两种化学发光免疫分析系统对血清 HBsAg 突变株的检测能力比较分析

倪　勇[1]，陈丹丹[1]，龚美娜[1]，倪　想[2]（1. 芜湖市中医医院检验科，安徽芜湖 241000；2. 海南医学院医学检验专业，海南海口 570100）

摘　要：目的 分析比较两种化学发光免疫分析系统对 HBsAg 突变株的检测能力。**方法** 分别用 I3000 和 Liaison XL 两种化学发光免疫分析系统对 9 种已知 HBsAg 突变位点的 HBsAg 突变株进行检测，比较这两种检测系统对 9 种 HBsAg 突变株的检测能力；对 I3000 系统检测 HBsAg 显示为阴性的临床血清样本，用 Liaison XL 系统进行 HBsAg 复核，针对 Liaison XL 系统阳性检测结果的 HBsAg 突变株设计 qRT-PCR 扩增引物，并对前述两种系统检测阴阳结果不一致临床样本进行荧光定量 PCR 和乙肝五项检测。**结果** Liaison XL 检测 9 种已知 HBsAg 突变位点的 HBsAg 突变株结果全部为阳性，而 I3000 可检测其中 6 种为阳性，有 3 种阴性结果。利用 Liaison XL 系统检测 1 520 例 I3000 检测系统 HBsAg 阴性的住院患者样本，发现 4 例阳性结果，其中有 1 例荧光定量 PCR 实验阳性，属于突变株 P124L-F/Y143H-D144E-G145R 的 HBsAg 突变体，且患者的 HBeAb 和 HBcAb 的检测数值较高，提示该患者为小三阳。**结论** Liaison XL 可检测出临床样本中 P124L-F/Y143H-D144E-G145R HBsAg 突变株，选择 HBsAg 突变株识别捕获能力强的 HBsAg 检测试剂有非常重要意义。

关键词：乙肝表面抗原；突变体；化学发光免疫分析；荧光定量 PCR
中图分类号：R512.62；Q503　**文献标志码：**A　**文章编号：**1671-7414（2025）03-195-05
doi:10.3969/**j.issn.**1671-7414.2025.03.036

Comparative Analysis of Two Chemiluminescent Immunoassay Systems for the Detection of Serum HBsAg Mutants

NI Yong[1]，CHEN Dandan[1]，GONG Meina[1]，NI Xiang[2]（1.*Department of Clinical Laboratory*，*Wuhu Traditional Chinese Medicine Hospital*，*Anhui Wuhu* 241000，*China*；2.*Department of Medical Laboratory*，*Hainan Medical College*，*Haikou* 570100，*China*）

Abstract：**Objective** To analyze and compare the ability of two chemiluminescent immunoassay systems for detecting HBsAg mutant strains. **Methods** The two chemiluminescent immunoassay systems, I3000 and Liaison XL, were used to detect nine HBsAg mutant strains with known HBsAg mutation sites respectively, and to compare the detection ability of these two systems for the nine HBsAg mutant strains. The clinical serum samples that were negative for HBsAg by the I3000 system were reviewed by the Liaison XL system for HBsAg, qRT-PCR amplification primers were designed for the HBsAg mutant strains with positive results by the Liaison XL system, and fluorescence quantitative PCR and Hepatitis B serologic tests were performed on the clinical samples that had inconsistent negative-positive results between the two aforementioned systems. **Results** The Liaison XL detected all nine HBsAg mutant strains with known HBsAg mutation sites with positive results, whereas the I3000 detected six of them with positive but three with negative results. Using the Liaison XL system to test 1 520 samples from hospitalized patients who were negative for HBsAg with the I3000 detection system, four positive results were found, including one positive result by the fluorescence quantitative PCR assay, which belonged to the HBsAg mutant of the mutant strain P124L-F/Y143H-D144E-G145R and the patient's test values for HBeAb and HBcAb were high, suggesting that the patient was a minor triple positive. **Conclusion** Liaison XL can detect the P124L-F/Y143H-D144E-G145R HBsAg mutant in clinical samples, and it is very important to select HBsAg test reagents with strong HBsAg mutant recognition and capture ability.

