



中国寄生虫学与寄生虫病杂志

Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases

ISSN 1000-7423, CN 31-1248/R

《中国寄生虫学与寄生虫病杂志》网络首发论文

题目：《疟原虫核酸检测多重 PCR 法》标准解读
作者：王真瑜，江莉，余晴，张耀光，吴寰宇，陈健，朱民
收稿日期：2024-02-01
网络首发日期：2024-08-21
引用格式：王真瑜，江莉，余晴，张耀光，吴寰宇，陈健，朱民.《疟原虫核酸检测多重 PCR 法》标准解读[J/OL]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志.
<https://link.cnki.net/urlid/31.1248.R.20240820.1652.004>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

文章编号：1000-7423(2024)-04-0000-00

【标准解读】

《疟原虫核酸检测 多重PCR法》标准解读

王真瑜, 江莉*, 余晴, 张耀光, 吴寰宇, 陈健, 朱民

【摘要】 遵循《GB/T 20004.1—2016 团体标准化第1部分：良好行为指南》相关规定，按照《GB/T 1.1—2009 标准化工作导则》体例编制《疟原虫核酸检测多重PCR法》(T/SPMA 004—2023)。标准由7章组成，包括适用范围、规范性引用文件、术语和定义、仪器设备、试剂材料、检测步骤和废弃物的处理和防止污染的措施。另附有1个资料性附录（技术原理）和4个规范性附录（2个检测方法、试剂配制、样本准备），已由上海市预防医学会发布公告（沪预医会〔2023〕34号）实施，为各级疾病预防控制机构和医疗机构规范操作、提高样本检测质量提供了技术依据，弥补了《疟疾的诊断》(WS259—2015)核酸检测尚无细化操作步骤之不足。

【关键词】 疟原虫；核酸；PCR；标准

中图分类号：R382.31 文献标识码：A

Interpretation of the Criteria for Detection of malaria parasite nucleic acid by multiplex PCR methods

WANG Zhenyu, JIANG Li*, YU Qing, ZHANG Yaoguang, WU Huanyu, CHEN Jian, ZHU Min

Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China

【Abstract】 The criteria for Detection of malaria parasite nucleic acid by multiplex PCR methods (T/SPMA 004—2023) (referred to as the Criteria) was compiled following the Social organization standardization-Part 1: Guidelines for good practice (GB/T 20004.1—2016) and GB/T 1.1—2009 Standardization Working Guidelines. The Criteria is composed of seven chapters, including the range of application, normative reference documents, terms and definitions, instruments and equipment, reagent and materials, detection steps and waste disposal and pollution prevention measures. One informative appendix (technical principle) and four normative appendices (two detection methods, reagent preparation and sample preparation). The Criteria was issued by Shanghai Preventive Medicine Association through No.34 of SJPM in 2023. The Criteria provides for the technical reference for normative operations and the quality of sample testing in disease control institutions and medical institutions. And the Criteria makes up for the deficiency of specific operating steps in nucleic acid detection of Criteria for diagnosis of malaria (WS 259—2015).

【Keywords】 *Plasmodium*, Nucleic acid, PCR, Criteria

Supported by the Sixth Round of Three-Year Public Health Action Plan of Shanghai (No. GWVI-11.1-13), Academic Research Leader (GWVI-11.2-XD04) of Three-year Action Program of Shanghai Municipality for Strengthening the Construction of Public Health System (2023—2025) and the Project of Shanghai Scientific and Technological Innovation Action Plan (20DZ2200300)

* Corresponding author, E-mail: jiangli@scdc.sh.cn

2021年6月30日，世界卫生组织正式公告中国获得消除疟疾认证。我国的疟疾疫情形势发生了明显的变化，疟疾报告病例从以间日疟为主的本土

型转变为以恶性疟为主的输入型，目前疟疾病例全部是境外输入。由于境外输入地来源广泛，各型疟疾都有报告，呈现出以恶性疟为主，间日疟、卵形

基金项目：上海市加强公共卫生体系建设三年行动计划（2023—2025年）重点学科（GWVI-11.1-13）；上海市加强公共卫生体系建设三年行动计划（2023—2025年）优秀学科带头人（流行病）（GWVI-11.2-XD04）；上海市“科技创新行动计划”项目（20DZ2200300）

