

• 论 著 •

## SDC2 和 TFPI2 基因甲基化联合检测试剂性能验证

李钦丽<sup>1</sup>, 张继伟<sup>2△</sup>

1. 武汉市东西湖区人民医院检验科, 湖北武汉 430040;

2. 华中科技大学同济医学院附属协和医院病理科, 湖北武汉 430022

**摘要:**目的 通过实验对黏结蛋白聚糖 2(SDC2)和组织因子途径抑制剂 2(TFPI2)基因甲基化联合检测试剂盒(荧光 PCR 法)进行性能验证,为临床实验室应用该试剂进行结直肠癌早筛提供参考。方法 参考相关指南要求,通过选择符合实验条件的临床标本和参考品,通过方法符合率、检出限、精密度和抗干扰能力对试剂盒的性能进行多方面的评价。结果 该试剂盒检测结果与肠镜检查 and (或)病理诊断结果相比的符合率为 96.7%;最低检出限为 10 000 copy/mL;批内、批间循环阈值变异系数 $\leq 5\%$ ;干扰物质新鲜乙二胺四乙酸抗凝血/甘油对试剂盒检测结果无影响,抗干扰能力合格。结论 SDC2 和 TFPI2 基因甲基化联合检测试剂盒(荧光 PCR 法)性能评估合格,可用于临床标本的检测。

**关键词:**性能验证; 黏结蛋白聚糖 2; 组织因子途径抑制剂 2; 甲基化

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.23.015 中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2023)23-2893-05 文献标志码:A

## Performance verification of SDC2 and TFPI2 gene methylation combined detection reagent

LI Qinli<sup>1</sup>, ZHANG Jiwei<sup>2△</sup>

1. Department of Clinical Laboratory, Dongxihu District People's Hospital, Wuhan, Hubei 430040, China;

2. Department of Pathology, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430022, China

**Abstract: Objective** To verify the performance of syndecan-2 (SDC2) and tissue factor pathway inhibitor 2 (TFPI2) gene methylation combined detection kit (fluorescence PCR), and to provide reference for the application of this reagent in colorectal cancer early screening in clinical laboratory. **Methods** According to the requirements of relevant guidelines, the performance of the kit was evaluated by selecting clinical specimens and reference materials that met the experimental conditions. The method coincidence rate, detection limit, precision and anti-interference ability were evaluated. **Results** The coincidence rate between the detection results of the kit and colonoscopy or/and pathological diagnosis was 96.7%. The lowest detection limit was 10 000 copy/mL. The coefficient of variation of cycle threshold within and between batches was  $\leq 5\%$ ; Interference material fresh ethylenediamine tetraacetic acid anticoagulant blood/glycerol has no effect on the detection results of the kit, and the anti-interference ability is qualified. **Conclusion** The SDC2 and TFPI2 gene methylation detection kit (fluorescence PCR) is qualified and can be used for the detection of clinical samples.

**Key words:** performance verification; syndecan-2; tissue factor pathway inhibitor 2; methylation

结直肠癌是我国最常见的消化道恶性肿瘤,其发病率和死亡率呈逐年递增的趋势<sup>[1-2]</sup>。结直肠癌的早诊筛查可以有效地降低结直肠癌的发病率和死亡率<sup>[3]</sup>。目前结直肠癌早期筛查技术主要包括结肠镜检查、粪便免疫化学测试(FIT)和多靶点粪便 DNA 检测等,其中结肠镜检查是结直肠癌筛查的金标准,但由于检查具有侵入性且需要充分的肠道准备,从而限制了该方法的普遍应用。其他无创筛查方法如多

靶点粪便 DNA 检测对结直肠癌及进展期腺瘤的灵敏度均高于 FIT,在临床上显示出较好的应用潜力<sup>[4-5]</sup>。研究发现黏结蛋白聚糖 2(SDC2)和组织因子途径抑制剂 2(TFPI2)基因在结直肠癌组织中呈现出高度甲基化,将 SDC2 和 TFPI2 基因甲基化水平作为结直肠癌的生物标志物,基于 SDC2 和 TFPI2 基因的粪便 DNA 检测可以更灵敏、特异的检测出结直肠癌<sup>[6-7]</sup>。