Keywords：HBsAg；mutant strain；CLIA；qRT-PCR

乙型肝炎病毒（HBV）感染是一个全球性的公共卫生问题，最新统计数据显示，全球大约有三分之一的人口感染过 HBV；HBV 感染可以引发一系列严重的健康问题，包括肝坏死性炎症、肝硬化及肝细胞癌，对人体健康构成了严重威胁[1-2]。HBV 是一种 DNA 病毒，在受到治疗药物和疫苗等外部压力的影响下可能发生突变，不仅造成诊断乙肝感染的重要指标之一的 HBV 表面抗原（HBsAg）检测出

基金项目：安徽省自然科学基金项目（2008085QH407）；芜湖市科技项目（2022yf70）。
作者简介：倪勇（1971－），男，大学本科，副主任技师，主要从事临床检验工作，E-mail: 13955353323@163.com。

现假阴性结果，还可能发生隐匿性 HBV 感染（occult HBV infection，OBI），因此，有效地提高 HBsAg 突变体检测能力，对 HBV 感染者准确及时诊断、疾病的管理和治疗策略具有重要的临床意义 [3-5]。

化学发光免疫分析法（CLIA）现已广泛应用于临床 HBV 多项血清学标志物的测定 [6-7]，由于 CLIA 试剂厂家的 HBV 抗体所识别的 HBsAg 靶点可能不同，可造成不同 CLIA 分析系统对 HBsAg 突变体的检测能力存在差异 [8-9]。本研究拟采用两套已上市的 CLIA 分析系统，对 9 种已知突变位点的 HBsAg 突变体以及患者临床检测样本进行 HBsAg 的检测，比较两种 CLIA 分析系统对 HBsAg 突变体的检测结果，分析二者对 HBsAg 突变体检测能力的差异，为临床 HBV 感染者的 HBsAg 检测策略提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 9 种重组已知突变体位点的 HBsAg 突变体蛋白干粉样品（310259）由意大利索灵公司（Diasorin LTD）提供，1 640 例临床样本来自芜湖市中医医院 2023 年 10 ~ 12 月进行 HBsAg 检测的血清样本（排除溶血、黄疸和乳糜）。患者血液样本采集使用含惰性分离胶及促凝剂的真空采血管，采集后及时分离血清（4 000r/min，4℃离心 10min），常规检测完毕后，将剩余血清平均分成 5 份，储存于 −80℃冰箱中待用。研究方案得到芜湖中医院伦理委员会批准（批准文号：YW-2025-034），血清样本的使用已获得患者知情同意。

1.2 仪器与试剂 化学发光检测分别使用迈克公司 (Maccura)CLIA 系统 (I3000) 的 HBsAg(IM4402001)，HBeAg(IM4402002)，HBsAb(IM4402003)，HBcAb(IM4402004) 和 HBeAb(IM4402005) 配套试剂，和索灵公司 CLIA 系统 (Liaison XL) 的 HBsAg(310250) 配套试剂；荧光定量 PCR 检测使用罗氏 480 实时荧光定量 PCR 仪 (LC 480) 及 FAST qPCR 反应体系 (货号：CN830S)、定标品、质控品及耗材。

1.3 方法

1.3.1 HBsAg 检测：分别将 9 种已知突变体位点的 HBsAg 突变体蛋白干粉样品按照使用说明，直接在试剂瓶中加入去离子水配置成 1ml 的溶液，浓度为 0.5 ~ 1 IU/ml；患者血清样本检测前 2h 从 −80℃冰箱中取出，室温平衡后分别使用 I3000 和 Liaison XL 化学发光免疫分析系统进行全自动化检测，相关实验操作严格按照说明书进行。I3000 的 HBsAg 具体检测步骤为：吸取 50μl HBsAg 配对单抗 - 磁珠偶联物，分别加入 50μl 的 HBsAg 抗原标准品或人血清样本和 100μl HBsAg 单抗 - 吖啶酯发光试剂，37℃温育反应 20 min，外加磁场促使磁珠及其磁珠偶联物聚集到试管底部，洗涤磁珠上吸附的杂质，然后加入 100μl 的发光底物预激发液和激发液后，检测吖啶酯光子的相对光强度（relative luminosity，RLU）。样本中的 HBsAg 抗原浓度与收集到的 RLU 呈正相关，通过检测一系列 HBsAg 抗原标准品绘制标准曲线，利用标准曲线即可计算得出待测样品中 HBsAg 抗原的浓度。结果≥ 0.05 IU/ml，判定为阳性；＜ 0.05 IU/ml，判定为阴性。Liaison XL 的 HBsAg 具体检测步骤为：吸取 50μl HBsAg 配对单抗 - 磁珠偶联物，分别加入 150μl 的 HBsAg 抗原标准品或人血清样本和 100μl HBsAg 单抗 - 异鲁米诺发光试剂，37℃温育反应 25 min，外加磁场促使磁珠及其磁珠偶联物聚集到试管底部，洗涤磁珠上吸附的杂质，然后加入 200μl 的发光底物预激发液和激发液后，检测异鲁米诺发光光子的 RLU。样本中的 HBsAg 抗原浓度与收集到的 RLU 呈正相关，通过检测一系列 HBsAg 抗原标准品绘制标准曲线，利用标准曲线即可计算得出待测样品中 HBsAg 抗原的浓度。结果≥ 0.05 IU/ml，判定为阳性；＜ 0.05IU/ml，判定为阴性。