作者单位：上海市疾病预防控制中心，上海 200336

作者简介：王真瑜（1982—），女，硕士，主任技师，主要从事寄生虫病检测及应用研究。E-mail: wangzhenyu@scdc.sh.cn

* 通信作者，江莉（1964—），女，博士，主任技师，主要从事寄生虫病检测研究。E-mail: jiangli@scdc.sh.cn

疟和三日疟次之，新型诺氏疟原虫 (*Plasmodium knowlesi*) 和混合感染也占有一定比例的复杂态势。及时发现、报告、诊断输入性疟疾病例，防止疟疾输入再传播，不仅是维持消除疟疾的关键，在传染病常态化防控工作中也具有重要的意义^[1,2]。

上海市是我国首个实现消除疟疾并通过考核评估的省级单位。对近几年的疟疾检测数据分析显示，市区两级疾控中心核酸检测结果的符合率仍有待提高^[3,4]。为了进一步规范操作、提高样本检测的质量，有必要针对疟原虫核酸检测方法的应用制定一项检测标准，弥补疟疾诊断卫生标准中核酸检测尚无细化操作步骤之不足，并促进创新技术的推广和应用。

1 标准编制过程与方法

疟原虫检测的常用技术有显微镜检查、免疫学检测和分子生物学检测。随着诊断技术的进步，我国的疟疾诊断标准也经历了几次修订。最新版的《疟疾的诊断》(WS 259—2015)^[5]中病例确诊的实验室检测方法在 2006 版基础上，增加了疟原虫核酸检测方法。但在最新版的疟疾诊断标准中，除了病原学检查(附录 B)有血片制作、染色和厚薄血膜疟原虫的形态鉴别等详细的操作步骤外，疟原虫抗原检测(附录 C)和疟原虫核酸检测(附录 D)均无详细的操作步骤，在实际检测中由于试剂来源不同，扩增核酸序列靶点不同，核酸扩增的方法和原理不同等，使得标准在检测应用中的规范性作用受到限制。

为了弥补目前上海市以及国内疟疾监测工作中疟原虫核酸检测方法缺乏卫生标准的短板，2020 年 11 月上海市疾病预防控制中心申报了上海市科委“科技创新行动计划”技术标准项目获得资助(20DZ2200300, 2020—2023)，开展“疟原虫核酸检测-多重 PCR 法”技术标准的预研制工作，该项目的研究成果于 2021 年底，申报了上海市预防医学会团体标准的制定。2022 年 8 月 15 日，团体标准制定项目批准立项。

收到立项通知后，于 2022 年 8 月 25 日，上海市疾病预防控制中心、深圳生科原生物有限公司和上海思路迪生物医学科技有限公司等单位的有关专家组成标准编制工作组。工作组成员学习了标准制订的相关文件精神与要求，参考部分寄生虫病检测技术规范。在牵头单位上海市疾病预防控制中心的技术标准预研制项目已形成的“疟原虫核酸检测-多重 PCR 法”技术标准草稿基础上，遵循《GB/T

