

• 论 著 •

Autrax 全自动核酸提取工作站对高敏 HBV DNA 检测的性能评价*

姚懿雯, 李 冬[△]

(同济大学附属同济医院检验科, 上海 200065)

摘要:目的 验证 Autrax 全自动核酸提取工作站对高敏 HBV 核酸定量试剂的检测性能。方法 参考美国国家临床实验室标准化协会(CLSI)颁布的相关文件,对基于 Autrax 全自动核酸提取工作站的 HBV DNA 高敏检测试剂进行正确度、精密度、检测下限、线性范围、抗干扰能力及抗污染能力的性能评估。结果 正确度方面,该试剂参加 2015—2016 年上海市临床检验中心室内间质评正确率 100%,且实测值与靶值偏差均小于±0.18 lg IU/mL。精密度方面,试剂检测高(10⁶)、低(10⁴)浓度标本的重复精密度及中间精密度 CV 值均小于 5%。检测下限验证结果,最低检出限 20 IU/mL 和定量限 40 IU/mL 的检出率 5/5,且定量限 40 IU/mL 的重复精密度 CV 为 3.18% 小于 5%。线性范围评价显示在 40~10⁸ IU/mL 范围内呈良好的线性关系($Y=1.0182X-0.3182, R^2=0.978$)。抗干扰能力验证结果,结合胆红素 600 μmol/L、血红蛋白 7 g/L 或三酰甘油 4.5 mmol/L 对于高浓度(10⁶)、低浓度(10⁴)水平的标本无干扰影响,干扰物质组与空白对照组的偏差均小于±0.45 lg IU/mL。抗污染能力验证结果,与阳性标本间隔放置的阴性标本未检出阳性结果。结论 基于 Autrax 全自动核酸提取工作站的高敏 HBV DNA 检测试剂的正确度、精密度、检测下限、线性范围、抗干扰能力和抗污染能力均表现良好,有一定临床应用价值。

关键词:乙型肝炎病毒; DNA; 高敏; 实时聚合酶链反应; 性能验证

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.23.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)23-3237-04

Performance validation of hepatitis B virus DNA quantification by AUTRAX automatic nucleic acid extraction workstation*

YAO Yiwen, LI Dong[△]

(Department of Clinical Laboratory, Tongji Hospital Affiliated to University of Tongji, Shanghai 200065, China)

Abstract:Objective To verify the performance of a novel HBV DNA assay based on AUTRAX automatic nucleic acid extraction workstation. Methods According to the evaluation protocols of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), the performance of a novel HBV DNA assay was assessed in the aspects of accuracy, precision, lower limit detection, linearity, interference rejection and pollution prevention. Results The accuracy rate of this assay for laboratory evaluation samples of Shanghai Clinical Laboratory Center was 100% during 2015 to 2016, with each deviation between observed and expected values within ±0.18 lg IU/mL. The intra-assay and inter-assay CV of two levels (10⁶, 10⁴) samples were both less than 5%. Detectable rates of lower limit of detection (LOD) and lower limit of quantitation (LOQ) were 5/5 at 20IU/mL and 40 IU/mL, respectively. And intra-assay CV of LOQ was 3.18%, less than 5%. Linearity assessment exhibited an excellent dynamic range of linear quantification from 40 to 10⁸ IU/mL ($Y=1.0182X-0.3182, R^2=0.978$). According to product manual, conjugated bilirubin, hemoglobin and triglyceride as interfering substance were made at concentration of 600 μmol/L, 7 g/L and 4.5 mmol/L, separately, which had no interference for two levels (10⁶, 10⁴) samples. Each deviation value between interference group and control group was within ±0.45 lg IU/mL. No pollution phenomenon was found. Conclusion The novel HBV DNA quantification by AUTRAX automatic nucleic acid extraction workstation has excellent performance in aspects of accuracy, precision, lower limit detection, linearity, interference rejection and pollution prevention, which can be used for the detection of clinical specimens.