1.3.2 差异样本的荧光定量 PCR（qRT-PCR）分析：qRT-PCR 分析的检测样本来自 1 640 例临床样本中 Liaison XL 系统检测结果为阳性，且 I3000 系统检测结果为阴性的 4 个临床样本，按照罗氏 480 实时荧光定量 PCR 仪器说明书进行操作。扩增引物根据迈克系统检测为阴性结果的 3 种已知 HBsAg 突变体进行设计，见表 1。扩增体系和条件：PCR 扩增体系为 5μl，包括 2μl 待测 DNA 样本（浓度 20 ~ 50 ng/μl）和 3μl 反应体系（含 1μl 0.5μmol/L PCR 引物工作液，0.8μlRNase-free Water，0.5μl 10×Buffer，0.4μl 25mmol/L $MgCl_2$，0.1μl 25mmol/L dNTP，0.2μl 5U/μl HotstarTaq）；PCR 扩增条件为：95℃ 2min；95 ℃ 30s，56 ℃ 30s，72 ℃ 1min，45 cycles；72 ℃ 5min；12℃ Hold。根据溶解曲线和扩增曲线判定引物特异性和 PCR 产物量。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列

突变体	上游引物	下游引物
P142L-F/Y143H-D144E-G145R	5’-AAACTTCATGAGCGAAACTGCACTT-3’	5’-TAAATGTATACCCAAAGACAAAAGAA-3’
I110R-S117I-G119R-T123N	5’-ATGGAGAACACAACATCA-3’	5’-GCAGTTCTTGCATGGCCTCGTGATGGT-3’
T123N-T124S	5’-TGCAAGAACTCCACGATTCCTGCTCAA-3’	5’-ACAAAAGAAAATTGGTAATAGAGGTAA-3’

1.3.3 样本的乙肝五项检测：患者血清样本检测前 2h 从 −80℃冰箱中取出，室温平衡后使用 I3000 化学发光免疫分析系统进行全自动化检测乙肝五项 (HBsAg，HBeAg，HBsAb，HBcAb 和 HBeAb)，相关实验操作严格按照说明书进行。基本检验步骤和流程如下：先将分别混匀的待测样本、质控品以及标准品等分别置于检测板的不同孔中；再加入化学发光检测试剂，使样本中的标志物和目标物充分结合；之后加入底物预激发液和激发液，化学发光仪对样本孔的化学发光信号强度进行检测；依照标准曲线以及质控品的结果，将待测样本中目标物的浓度计算出来。最后判读结果：依照结果对样本中目标物的阳性或阴性情况，以及浓度高低等予以判读。

1.4　统计学分析　采用 SPSS 20.0 统计学软件对实验数据进行统计学处理。Liaison XL 系统的检测结果与 I3000 系统的检测结果比较采用四格表配对卡方检验，$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　两种 CLIA 检测系统对 9 种 HBsAg 突变体的检测　Lia- ison XL 系统对 9 种已知 HBsAg 突变位点的突变体的 HBsAg 检测结果均为阳性。而 I3000 系统的 HBsAg 检测其中 6 种为阳性，其余 3 种为阴性，检测结果见表 2。其中阴性结果对应的这 3 种 HBsAg 突变体分别是：T123N-T124S，P124L-F/Y143H-D144E-G145R 和 I110R-S117I-G119R-T123N。