20004.1—2016 团体标准化第 1 部分：良好行为指南》并按照《GB/T 1.1—2009 标准化工作导则》的体例进行编写，完善格式和内容，形成了本标准的草稿。工作组对标准草稿进行了认真的讨论修改，形成了标准的初稿和编制说明。2022 年 10 月 20 日，标准初稿与编制说明一并提交，由标准委员会办公室对材料进行形式审查，并提交本标准涉及的专业委员会进行专业审查，根据形式审查、专业审查意见形成征求意见稿。并于 2022 年 11 月 4 日，在全国团体标准信息平台发布征求意见稿，公开征集意见。专家工作组对反馈意见进行逐项研究讨论，采纳和部分采纳了合理的修改意见 79 条，对未采纳意见 11 条亦说明了理由，最终形成标准送审稿，于 2023 年 1 月 13 日提交。根据审定会意见，标准在发布之前需完成标准中所涉及的检测方法进行实验室检测验证工作。标准编制工作组邀请了浙江省、云南省疾病预防控制中心和上海国际旅行卫生保健中心 3 个单位，于 2023 年 6 月底完成了实验室检测验证工作，三家验证单位提供的验证报告对《疟原虫核酸检测多重 PCR 法》团体标准中的检测方法评价为：操作简便、特异度高、灵敏度好，结果准确，易于推广与应用。2023 年 8 月 8 日，上海市预防医学会发布了团体标准《疟原虫核酸检测多重 PCR 法》(T/SPMA 004—2023)。该标准弥补了《疟疾的诊断》(WS 259—2015)核酸检测尚无细化操作步骤之不足，借鉴国际先进经验，聚焦疟原虫核酸检测的关键参数、目前疟疾感染现状、检测方法研究成熟，制定了常规的多重 PCR 和多重荧光 PCR 两种检测方法，可以同时检测 5 个目标基因，极大地提高了检测效率，对促进创新技术的推广和应用，提高疟原虫检测能力具有重要意义。

2 标准正文内容

标准正文由 7 章组成，明确了标准适用范围，说明了引用文件，释义了有关术语和定义，规定了仪器设备的技术参数，要求了试剂材料，规范了检测步骤，阐明了废弃物的处理和防止污染的措施，现简要分解如下。

2.1 范围

明确了适用于人体血液样本中疟原虫检测，规定了疟原虫核酸检测多重 PCR 和多重荧光 PCR 的方法。

2.2 规范性引用文件

明确了规范性引用文件。

2.3 术语和定义

明确了疟原虫、疟原虫核酸检测、多重PCR和Ct值的定义并作出解释。

2.3.1 疟原虫是一类单细胞、寄生性的真核动物，是疟疾的病原体。寄生于人体的疟原虫主要有恶性疟原虫 (*P. falciparum*)、间日疟原虫 (*P. vivax*)、三日疟原虫 (*P. malariae*) 和卵形疟原虫 (*P. ovale*) 等。

2.3.2 疟原虫核酸检测指采用核酸检测方法，从疟疾患者血液样本中检测疟原虫特异性基因片段。

2.3.3 多重PCR 在同一PCR反应管中同时加入多种特异性引物进行PCR扩增，可用于同时检测多种病原体或鉴定同属不同种的病原体感染。

2.3.4 Ct值是指每个反应管内的荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数。

2.4 仪器设备

规定了13个仪器设备的技术参数，包括PCR扩增仪、凝胶成像系统、核酸电泳仪、荧光定量PCR仪、二级生物安全柜、医用冰箱、超低温冰箱、天平、微波炉、高压灭菌蒸汽锅、台式高速离心机、涡旋振荡器和微量可调节移液器。

2.5 试剂材料

对于疟原虫核酸检测，试剂的准备和配制是需重点掌握的内容。

2.5.1 除特别说明以外，所用试剂均达到分析纯标准。实验用水应符合GB/T 6682规定的三级水。

2.5.2 核酸提取试剂使用全血DNA提取试剂盒。

2.5.3 多重PCR方法的分子生物学试剂包括2×多重PCR预混液（含有Taq酶、dNTPs、Mg²⁺、其他盐离子、蛋白稳定剂和PCR增强剂）、分子质量指示物、核酸染料；荧光多重PCR方法分子生物学试剂包括5×缓冲液（盐离子缓冲系统、PCR增强剂，不含镁离子）、MgCl₂（25 mmol）、dNTPs（25 mmol）、尿嘧啶-N-糖基化酶、Taq酶。

