·论　　著·

丙型肝炎病毒核酸定量检测性能验证及评价

郭　杰，曲　沛，李韦杰，周　宇，郭晶晶，焦炳欣，王雅杰

[摘要] **目的**　验证丙型肝炎病毒核酸定量检测试剂检出限发生改变时，能否达到厂家制定的分析指标。**方法**　参照《临床实验室对商品定量试剂盒》WS/T 420-2013 的性能验证方案，采用 HCV RNA 标准物质和首都医科大学附属北京地坛医院收集的不同浓度的临床标本，对丙型肝炎病毒核酸定量检测试剂的正确度、精密度、线性、检测限和抗干扰能力等参数进行方法学性能验证和评价。**结果**　在正确度验证中，回归方程为 y=0.9881x–0.0972，R=0.998 ＞ 0.95，检测值与参考值高度相关。在精密度验证中，高浓度和低浓度标本的批内精密度 *CV* 值（1.86%，2.64%）及批间精密度 *CV* 值（1.44%，2.36%）均≤ 5%，符合要求。在线性验证中，在 2.50E+2 ～ 5.00E+7 IU/ml 分析测量线性范围良好。在检测限验证中，重复检测浓度 50 IU/ml 样本 30 次，其中 27 次检出阳性，阳性率为 90%（27/30），符合临床要求。在抗干扰能力验证中，加入干扰物质混合后的血清与混合前血清定值比较，绝对偏差均＜ ±0.5 lg，检测结果符合临床需求。**结论**　当试剂盒的检出限发生改变时，实验室应重点对该修改项的分析性能进行充分评估，以判断结果能否达到厂家制定的分析指标。同时依据卫生行业标准对该试剂其余性能指标进行验证。

[关键词] HCV RNA；定量检测；实时荧光定量 PCR；性能验证

[中国图书资料分类号] R248.4　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1007–8134(2019)05–0394–05

DOI: 10.3969/j.issn.1007–8134.2019.05.003

Performance verification and evaluation for hepatitis C virus nucleic acid quantitative detection

GUO Jie, QU Pei, LI Wei–jie, ZHOU Yu, GUO Jing–jing, JIAO Bing–xin, WANG Ya–jie*

Department of Clinical Laboratory, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, 100015, China

*Corresponding author, E–mail: wangyajie@ccmu.edu.cn

[Abstract] **Objective**　To validate whether the performance of hepatitis C virus nucleic acid quantitative assay kit matches the analytical performance promised by the manufacturer at changed detection limits. **Methods**　According to the performance validation program based on the WS/T420–2013 protocol of the Clinical Laboratory for Commercial Quantification Kit, the verification procedure was performed by using HCV RNA standards for reference and clinical specimens of different concentrations that were collected from Beijing Ditan Hospital affiliated to Capital Medical University. The performance of hepatitis C virus nucleic acid quantitative assay kit was methodologically verified and evaluated through detecting the accuracy, precision, linearity, detection limit and anti–interference ability of reagents. **Results**　In the accuracy verification, the regression equation was y=0.9881x–0.0972, R=0.998 ＞ 0.95, and the detected value was highly correlated with the reference value. In the precision verification, the intra–assay precision %*CV* value (1.86%, 2.64%) and the inter–assay precision %*CV* value (1.44%, 2.36%) of both high–concentration and low–concentration specimens were all ≤ 5%, which met the requirements. In the linearity verification, the linear range of 2.50E+2 to 5.00E+7 IU/ml was valid. In the detection limit verification, samples at a concentration of 50 IU/ml were repeatedly measured 30 times, and 27 of the test results were positive, with a positive rate of 90% (27/30), which met the clinical requirements. In the anti–interference ability verification, the test values of serum samples with or without interfering substances were compared, and the absolute deviation of tests was less than ±0.5 lg, which met the clinical requirements. **Conclusions**　When detection limits of an assay kit are revised, the laboratory should focus on a comprehensive evaluation of the analytical performance of the revised items, to judge whether the results match the analytical performance claimed by the manufacturer. At the same time, all other performance indicators of the reagents are validated according to the health industry standards.