Key words: hepatitis B virus; DNA viruses; high sensitivity; real-time polymerase chain reaction; performance verification

乙型肝炎病毒(HBV)感染是导致肝脏疾病的重要病因之一,而慢性乙型肝炎(CHB)与肝硬化和肝癌的发生发展密切相关^[1]。有数据显示,目前全世界约有 2.4 亿慢性乙肝患者,其中,15%~40%可能发展为肝硬化和肝癌。中国是 HBV 感染大国,约有 8%的人群为 HBV 感染者^[2-3]。HBV DNA 定量检测是用于乙肝疾病诊断及疗效观察的重要指标之一,对感染诊断、判断疾病活动性、抗病毒治疗方案制定以及随访起重要作用。近年来各版慢性乙型肝炎防治指南中均推荐采用高敏

HBV DNA 结果(10~15 IU/mL)判断治疗终点^[4],因此,普通 HBV DNA 体外诊断试剂已无法满足临床需求。目前国内试剂研发机构陆续推出全自动核酸提取检测体系,利用磁珠法进行核酸提取、纯化,以提高检测灵敏度,满足临床对于高敏 HBV DNA 结果的需求。本研究旨在通过对 AUTRAX 全自动核酸提取工作站的高敏 HBV DNA 定量检测项目进行正确度、精密度、检测下限、线性范围、抗干扰能力和抗污染能力的临床验证,评价该项目的临床应用价值。

* 基金项目:上海市卫生和计划生育委员会课题(20164Y0071);上海市青年临床医技人才计划项目(沪卫医基[2016]05号)。

作者简介:姚懿雯,女,主管技师,主要从事分子生物学方向研究。△ 通讯作者,E-mail:186ld@163.com。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 AUTRAX 全自动核酸提取工作站(上海之江生物科技股份有限公司);ABI 7300 扩增仪(美国 ABI 公司);乙型肝炎病毒核酸测定试剂盒、核酸提取试剂盒(上海之江生物科技股份有限公司);Sysmex 干扰检查 A 试剂盒(日本 Sysmex 株式会社)。

1.2 标本来源 收集 2015 年 9 月和 2016 年 5 月上海市临床检验中心室间质评标本 10 份及 2015 年 9~12 月同济大学附属同济医院背景清晰的门诊及住院患者 EDTA 抗凝血浆标本 45 份(浓度包括 10^8 IU/mL 5 例、 10^6 和 10^4 IU/mL 各 10 例和阴性标本 20 例),剔除溶血及脂血标本。

1.3 方法

1.3.1 正确度评价 参考 EP15-A2 文件^[5]。参加室间质量评价考核,收集 2015 年 9 月至 2016 年 5 月上海市临检中心室间质评标本的检测结果,将检测结果与回报结果的靶值及可接受限进行比对。

1.3.2 精密度评价 参考 EP15-A2、EP05-A2 文件^[5-6]。(1)重复精密度:收集高浓度(10^6)、低浓度(10^4)水平 EDTA 抗凝人混合血浆标本,每个标本重复检测 20 次,计算均数、标准差及 CV 值。(2)中间精密度:采用连续 5 d 重复检测上述高浓度(10^6)、低浓度(10^4)水平 EDTA 抗凝人混合血浆标本,每日检测 4 次,计算 5 d 均数、标准差及 CV 值。

1.3.3 检测下限评价 参考 EP6-A 文件^[7]。取试剂盒定值标准品(5×10^3 IU/mL),用 EDTA 抗凝正常人血浆分别稀释至厂家提供的最低检出限 20 IU/mL 和定量限 40 IU/mL,每浓度检测 5 次,计算检出率及与理论值的偏倚。

1.3.4 线性范围评价 参考 EP6-A 文件^[7]。取高浓度水平 EDTA 抗凝血浆标本($\geq 5 \times 10^8$ IU/mL),用 EDTA 抗凝正常人血浆逐步稀释为 10^8 、 10^7 、 10^6 、 10^5 、 10^4 、 10^3 、 10^2 、40 IU/mL,每浓度重复检测 3 次,对测得值与理论值进行线性回归分析。

1.3.5 抗干扰能力评价 参考 EP7-A2 文件^[8]。采用 Sysmex 干扰检查 A 试剂盒,根据试剂说明书配制干扰物质浓度(即结合胆红素浓度 600 μ mol/L,血红蛋白浓度 7 g/L,三酰甘油浓度 4.5 mmol/L)及空白对照,分别加入高浓度(10^6)、低浓度(10^4)水平 EDTA 抗凝人血浆标本中,每个标本重复检测 3 次,计算最终均值及有无干扰物质的结果偏倚。