2.5.4 多重PCR方法使用特异性引物，多重荧光PCR方法使用特异性探针。

2.5.5 配制核酸电泳试剂。

2.5.6 阳性对照为疟疾患者全血基因组DNA或含有疟原虫特异性基因序列的质粒DNA，阴性对照为健康人全血基因组DNA。

2.5.7 防护用品包括乳胶手套、口罩、帽子、工作服等。

2.5.8 一次性耗材包括1.5 ml离心管、0.5 ml离心管、PCR反应管、荧光PCR反应管（或96孔板）、滤芯吸头等。

2.6 检测步骤

规范了2种检测方法的4个重点检测步骤。

2.6.1 样品准备 样本为人体静脉血或者末梢血。样本的采集、运输和保存及核酸样品DNA的提取方法，按附录E方法进行。

2.6.2 多重PCR方法

2.6.2.1 原理设计 疟原虫属和种特异性引物共5对，放在同一反应体系中进行PCR扩增，根据不同扩增产物电泳条带的位置进行分型。

2.6.2.2 核酸扩增 以样品DNA为模板，多重PCR反应体系的配制和反应条件的参数设置，按附录B操作。

2.6.2.3 电泳分析 取多重PCR扩增产物10 μl与2 μl 6×加样缓冲液混合，加样于含核酸染料的2%琼脂糖凝胶加样孔中，在1×TAE缓冲液中，5 V/cm电泳约30 min，当溴酚蓝到达底部时停止电泳，用凝胶成像系统或紫外分析仪记录结果。

2.6.2.4 电泳结果的判定 当阴性对照和/或空白对照未见扩增条带，混合阳性对照扩增出5个条带，本次检测试验有效；阴性对照和/或空白对照扩增出条带，本次试验无效。需要检查原因并重新测试。在检测试验有效时，根据扩增条带的数量和大小进行检测结果判定。

2.6.3 多重荧光PCR方法

2.6.3.1 原理设计 疟原虫属和种特异性引物及探针共5套。考虑到检测仪器的普遍适用性，分别组成三重和双重共五重的反应体系进行PCR扩增。利用仪器对PCR过程中相应通道的荧光信号强度进行实时监测和输出，实现检测结果的定性分析。

2.6.3.2 核酸扩增 以样品DNA为模板，多重荧光PCR反应体系的配制和反应条件的参数设置，按附录C进行。

2.6.3.3 荧光自动采集分析 根据探针标记荧光素的种类，在多通道荧光PCR仪上设定不同的通道，每个扩增循环反应结束仪器会自动收集荧光信号进行实时监测和输出。

2.6.3.4 荧光检测结果的判定 当阳性对照的Ct值≤30，有明显指数增长。阴性对照的Ct值>39或无曲线，线形为直线或轻微斜线，无明显指数增长期和平台期或无Ct值，本次检测试验有效。在检测试验有效时，根据Ct值和扩增曲线线形进行检测结果判定。

2.7 废弃物的处理和防止污染的措施

样本采集、运输及检测过程中产生的废物（PCR扩增产物除外），应进行高压灭菌，103.4 kPa（1.05 kg/cm²）高压蒸汽灭菌20 min。检

测过程中交叉污染的预防和控制措施,按 WS/T 230 规定进行。

3 标准附录内容

标准具有 1 个资料性附录(技术原理)和 4 个规范性附录(2 个检测方法、试剂配制、样品准备),以充分解释,便于诊断。

3.1 附录 A

附录 A 为多重 PCR 技术原理,主要介绍了多重 PCR 和多重荧光 PCR 的原理。

3.2 附录 B

附录 B 为多重 PCR 检测方法,主要介绍引物序列、引物混合液配制、反应体系配制、加样、扩增反应条件、扩增产物的电泳分析、电泳结果的判定、多重 PCR 电泳结果示意图和标准参考序列。

