

• 论 著 •

两种国产荧光定量 PCR 试剂与 Roche 定量试剂的比较*

杨鑫城,单幼兰[△]

重庆医科大学附属第二医院感染病科,重庆 400010

摘要:**目的** 探讨两种国产荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)试剂以及 Roche 定量试剂检测乙型肝炎病毒核酸(HBV-DNA)结果之间的相关性,分析各方法之间的差异性,比较两种国产试剂的临床应用性能,选择更适合该实验室的试剂。**方法** 收集用 Roche 定量试剂检测过的 71 例乙型肝炎患者血清,分别采用 A、B 两种试剂进行平行检测,然后对各检测结果进行比较,分析 3 种试剂之间的相关性和差异性;并对 A、B 试剂的最低检测限、最低定量限、线性范围、重复性精密度、正确度等性能指标进行验证。**结果** A、B 试剂的检出率均高于 Roche 试剂,B 试剂的检出率最高,且两种国产试剂定量结果与 Roche 试剂比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。A 试剂与 Roche 试剂的符合率高于 B 试剂;A、B 试剂的定量结果与 Roche 试剂均有良好的相关性,相关系数分别为 0.896、0.908,差异均有统计学意义($P<0.05$);A 试剂的最低检测限为 20 IU/mL,最低定量限为 100 IU/mL,线性方程为 $Y=-0.996X+8.925(R^2=0.999)$,在 $1.0\times10^2\sim1.0\times10^8$ IU/mL 范围内线性良好,高浓度值变异系数为 2.99%,低浓度值变异系数为 4.70%,与 Roche 试剂的偏倚绝对值为 6.69%;B 试剂的最低检测限为 20 IU/mL,最低定量限为 20 IU/mL,线性方程为 $Y=-0.985X+8.575(R^2=0.999)$,在 $2.0\times10^1\sim1.0\times10^8$ IU/mL 范围内线性良好,高浓度值变异系数为 0.73%,低浓度值变异系数为 3.64%,与 Roche 试剂的偏倚绝对值为 6.08%。**结论** B 试剂核酸提取率较高,灵敏度和准确度也较高,重复性更好,且具有更宽的线性范围,但是自动化程度相对较低;总体来说,近年来一些国产 HBV-DNA 定量试剂性能逐渐优化,可以满足乙型肝炎患者的抗病毒和治疗监测的基本要求,其定量结果与 Roche 定量试剂有良好的相关性。通过比较,B 试剂更适合该实验室。

关键词: 荧光定量聚合酶链反应; Roche 定量试剂; 乙型肝炎病毒核酸

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.01.005

中图法分类号:R512.62

文章编号:1673-4130(2023)01-0029-05

文献标志码:A

Comparison of two domestic fluorescent quantitative PCR reagents and Roche quantitative reagent*

YANG Xincheng, SHAN Youlan[△]

Department of Infectious Disease, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China

Abstract:**Objective** To explore the correlation between two domestic fluorescent quantitative Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR) reagents and Roche reagent in the detection of hepatitis B virus nucleic acid (HBV-DNA), analyze the differences between each method, compare the clinical application performance of the two domestic reagents, and select the reagent that is more suitable for the laboratory. **Methods** The serum of 71 patients with hepatitis B detected by Roche reagent were collected, A and B reagents were used for parallel detection, then the results were compared, and the correlation and difference between the three reagents were analyzed. The performance indexes of A and B reagent, such as the limit of detection, the limit of quantification, the linear range, the repeatability precision, accuracy, etc. were verified. **Results** The detection rates of reagent A and B were higher than that of Roche reagent, and the detection rate of reagent B was the highest, and there was no significant difference between the quantitative results two domestic reagents with Roche reagent ($P>0.05$). The coincidence rate between reagent A and Roche reagent was higher than that of reagent B. The quantitative results of reagent A and B were well correlated with Roche reagent, and the correlation coefficients were 0.896 and 0.908, respectively, and differences were statistically significant ($P<0.05$). The limit of detection of reagent A was 20 IU/mL, and the limit of quantification of reagent A was 100 IU/mL, the linear equation was $Y=-0.996X+8.925(R^2=0.999)$. The linearity was good in the linearity