1.3.6 抗污染能力评价 在 AUTRAX 的标本架上,将高浓度阳性标本及阴性标本以间隔的方式循环放置,测试 AUTRAX 携带污染情况,验证仪器的防污染能力。

1.4 统计学处理 所有统计均将初始浓度值 qDNA 进行对数转化为 LgQ 后计算。使用 SPSS19.0 软件进行统计学分析。计算计量资料的均数、方差、标准差和 CV,线性范围采用多项式回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 正确度验证结果 检测 2015 年 9 月至 2016 年 5 月上海市临床检验中心室间质评标本 10 例,实测结果均在回报结果的可接受范围内,正确率 100%,且实测结果与靶值的偏倚(Δ lg)均小于(± 0.18 g)IU/mL($-0.18 \sim 0.02$),见表 1。

2.2 精密度验证结果 在测定范围内,选取高(10^6 IU/mL)、低(10^4 IU/mL)两种浓度的临床标本进行重复检测,定量结果显示高、低浓度标本的重复精密度 CV 值分别为 1.13% 和 2.51%;中间精密度 CV 值分别为 0.96% 和 2.87%,均小于

5%,重复性好,符合说明书声明,见表 2。

表 1 2015—2016 年参加上海市临床检验中心室间质评回报结果(IU/mL)

| 实测结果 | 结果对数 | 靶值 | 可接受限 | 评价结果 |
|--------------------|------|------|-----------|------|
| 2.60×10^3 | 3.41 | 3.59 | 3.03~4.15 | 符合 |
| 7.05×10^3 | 3.85 | 3.88 | 3.36~4.40 | 符合 |
| 3.84×10^3 | 3.58 | 3.59 | 3.14~4.04 | 符合 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 符合 |
| 7.09×10^3 | 3.85 | 3.92 | 3.21~4.63 | 符合 |
| 7.28×10^3 | 3.86 | 3.90 | 3.13~4.67 | 符合 |
| 6.90×10^4 | 4.84 | 4.82 | 4.02~5.62 | 符合 |
| 1.16×10^6 | 6.06 | 6.05 | 5.14~6.96 | 符合 |
| 1.10×10^7 | 7.04 | 7.02 | 6.04~8.00 | 符合 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 符合 |

表 2 高敏 HBV DNA 精密度验证结果(%)

| 项目 | 重复精密度 | | 中间精密度 | |
|-----|-------|------|-------|------|
| | 高浓度 | 低浓度 | 高浓度 | 低浓度 |
| 均值 | 6.71 | 4.81 | 6.64 | 4.68 |
| 标准差 | 0.08 | 0.12 | 0.06 | 0.13 |
| CV% | 1.13 | 2.51 | 0.96 | 2.87 |

2.3 检测下限验证结果 如表 3 所示,40 和 20 IU/mL 2 个浓度水平的标本检出率均为 100%,且所有数据与理论值偏倚(Δ lg)均小于(± 0.45 lg)IU/mL($0.01 \sim 0.44$),其中 40 IU/mL 浓度的标本重复精密度 CV 为 3.18%,小于 5%,因此,符合说明书描述的检测下限为 20 IU/mL,定量限为 40 IU/mL。

表 3 高敏 HBV DNA 检测下限验证结果

| 理论值(IU/mL) | 理论对数值(IU/mL,lg) | 检测次数 | 实测对数值(IU/mL,lg) | 偏倚(Δ lg) |
|------------|-----------------|------|-----------------|------------------|
| 40 | 1.60 | 5 | 1.80 | 0.20 |
| | | | 1.74 | 0.14 |
| | | | 1.79 | 0.17 |
| | | | 1.74 | 0.14 |
| | | | 1.66 | 0.06 |
| | | | 1.73 | 0.13 |
| 20 | 1.30 | 5 | 1.73 | 0.43 |
| | | | 1.73 | 0.43 |
| | | | 1.74 | 0.44 |
| | | | 1.70 | 0.40 |
| | | | 1.31 | 0.01 |

2.4 线性范围验证结果 将高浓度 HBV DNA 标本(5×10^8 IU/mL),用阴性混合血浆 10 倍梯度稀释至 40 IU/mL 等 8 个浓度值,每个浓度重复检测 3 次,经相关性分析得 HBV DNA 载量实测值与预期值呈正相关性($r = 0.989, P < 0.05$),回归方程: $Y = 1.018 2X - 0.318 2, R^2 = 0.978$,见图 1。说明书描述的线性范围 $40 \sim 10^8$ IU/mL 验证合格。

