

乙型肝炎病毒标志物临床应用专家共识

中华医学会肝病学会基础医学与实验诊断协作组

通信作者: 陈红松, 北京大学人民医院 北京大学肝病研究所 丙型肝炎和肝病免疫治疗北京市重点实验室 非酒精性脂肪性肝病诊断北京市国际科技合作基地, 北京 100044, Email: chenhongsong@pkuph.edu.cn; 鲁凤民, 北京大学基础医学院病原生物学系暨感染病研究中心, 北京 100191, Email: lu.fengmin@hsc.pku.edu.cn; 南月敏, 河北医科大学第三医院中西医结合肝病科, 石家庄 050051, Email: nanyuemin@163.com; 徐小元, 北京大学第一医院感染疾病科, 北京 100034, Email: xiaoyuanxu6@163.com; 欧启水, 福建医科大学附属第一医院检验科, 福州 350004, Email: ouqishui@fjmu.edu.cn

【摘要】 临床实践中, 乙型肝炎病毒标志物主要用于诊断感染、监测疾病进展、评估慢性乙型肝炎治疗应答, 以及在临床试验中评估新型抗病毒药物的疗效。结合近年来慢性乙型肝炎抗病毒治疗的研究进展和临床诊治实际需求, 中华医学会肝病学会基础医学与实验诊断协作组制订此专家共识, 对经典及新型乙型肝炎病毒实验室检测相关标志物的临床应用进行证据总结和要点推荐, 旨在指导其规范、合理的临床应用。

【关键词】 慢性乙型肝炎; 诊断; 治疗; 标志物

Expert consensus on the clinical application of the markers of hepatitis B virus

Cooperative Group of Basic Research and Experimental Diagnosis of Liver Diseases, Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association

Corresponding authors: Chen Hongsong, Peking University People's Hospital, Peking University Hepatology Institute, Beijing Key Laboratory of Hepatitis C and Immunotherapy for Liver Diseases, Beijing International Cooperation Base for Science and Technology on NAFLD Diagnosis, Beijing 100044, China, Email: chenhongsong@pkuph.edu.cn; Lu Fengmin, Department of Microbiology & Infectious Disease Center, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China, Email: lu.fengmin@hsc.pku.edu.cn; Nan Yuemin, Department of Traditional and Western Medical Hepatology, Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, 050051, China, Email: nanyuemin@163.com; Xu Xiaoyuan, Department of Infectious Diseases, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China, Email: xiaoyuanxu6@163.com; Ou Qishui, Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China, Email: ouqishui@fjmu.edu.cn

【Abstract】 Hepatitis B virus biomarkers are mainly used in clinical practice to diagnose infection, monitor disease progression, evaluate response to chronic hepatitis B treatment, and evaluate the efficacy of novel antiviral drugs in clinical trials. In combination with the recent research progress of antiviral therapy for chronic hepatitis B and the actual needs of clinical diagnosis and treatment, the expert consensus was formulated by the Cooperative Group of Basic Research and Experimental Diagnosis of Liver Diseases, Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association. It summarized the evidence and recommended the key points for the

DOI: 10.3760/cma.j.cn501113-20230314-00113

收稿日期 2023-03-14 本文编辑 金生

引用本文: 中华医学会肝病学会基础医学与实验诊断协作组. 乙型肝炎病毒标志物临床应用专家共识[J]. 中华肝脏病杂志, 2023, 31(XX): XXX-XXX. DOI: 10.3760/cma.j.cn501113-20230314-00113

clinical application of classic and novel hepatitis B virus related biomarkers in order to guide the standardized and reasonable clinical application for these biomarkers.