* 基金项目:重庆市自然科学基金面上项目(cstc2021jcyj-msxmX0059)。

作者简介:杨鑫城,男,检验技师,主要从事临床分子检验研究。 [△] 通信作者, E-mail:228770220@qq.com。

range $1.0 \times 10^2 - 1.0 \times 10^8$ IU/mL. The coefficient of variation of high concentration value was 2.99%, the coefficient of variation of low concentration value was 4.70%, and the absolute value of bias with Roche reagent was 6.69%. The limit of detection of reagent B was 20 IU/mL, and the limit of quantification of reagent B was 20 IU/mL, the linear equation was $Y = -0.985X + 8.57$ ($R^2 = 0.999$). The linearity was good in the linearity range $2.0 \times 10^1 - 1.0 \times 10^8$ IU/mL. The coefficient of variation of high concentration value was 0.73%, the coefficient of variation of low concentration value was 3.64%, and the absolute value of bias with Roche reagent was 6.08%. **Conclusion** Reagent B has higher nucleic acid extraction rate, higher sensitivity and accuracy, better repeatability, and has a wider linear range, but the degree of automation is relatively low. In general, in recent years, the performance of some domestic HBV-DNA reagents has been gradually optimized, which could meet the basic requirements of antiviral and treatment monitoring of hepatitis B patients, and has a good correlation with Roche quantitative reagents. By comparison, reagent B is more suitable for the laboratory.

Key words: fluorescent quantitative Polymerase Chain Reaction; Roche quantitative reagent; hepatitis B virus nucleic acid

乙型肝炎(下称乙肝)病毒(HBV)感染是一个全球性的公共健康问题,据世界卫生组织估计,2019 年全世界约有 2.96 亿慢性乙肝患者^[1]。我国是全球 HBV 感染率最高的国家,大约有 9 000 万 HBV 感染者^[2]。HBV 具有高度传染性,可以通过血液、性接触或者母婴传播,感染后可导致急或慢性肝炎、肝硬化甚至肝癌。还有研究表明 HBV 感染不仅可以增加肝癌风险,还可以增加其他癌症的发生率,例如胃癌、胰腺癌等^[3]。乙肝核酸(HBV-DNA)定量测定在乙肝患者的临床治疗过程中有着极为重要的参考价值,准确定量血清中的 HBV-DNA 对医生的诊断和用药非常重要^[4-5]。HBV-DNA 还是直接反映 HBV 复制状态及传染性的最佳指标^[6],HBV-DNA 的含量能直接反映病毒在体内存在的数量、是否传染,传染性有多强。此外,国外报道称,较高浓度的 HBV-DNA 与肝细胞癌的发病率和快速进展高度相关^[7]。近年来,高灵敏度 HBV-DNA 技术因其检测下限低和线性范围广等优势,越来越受到临床医生的关注,许多专家和指南也将高灵敏度 HBV-DNA 检测结果作为 HBV 核苷酸药物治疗终点的重要指标^[8]。国内有很多不同厂家生产的 HBV-DNA 荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)试剂盒,不同试剂盒的性能存在一定差异,导致不同医院之间的结果难以进行比较^[9]。因此,本文选用国内两种 HBV-DNA RT-qPCR 试剂盒及目前国际广泛应用的 Roche 试剂对 71 例临床乙肝患者血清进行检测,并对两种试剂的一些性能参数进行验证,比较检测结果之间的差异性和相关性,探讨各方法之间临床应用价值,以选择更适合本实验室的试剂,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2019 年 10 月至 2020 年 3 月在本院感染科实验室做高灵敏度 HBV-DNA 定量检测的门诊及住院乙肝患者标本 71 例,标本以 4 000 r/min 的速度离心 5 min,将血清分装至无菌 EP 管中,于 -20°C 冰箱冷冻保存,最长保存时间不超过 6 个

月。HBV-DNA 标准品 (1.0×10^8 IU/mL,批号 300022-201601)购自中国食品药品检定研究院,使用阴性血清 10 倍梯度稀释至相应浓度值备用。

1.2 仪器与试剂 核酸扩增仪为 Applied Biosystem 公司提供的 ABI-7500 荧光定量分析仪和罗氏公司的 Cobas AmpliPrep/Cobas Taqman 48 系统;A 试剂由上海复星医学有限公司提供,采用台湾圆点奈米技术股份有限公司提供的 FD-SLA-32 型全核酸自动提取仪提取核酸;B 试剂由北京纳捷诊断试剂有限公司提供,采用静态核酸制备技术对核酸进行提取。