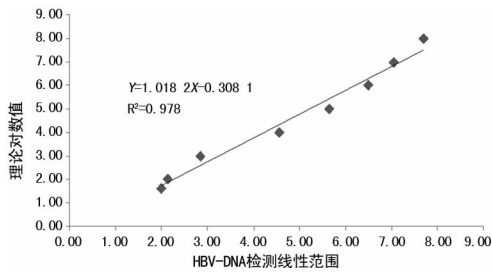


图 1 高敏 HBV DNA 定量检测线性范围验证结果

2.5 抗干扰能力验证结果 如表 4 所示,分别对高(10^6 IU/mL)、低(10^4 IU/mL)两种浓度的临床标本进行抗干扰物质能力验证(结合胆红素、血红蛋白及三酰甘油),结果显示,加入干扰物质后标本检出率均为 100%,且所有数据与空白对照组比较,偏倚(Δ lg)均小于(± 0.45 lg)IU/mL($-0.25 \sim 0.44$),符合说明书描述的抗干扰能力。

表 4 高敏 HBV DNA 抗干扰能力验证结果

| 干扰物质 | 标本浓度空白对数值(IU/mL,lg) | 干扰对数值(IU/mL,lg) | 偏倚(Δ lg) | |
|-------|---------------------|-----------------|------------------|-------|
| 结合胆红素 | 高(10^6 IU/mL) | 6.68 | 6.46 | 0.22 |
| | 高(10^6 IU/mL) | 6.72 | 6.52 | 0.2 |
| | 高(10^6 IU/mL) | 6.62 | 6.70 | -0.08 |
| | 低(10^4 IU/mL) | 4.33 | 4.31 | 0.02 |
| | 低(10^4 IU/mL) | 4.41 | 3.97 | 0.44 |
| | 低(10^4 IU/mL) | 4.37 | 4.51 | -0.14 |
| 血红蛋白 | 高(10^6 IU/mL) | 6.71 | 6.68 | 0.03 |
| | 高(10^6 IU/mL) | 6.72 | 6.69 | 0.03 |
| | 高(10^6 IU/mL) | 6.71 | 6.78 | -0.07 |
| | 低(10^4 IU/mL) | 4.25 | 4.47 | -0.22 |
| | 低(10^4 IU/mL) | 4.31 | 4.23 | 0.08 |
| | 低(10^4 IU/mL) | 4.42 | 4.26 | 0.16 |
| 三酰甘油 | 高(10^6 IU/mL) | 6.51 | 6.45 | 0.06 |
| | 高(10^6 IU/mL) | 6.63 | 6.62 | 0.01 |
| | 高(10^6 IU/mL) | 6.63 | 6.67 | -0.04 |
| | 低(10^4 IU/mL) | 4.11 | 4.36 | -0.25 |
| | 低(10^4 IU/mL) | 4.15 | 4.28 | -0.13 |
| | 低(10^4 IU/mL) | 4.09 | 4.30 | -0.21 |

2.6 抗污染能力验证结果 以间隔循环的方式排列高浓度阳性标本及阴性标本,进行常规检测,结果显示高浓度阳性标本均检出,阴性标本均未检出且检测值为 0,表明系统具有很高的抗污染能力。

3 讨 论

最新的国际乙型肝炎防治指南指出 HBV DNA 定量检测对于诊断 HBV 感染、治疗方案建立及抗病毒治疗的疗效以及耐药监测具有重要意义^[9-10],并且以 HBV DNA 检测水平持续低于($10 \sim 15$ IU/mL)或达到病毒学抑制作为治疗终点^[11]。然而,目前常用的 HBV DNA 检测试剂盒检测下限多为 $500 \sim 1\ 000$ IU/mL,不能满足临床需求。为此,2013 年国家 CFDA 技术审评中心提出 HBV DNA 最低检测限应不大于 30