【Key words】 Chronic hepatitis B; Diagnosis; Treatment; Biomarker

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染是我国肝硬化和肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的主要病因, 科学、规范应用 HBV 标志物是提升其诊治水平的基石。经典的病毒标志物包括血清学标志物如乙型肝炎表面抗原 (hepatitis B surface antigen, HBsAg) 及其抗体 (抗-HBs)、乙型肝炎 e 抗原 (hepatitis B e antigen, HBeAg) 及其抗体 (抗-HBe) 和乙型肝炎核心抗体 (抗-HBc), 以及分子生物学标志物如 HBV DNA、基因型及其突变检测等。近年临床对血清学标志物定量检测和 HBV DNA 高敏检测的需求不断增加, 同时, 有关 HBV 全新标志物如前基因组 RNA (pregenomic RNA, pgRNA) 和乙型肝炎核心相关抗原 (hepatitis B core-related antigen, HBcrAg) 应用的报道也陆续出现。HBV 标志物主要用于临床实践中诊断 HBV 感染、监测疾病进展、评估治疗应答, 以及在临床试验中评估新型抗病毒药物的疗效。本共识在新发布的《慢性乙型肝炎防治指南 (2022 年版)》^[1] 基础上, 对经典及新型 HBV 实验室检测相关标志物的临床应用进行证据总结和要点推荐, 旨在指导其规范、合理的临床应用。

本文中共识要点的证据等级分为 A、B 和 C 三个级别, 推荐强度分为 1 和 2 两个级别, 见表 1 (根据 GRADE 分级修订)。

表 1 共识要点的证据等级和推荐强度

级别	说明
证据等级	
高质量 (A)	进一步研究不大可能改变对该评估结果的信心
中等质量 (B)	进一步研究有可能对该评估结果的信心产生重要影响
低质量 (C)	进一步研究很有可能影响该评估结果, 且该评估结果很可能改变
推荐强度	
强推荐 (1)	充分考虑到证据的质量、患者可能的预后及预防、诊断和治疗效果, 有较高的成本效益比
弱推荐 (2)	证据价值参差不齐, 推荐意见存在不确定性, 或推荐的意见可能会有较差的成本效益比等, 更倾向于较低等级的推荐

一、HBV 标志物的产生及其在自然史分期中的应用

(一) HBV 生命周期及其标志物

HBV 颗粒通过牛磺胆酸钠协同转运肽 (sodium taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP) 等受体进入肝细胞^[2-3], 核衣壳内的松弛环状 DNA (relaxed circular DNA, rcDNA) 被释放入核并转化为共价闭合环状 DNA (covalently closed circular DNA, cccDNA), 转录出病毒复制所需的 4 种 mRNA, 其中有 2 种长度为 3.5 kb 的超基因组全长的 mRNA 仅能转录自 cccDNA, 分别为前 C-RNA (precore RNA) 和 pgRNA。precore RNA 翻译 HBV 前核心蛋白, 进一步加工成分泌型 HBeAg 和 p22Cr 蛋白; pgRNA 翻译乙型肝炎核心抗原 (hepatitis B core