[Key words] HCV RNA; quantitative assay; real–time fluorescence quantitative PCR; performance verification

研究认为 HCV 是引起 90% ～ 95% 输血后肝炎的主要病原体[1-4]。据 WHO 统计，全球约有 2 亿人感染 HCV，并面临发生肝硬化和 / 或肝癌的风险[5]。目前，血清 HCV RNA 定量检测是实验室诊断丙型肝炎的金标准。及时准确的检测对于 HCV 感染者的诊断和预后具有至关重要的意义。其中 HCV RNA 商品试剂盒分析性能评价是保证检验结果准确可靠的重要依据之一。根据中华人民共和国卫生行业标准《临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证（WS/T 420-2013）》[6] 规定，当我国食品药品监督管理局批准的检验方法或试剂盒进行了重要修改时，应对厂家制定的各项主要分析性能指标进行验证，依据《美国临床实验室改进修正法规 88》要求，临床实验室可只对下列 3 项主要分析性能进行验证：正确度、精密度和线性（测量区间）。北京地坛医院所采用的丙型肝

[基金项目] 首都医科大学附属北京地坛医院院内科研基金“育苗计划”项目（DTYM201803）

[作者单位] 100015，首都医科大学附属北京地坛医院检验科（郭杰、曲沛、李韦杰、周宇、郭晶晶、焦炳欣、王雅杰）

[通信作者] 王雅杰，E–mail: wangyajie@ccmu.edu.cn

炎病毒核酸定量检测试剂盒自 18012511 批号开始，检出限由 250 IU/ml 改为 50 IU/ml，为验证在当前实验条件下该试剂盒检出限是否达到厂家制定的分析指标，我们对该试剂盒的性能进行了符合补充验证。

1　材料与方法

1.1　标本　收集首都医科大学附属北京地坛医院检验科不同浓度的临床血清（血浆）标本共 30 例，标本浓度尽量涵盖线性范围，于 −20℃冰箱保存。

1.2　仪器与试剂　实时荧光定量扩增仪（美国，罗氏 cobas® Z480）。丙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒（上海科华，批号 18012511）。HCV RNA 标准物质 GBW（E）090140（北京康彻思坦生物有限公司，批号：201801001）。

1.3　性能验证指标及验证方法　根据中华人民共和国卫生行业标准（WS/T 420-2013）[6]、EP9-A2 [7] 和中华人民共和国医药行业标准（YY/T 1182-2010）[8] 对上海科华丙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒进行正确度、精密度、线性、检测限和抗干扰能力的验证。

1.3.1　正确度　收集后的标本在 1 周内使用待验证的丙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒集中检测，并将结果与罗氏检测系统的检测结果进行比对。检测结果与靶值之间绝对偏 $R \geqslant 0.95$。

1.3.2　精密度　批内精密度：选择浓度为 1.00E+6 IU/ml 和 1.00E+3 IU/ml 的临床血清 / 血浆样本各 1 例，在同一批实验中重复测定 20 次，计算均值（$\bar{x}$）、标准差（*SD*）和变异系数（*CV*）值，要求 $CV \leqslant 5\%$。

批间精密度：将浓度为 1.00E+6 IU/ml 和 1.00E+3 IU/ml 的 2 个标本，在同一批试验中重复检测 4 次，连续检测 5 d，每个水平共收集 20 个数据；如果出现失控，则应剔除该数据并重新测定。分别统计 2 个水平标本检测值的 $\bar{x}$ 和 *SD*，再计算 *CV* 值，要求 $CV \leqslant 5\%$。

1.3.3　线性范围　选择临床浓度为 5.00E+7 IU/ml 的血清 / 血浆样本，用阴性血清按 10 倍梯度稀释至 2.50E+2 IU/ml，对高值阳性标本和稀释后的标本进行同批次检测，每个浓度重复检测 3 次，对测定值和理论值进行线性回归分析，要求满足 b 在 0.97 ～ 1.03 范围内，a 接近于 0，$R^2 \geqslant 0.95$[9-10]。

1.3.4　检测限　取北京康彻思坦生物有限公司提供的 HCV RNA 标准物质 GBW（E）090140（批号 201801001），用阴性血清稀释至该试剂盒标定的检测限（50 IU/L）。依据 YY/T1182-2010 的要求，重复检测该稀释样本 25 次，检出 22 次及以上即为合格。