3.3 附录 C

附录 C 为多重荧光 PCR 检测方法,主要介绍引物和探针序列、多重荧光 PCR 检测试剂配制、加样、上机检测、结果分析、结果判定、多重荧光 PCR 扩增结果和标准序列。

3.4 附录 D

附录 D 为试剂的配制,主要介绍 6 × 加样缓冲液,2% 琼脂糖凝胶,Tris-乙酸电泳缓冲液储存液和使用液的配制方法。

3.5 附录 E

附录 E 为样品准备,主要介绍样本采集、样本保存和运输、样品 DNA 提取和生物安全。

4 标准应用的建议

4.1 不同方法的应用

本文通过反复的探索研究,建立了疟原虫属与不同虫种同步检测的多重 PCR 方法。该检测方法相比常规 PCR 和国家疟疾参比实验室推荐的巢式 PCR 方法,在保持敏感性和特异性的同时,节约 60% 的时间。具有方便、快速、准确的优点,处于国内领先水平^[6]。该项技术已获得国家知识产权局的发明专利授权(ZL 201610181822.3),该专利采用的多重 PCR 技术,可以同时扩增 5 个目的基因,极大地提高了检测效率^[7]。基于上述多重 PCR 技术的发明理念又开发了多重荧光 PCR 技术方法,考虑到检测仪器的普遍适用性,将恶性疟原虫、间日疟原虫和疟原虫属的引物及探针放在同一管反应液中,三日疟原虫和卵形疟原虫的引物及探针放在同一管反应液中,分别组成三重和双重共五重的疟原虫检测反应体系,可以同时对疟原虫属和四种不同

型的疟原虫样品进行分型检测。与同类技术比较,两种技术方法种属同检,高效准确,能够很好地满足对输入性疟疾分型鉴定的需要。

4.2 配套产品的应用

目前多重 PCR 方法作为检验检测机构资质认定和中国合格评定国家认可委员会认可的检测方法,在实验室已稳定运行近 5 年,检测样品数量超过 2 000 份,疟疾报告病例的分型率从开展核酸检测前的 77.7% 提高到 100%,在疟疾病例复核和消除后监测中发挥了重要作用。根据基层检测工作的需求,正在开发两种检测方法的配套试剂盒产品。目前已经完成了多重荧光 PCR 检测试剂盒的产品化,在多个区疾控中心的现场检测中得到验证和初步的应用。两类试剂盒产品的商品化生产,可以提升标准实施的实用性、统一性和规范性,将有助于本标准的推广应用。

5 标准施行和宣传贯彻重点

疟疾是由媒介按蚊传播的严重威胁人类健康与生命的热带传染病之一。2022 年全球 85 个国家有疟疾流行,估计新发疟疾病例 2.49 亿,其中因疟疾死亡 60.8 万^[1]。我国于 2021 年获得了世界卫生组织消除疟疾认证,但输入性疟疾仍在严重危害我国公众健康,2023 年我国共发现约 2500 例输入性疟疾病例,因延误诊治导致的危重病例和死亡病例仍有发生^[8,9]。上海市在消除疟疾过程中不断探索低度流行区疟疾患者的早发现、境内外输入性疟疾病例的快速发现和准确分型诊断等实用技术^[10],因此在《疟原虫核酸检测多重 PCR 法》标准的施行和宣传贯彻过程中应掌握几个重点:①加强各级疾病预防控制中心和医疗机构的宣传,增强对疟原虫核酸检测了解,同时应结合病原学、免疫学及流行病学为诊断治疗提供充分依据;②加强对大众人群的宣传教育,对于前往疟疾流行区工作或旅行人员提高自我保护与预防感染意识,对于流行区回国人员应密切关注自身健康状况,警惕疟疾感染和输入,做好相关防治工作;③加强标准推广应用以此促进网络实验室的标准化、质量控制的标准制定、疟疾传播风险监测和预警方案制定等项目,进一步扎实推进疟疾防控工作。