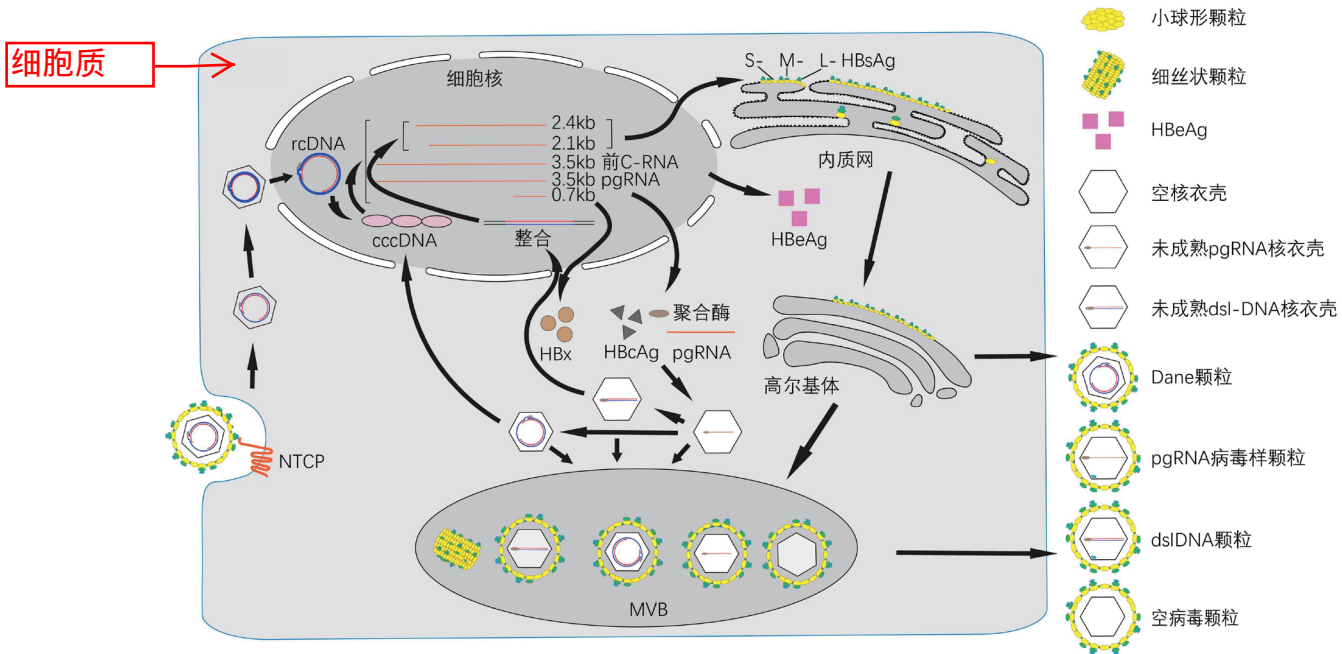
antigen, HBcAg) 和聚合酶蛋白 (polymerase protein, P 蛋白)。HBeAg、p22Cr 和 HBcAg 共同构成 HBcrAg^[4]。2.4 kb mRNA 翻译大乙型肝炎表面抗原 (large-hepatitis B surface antigen, L-HBsAg), 2.1 kb mRNA 翻译中-HBsAg (M-HBsAg) 和小 HBsAg (S-HBsAg), 3 种 HBsAg 在内质网加工后转移到高尔基体进行修饰, 形成 2 种亚病毒颗粒, 直径 20 nm 的球形颗粒, 主要由 S-HBsAg 构成; 另一种为直径约 22 nm 的管状颗粒, 由 S-HBsAg 和少量 M-HBsAg 和 L-HBsAg 构成^[5]。pgRNA 包含了 HBV DNA 基因组的全部遗传信息, 是 HBV 复制的主要中间体。由 pgRNA 翻译而来的 HBcAg 以二聚体的形式构成子代病毒颗粒的衣壳结构, 并将 P 蛋白和 pgRNA 复合物包裹其中, pgRNA 在 P 蛋白逆转录酶和 DNA 聚合酶等活性的作用下, 经历 3 次跳转完成向子代病毒基因组 rcDNA 的转变^[6], 而跳转失败则形成双链线性 HBV DNA (double-stranded linear DNA, dsDNA), 是 HBV 整合的来源^[7-8]。形成 rcDNA 后, 包裹了 rcDNA 的病毒核衣壳通过多囊泡体 (multivesicular bodies, MVBs) 途径获得由 L-HBsAg、M-HBsAg 和 S-HBsAg 及脂质组成的病毒包膜, 形成完整的病毒 Dane 颗粒, 随后以出芽的方式释放到肝细胞外, 完成复制周期^[9]。由此可见, HBV 标志物如 HBsAg、HBcrAg、HBV DNA 和 HBV pgRNA 等均为包含多组分的混合物 (图 1)。

抗病毒药物包括聚乙二醇干扰素 α (peginterferon, PEG-IFN- α) 及核苷 (酸) 类似物 [nucleos(t)-ide analogs, NAs]^[10]。PEG-IFN- α 发挥免疫调节和抗病毒双重作用, 促进病毒抗原免疫清除的同时, 抑制 cccDNA 转录, 增强 pgRNA 和核心颗粒的降解; NAs 则直接抑制 HBV 逆转录酶活性, 显著降低血清 HBV DNA 水平。当前以“临床治愈”为目标的抗病毒新药研发方兴未艾^[11], 包括病毒进入抑制剂、衣壳组装调节剂、RNA 干扰和免疫调节剂等, 针对复制周期的不同阶段。