表 2　两种 CLIA 检测系统对 9 种 HBsAg 突变体的检测结果

HBsAg 突变体	Liaison XL		I3000	
	IU/ml	+/−	IU/ml	+/−
T123N	2.1	+	0.41	+
T123N-T124S	0.5	+	−	−
P124L-F/Y143H-D144E-G145R	0.65	+	−	−
I110R-S117I-G119R-T123N	1.7	+	−	−
122+DT	2.3	+	0.05	+
G145R	0.68	+	0.05	+
D144A	1.2	+	0.4	+
P142L-G145R	0.94	+	0.1	+
P142S-G145R	0.94	+	0.1	+

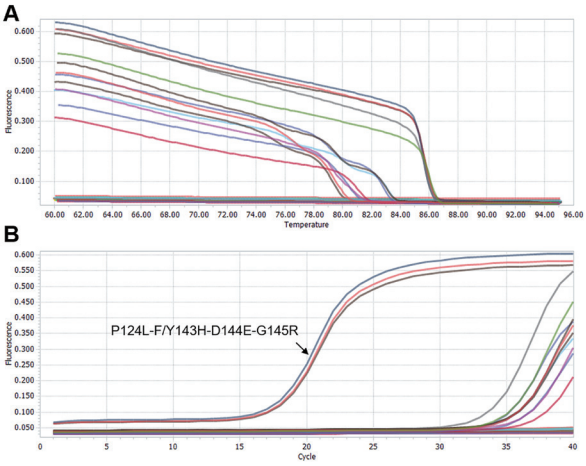
注：Liaison XL 和 I3000 两个系统的 HBsAg 试剂 Cutoff 值都是 0.05 IU/ml，大于 0.05 IU/ml 为阳性。

2.2　两种 CLIA 检测系统对临床样本 HBsAg 的检测结果　见表 3。分别使用 I3000 和 Liaison XL 系统的 HBsAg 检测试剂对 1 640 例临床样本进行检测，结果显示：其中 120 例样本在 I3000 系统和 Liaison XL 系统的检测结果均为阳性，1 516 例样本在 2 个系统的检测结果为双阴性样，有 4 例样本为 Liaison XL 系统检测阳性而 I3000 系统为阴性。两种方法的检测结果差异具有统计学意义（χ^2=1 582.92，$P<0.05$）。

表 3　Liaison XL 系统与 I3000 检测系统对 1 640 例临床患者样本的 HBsAg 检测结果

I3000 检测系统	Liaison XL 检测系统		合计
	+	−	
+	120	0	120
−	4	1 516	1 520
合计	124	1 516	1 640

2.3　qRT-PCR 验证结果　由于 HBsAg 突变体是人工重组蛋白，突变体的表面抗原氨基酸和核酸序列是已知的，因此根据此突变体序列位点设计引物。利用设计好的 3 对引物，通过 qRT-PCR 实验对 4 个索灵系统检测结果为阳性的临床样本进行检测，结果显示，其中一个样本在循环数（cycle）为 22 时，开始起峰，有 qRT-PCR 产物，结果为突变株 -P124L-F/Y143H-D144E-G145R 阳性，见图 1。而另外的 3 个临床样本，均无产物，qRT-PCR 结果是阴性。



A. 溶解曲线；B. 扩增曲线（箭头标记的三条曲线为突变株 P124L-F/Y143H-D144E-G145R 的 PCR 产物，三条线代表患者 1 的血清样本三个重复 qRT-PCR 结果）。

图 1　qRT-PCR 检测结果

2.4　4 例患者样本的乙肝五项检测结果　见表 4。4 例患者乙肝五项结果提示 HBeAg 都是阴性，但乙肝五项的抗体表现既有阴性又有阳性。第一患者即 PCR 结果为阳性的患者其 HBeAb 和 HBcAb 的检测数值均较高，超过试剂盒检测上限。

表 4　4 例患者乙肝五项检测结果

系统	项目	患者 1	患者 2	患者 3	患者 4
Liaison XL	HBsAg	0.19	0.12	0.09	0.08
I3000	HBsAg	阴性	阴性	阴性	阴性
I3000	HBsAb	阴性	阴性	阴性	阴性
I3000	HBeAg	阴性	阴性	阴性	阴性
I3000	HBeAb	＞3	2.81	2.26	2.26
I3000	HBcAb	＞10	＞10	＞10	＞10