根据中国合格评定国家认可委员会(CNAS)《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:CNAS-CL02-A009》<sup>[8]</sup>文件的相关要求,临床医学检验实验室在开展新的分子检测项目时必须对检测系统进行性能验证,以保证分子检测项目检测流程的可靠性及检测结果的准确性。本研究参照 CNAS 发布并实施的《分子诊断检验程序性能验证指南:CNAS-GL039》<sup>[9]</sup>对 SDC2 和 TFPI2 基因甲基化联合检测试剂盒(荧光 PCR 法)分别进行方法符合率、检出限、精密度和抗干扰能力的性能验证,以期与各检验实验室在开展新的分子检测项目制订性能验证方案时提供一定的理论参考。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 选取武汉市东西湖区人民医院的 30 例粪便标本(结直肠癌标本 25 例和非结直肠癌标本 5 例),3 份含 1%甲基化目的基因的检测限参考品(核酸浓度为 10 000 copy/mL)来自于武汉艾米森生命科技有限公司。

**1.2 仪器与试剂** SLAN-96P 全自动荧光定量 PCR 仪(上海宏石医疗科技有限公司),SDC2 和 TFPI2 基因甲基化联合检测试剂盒(荧光 PCR 法,武汉艾米森生命科技有限公司),核酸提取试剂和核酸纯化试剂(武汉艾米森生命科技有限公司)。

### 1.3 方法

**1.3.1 粪便标本 DNA 提取和纯化** 根据 DNA 提取试剂盒说明书的步骤要求提取粪便标本的 DNA,按照核酸纯化试剂盒说明书对提取的 DNA 进行纯化。

**1.3.2 荧光 PCR 扩增检测** 按照 SDC2 和 TFPI2 基因甲基化联合检测试剂盒(荧光 PCR 法)说明书配置反应体系 25  $\mu$ L,包括 14  $\mu$ L 反应液 I (buffer 和 dNTP),5.7  $\mu$ L PCR 反应液 II (引物和探针),0.3  $\mu$ L 热启动 Taq 酶,阴性对照 NC、标本核酸转化液、阳性对照 PC 各 5  $\mu$ L。加样后,确定盖好管盖或封膜后,短暂离心 30 s(避免有气泡,如果有气泡,用手指轻弹,重新瞬时离心),立即进行 PCR 扩增反应。扩增条件为 95  $^{\circ}$ C 5 min,1 个循环;95  $^{\circ}$ C 15 s,60  $^{\circ}$ C 30 s,45 个循环,60  $^{\circ}$ C 时收集 ROX、FAM 和 VIC 信号。

**1.3.3 结果判读** 按照 SDC2 和 TFPI2 基因甲基化联合检测试剂盒(荧光 PCR 法)说明书进行结果判读:甲基化的 SDC2 基因 DNA 片段(ROX 信号通道)和 TFPI2 基因 DNA 片段(FAM 信号通道)及内控基因 ACTB(VIC 信号通道)。ACTB 基因即为  $\beta$ -actin,是常用管家基因,用于评估检测中标本 DNA 水平和质量,避免由于标本 DNA 水平和质量的问题导致假阴性结果。阳性对照 ROX、FAM 和 VIC 通道均应有扩增曲线升起,并且循环阈值(Ct 值)在 26~30;阴性

对照 ROX、FAM 和 VIC 通道均应无扩增曲线升起或 Ct 值 $>$ 40;待测标本在 VIC 通道有扩增曲线升起且 Ct 值 $\leq$ 36 的条件下,如果 ROX 和(或)FAM 通道有扩增曲线升起且 Ct 值 $\leq$ 38,则判断标本甲基化阳性,如果 ROX 和 FAM 通道均无扩增曲线升起或 Ct 值 $>$ 38,则判断标本甲基化阴性。