1.3 方法 取用 Roche 定量试剂检测过的 71 例血清标本,分别用 A、B 两种试剂进行平行检测,测定标本的 HBV-DNA 载量,所有操作均严格按照试剂盒和仪器说明书进行。

1.3.1 A 试剂检测方法 在 96 孔预装板第一列中加入 300 μL 标本,放入核酸提取仪进行提取,35 min 后取提取结束的 HBV-DNA 20 μL 加入含有 30 μL 反应液的反应管中,低速离心后置 RT-qPCR 仪上进行检测。其扩增条件为 50°C 反应 2 min, 94°C 保温 5 min, 94°C 10 s, 60°C 45 s, 5 个循环,再按 94°C 10 s, 60°C 45 s, 循环 40 次,扩增总时间约为 80 min。

1.3.2 B 试剂检测方法 将 100 μL 待测标本加入分装有裂解液的 PCR 反应管中,轻轻吹打混匀,静置 5 min,移至磁力架静置 3 min,吸弃上清液,加入 250 μL 漂洗液,静置 2 min,吸弃上清液。加入 45 μL PCR 反应液即可上机检测。扩增条件为 50°C 反应 2 min, 95°C 保温 5 min,再按 95°C 15 s, 62°C 45 s, 循环 50 次,扩增过程需要 90 min。

1.3.3 Roche 定量试剂检测方法 取 750 μL 待测标本加入样品管,移至 Cobas AmpliPrep 仪进行核酸提取,一个标本大概需要 45 min 可以提取完成,提取结束后转移至 Cobas Taqman 48 仪进行扩增,扩增过程需要 150 min。

1.3.4 A、B 试剂的性能指标及验证 (1)最低检测限和最低定量限:使用阴性血清对国家标准物质(10^8

IU/mL)进行稀释,制备 5、10、20、40 和 100 IU/mL 的梯度标本,分别各进行 8 复孔检测。计算每个浓度的检出率,最低检测限要求检出率大于 95.00%,最低定量限要求 85.00%以上的结果理论值与实测值对数偏差在±0.4 范围内^[10]。(2)线性范围:取一份定量值约为 10⁸ IU/mL 的临床标本用阴性血清进行 10 倍等倍梯度稀释,配制 8 种不同浓度的标本,每个标本重复检测 3 次,结果转化为对数值后计算线性回归方程和相关系数 *r*,要求 *r*≥0.997(*r*²≥0.995)^[11]。(3)重复性精密度:重复性精密度采用低浓度值(10² IU/mL)和高浓度值(10⁵ IU/mL)定值标本分别重复检测 10 次,计算平均值(\bar{x}),标准差(*s*)和变异系数(CV)。要求标准差 *s*≤3/5 TEa(0.24),CV≤5.00%^[12]。(4)正确度评价:参考 EP15-A2 文件^[12],以两种方法间标本结果比较来验证正确度,以 Roche 定量试剂为参比试剂,A、B 试剂为实验试剂。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行分析,血清 HBV-DNA 检测结果经对数转换后呈正态分布,3 组数据定量结果均使用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较使用配对 *t* 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验。将检验结果取对数值后计算两种方法的结果偏倚,根据《CNAS-CL36. 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》^[13]要求偏倚结果绝对值<7.5%。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 种试剂检出率及病毒载量分析 在检测的 71 例血清标本中,A 试剂检出阳性标本 49 例,检出率为 69.01%;B 试剂检出阳性标本 60 例,检出率为 84.51%;Roche 试剂检出阳性标本 44 例,检出率为 61.97%,三者比较差异有统计学意义($\chi^2=9.327$,*P*<0.05)。A 试剂 HBV-DNA 病毒载量检测结果为(2.73±0.82)Log₁₀ IU/mL,B 试剂 HBV-DNA 病毒载量检测结果为(3.38±0.84)Log₁₀ IU/mL,Roche 试剂 HBV-DNA 病毒载量检测结果为(3.10±0.88)Log₁₀ IU/mL。A、B 试剂分别与 Roche 试剂定量结果比较,差异均无统计学意义(*P*=0.282、0.611)。而 A 试剂与 B 试剂定量结果比较,差异有统计学意义(*P*=0.039)。见表 1。