注：Liaison XL 和 I3000 的 HBsAg 试剂 Cutoff 值为 0.05 IU/ml，≥ 0.05 IU/ml 为阳性；I3000 的 HBeAb 的试剂 cutoff 值为 0.2 IU/ml，≥ 0.2 IU/ml 为阳性；I3000 的 HBcAb 试剂 cutoff 值为 0.6 IU/ml，≥ 0.6 IU/ml 为阳性。

3 讨论

HBV 基因组是一个部分双链的环状 DNA 分子，其结构复杂且功能多样，包含四个主要的开放阅读框：S 区、X 区、C 区和 P 区，这些开放阅读框是病毒基因表达的关键区域，分别编码不同的病毒蛋白，对病毒的复制、组装和感染过程至关重要。HBsAg 由 S 区进行编码，其膜外区的主要抗原决定簇 -“a”决定簇是 S 蛋白上能被宿主免疫系统识别并产生相应抗体的区域，也是突变热区，此次被 qRT-PCR 检测为阳性的患者，其基因组突变位点 P124L-F/Y143H-D144E-G145R 就在“a”决定簇或其邻近区域。这些突变可导致 S 蛋白的“a”抗原决定簇结构发生变化，突变株中氨基酸的替换可影响 S 蛋白的空间构象和抗原性，从而影响抗体的结合能力或改变病毒逃避免疫监视的能力。2008 年意大利发现第一例“a”决定簇逃逸突变体， 并造成因 HBsAg 变异导致检测结果的假阴性，引起临床专家的高度重视 [2]。

HBsAg 作为检测 HBV 感染的可靠血清学标志物，在临床诊断、实验研究等领域都拥有重要价值，国内外均有报道 HBsAg 构象表位因为基因改变而产生蛋白序列结构变化，进而导致临床 HBsAg 检测出现假阴性现象 [3-4]；2021 年中华医学会肝病学分会发表的《病毒性肝炎健康管理专家共识（2021 年）》也专门强调“在筛查中尤其建议使用具有较高敏感度、对突变株及变异抗原识别捕获能力较强的 HBsAg 检测试剂，以避免包膜区基因突变导致的 HBsAg 漏检”[10]，因此，临床 HBV 检测应采用能够覆盖检测到尽量多的 HBsAg 突变体的高灵敏度检测方法、设备和试剂。化学发光免疫检测在血清 HBV 抗原抗体检测中由于其高速度、高灵敏度、高特异性，全自动和可定量等众多优点，被越来越多的临床检测使用 [7]。本研究所采用的索灵公司的 HBsAg 化学发光检测试剂具备尽量多识别 HBsAg 突变体的能力：如采用了一种独创的变性剂使病毒的脂质双分子层破裂开，将整个 HBsAg 全部暴露出来，同时 HBsAg 试剂中包括 7 株单抗分别针对 HBsAg 蛋白的胞外的 a-loop，以及 HBsAg 跨膜区和胞内的相应保守区靶位点，可识别完整 HBsAg 蛋白，达到覆盖 HBsAg 突变体的目的 [8]。

对含有 9 种已知重组突变位点 HBsAg 突变体的检测结果提示，两种化学发光系统的 HBsAg 检测试剂对已知重组 HBsAg 突变体的识别存在差异：Liaison XL 系统可检测全部 9 种已知突变位点重组 HBsAg 突变体，而 I3000 系统只检测到其中的 6 种，对其余 3 个突变位点分别为 T123N-T124S，P124L-F/Y143H-D144E-G145R 和 I110RS117I-G119R-T123N 的重组 HBsAg 突变体检测结果为阴性。基于此 9 种重组突变 HBsAg 蛋白非天然抗原，其蛋白三级构象可能与天然蛋白不同，上述研究结果也许不能完全反映出两种化学发光检测试剂对 HBsAg 突变株的真实检测能力，因此，进一步了解二者对临床样本的检测结果非常必要。在 1 640 例临床样本的检测中，发现有 4 例临床样本在两种化学发光系统 HBsAg 的检测结果存在差异，为了深入研究造成临床标本检测结果不一致的原因是否有可能来自两系统对 HBsAg 突变体检测的差异，故根据 I3000 系统检测结果为阴性的三种已知突变位点的 HBsAg 突变体设计三对引物进行 qRT-PCR 验证，结果上述 4 例样本确有 1 例结果阳性，其突变位点为 -P124L-F/Y143H-D144E-G145。进一步分析此患者的乙肝五项结果，发现其 HBeAb 和 HBcAb 阳性，且 HBeAb 检测结果数值较高，超过试剂盒检测上限，考虑 Liaison XL 的 HBsAg 阳性结果，提示该患者为小三阳；同时由于此患者 PCR 结果为阳性，与 Liaison XL 的 HBsAg 阳性结果相符，说明临床样本中存在突变位点为 P124L-F/Y143H-D144E-G145 的 HBsAg 突变体。至于另外 3 例样本的 PCR 检测阴性结果，可能原因如下：①这三个患者可能存在 HBsAg 位点突变，但不属于这三种已知的 HBsAg 突变体，需要后续进一步确认。②也有可能因为患者标本中存在干扰因子，如异嗜性抗体和类风湿因子等，导致 HBsAg 检测出现假阳性。但无论如何，本研究中利用 HBsAg 的 P124L-F/Y143H-D144E-G145 突变体株设计的引物在临床样本 PCR 的结果阳性，提示 HBsAg 检测试剂应能够覆盖尽量多的 HBsAg 突变体，同时不同厂家试剂相互验证检测结果对结果的准确性非常重要，否则可能丢失对某些 HBsAg 突变体的发现，为及时发现 HBV 感染患者和临床 HBV 的诊治带来风险。