1.3.5　抗干扰能力　分别取高浓度（1.00E+5 IU/ml）与低浓度（1.00E+3 IU/ml）的 HCV 血清样本，和含相应的干扰物质（胆红素、血红蛋白和甘油三酯）的血清分别按 1∶1 进行混合，制成抗干扰样本。混合后血清对应所含干扰物浓度分别为：胆红素 20 mg/ml，血红蛋白 2 g/dl，甘油三酯 5 g/dl。将每个混合品重复检测 3 次，与之前的定值进行比较，绝对偏差＜ ±0.5 lg 即为合格。

2　结　　果

2.1　正确度验证　30 例含 HCV RNA 标本检测结果与罗氏检测系统比对，检测结果与靶值之间绝对偏差均在 ±0.5 lg 内，回归方程为 $y=0.9881x-0.0972$，$R=0.998 > 0.95$。结果见表 1。

表 1　正确度验证结果

Table 1　Results of accuracy verification

标本	待测样本浓度		已知样本浓度		偏差
	浓度值 (IU/ml)	对数值 (lg)	浓度值 (IU/ml)	对数 (lg)	(lg)
1	4.80E+06	6.68	5.48E+06	6.74	0.06
2	9.18E+04	4.96	1.35E+05	5.13	0.17
3	1.44E+06	6.16	1.07E+06	6.03	-0.13
4	4.03E+04	4.61	2.81E+04	4.45	-0.16
5	1.68E+06	6.23	1.09E+06	6.04	-0.19
6	4.80E+06	6.68	4.92E+06	6.69	0.01
7	7.56E+06	6.88	6.26E+06	6.80	-0.08
8	6.73E+06	6.83	6.33E+06	6.80	-0.03
9	9.96E+05	6.00	1.12E+06	6.05	0.05
10	4.03E+04	4.61	2.60E+04	4.41	-0.19
11	5.68E+06	6.75	8.36E+06	6.92	0.17
12	5.50E+01	1.74	5.44E+01	1.74	0
13	1.78E+06	6.25	1.14E+06	6.06	-0.19
14	6.73E+06	6.83	5.48E+06	6.74	-0.09
15	5.80E+01	1.76	7.62E+01	1.88	0.12
16	1.44E+06	6.16	1.35E+06	6.13	-0.03
17	2.56E+05	5.41	1.25E+05	5.10	-0.31
18	5.01E+04	4.70	3.69E+04	4.57	-0.13
19	7.56E+06	6.88	6.16E+06	6.79	-0.09
20	1.68E+06	6.23	9.44E+05	5.97	-0.25
21	5.50E+01	1.74	7.46E+01	1.87	0.13
22	2.00E+06	6.30	1.02E+06	6.01	-0.29
23	5.68E+06	6.75	8.30E+06	6.92	0.16
24	9.96E+05	6.00	9.80E+05	5.99	-0.01
25	5.01E+05	5.70	1.70E+05	5.23	-0.47
26	1.78E+06	6.25	8.32E+05	5.92	-0.33
27	4.40E+04	4.64	3.16E+04	4.50	-0.14
28	4.40E+04	4.64	5.45E+04	4.74	0.09
29	2.10E+03	3.32	4.19E+03	3.62	0.30
30	2.10E+03	3.32	3.71E+03	3.57	0.25

2.2　精密度验证

2.2.1　批内精密度验证　采用浓度为 1.00E+6 IU/ml 和 1.00E+3 IU/ml 高、低 2 个水平的临床样本，在同一批试验中重复检测 20 次；分别统计 2 个水平标本检测值的 $\bar{x}$ 和 *SD*，再计算 *CV* 值。高、低