(二) HBV 标志物在慢性 HBV 感染自然史分期中的应用

可人为将慢性 HBV 感染自然史划分为 4 个阶段^[12], 即免疫耐受期、免疫清除期、免疫控制期和再活动期, 不同分期的病毒标志物 (HBV pgRNA、HBcrAg 检测见文献^[13]) 有不同的结果组合 (表 2 和图 2)。

第 1 阶段为免疫耐受期: HBeAg 阳性, 丙氨酸转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 基本正常, 抗-HBc 定量 (qAnti-HBc) 低水平, 肝脏无明显炎症坏死和纤维化。血清 HBsAg、HBV DNA、pgRNA 和 HBcrAg 处于最高水平, 且彼此呈正相关^[14-18]。第 2 阶段为免疫清除期: ALT 和 qAnti-HBc 升高, 肝脏有明显炎症坏死和/或纤维化, 且严重程度与 qAnti-HBc 正相关^[19-20]。HBsAg、HBV DNA、pgRNA 和 HBcrAg 水平大幅下降, 但仍较高, 当



注：NTCP：牛磺胆酸钠协同转运肽；rcDNA：松弛环状 DNA；cccDNA：共价闭环环状 DNA；pgRNA：前基因组 RNA；HBsAg：乙型肝炎表面抗原；HBeAg：乙型肝炎 e 抗原；HBx：乙型肝炎病毒 X 蛋白；HBcAg：乙型肝炎核心抗原；MVB：多囊泡体；dsI-DNA：双链线性 DNA

图 1 乙型肝炎病毒的生命周期及其相关标志物

表 2 慢性 HBV 感染自然史不同分期对应的定性 / 定量标志物检测结果

HBV 标志物	HBeAg 阳性慢性 HBV 感染 (免疫耐受期、慢性 HBV 携带状态)	HBeAg 阳性 CHB (免疫清除期、免疫活动期)	HBeAg 阴性慢性 HBV 感染 (免疫控制期、非活动性 HBsAg 携带状态)	HBeAg 阴性 CHB (再活动期)
HBsAg (IU/ml)	$> 1 \times 10^4$	+	$< 1 \times 10^3$	+
抗-HBs	-	-	-	-
HBeAg	+	+	-	-
抗-HBe	-	-	+	+
抗-HBc 定量 (IU/ml)	低水平 ($< 10^3$)	高水平 ($> 10^4$)	较低水平 ($10^3 \sim 10^4$)	升高
HBV DNA (IU/ml)	$> 2 \times 10^7$	+	-	+
HBV pgRNA (拷贝/ml) ^[13]	$> 2 \times 10^7$	$> 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^3$	$\geq 2 \times 10^3$
HBcrAg (U/ml) ^[13]	$> 2 \times 10^8$	$> 2 \times 10^4$	$< 2 \times 10^3$	$\geq 2 \times 10^3$

注：HBV：乙型肝炎病毒；IU：国际单位；CHB：慢性乙型肝炎

发生 HBeAg 阴转或血清学转换后，HBsAg、HBV DNA、pgRNA 和 HBcrAg 水平进一步下降。第 3 阶段为免疫控制期：HBeAg 阴性，ALT 正常，肝组织学无炎症或坏死炎症缓解，血清 HBV DNA 和 HBV pgRNA 水平低或检测不到，HBcrAg 低水平，但仍有较高的检出率^[21]。HBsAg 主要来源于整合基因的表达。qAnti-HBc 较免疫清除期有所下降，但高于免疫耐受期。第 4 阶段为再活动期：HBeAg 阴性，ALT 升高，部分患者出现肝炎发作，肝组织学炎症坏死。血清 HBsAg、HBV DNA、pgRNA、HBcrAg 和 qAnti-HBc 均较免疫控制期有反弹，同时，多数患者存在前核心 (precore, 前 C) 区和 / 或基本核心启动子 (basal core promoter, BCP) 的基因突变。

随着对 HBV 感染结局认识的不断深入和一线 NAs 可及性的不断提高，探索扩大慢性乙型肝炎治疗适应证成为当前热点。HBV 标志物在不同分期中有不同的结果组合，有助于区分免疫耐受期和免疫清除期、免疫控制期和再活动期，