表 1 三种试剂检出率及病毒载量结果比较				
试剂	<i>n</i>	阳性 (<i>n</i>)	检出率(%)	HBV-DNA 载量 (Log ₁₀ IU/mL, $\bar{x} \pm s$)
A	71	49	69.01	2.73±0.82
B	71	60	84.51	3.38±0.84
Roche	71	44	61.97	3.10±0.88

2.2 两种试剂与 Roche 试剂检测结果的阴阳性符合率比较 71 例标本中,A 试剂与 Roche 试剂的阳性符合率为 90.91%(40/44),阴性符合率为 66.67%(18/27),总符合率为 81.69%;B 试剂与 Roche 试剂

的阳性符合率为 97.72%(43/44),阴性符合率为 37.04%(10/27),总符合率为 74.65%。根据检测结果,A 试剂与 Roche 试剂的 Kappa 值为 0.597,但差异无统计学意义(*P*=0.267),两种试剂一致性中等;B 试剂与 Roche 试剂的 Kappa 值为 0.393,两种试剂一致性一般,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 A、B 两种试剂与 Roche 试剂检测结果阴阳性符合率检验				
Roche 试剂	A 试剂(<i>n</i> =71)		B 试剂(<i>n</i> =71)	
	阳性	阴性	阳性	阴性
阳性(<i>n</i> =44)	40	4	43	1
阴性(<i>n</i> =27)	9	18	17	10
符合率(%)	81.69		74.65	
McNemar	0.276 ^a		<0.001 ^a	
Kappa	0.597		0.393	
<i>P</i>	<0.001		<0.001	

注:^a 使用二项式分布。

2.3 两种试剂与 Roche 试剂检测结果的相关性分析 3 种试剂对 71 例血清标本进行检测,其中 32 例标本的 3 种试剂检测结果均有数值,其余至少有一种试剂未检测出具体数值。对 A、B 试剂和 Roche 试剂检测有数值的结果取对数值后进行相关性分析。A 试剂与 Roche、B 试剂与 Roche 的分别为 0.896、0.908(均 *P*<0.05),A 试剂与 Roche、B 试剂与 Roche 的相关线性回归方程分别为 *Y*=0.763*X*+0.590(*R*²=0.803)、*Y*=0.760*X*+1.100(*R*²=0.825)。见表 3。

表 3 A、B 两种试剂与 Roche 试剂的相关性分析		
项目	A 试剂与 Roche	B 试剂与 Roche
回归方程	<i>Y</i> =0.763 <i>X</i> +0.590	<i>Y</i> =0.760 <i>X</i> +1.100
<i>r</i>	0.896	0.908
<i>P</i>	<0.001	<0.001

2.4 A、B 试剂的性能验证

2.4.1 最低检测限及最低定量限 A 试剂重复检测 8 次浓度为 20 IU/mL 的标本,检出率为 100.00%,提示该试剂的最低检测限为 20 IU/mL,重复检测 8 次浓度为 100 IU/mL 的标本,检出率为 100.00%且对数值结果偏差均在±0.4 范围内,提示该试剂的最低定量限为 100 IU/mL;B 试剂重复检测 8 次浓度为 20 IU/mL 的标本,检出率为 100.00%且 87.50%的对数值结果偏差在±0.4 范围内,提示该试剂的最低检测限和最低定量限均为 20 IU/mL。

2.4.2 线性范围 A 试剂数据处理后得到的回归方程为:*Y*=−0.996*X*+8.925,*R*²=0.999。见图 1。通过最低定量限实验及此实验验证可知,A 试剂在 1.0×10²~1.0×10⁸ IU/mL 浓度范围内线性良好。

B 试剂数据处理后得到的回归方程为： $Y = -0.985X + 8.575, R^2 = 0.999$ 。见图 2。通过最低定量限实验及此实验验证可知，B 试剂在 $2.0 \times 10^1 \sim 1.0 \times 10^8$ IU/mL 浓度范围内线性良好。