浓度对数值的 *CV* 分别为 1.86% 和 2.64%，均符合 CNAS-CL36 规定的 *CV* ≤ 5% 的要求。结果见表 2。

表 2　批内精密度验证结果

Table 2　Results of intra-assay precision verification

批次 (批内)	低浓度		高浓度	
	浓度值 (IU/ml)	对数值 (lg)	浓度值 (IU/ml)	对数值 (lg)
1	1.80E+03	3.26	6.84E+05	5.84
2	1.76E+03	3.25	1.11E+06	6.05
3	2.37E+03	3.37	7.06E+05	5.85
4	1.73E+03	3.24	1.09E+06	6.04
5	1.93E+03	3.29	1.33E+06	6.12
6	2.47E+03	3.39	2.15E+06	6.33
7	1.53E+03	3.18	7.80E+05	5.89
8	1.80E+03	3.26	8.92E+05	5.95
9	1.81E+03	3.26	9.63E+05	5.98
10	1.57E+03	3.20	8.71E+05	5.94
11	1.44E+03	3.16	7.85E+05	5.89
12	1.59E+03	3.20	8.69E+05	5.94
13	1.22E+03	3.09	1.00E+06	6.00
14	1.33E+03	3.12	8.62E+05	5.94
15	1.74E+03	3.24	9.56E+05	5.98
16	1.41E+03	3.15	1.13E+06	6.05
17	1.37E+03	3.14	8.39E+05	5.92
18	2.14E+03	3.33	1.09E+06	6.04
19	1.43E+03	3.16	1.19E+06	6.08
20	2.22E+03	3.35	8.39E+05	5.92
$\bar{x}$	1.73E+03	3.23	1.01E+06	5.99
SD	/	0.09	/	0.11
CV	/	2.64%	/	1.86%

2.2.2　批间精密度验证　采用浓度为 1.00E+6 IU/ml 和 1.00E+3 IU/ml 高、低 2 个水平的临床样本各 1 例进行批间精密度的验证。分别统计 2 个水平标本检测值的 $\bar{x}$ 和 *SD*，再计算 *CV* 值。高、低浓度对数值的 *CV* 值分别为 1.44% 和 2.36%，均符合 CNAS-CL36 规定的 *CV* ≤ 5% 的要求。结果见表 3。

表 3　批间精密度验证结果

Table 3　Results of inter-assay precision verification

批次 (批间)	低浓度		高浓度	
	浓度值 (IU/ml)	对数值 (lg)	浓度值 (IU/ml)	对数值 (lg)
第一天	2.32E+03	3.37	8.89E+05	5.95
	2.75E+03	3.44	9.67E+05	5.99
	2.82E+03	3.45	1.03E+06	6.01
	2.13E+03	3.33	1.26E+06	6.1
第二天	1.80E+03	3.26	6.84E+05	5.84
	1.76E+03	3.25	1.11E+06	6.05
	2.37E+03	3.37	7.06E+05	5.85
	1.82E+03	3.26	1.09E+06	6.04
第三天	2.21E+03	3.34	1.28E+06	6.11
	2.09E+03	3.32	1.28E+06	6.11
	2.25E+03	3.35	1.37E+06	6.14
	1.88E+03	3.27	1.24E+06	6.09
第四天	1.45E+03	3.16	9.45E+05	5.98
	1.39E+03	3.14	7.76E+05	5.89
	1.69E+03	3.23	7.81E+05	5.89
	1.64E+03	3.21	7.60E+05	5.88
第五天	1.89E+03	3.28	1.18E+06	6.07
	1.81E+03	3.26	1.34E+06	6.13
	2.12E+03	3.33	1.25E+06	6.1
	3.20E+03	3.51	1.05E+06	6.02
$\bar{x}$	2.07E+03	3.31	1.05E+06	6.01
SD		0.08	/	0.09
CV		2.36%	/	1.44%

2.2.3　线性范围验证　将高值阳性标本 5.00E+7 IU/ml 梯度稀释至 2.50E+2 IU/ml，实际值和理论值的回归方程是 y=1.0193x−0.1617（R=0.9996 ≥ 0.98），满足 b 在 0.97 ～ 1.03 范围内，a 接近于 0，R^2=0.9994 ≥ 0.95，线性范围为 2.50E+2 ～ 5.00E+7 IU/ml。试剂说明书标定的定量线性范围为 1.00E+3 ～ 1.00E+7 IU/ml，验证合格。结果见表 4。