总之，对于 HBsAg 这一乙肝诊治的重要指标，选择 HBsAg 突变株识别捕获能力强的 HBsAg 检测试剂有非常重要意义，实际工作中对可疑样本结果采用不同检测系统相互验证，是保证结果准确可靠的可行方法。

参考文献：

[1] WEI Lei, PLOSS A. Mechanism of hepatitis B virus cccDNA formation[J]. Viruses, 2021, 13(8): 1463.
[2] SCHÄDLER S, HILDT E. HBV life cycle: entry and morphogenesis[J]. Viruses, 2009, 1(2): 185-209.
[3] LEHMANN F, SLANINA H, RODERFELD M, et al. A novel insertion in the hepatitis B virus surface protein leading to hyperglycosylation causes diagnostic and immune escape[J]. Viruses, 2023, 15(4): 838.
[4] YE Qing, SHANG Shiqiang, LI Wei. A new vaccine escape

（下转第 220 页）

of hepatitis B virus：strengths and limitations[J]. Viruses, 2020, 12(3): 353.

[40] SELLS M A, CHEN M L, ACS G. Production of hepatitis B virus particles in Hep G2 cells transfected with cloned hepatitis B virus DNA[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1987, 84(4): 1005-1009.

[41] YUAN Sen, TANZEEL Y, TIAN Xuezhang, et al. Global analysis of HBV-mediated host proteome and ubiquitylome change in HepG2.2.15 human hepatoblastoma cell line[J]. Cell & Bioscience, 2021, 11(1): 75.

[42] HU Xiaoge, JIANG Jiahong, NI Chao, et al. HBV integration-mediated cell apoptosis in HepG2.2.15[J]. Journal of Cancer, 2019, 10(17): 4142-4150.

[43] ELLER C, HEYDMANN L, COLPITTS C C, et al. A genome-wide gain-of-function screen identifies CDKN2C as a HBV host factor[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 2707.

[44] BHAT S A, AHANGER I A, KAZIM S N. Forthcoming developments in models to study the hepatitis B virus replication cycle, pathogenesis, and pharmacological advancements [J]. ACS Omega, 2023, 8(16): 14273-14289.

[45] MARCHETTI A L, GUO Haitao. New insights on molecular mechanism of hepatitis B virus covalently closed circular DNA formation[J]. Cells, 2020, 9(11): 2430.

[46] ZHANG H, TU T. Approaches to quantifying hepatitis B virus covalently closed circular DNA [J]. Clinical and Molecular Hepatology, 2022, 28(2): 135-149.

[47] YU Xiaoyang, LONG Quanxin, SHEN Sheng, et al. Screening of an epigenetic compound library identifies BRD4 as a potential antiviral target for hepatitis B virus covalently closed circular DNA transcription [J]. Antiviral Research, 2023, 211: 105552.

[48] CAI Dawei, YAN Ran, XU J Z, et al. Characterization of the termini of cytoplasmic hepatitis B virus deproteinated relaxed circular DNA[J]. Journal of Virology, 2020, 95(1): e00922-20.