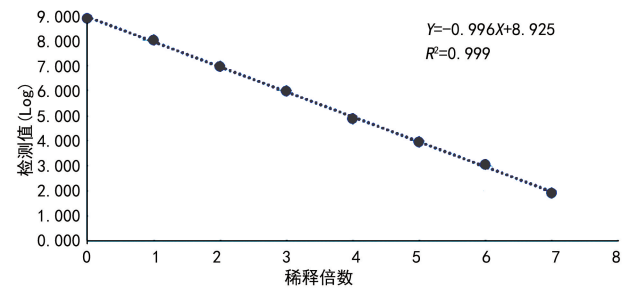


图 1 A 试剂线性回归直线

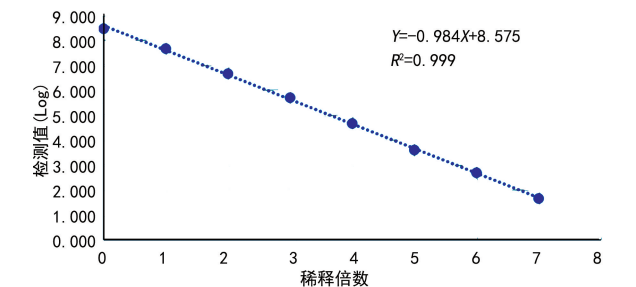


图 2 B 试剂线性回归直线

2.4.3 重复性精密度 A 试剂重复性精密度低浓度值和高浓度值结果($\bar{x} \pm s$)分别为 $(2.06 \pm 0.10) \text{Log}_{10}$ IU/mL 和 $(5.14 \pm 0.15) \text{Log}_{10}$ IU/mL, CV 分别为 4.70% 和 2.99%, CV 均小于 5.00%。B 试剂重复性精密度低浓度值和高浓度值结果($\bar{x} \pm s$)分别为 $(2.15 \pm 0.08) \text{Log}_{10}$ IU/mL 和 $(5.01 \pm 0.04) \text{Log}_{10}$ IU/mL, CV 分别为 3.64% 和 0.73%, 低浓度值与高浓度值的 CV 均小于 5.00%。

2.4.4 正确度评价 根据偏倚 = (实验方法结果 - 参比方法结果) / 参比方法结果 $\times 100.00\%$, A、B 两种试剂检测均有数值的结果剔除离群值后计算偏倚分别为 -6.69%, 6.08%。两种试剂偏倚均在 $\pm 7.50\%$ 内, 正确度良好, 但 B 试剂与 Roche 试剂之间的偏倚绝对值更小, 可比性更高。

3 讨论

尽管现在有很多有效的抗病毒药物和疫苗, 但是 HBV 感染仍然是世界范围内一个重大的公共卫生挑战。为了判断 HBV 感染的阶段或者 HBV 感染者肝脏炎性疾病的发生进展, 需要进行 HBV-DNA 定量检测。HBV-DNA 定量检测在判断疾病活动性、制订抗病毒治疗方案、治疗监测以及判断治疗终点中均起到重要作用^[14]。目前, 定量检测 HBV-DNA 的方法有很多种, 其中, 荧光定量 PCR 是常用的检测手段^[15]。Roche 试剂具有较高的灵敏度、精密度、重复性, 被国际公认为是 HBV-DNA 定量的参比试剂^[16], 其最低检测限为 20 IU/mL, 但价格昂贵, 难以在基层医院广泛使用。A 试剂核酸提取采用的是目前国内常用的

磁珠分离技术, 最低检出限为 20 IU/mL, 虽然其最低检测限与 Roche 试剂的一致, 但其最低定量限为 100 IU/mL, 高于 Roche 试剂的最低定量限 20 IU/mL, 这意味着使用 A 试剂进行检测时, 100 IU/mL 以下的病毒载量无法准确定量, 甚至有无法检出的可能性。而 B 试剂所采用的是一种简称“静态核酸制备技术”的方法, 标本处理和检验在一个 PCR 反应管中完成, 其最低检测限和最低定量限均为 20 IU/mL, 可以达到和 Roche 试剂同一个灵敏水平。在此次研究中, 有 2 例标本 A 试剂的检测结果偏低, 比 B 试剂和 Roche 试剂低了 3 个数量级以上, 原因可能与不同基因型病毒株感染或病毒发生变异造成的引物探针不能有效结合有关。因此, 对于实验室检测结果与临床症状严重不符的标本, 有必要采用不同的试剂盒进行复核, 以保证结果的准确性。