2.2.4　检测限验证　取北京康彻思坦生物有限公司提供的 HCV RNA 标准物质，用阴性血清稀释至 50 IU/ml。重复检测该稀释样本 30 次，其中 27 次检出阳性，阳性率为 90%，高于行业标准所要求的 22/25，即阳性率 88% 的要求，故 50 IU/ml 作为该试剂盒的检出限，符合临床要求。结果见表 5。

2.2.5　抗干扰能力　分别将高浓度、低浓度的 HCV RNA 血清样本和相应干扰物质血清按 1∶1 进行混合，混合后各血清物质所含干扰物浓度分别为胆红素 20 mg/ml，血红蛋白 2 g/dl，甘油三酯 5 g/dl。将每个混合品重复检测 3 次，与之前定值进行比较，绝对偏差均＜ ±0.5 lg。结果见表 6 ～ 7。

3　讨　　论

生产厂家推出新试剂盒前，应对其进行系统评估。在 ISO18113-2:2009[10] 中明确提出生产厂家应向使用者提供一系列分析性能指标，包括：精密度、正确度、线性、特异性、最低检出限等。当临床实验室使用已经通过厂家严格评估或已经通过 SFDA 批准的试剂盒进行重要修改时，须要验证相关分析性能，以证实在本实验室能达到厂家制定的分析性能指标，从而保证检验结果的准确性。

该待验证 HCV RNA 定量检测试剂盒自 18012511 批号开始检测限由 250 IU/ml 改为 50 IU/ml，其最低检测下限发生了改变。因 HCV RNA 具有不稳定性、易降解、易污染的特点，对实验环境、设备和操作人员的要求较高。本课题组在当前实验条件下对该试剂盒的检出限、正确度、精密度、线性范围逐一进行验证，评价其性能。

在检测限验证过程中，我们对浓度值为 50 IU/ml 的稀释样本重复检测 30 次，有 27 次浓度值＞ 50 IU/ml，即阳性率为 90%，高于行业标准所要求

表 4　线性范围验证结果

Table 4　Results of linear range verification

标本	理论值		实际值				
	(IU/ml)	(lg)	检测 (1)(IU/ml)	检测 (2)(IU/ml)	检测 (3)(IU/ml)	$\bar{x}$ (IU/ml)	(lg)
1	5.00E+07	7.70	4.64E+07	5.15E+07	5.14E+07	4.98E+07	7.70
2	5.00E+06	6.70	4.94E+06	5.04E+06	5.23E+06	5.07E+06	6.71
3	5.00E+05	5.70	4.39E+05	4.83E+05	4.71E+05	4.64E+05	5.67
4	5.00E+04	4.70	3.73E+04	4.61E+04	4.40E+04	4.25E+04	4.63
5	5.00E+03	3.70	3.70E+03	4.46E+03	4.52E+03	4.23E+03	3.63
6	5.00E+02	2.70	2.35E+02	3.81E+02	3.23E+02	3.13E+02	2.50
7	2.50E+02	2.40	2.14E+02	3.35E+02	2.24E+02	2.58E+02	2.41

表 5　检出限验证结果

Table 5　Results of detection limit verification

标本	检出限检测值 (IU/ml)	lg 值	标本	检出限检测值 (IU/ml)	lg 值
1	0	0	18	6.79E+01	1.83
2	5.64E+01	1.75	19	5.53E+01	1.74
3	6.27E+01	1.80	20	6.45E+01	1.81
4	5.95E+01	1.77	21	1.31E+01	1.12
5	6.12E+01	1.79	22	5.55E+01	1.74
6	6.11E+01	1.79	23	6.81E+01	1.83
7	2.84E+01	1.45	24	5.01E+01	1.70
8	7.63E+01	1.88	25	6.03E+01	1.78
9	5.87E+01	1.77	26	5.43E+00	0.73
10	6.08E+01	1.78	27	5.26E+01	1.72
11	5.76E+01	1.76	28	6.31E+01	1.80
12	6.30E+01	1.80	29	6.26E+01	1.80
13	5.76E+01	1.76	30	5.31E+01	1.73
14	6.72E+01	1.83	$\bar{x}$	5.42E+01	1.73
15	6.32E+01	1.80	理论值	5.00E+01	1.70
16	5.54E+01	1.74	阳性率	27/30	90 %
17	6.43E+01	1.81			