[49] SURESH M, MENNE S. Application of the woodchuck animal model for the treatment of hepatitis B virus-induced liver cancer[J]. World Journal of Gastrointestinal Oncology, 2021, 13(6): 509-535.

[50] SURESH M, MENNE S. Recent drug development in the woodchuck model of chronic hepatitis B[J]. Viruses, 2022, 14(8): 1711.

[51] LI Y T, WU H L, LIU C J. Molecular mechanisms and animal models of HBV-related hepatocellular carcinoma: with emphasis on metastatic tumor antigen 1 [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(17): 9380.

[52] JI Jun, XU Xin, WU Qian, et al. Simple and visible detection of duck hepatitis B virus in ducks and geese using loop-mediated isothermal amplification[J]. Poultry Science, 2020, 99(2): 791-796.

[53] TU T, ZEHNDER B, QU B Q, et al. De novo synthesis of hepatitis B virus nucleocapsids is dispensable for the maintenance and transcriptional regulation of cccDNA[J]. JHEP Reports, 2021, 3(1): 100195.

[54] XI Ji, LIU Haitao, HU Jianming. Regulation of hepatitis B virus virion release and envelopment timing by nucleocapsid and envelope interactions[J]. Journal of Virology, 2022, 96(1): e0130521.

[55] LIU Yongzhen, MAYA S, PLOSS A. Animal models of hepatitis B virus infection-success, challenges, and future directions[J]. Viruses, 2021, 13(5): 777.

[56] KAYESH M E H, SANADA T, KOHARA M, et al. Tree shrew as an emerging small animal model for human viral infection:a recent overview[J]. Viruses, 2021, 13(8): 1641.

[57] WETTENGEL J M, BURWITZ B J. Innovative HBV animal models based on the entry receptor NTCP[J]. Viruses, 2020, 12(8): 828.

[58] YANG Xiaoqiang, CAI Weiwen, SUN Xiaoyue, et al. Defined host factors support HBV infection in non-hepatic 293T cells[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2020, 24(4): 2507-2518.

[59] HIRSCHMAN S Z, PRICE P, GARFINKEL E, et al. Expression of cloned hepatitis B virus DNA in human cell cultures[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1980, 77(9): 5507-5511.

收稿日期：2024-06-01
修回日期：2024-07-07

（上接第 198 页）

mutant of hepatitis B virus causes occult infection[J]. Human Vaccines & Immunotherapeutics, 2015, 11(2): 407-410.

[5] HOSSAIN M G, UEDA K. Investigation of a novel hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) escape mutant affecting immunogenicity[J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0167871.

[6] SHINKAI N, MATSUURA K, SUGAUCHI F, et al. Application of a newly developed high-sensitivity HBsAg chemiluminescent enzyme immunoassay for hepatitis B patients with HBsAg seroclearance[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2013, 51(11): 3484-3491.

[7] 解娟 , 刘文康 , 李玲 , 等 . 化学发光分析法定量检测住院患者 HBV 血清标志物及临床意义 [J]. 现代检验医学杂志 , 2017, 32(3):40-44.
XIE Juan, LIU Wenkang, LI Ling, et al. Clinical implication of HBV serum markers detected with chemiluminescent immunoassay in inpatients of Xi'an area[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(3): 40-44.

[8] KRAWCZYK A, HINTZE C, ACKERMANN J, et al. Clinical performance of the novel DiaSorin LIAISON(®) XL murex: HBsAg quant, HCV-Ab, HIV-Ab/Ag assays [J]. Journal of Clinical Virology，2014, 59 (1): 44–49.

[9] LY T D, SERVANT-DELMAS A, BAGOT S, et al. Sensitivities of four new commercial hepatitis B virus surface antigen(HBsAg) assays in detection of HBsAg mutant forms[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2006, 44(7): 2321-2326.

[10] 中华医学会健康管理学分会 , 中华医学会肝病学分会 , 中华医学会检验医学分会 . 病毒性肝炎健康管理专家共识 (2021 年)[J]. 中华健康管理学杂志 , 2021, 15(4):323-331.
Chese Society of Health Management, Chinese Society of Hepatology, Chinese Society of Laboratory Medicine. Expert consensus on health management of viral hepatitis(2021)[J]. Chinese Journal of Health Management, 2021, 15(4): 323-331.

收稿日期：2024-04-27
修回日期：2024-07-23