IU/mL 的要求^[13],这也推进了各大试剂机构对于高灵敏度 HBV DNA 体外诊断试剂的研发。

本研究根据中国合格评定国家认可委员会, CNAS-CL36 要求^[13]对 AUTRAX 全自动核酸提取工作站的高敏 HBV DNA 定量检测项目进行正确度、精密度、检测下限、线性范围、抗干扰能力和抗污染能力的临床验证。结果显示,该项目定量检测上海市临床检验中心 2015—2016 年室间质评标本正确率为 100%,且与靶值偏倚小于(± 0.1 lg)IU/mL,正确度良好。精密度方面,高(10^6 IU/mL)、低(10^4 IU/mL)两种浓度临床标本的重复精密度及中间精密度 CV 均 $<5\%$,结果较稳定。检测下限验证结果显示 20、40 IU/mL 水平检出率为 100%,且 40 IU/mL 浓度的标本重复精密度 CV 小于 5% ,因此,符合说明书描述的检测下限为 20 IU/mL,定量限为 40 IU/mL,比普通 HBV DNA 定量检测试剂更灵敏。线性实验采用高浓度水平 EDTA 抗凝血浆标本稀释为 8 个浓度梯度(浓度覆盖整个线性范围),结果显示在 $40 \sim 108$ 之间线性良好。抗干扰实验通过在标本中添加干扰物质和空白对照同时测定评估的方法进行,结果显示结合胆红素 $600 \mu\text{mol/L}$ 和血红蛋白 7 g/L 对于高浓度(10^6)、低浓度(10^4)水平的 EDTA 抗凝人血浆标本无干扰影响,符合试剂说明书描述的最高抗干扰能力。而由于 Sysmex 干扰检查 A 试剂盒中三酰甘油靶值浓度过低,无法配置成说明书要求的最高浓度,因此,本实验室目前仅能对 4.5 mmol/L 浓度的三酰甘油进行评估,结果显示无干扰影响。抗污染能力验证时阴性标本未检出假阳性,说明系统具有较高的抗污染能力。

AUTRAX 全自动核酸提取工作站采用磁珠法提取核酸,该方法与传统煮沸裂解法相比具有减少核酸污染及核酸丢失等优点^[14],该系统应用于临床将大大提高基因扩增实验室检测效率及节省实验室劳动力。

综上所述,基于 AUTRAX 全自动核酸提取工作站的高敏 HBV DNA 定量检测项目正确度与精密度均表现良好,检测下限和线性范围显著优于普通 HBV DNA 体外诊断试剂盒,且具有较高的抗干扰及抗污染能力,符合说明书声明,可用于临床标本检测。

参考文献

- [1] Franco E, Bagnato B, Marino MG, et al. Hepatitis B: epidemiology and prevention in developing countries [J]. World J Hepatol, 2012, 4(3): 74-80.
- [2] Sarin SK, Kumar M, Lau GK, et al. Asian-Pacific clinical practice guidelines on the management of hepatitis B: a 2015 update [J]. Hepatol Int, 2016, 10(1): 1-98.
- [3] Wang FS, Fan JG, Zhang Z, et al. The global burden of liver disease: The major impact of China [J]. Hepatology, 2014, 60(6): 2099-2108.
- [4] European Association For the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection [J]. J Hepatol, 2012, 57(1): 167-185.
- [5] Clinical and laboratory standards. User verification of performance for precision and trueness; approved guideline - second edition [S]. EP15-A2. 2005.
- [6] Clinical and laboratory standards. Eval-(下转第 3242 页)

个浓度仅需连续检测 5 d, 获得 15 个数据, 实验设计较 EP5-A2 简单, 因此, 主要用于验证临床实验室检测程序的精密度^[10]。崔晓阳等^[11]认为 EP15-A2 方案充分考虑了影响检测程序精密度的来源, 如批内、批间和日间不精密度对检测程序的影响, 计算出的室内不精密度能合理反映被评价仪器的精密度性能。Gomez-Gomez 等将 EP15-A2 方案用于自动化免疫分析仪精密度的评价。马学斌等^[12]则是运用 EP15-A2 方案评价了 Sysmex-2100 血细胞分析仪的精密度。

随着各种精密度评价方案的深入和广泛应用, CLSI 于 2014 年又出版了新的 EP 评价文件, 如 EP15-A3《用户精密度验证和偏移评估实验—批准指南(第 3 版)》, 目前有关按照 EP15-A3 文件设计实验并进行精密度性能验证的文献报道较少。与之前的 EP15-A2 不同的是该方案要求每个浓度水平每天测一批, 每批重复测 5 次, 连续检测 5 d, 总计得到 25 个数据。在统计时也提出运用单因素方差分析的原理。但是在实际使用过程中若无计算软件辅助, 计算过程相对繁杂。本研究首次提出将 EXCEL 软件运用到 EP 文件的评价方案中。通过实验发现, 运用 EXCEL 软件结合其函数公式编辑器, 可以大大简化计算流程, 方便临床检验工作者使用。通过 XE-2100 全自动血细胞分析仪, 分析 WBC、RBC、HGB 及 PLT 等四个项目高值和低值质控物的检测数据, 发现其精密度符合国家或厂家声明的要求。