表 6　HCV RNA 高浓度血清抗干扰能力检测结果

Table 6　Results of HCV RNA high-concentration serum samples anti-interference ability

抗干扰物质												理论值		
胆红素 (272 μmol/L)				血红蛋白 (77.5 g/L)				甘油三酯 (2.06 μmol/L)						
浓度值	lg 值	偏差	结论	浓度值	lg 值	偏差	结论	浓度值	lg 值	偏差	结论	浓度值	lg 值	lg 均值
3.41E+05	5.53	0.02	符合	4.49E+05	5.65	0.14	符合	5.13E+05	5.71	0.20	符合	3.46E+05	5.54	
4.14E+05	5.62	0.11	符合	5.48E+05	5.74	0.23	符合	5.39E+05	5.73	0.22	符合	3.30E+05	5.52	5.51
3.22E+05	5.51	0	符合	2.88E+05	5.46	-0.05	符合	3.08E+05	5.49	-0.02	符合	2.87E+05	5.46	

表 7　HCV RNA 低浓度血清抗干扰能力检测结果

Table 7　Results of HCV RNA low-concentration serum samples anti-interference ability

抗干扰物质												理论值		
胆红素 (272 μmol/L)				血红蛋白 (77.5 g/L)				甘油三酯 (2.06 μmol/L)						
浓度值	lg 值	偏差	结论	浓度值	lg 值	偏差	结论	浓度值	lg 值	偏差	结论	浓度值	lg 值	lg 均值
6.32E+02	2.80	-0.16	符合	1.00E+03	3.00	0.04	符合	1.04E+03	3.02	0.06	符合	1.06E+03	3.03	
6.96E+02	2.84	-0.12	符合	8.82E+02	2.95	-0.01	符合	8.76E+02	2.94	-0.02	符合	7.13E+02	2.85	2.96
8.45E+02	2.93	-0.03	符合	6.33E+02	2.80	-0.16	符合	8.93E+02	2.95	-0.01	符合	9.72E+02	2.99	

的 88%。50 IU/ml 作为该试剂盒的检测限，符合行业要求。但我们发现其余 3 次检测中，有 1 次未检出，另外 2 次检测结果虽为阳性，但检出浓度均＜ 50 IU/ml；在实际的临床工作中，如果实验室将 HCV RNA 的最低检测下限定为 50 IU/ml，患者样本在该浓度时不能保证 100% 被检出，易导致医患纠纷，因此在制定试剂盒 HCV RNA 的最低检测下限时，建议＞ 50 IU/ml。而在线性验证过程中，在 2.50E+2 ～ 5.00E+7 IU/ml 分析测量范围内线性关系良好（R=0.9996），建议该试剂盒的检测下限定为 250 IU/ml。

研究结果显示，在正确度验证中，该检测试剂与比对试剂的检测结果高度相关，R^2=0.996，R=0.998；在 2.07E+3 ～ 1.05E+6 IU/ml 浓度范围具

有较好的批内精密度和批间精密度，符合 CNAS-CL36 的要求（CV 均＜ 5%）；在抗干扰验证中，阳性血清中分别加入含有干扰物质（胆红素、血红蛋白、甘油三酯）的血清，分别与之前的定值进行比较，绝对偏差均＜ ±0.5 lg，检测结果符合临床需求。

【参考文献】

[1] Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, *et al*. Isolation of a CDNA clone derived from a blood-bome non-A, non-B viral hepatitis viral genome［J］. Science, 1989, 244(4902):359-362.

[2] Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, *et al*. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002［J］. Ann Intern Med, 144(10):705-714.

[3] Rustgi VK. The epidemiolgy of hepatitis C infection in the United States［J］. J Gastroentero, 42(7):513-521.

[4] Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection［J］. N Engl J Med, 2001, 345(1):41-52.

[5] Cobb B, Pockros PJ, Vilchez RA, *et al*. HCV RNA viral load assessments in the era of direct-acting antivirals［J］. Am J Gastroenterol, 2013, 108(4):471-475.

[6] 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.