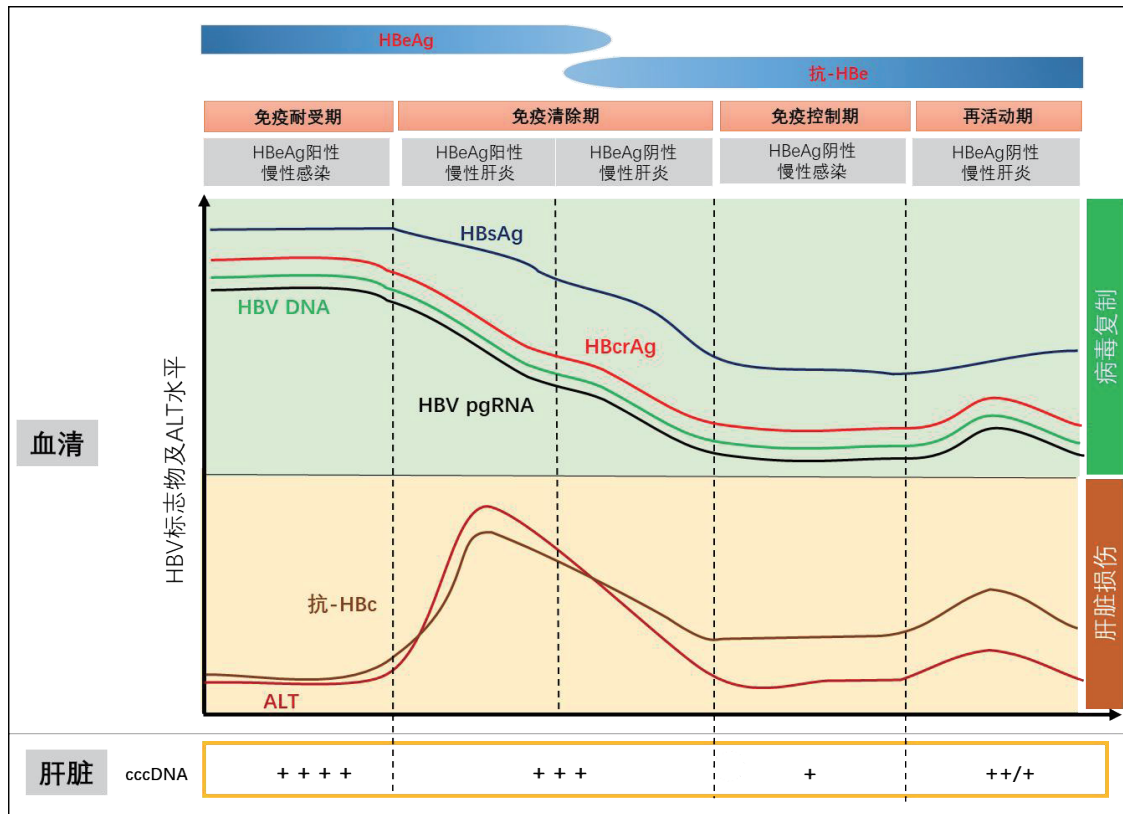
对指导启动治疗有一定价值。

共识要点 1：联合应用 HBV 定量标志物如 HBsAg、HBV DNA 和 qAnti-HBc 等，有助于进一步明确慢性 HBV 感染自然史分期，判断是否符合抗病毒治疗适应证 (B2)。

二、经典 HBV 标志物及其临床意义

(一) HBV 血清学标志物

1. HBsAg 和抗-HBs：HBsAg 阳性表示 HBV 感染，其在感染后 1 ~ 12 周出现，急性感染者持续存在 5 周至 5 个月，若阳性超过 6 个月则为慢性感染，CHB 和无症状携带者可持续存在多年甚至终身。抗-HBs 为保护性抗体，浓度 ≥ 10 mIU/ml 提示具备免疫力。接种疫苗产生的抗-HBs 对人群的保护可维持 30 年以上，一般人群不需要加强针^[22]。约有 5% 的感染者 HBsAg 和抗-HBs 同时阳性，可能是病毒持续感染或疫苗接种等因素形成的免疫压力导致 HBV 突变和免疫逃逸毒株的产生，从而造成这种特殊血清学结果模式。此时抗-HBs 并无保护作用，反而可能是与肝纤维化和