研究结果显示, A、B 试剂的检出率均高于 Roche 试剂。不同试剂间检测结果的差异考虑可能与试剂引物扩增序列, 或者某些乙肝病毒发生前区变异有关^[9], 也可能与试剂的质量或操作误差等有关^[17]。此次结果与既往的部分报道^[18-19]不一致, 这些实验发现国产试剂的阳性率低于进口试剂, 而此次实验发现, 此两种国产试剂的检出率均高于 Roche 试剂。但此种差异是否是由于准确度或灵敏度所导致的还需要更进一步的研究。近年来国内也有不少针对国产高灵敏度 HBV-DNA 定量的方法学研究报道^[20-21]。本实验还将 A、B 试剂与 Roche 试剂病毒载量的结果进行了比较, 发现 A、B 试剂与 Roche 试剂定量结果之间差异无统计学意义, 说明两种试剂定量结果与 Roche 试剂无显著差别。这与周美美等^[19]报道有所不同, 说明近年来一些国产 HBV-DNA 试剂定量性能方面逐渐优化, 可以和 Roche 试剂相媲美。而且本研究结果发现 B 试剂的定量结果稍高, 这可能与其核酸提取的方式有关, 其核酸提取和扩增过程均在一个反应管中进行, 减少了 HBV-DNA 提取过程的各种损耗。本研究将两种国产试剂与 Roche 试剂的检测结果显示, 在阴阳性符合率方面做了比较, 结果显示, A、B 试剂与 Roche 试剂的符合率分别为 81.69%、74.65%。相比之下, B 试剂与 Roche 试剂的符合率偏低, 这是因为在 Roche 试剂 44 例阳性标本中, B 试剂检出了 43 例, 仅有 1 例未检出, 而 Roche 试剂 27 例阴性标本中, B 试剂检出了 17 例阳性, 阳性符合率达到了 97.72%, 阴性符合率仅有 37.04%。分析认为可能是近年来一些国产荧光定量 PCR 试剂的灵敏度逐渐提高, 可以检测到 Roche 试剂无法检测到的低浓度值, 导致阴阳性符合率有较大的差异, 期待后续补充完善相关实验。在定量方面, A 试剂与 Roche 试剂的 r 为 0.896, B 试剂与 Roche 试剂的 r 为 0.908。说明两种试剂的检测结果显示与 Roche 都有良好的相关性, B 试剂相对更好一些。此外, 本研究结果表明, A、B 试剂的

最低检测限均不大于 30 IU/mL,符合《乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸定量检测试剂注册技术审查指导原则》中限定 HBV-DNA 注册试剂的最低检测限^[10]。极低水平的 HBV-DNA 在部分人群中有着重要的临床意义^[8],行 HBV-DNA 检测能从 HBV 表面抗原无反应性标本中有效发现低病毒载量的乙肝患者,特别是能有效检出 OBI 和 HBeAg(一)慢性乙型肝炎患者,防止血清学漏检^[22]。此外,本研究发现,A、B 试剂检测值与理论值之间线性良好,分别在 $1.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^8$ IU/mL 和 $2.0 \times 10^1 \sim 1.0 \times 10^8$ IU/mL 浓度范围内成线性, $r^2 \geq 0.995$,符合要求。A、B 试剂说明书所述的最高定量限分别 1.0×10^9 IU/mL 和 2.0×10^9 IU/mL,但是本次实验未取得浓度高于 1.0×10^9 IU/mL 的标本,故仅验证 10^8 IU/mL 以下的线性。验证的低、高浓度标本重复性、精密度、CV 均符合要求,验证通过,具有良好的重复性。本文还以 Roche 试剂为参比试剂,A、B 试剂为实验试剂,分别验证了 A、B 试剂的正确度,平均偏倚均小于 $\pm 7.5\%$,可以满足临床应用的要求。

通过比较可以发现 B 试剂的性能相对 A 试剂更加优越,B 试剂核酸提取率较高,灵敏度和准确度也较高,重复性更好,且具有更宽的线性范围,但是自动化程度相对较低。总体来说,近年来我国国产的乙肝定量试剂性能逐渐优化,定量结果方面与进口试剂有良好的相关性,可以满足临床患者治疗监测的要求。各实验室应综合考虑,在保证检验质量的前提下,选择符合自己实验室的试剂。通过进行 A、B 试剂的性能验证实验及与 Roche 试剂对临床标本的检测比较可知,B 试剂更适合本实验室,选择 B 试剂将可以检测到更低水平的 HBV-DNA,核酸获取率也更高,能为临床提供更准确的报告。

