of the efficacy and safety of pembrolizumab for relapsed/refractory classic hodgkin lymphoma[J]. J Clin Oncol, 2017, 35(19): 2125-2132.
- [31] YOUNES A, SANTORO A, SHIPP M, et al. Nivolumab for classical Hodgkin's lymphoma after failure of both autologous stem-cell transplantation and brentuximab vedotin: A multicentre, multicohort, single-arm phase 2 trial [J]. Lancet Oncol, 2016, 17(9): 1283-1294.
- [32] WANG C Y, THUDIUM K B, HAN M H, et

al. In vitro characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and in vivo toxicology in non-human primates[J]. Cancer Immunol Res, 2014, 2(9): 846-856.

- [33] SHEVACH E M, DIPAOLO R A, ANDERSON J, et al. The lifestyle of naturally occurring CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells [J]. Immunol Rev, 2006, 212(1): 60-73.
- [34] SAKAGUCHI S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self[J]. Nat Immunol, 2005, 6(4): 345-352.
- [35] ZUO T, WANG L Z, MORRISON C, et al. FOXP3 is an X-Linked breast cancer suppressor gene and an important repressor of the HER-2/ErbB2 oncogene[J]. Cell, 2021, 184(26): 6378.

(收稿日期: 2023-05-09 修回日期: 2023-10-20)