CLSI EP15-A3 精密度验证方案结合 EXCEL 软件具有较好的可操作性、实用性, 统计效能高, 临床实验室在进行定量检验项目的精密度分析性能验证时可借鉴应用。

参考文献

- [1] 王惠民, 王清涛. 临床实验室管理学[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2016.
- [2] Hasanato R, Brearton S, Alshebani M, et al. Effects of serum indices interference on hormonal results from the Abbott Architect i2000 immunoassay analyser[J]. Br J Biomed Sci, 2015, 72(4): 151-155.
- [3] Zhang GM, Guo XX, Zhu BL, et al. Establishing reference

intervals of aspartate Aminotransferase-to-Platelet ratio index for apparently healthy elderly[J]. Clin Lab, 2016, 62(1/2): 135-140.

- [4] Ko DH, Jeong TD, Lee W, et al. Performance evaluation of a restored dimension TACR assay: an automated platform for measuring the whole blood tacrolimus concentration[J]. Clin Lab, 2016, 62(1/2): 7-12.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP 15-A3 User verification of precision and estimation of bias; approved guideline—third edition[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2014.
- [6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS/T 406-2012 中华人民共和国卫生行业标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [7] Aldea MI, Barallat J, Martin MA, et al. Sodium interference in the determination of urinary aldosterone[J]. Clin Biochem, 2016, 49(3): 295-297.
- [8] 陈宏斌, 吴敏校, 陈琼. Sysmex-XN1000 全自动血细胞分析仪的性能分析[J]. 中国医药科学, 2015, 5(23): 176-178.
- [9] 熊仲波, 金孝燕, 陆波, 等. Sysmex-XN9000 全自动血细胞分析仪性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(10): 1373-1375.
- [10] Zhihong Q, Fang Z, Wanchun D, et al. Analytical performance of the Biosino urea reagent kit[J]. Clin Lab, 2014, 60(11): 1831-1836.
- [11] Gomez-Gomez C, Iglesias Em, Barallat J, et al. Lack of transferability between two automated immunoassays for serum IGF-I measurement[J]. Clin Lab, 2014, 60(11): 1859-1864.
- [12] 马学斌, 杨明, 贾晶媛, 等. 应用 CLSI 系列文件对 XE-2100 全自动血细胞分析仪进行性能验证及评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(18): 2417-2418.

(收稿日期: 2017-06-12 修回日期: 2017-09-13)

(上接第 3239 页)

- uation of precision performance of quantitative methods; approved guideline—second edition[S]. EP05-A2. 2004.
- [7] Clinical and laboratory standards. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures; a statistical approach; approved guideline[S]. EP06-A. 2003.
- [8] Clinical and laboratory standards. Interference Testing in Clinical Chemistry; approved guideline[S]. EP7-A2. 2005.
- [9] 蒋素贞, 鲁凤民, 庄辉. 慢性乙型肝炎病毒 DNA 定量检测的临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(2): 117-121.
- [10] 中华医学会肝病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版)[J]. 胃肠病学, 2011, 16(1): 1-12.
- [11] Liaw YF, Kao JH, Piratvisuth T, et al. Asian-Pacific con-

sensus statement on the management of chronic hepatitis B; a 2012 update[J]. Hepatol Int, 2012, 6(3): 531-561.

- [12] 国家食品药品监督管理局. 2013 年第 3 号 关于发布乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸定量检测试剂注册技术审查等 4 项指导原则的通告[Z]. 2013-05-07.
- [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: 中国合格评定国家认可委员会, 2012.
- [14] 查瑶, 王小灵, 朱诗艳, 等. 煮沸裂解法与磁珠法在 HBV DNA 荧光定量检测中的核酸提取效果[J]. 浙江预防医学, 2015(12): 1292-1293.

(收稿日期: 2017-06-14 修回日期: 2017-07-27)