**1.3.4 方法符合率** 采用肠镜检查 and(或)与病理诊断结果结合的金标准方法为对照方法,用候选方法检测 30 例粪便标本,其中包括结直肠癌标本 25 例和非结直肠癌标本 5 例。

**1.3.5 检出限** 通过对 3 份含 1%甲基化目的基因的检测限参考品 L1、L2 和 L3 使用本检测试剂重复检测 3 次。L1 为含 1%甲基化 TFPI2 基因的参考品, L2 为同时含 1%甲基化 SDC2 和 1%甲基化 TFPI2 基因的参考品, L3 为含 1%甲基化 SDC2 基因的参考品。所有参考品均为用甲基化目的基因质粒与从组织细胞内提取的基因组核酸,按照一定比例混合,最终得到含 1%甲基化目的基因参考品。

**1.3.6 精密度** 取 1 份阳性参考品,分 5 批次,每天检测一批次,每批次重复检测 5 次,记录结果。最后计算批内和批间 Ct 值的变异系数(CV),CV $\leq$ 5%为合格。

**1.3.7 抗干扰能力** 选取 2 例阳性粪便标本和 1 例阴性粪便标本,按照试剂厂商提供的每 1 mL 粪便标本加入 6  $\mu$ L 的比例最高抗干扰水平,分别加入干扰物质新鲜乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝血/甘油,每例标本重复检测 3 次。

## 2 结果

**2.1 方法符合率验证结果** 收集的 30 例标本中,阳性标本与肠镜检查 and(或)病理诊断结果符合率为 96.0%,阴性标本符合率为 100.0%,总符合率为 96.7%,验证通过。见表 1。

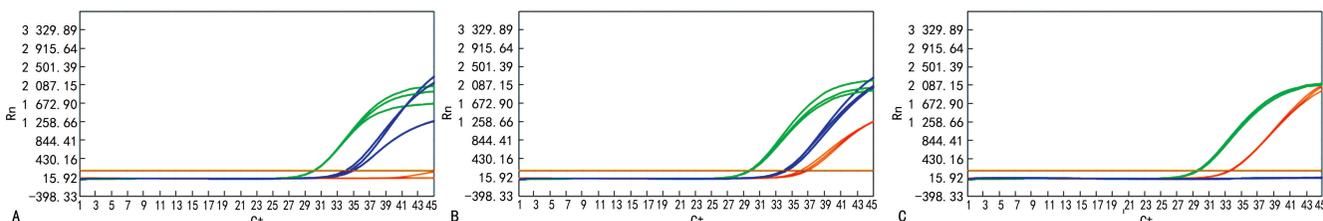
表 1 方法符合率结果比对(n)

肠镜检查 and(或)病理诊断结果	本检测试剂	
	阳性	阴性
阳性	24	1
阴性	0	5

**2.2 检出限验证结果** 含 1%甲基化目的基因浓度为 10 000 copy/mL 的检测限参考品 L1 的 TFPI2 3 次重复检测 Ct 值均 $\leq$ 38;参考品 L2 的 SDC2 和 TFPI2 3 次重复检测 Ct 值均 $\leq$ 38;参考品 L3 的 SDC2 3 次重复检测 Ct 值均 $\leq$ 38,3 个检测限参考品均为阳性,验证通过。见图 1。

**2.3 精密度验证结果** 1 份阳性精密度参考品检测

的批内、批间精密度 CV 均 ≤ 5%，验证通过。见表 2、3。



注: A 为参考品 L1 TFPI2 基因(蓝色), ACTB 基因(绿色); B 为参考品 L2 TFPI2 基因(蓝色), SDC2 基因(黄色), ACTB 基因(绿色); C 为参考品 L3 SDC2 基因(黄色), ACTB 基因(绿色)。