[7] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP9-A2 method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline［S］. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

[8] 国家食品药品监督管理局 . YY/T 1182-2010 核酸扩增检测用试剂（盒）［S］. 北京：中国标准出版社，2003.

[9] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP6-A evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach: approved guideline［S］. Wayne, PA: NCCLS, 2003.

[10] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局，中国国家标准化管理委员会 . ISO 18113-2:2009 体外诊断医疗器械制造商提供的信息（标示）第 2 部分：专业用体外诊断试剂［S］. 北京：中国标准出版社，2014.

（2019-06-22 收稿　2019-08-02 修回）
（本文编辑　赵雅琳）

（上接第 393 页）

[30] Vigano M, Aghemo A, Iavarone M, *et al*. The course of inactive hepatitis B in hepatitis-C-coinfected patients treated with interferon and ribavirin［J］. Antivir Ther, 2009, 14(6):789-796.

[31] Chuang WL, Dai CY, Chang WY, *et al*. Viral interaction and responses in chronic hepatitis C and B coinfected patients with interferon-alpha plus ribavirin combination therapy［J］. Antivir Ther, 2005, 10(1):125-133.

[32] De Monte A, Courjon J, Anty R, *et al*. Direct-acting antiviral treatment in adults infected with hepatitis C virus: reactivation of hepatitis B virus coinfection as a further challenge［J］. J Clin Virol, 2016, 78:27-30.

[33] Hayashi K, Ishigami M, Ishizu Y, *et al*. A case of acute hepatitis B in a chronic hepatitis C patient after daclatasvir and asunaprevir combination therapy: hepatitis B virus reactivation or acute self-limited hepatitis?［J］. Clin J Gastroenterol, 2016, 9(4):252-256.

[34] Takayama H, Sato T, Ikeda F, *et al*. Reactivation of hepatitis B virus during interferon-free therapy with daclatasvir and asunaprevir in patient with hepatitis B virus/hepatitis C virus co-infection［J］. Hepatol Res, 2016, 46(5):489-491.

[35] Wang C, Ji D, Chen J, *et al*. Hepatitis due to reactivation of hepatitis B virus in endemic areas among patients with hepatitis C treated with direct-acting antiviral agents［J］. Clin Gastroenterol Hepatol, 2017, 15(1):132-136.

[36] Xie M, Rao W, Yang T, *et al*. Occult hepatitis B virus infection predicts de novo hepatitis B infection in patients with alcoholic cirrhosis after liver transplantation［J］. Liver Int, 2015, 35(3):897-904.

[37] Ye XL, Li T, Xu XX, *et al*. Characterisation and follow-up study of occult hepatitis B virus infection in anti-HBc-positive qualified blood donors in southern China［J］. Blood Transfus, 2017, 15(1):6-12.

[38] Tandoi F, Caviglia GP, Pittaluga F, *et al*. Prediction of occult hepatitis B virus infection in liver transplant donors through hepatitis B virus blood markers［J］. Dig Liver Dis, 2014, 46(11):1020-1024.

[39] Caviglia GP, Abate ML, Tandoi F, *et al*. Quantitation of HBV cccDNA in anti-HBc-positive liver donors by droplet digital PCR: a new tool to detect occult infection［J］. J Hepatol, 2018, 69(2):301-307.

[40] Sagnelli E, Pisaturo M, Martini S, *et al*. Clinical impact of occult hepatitis B virus infection in immunosuppressed patients［J］. World J Hepatol, 2014, 6(6):384-393.

[41] Sugauchi F, Tanaka Y, Kusumoto S, *et al*. Virological and clinical characteristics on reactivation of occult hepatitis B in patients with hematological malignancy［J］. J Med Virol, 2011, 83(3):412-418.

[42] Coppola N, Tonziello G, Pisaturo M, *et al*. Reactivation of overt and occult hepatitis B infection in various immunosuppressive settings［J］. J Med Virol, 2011, 83(11):1909-1916.

[43] Elkady A, Aboulfotuh S, Ali EM, *et al*. Incidence and characteristics of HBV reactivation in hematological malignant patients in south Egypt［J］. World J Gastroenterol, 2013, 19(37):6214-6220.

（2019-01-17 收稿　2019-04-02 修回）
（本文编辑　赵雅琳）