伦理批准和患者知情同意 本文不涉及伦理批准和患者知情同意。

出版授权 作者同意以纸质版和网络版的形式同时出版。

数据和材料的可及性 可以向同行提供本文所参考的文献,如有需要,请与作者王真瑜联系。

利益冲突 作者声明无利益冲突。

作者贡献 王真瑜负责文献收集和文章撰写, 江莉、余晴、张耀光、吴寰宇、陈健和朱民负责文章修改。

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. World malaria report 2023[R]. Geneva: WHO, 2023: 19.
- [2] WHO malaria-free certification. From 30 million cases to zero: China is certified malaria-free by WHO [OL]. (2021-6-30) [2023-2-2]. <https://www.who.int/news/item/30-06-2021-from-30-million-cases-to-zero-china-is-certified-malaria-free-by-who>.
- [3] Zhu M, Cai L, Wu HY, *et al.* Mid-term assessment report of Malaria Elimination Action Plan in Shanghai [J]. *China Trop Med*, 2018, 18(4): 297-302. (in Chinese)
(朱民, 蔡黎, 吴寰宇, 等. 上海市消除疟疾行动计划中期评估报告[J]. *中国热带医学*, 2018, 18(4): 297-302.)
- [4] WS 259-2015, Diagnosis of malaria[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016. (in Chinese)
(WS 259—2015, 疟疾的诊断[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-12.)
- [5] Jiang L, Wang ZY, Zhang YG, *et al.* Analysis on the application of three methods for malaria diagnosis [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2017, 35(1): 53-58. (in Chinese)
(江莉, 王真瑜, 张耀光, 等. 3种疟疾检测方法的应用分析[J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2017, 35(1): 53-58.)
- [6] Jiang L, Zhang YG, Cai L, *et al.* Establishment and application of multiplex PCR for co-detection of genus- and species-specific malaria parasites [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2018, 36(4): 380-387. (in Chinese)
(江莉, 张耀光, 蔡黎, 等. 疟原虫种属同检多重PCR方法的建立和应用[J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2018, 36(4): 380-387.)
- [7] Jiang L, Cai L, Zhang YG, *et al.* Chimeric primer multiplex PCR molecular detection kit for malaria species homologation and method of detection thereof. Invention Patent [P]. China: ZL201610181822.3. 2019-05-24. (in Chinese)
(江莉, 蔡黎, 张耀光, 等. 疟疾种属同检的嵌合引物多重PCR分子检测试剂盒及其检测方法[P]. 中国: ZL201610181822.3. 2019-05-24.)
- [8] Zhang YG, Jiang L, Wang ZY, *et al.* Analysis of the causes of misdiagnosis of seven imported malaria cases in Shanghai from 2020 to 2021 [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2023, 41(1): 68-74. (in Chinese)
(张耀光, 江莉, 王真瑜, 等. 2020—2021年上海市7例输入性疟疾病例误判原因分析[J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2023, 41(1): 68-74.)
- [9] Zhang YG, Jiang L, Wang ZY, *et al.* Laboratory diagnosis of two misdiagnosed imported *Plasmodium ovale* malaria cases in Shanghai [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2021, 39(4): 553-556. (in Chinese)
(张耀光, 江莉, 王真瑜, 等. 上海市2例输入性卵形疟误诊病例的实验室诊断分析[J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2021, 39(4): 553-556.)
- [10] Zhu M, Wu HY, Zhang CG, *et al.* Epidemiological analysis of imported malaria reported in Shanghai, 2016-2019 [J]. *China Trop Med*, 2021, 21(1): 55-59, 69. (in Chinese)
(朱民, 吴寰宇, 张宸罡, 等. 上海市2016—2019年输入性疟疾流行特征[J]. *中国热带医学*, 2021, 21(1): 55-59, 69.)

收稿日期: 2024-02-01 修回日期: 2024-03-13 本文编辑: 刘雨舟, 张争艳