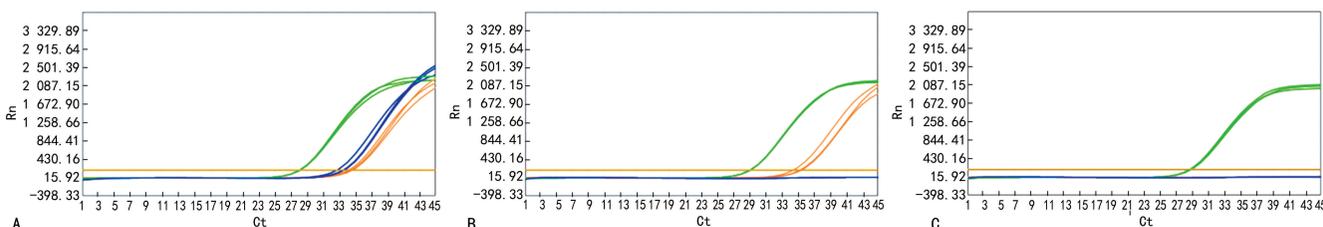
图 1 各检测限参考品扩增动力学曲线

表 2 批内精密度验证结果(Ct 值)

基因名称	第 1 批			第 2 批			第 3 批			第 4 批			第 5 批			验证结果
	$\bar{x}$	s	CV (%)													
TFPI2	33.62	0.43	1.27	33.44	0.57	0.71	33.09	0.26	0.79	32.86	0.26	0.78	33.20	0.41	1.23	通过
SDC2	34.78	0.33	0.96	34.92	0.79	2.27	35.09	0.14	0.40	34.86	0.65	1.86	34.33	0.38	1.10	通过
ACTB	28.06	0.08	0.29	28.22	0.09	0.30	28.17	0.09	0.31	28.04	0.09	0.34	28.09	0.11	0.41	通过

2.4 抗干扰能力验证结果 通过对 3 例加入干扰物质的有效粪便标本(其中 2 例阳性, 1 例阴性), 重复检

测 3 次, 干扰物质对测定无明显影响, 验证通过。见图 2。



注: A 为阳性标本 1 TFPI2 基因(蓝色), SDC2 基因(黄色), ACTB 基因(绿色); B 为阳性标本 2 SDC2 基因(黄色), ACTB 基因(绿色); C 为阴性标本 3 ACTB 基因(绿色)。

图 2 各标本干扰实验扩增动力学曲线

表 3 批间精密度验证结果(Ct 值)

基因名称	$\bar{x}$	s	CV (%)	验证结果
TFPI2	33.24	0.46	1.38	通过
SDC2	34.80	0.54	1.54	通过
ACTB	28.12	0.11	0.39	通过

### 3 讨论

研究表明成人每天都有大量的肠上皮细胞从肠壁脱落, 并通过大肠蠕动随粪便排出体外, 而肿瘤细胞由于增生异常更容易从肠道脱落, 因此结直肠癌患者的粪便中往往有大量的病变细胞及异常的细胞组分, 这是多靶点粪便 DNA 检测稳定的物质基础<sup>[10]</sup>。基因的甲基化修饰是肿瘤发生的早期事件, 从结直肠癌患者排泄物中获得的遗传物质可以更早期地反映肠道是否存在癌变情况<sup>[11]</sup>。SDC2 是一种细胞

表面硫酸乙酰肝素蛋白聚糖, 参与调节许多生理过程和病理过程, 生理过程包括细胞增殖、分化、黏附、迁移、伤口愈合、血管生成; 病理过程包括炎症和癌症<sup>[6]</sup>。TFPI2 是一种丝氨酸蛋白酶抑制剂, 已被鉴定为一种肿瘤抑制基因。TFPI2 在调节细胞增殖、凋亡及血管生成等方面也发挥重要作用, TFPI2 在维持肿瘤微环境的稳定性, 抑制肿瘤细胞的生长、侵袭和转移中均发挥重要作用<sup>[7]</sup>。SDC2 和 TFPI2 基因在结直肠癌组织中呈现出高度甲基化, 将 SDC2 和 TFPI2 基因甲基化状态作为结直肠癌的生物标志物, 可以更灵敏、特异地检测出结直肠癌。