参考文献

- [1] World Health Organization. Hepatitis B[EB/OL]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>,2021-07-21.
- [2] SU S,WONG W CW,ZOU Z,et al. Cost-effectiveness of universal screening for chronic hepatitis B virus infection in China:an economic evaluation[J]. Lancet Glob Health, 2022,10(2):278-287.
- [3] TIAN T,SONG C,JING L,et al. Hepatitis B virus infection and the risk of cancer among the Chinese population [J]. Int J Cancer,2020,147(11):3075-3084.
- [4] 陈晓彤,梁静,刘相富,等. 慢性乙型肝炎患者外周单核细胞衍生的巨噬细胞的极化态与 HBV-DNA 的相关性及其动态变化[J]. 中山大学学报(医学科学版),2022,43(1):86-95.
- [5] YIM H J,KIM J H,PARK J Y,et al. Comparison of clinical practice guidelines for the management of chronic hepatitis B: When to start,when to change, and when to

- stop[J]. Clin Mol Hepatol,2020,26(4):411-429.
- [6] TU T,BUDZINSKA M A,SHACKEL N A,et al. HBV-DNA integration:molecular mechanisms and clinical implications[J]. Viruses,2017,9(4):75.
- [7] SONG J E,KIM D Y. Diagnosis of hepatitis B[J]. Trans Med,2016,4(18):338.
- [8] 里进,李一荣. 高灵敏度 HBV-DNA 临床检测应用现状及发展趋势[J]. 分子诊断与治疗杂志,2019,11(5):422-427.
- [9] 巫智勇,叶英. 两种 HBV-DNA 荧光定量 PCR 检测试剂的检测能力精度比较[J]. 中西医结合肝病杂志,2021,31(4):366-368.
- [10] 药监局通告[2013]3 号. 乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸定量检测试剂注册技术审查指导原则. <http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL0087/81119.html>,2013-05-17.
- [11] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证:WS/T 420—2013[S]. 北京:中国标准出版社,2013.
- [12] Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification of performance for precision and trueness: approved guideline-second edition[S]. EP15-A2,CLSI,2005.
- [13] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL36. 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[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
- [14] 张春娇,仲崇明. 核酸免提取 HBV-DNA 检测方法性能评价[J]. 实验与检验医学,2018,36(4):513-515.
- [15] LIU C,CHANG L,JIA T,et al. Real-time PCR assays for hepatitis B virus DNA quantification may require two different targets[J]. Virol J,2017,14(1):94.
- [16] HAN M S,PARK Y,NAH H,et al. Comparison of the QIAGEN artus HBV QS-RGQ assay with the roche COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HBV assay for quantifying viral DNA in sera of chronic hepatitis B patients [J]. Ann Lab Med,2017,37(3):248-253.
- [17] 张志珊,蒋燕成,陈婉花,等. 一种新型国产乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂的临床应用效能评价[J]. 新乡医学院学报,2020,37(7):641-644.
- [18] 张玥,田文君,刘义庆,等. 国产和进口荧光定量 PCR 试剂检测 HBV-DNA 的比对分析[J]. 检验医学与临床, 2015,12(2):147-148.
- [19] 周美英,高国生,胡爱荣. Roche 定量试剂和国产 PCR 试剂检测 HBV-DNA 的比较分析[J]. 中国现代医生,2017, 55(34):114-117.
- [20] 余学高,邓间开,何小洪,等. HBV-DNA 高敏检测试剂盒的性能验证和临床应用评价[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019,11(2):111-116.
- [21] 朱振坤,俞晓春,薛静俊,等. 全自动核酸提取平台高敏 HBV-DNA 定量检测的性能评价[J]. 中国病毒病杂志, 2019,9(3):214-219.
- [22] 刘海艇,邓智华,蔡丹,等. 10 173 例检测乙型肝炎标本的血清学与核酸结果分析[J]. 临床输血与检验,2020,22(6):583-586.