本检测试剂基于实时荧光定量 PCR 技术实现对粪便标本中 SDC2 和 TFPI2 基因甲基化的检测, 在 SDC2 和 TFPI2 基因启动子与结直肠癌发生高度相关的 CpG 区域, 针对经过重亚硫酸盐转化后的序列

分别设计了特异性引物和特异性荧光探针,可以在 PCR 中专一地检测出甲基化的序列。从人粪便标本中获得肠道脱落细胞基因组 DNA,然后用重亚硫酸盐进行转化,并通过三重 PCR 扩增来测定亚硫酸盐转化后的 DNA,从而检测发生甲基化的 SDC2 基因 DNA 片段和 TFPI2 基因 DNA 片段,其中内控基因 ACTB( $\beta$ -Actin)为管家基因,用于评估检测中标本 DNA 水平和质量。

性能验证具体是指分子检测实验室按照检测系统或试剂盒说明书使用某种特定检测系统或试剂时,能够复现生产厂家声明的检测性能过程。性能验证不仅能够提高分子检测实验室对新的检测系统、新的检测试剂或新的检测方法相关性指标的全面认识和理解,更重要的是对检测实验室技术质量管理水平的提升具有重要作用<sup>[12]</sup>。因此,在临床检测过程中,从保证检测质量的角度出发,任何一种用于分子检测实验室的新的检测系统、新的检测试剂或新的检测方法,在正式应用于临床检测前,均需要做性能验证<sup>[13-15]</sup>。本研究参照《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:CNAS-CL02-A009》<sup>[8]</sup>对开展新的分子诊断项目需进行检测程序性能验证的要求,分别从方法符合率、检出限、精密度和抗干扰能力 4 个方面对 SDC2 和 TFPI2 基因甲基化联合检测试剂盒(荧光 PCR 法)进行性能验证评价。

在方法符合率验证中,参照《分子诊断检验程序性能验证指南:CNAS-GL039》<sup>[9]</sup>要求,选取阴性标本至少 5 例、阳性标本(宜包含弱阳性/低扩增的标本),一般不少于 10 例。在对试剂进行性能验证时,为排除和避免由于检测标本带来的误差,通常可以采用在指南要求的基础上进一步增加检测标本量的方法,进而提高和保证检测的准确性。为尽可能保证方法符合率验证的准确性,本研究选取 30 例粪便标本,包括经临床肠镜检查 and (或)病理诊断确诊为结直肠癌的标本 25 例和非结直肠癌的标本 5 例。25 例结直肠癌标本中有 24 例经本试剂检测为阳性,则阳性标本与肠镜检查 and (或)病理诊断结果符合率为 96.0%,高于临床试验确认的临床灵敏度(95.3%);5 例非结直肠癌标本经本试剂检测全为阴性,阴性标本符合率为 100.0%。以上检测结果表明,30 例粪便标本通过本检测试剂的检测方法与对照方法(肠镜检查 and (或)病理诊断)相比仅有 1 例标本不一致,即总符合率为 96.7%(29/30)。

检出限又称为检测下限,是指能以适当的置信概率检出待测物质的最低浓度或最小质量。检出限既与检测器对待测物质的响应信号有关,又与空白值的

波动程度有关。本研究选用试剂厂家提供的检出限参考品进行试剂盒检出限的验证,共选用 3 个浓度为 10 000 copy/mL 检出限参考品,每个参考品重复检测 3 次,依据检测试剂盒的判读标准所有检测结果均为明确阳性,符合试剂盒检出限的要求。

精密度通常是指对同一标本进行多次重复检测所得到的结果的一致程度,通常以 CV 表示。本研究选用试剂厂家提供的阳性参考品进行试剂盒精密度的验证,验证结果发现 TFPI2、SDC2 和 ACTB 的批内与批间检测结果 Ct 值的 CV 值均 $\leq 5\%$ ,符合试剂说明书要求标准,精密度验证合格。一般来说,检测方法或检测试剂的精密度高,可以更好地保障检测结果的稳定。

在临床检测过程中,为避免临床标本可能存在的内源性或外源性干扰物质对检测结果准确性的影响,造成假阴性结果的出现,通常建议选用抗干扰能力好的检测试剂。为确认及避免干扰物质对本试剂盒检测结果准确性的影响,本研究通过用本试剂盒检测分别加入新鲜 EDTA 抗凝血/甘油干扰物质的阳性标本和阴性标本,对本试剂盒进行抗干扰能力的验证,检测结果表明干扰物质未对检测结果造成影响,符合试剂说明书要求标准,说明本检测试剂抗干扰能力好。

综上所述,本实验针对方法符合率、检出限、精密度和抗干扰能力 4 个方面验证了 SDC2 和 TFPI2 基因甲基化联合检测试剂盒(荧光 PCR 法)的效果,所有实验结果均符合要求,表明本试剂可用于临床检测。

## 参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249.
- [2] 肖文博,朱广涵,朱云,等. 1990—2019 年中国主要消化系统恶性肿瘤发病变化分析[J]. 中国肿瘤, 2022, 31(9): 693-700.
- [3] 中国抗癌协会大肠癌专业委员会中国结直肠肿瘤早诊筛查策略制订专家组. 中国结直肠肿瘤早诊筛查策略专家共识[J]. 中华胃肠外科杂志, 2018, 21(10):1081-1086.
- [4] IMPERIALE T F, RANSOHOFF D F, ITZKOWITZ S H. Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening[J]. N Engl J Med, 2014, 371(2):187-188.
- [5] REDWOOD D G, ASAY E D, BLAKE I D, et al. Stool DNA testing for screening detection of colorectal neoplasia in alaska native people[J]. Mayo Clin Proc, 2016, 91(1):61-70.

## 参考文献

- [1] 高玉海,高群,魏强,等. 下肢深静脉血栓并发肺栓塞的临床特征及危险因素分析[J]. 浙江中西医结合杂志, 2021, 31(3):273-276.
- [2] 张敏,丁昉,孙湛,等. 静脉血栓栓塞症风险评估模型研究进展与启示[J]. 中国卫生质量管理, 2020, 27(6):46-49.
- [3] 陶国芳,杨苏,方晓眉,等. 肺癌并发静脉血栓栓塞的危险因素与风险评估模型研究进展[J]. 护理与康复, 2020, 19(6):27-30.
- [4] 黄思语,李威,殷艳,等. RCOG 及 Caprini 评估模型预测产科住院患者静脉血栓栓塞症风险的效果研究[J]. 中国病案, 2020, 21(8):93-95.
- [5] 姚宇婷,许启霞,庞颖颖,等. 恶性肿瘤合并静脉血栓栓塞症临床特征分析及预测模型的评估[J]. 中华全科医学, 2021, 19(5):723-726.
- [6] 舒攀,张莉,侯云秋,等. 逐瘀通脉消栓方预防慢性阻塞性肺疾病急性加重期机械通气患者下肢深静脉血栓临床研究[J]. 陕西中医, 2021, 42(9):1204-1207.
- [7] LUO Z X, CHEN W, LI Y S, et al. Incidence of deep venous thrombosis (DVT) of the lower extremity in patients undergoing surgeries for ankle fractures[J]. J Orthop Surg Res, 2020, 15(1):294.
- [8] 吕墩涛,徐浩,王文亮,等. 经颈静脉 AngioJet 治疗有溶栓禁忌的急性下肢深静脉血栓形成 24 例[J]. 介入放射学杂志, 2021, 30(9):925-928.
- [9] 张卫霞,刘芳. 妇科手术后下肢深静脉血栓超声影像学及引发肺栓塞危险性初步探讨[J]. 血栓与止血学, 2021, 27(3):479-480.
- [10] 李米娜,吕笑静. 宫颈癌术后下肢深静脉血栓形成的影响因素[J]. 河南医学研究, 2021, 30(19):3521-3524.
- [11] QIU T, ZHANG T, LIU L, et al. The anatomic distribution and pulmonary embolism complications of hospital-acquired lower extremity deep venous thrombosis[J]. J Vasc Surg Venous Lymphat Disord, 2021, 9(6):1391-1398.
- [12] 吴济强,雷丰丰,王红娟,等. 单纯性肺栓塞的临床特点和发病危险因素[J]. 山东医药, 2022, 62(33):71-74.
- [13] 梁玲玲,李璐兵,帕尔哈提·瓦哈甫,等. 新疆某骨科医院手术患者静脉血栓栓塞发生的高危因素探讨及预警模式研究[J]. 实用骨科杂志, 2018, 24(5):422-426.
- [14] 宗海娟,张蓉蓉,卢坤琴. 慢性阻塞性肺疾病继发肺栓塞的危险因素分析[J/CD]. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2022, 15(1):58-60.
- [15] 白红晓,邓群,罗景怡. D-二聚体和 C-反应蛋白预测肿瘤患者静脉血栓栓塞症复发的价值[J]. 中华航海医学与高压医学杂志, 2019, 26(3):251-254.
- [16] 刘晨,卞洒善,孔鹏,等. D-二聚体、P-选择素及血管内皮生长因子与下肢骨折患者深静脉血栓形成的关系[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(15):2926-2930.
- [17] PRANDONI P, VEDOVETTO V, CIAMMAICHELLA M, et al. Residual vein thrombosis and serial D-dimer for the long-term management of patients with deep venous thrombosis[J]. Thromb Res, 2017, 154:35-41.
- [18] 廖宏伟. 下肢深静脉血栓患者血脂、血清细胞因子、凝血因子的表达水平及其临床意义分析[J]. 中国临床医生杂志, 2022, 50(8):959-962.
- [19] 杜左萍,纪红,杜维桓,等. 老年肺栓塞患者血清 D 二聚体、血小板平均体积和同型半胱氨酸检测的临床价值[J]. 血栓与止血学, 2018, 24(3):391-393.
- (收稿日期:2023-03-05 修回日期:2023-09-22)
- (上接第 2896 页)
- [6] OH T J, OH H I, SEO Y Y, et al. Feasibility of quantifying SDC2 methylation in stool DNA for early detection of colorectal cancer[J]. Clin Epigenetics, 2017, 9:126.
- [7] GLÖCKNER S C, DHIR M, YI J M, et al. Methylation of TFPI2 in stool DNA: a potential novel biomarker for the detection of colorectal cancer[J]. Cancer Res, 2009, 69(11):4691-4699.
- [8] 中国合格评定国家认可委员会. 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: CNAS-CL02-A009[S]. 北京:中国标准出版社, 2018.
- [9] 中国合格评定国家认可委员会. 分子诊断检验程序性能验证指南: CNAS-GL039[S]. 北京:中国标准出版社, 2019.
- [10] AHLQUIST D A, ZOU H, DOMANICO M, et al. Next-generation stool DNA test accurately detects colorectal cancer and large adenomas[J]. Gastroenterology, 2012, 142(2):248-256.
- [11] IMPERIALE T F, RANSOHOFF D F, ITZKOWITZ S H, et al. Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening[J]. N Engl J Med, 2014, 370(14):1287-1297.
- [12] NICHOLS J H. Verification of method performance for clinical laboratories[J]. Adv Clin Chem, 2009, 47:121-37.
- [13] HALLING K C, SCHRIJVER I, PERSONS D L. Test verification and validation for molecular diagnostic assays[J]. Arch Pathol Lab Med, 2012, 136(1):11-13.
- [14] 杨鑫城,单幼兰. 两种国产荧光定量 PCR 试剂与 Roche 定量试剂的比较[J]. 国际检验医学杂志, 2023, 44(1):29-33.
- [15] 肖林林,魏取好,刘维薇. 临床分子检验项目的检验程序验证与确认[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(7):503-506.
- (收稿日期:2023-03-25 修回日期:2023-10-20)