注：HBV：乙型肝炎病毒；ALT：丙氨酸转氨酶；HBeAg：乙型肝炎e抗原；抗-HBe：乙型肝炎e抗体；HBsAg：乙型肝炎表面抗原；HBcrAg：乙型肝炎核心相关抗原；pgRNA：前基因组RNA；抗-HBc：乙型肝炎核心抗体；cccDNA：共价闭合环状DNA

图2 HBV标志物及ALT在不同分期中的动态变化

肝硬化相关的高危因素^[23-24]。

2. HBeAg和抗-HBe：HBeAg是病毒复制的重要指标。HBV感染后，HBeAg出现时间略晚于HBsAg，与HBV DNA有良好的相关性，其阳性表示病毒复制活跃且有较强的传染性。抗-HBe在HBeAg转阴后出现，提示HBV复制和传染性减弱。值得注意的是，前C区和/或BCP突变可导致HBeAg表达降低甚至转阴，但HBV DNA仍为阳性，此时病毒复制仍相对活跃。

3. 抗-HBc：抗-HBc IgM在HBsAg阳性后2~4周出现，为HBV急性感染及慢性感染病情活动的标志。抗-HBc IgG出现较迟，但长期存在甚至终身维持阳性，是现症或既往感染的标志；在HBsAg阴性的个体，其阳性也提示可能存在隐匿性乙型肝炎病毒感染（occult hepatitis B virus infection, OBI）。

数学模型分析提示，在我国18~70岁的人群中广泛开展HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe和抗-HBc联合筛查，符合成本效益，可提高HBV感染的诊断率，助力实现世界卫生组织提出的2030年消除HBV感染所导致的重大公共卫生危害这一目标^[25]。

HBV血清学标志物检测方法有酶联免疫吸附试验、免疫层析技术（如胶体金技术）及化学发光技术等^[26]，化学发光技术具有灵敏度高、易于实现自动化等优势，逐渐占据了主导地位^[27]。

（二）HBV分子生物学标志物

1. HBV DNA：是病毒复制和具有传染性的直接标志，反映HBV复制的活跃程度、传染性强弱，也是抗病毒治疗适应证选择及疗效判断的最重要的指标。建议接受抗病毒治疗的CHB患者每3~6个月检测1次HBV DNA。在抗病毒治疗过程中，获得持续病毒学应答可显著降低肝硬化的发生，逆转肝硬化和肝纤维化，并降低HCC发生风险^[28-29]。HBV DNA检测以实时荧光定量PCR技术为主。

2. HBV基因型：当前已鉴定出至少9种基因型（A~I型），我国以B和C型为主，西北部少数民族地区有D型分布。B和C型感染者的母婴传播发生率高于其他基因型^[30]。HBV基因型与疾病进展和治疗应答有关^[31-33]，C型患者更早进展为HCC^[34-36]，HBeAg阳性患者对PEG-IFN- α 治疗应答率，B型高于C型，A型高于D型^[37]。基因型检测主要基于DNA杂交、PCR产物Sanger测序或新一代测序（next generation sequencing, NGS）或实时荧光PCR技术等。

3. 耐药突变：HBV高度变异，可在慢性感染中发生自然变异，也可在抗病毒药物治疗压力下产生耐药突变，导致对抗病毒药物敏感性下降、病毒反弹和肝炎再活动^[38]。在拉米夫定耐药的患者中，恩替卡韦治疗5年的累积耐药发生率高达51%^[39]，对这些患者检测耐药突变可指导及时调整治疗方案。而初始选择恩替卡韦治疗患者的5年累积耐药发生率仅为1.2%，富马酸替诺福韦酯、富马酸丙酚替诺福韦耐药更是罕见^[40-41]，因此，在这些患者中检测耐药突变的价值有限。耐药突变检测技术与基因型类似。若使用Sanger测

序或NGS技术,可同时提供耐药突变和基因型结果。

4. 前C区/BCP突变:前C区G1896A突变可导致HBeAg的翻译提前终止,而BCP的A1762T和G1764A突变则抑制前C-RNA翻译为HBeAg。前C区、BCP突变影响HBeAg表达或分泌,增加病毒复制能力,或直接导致肝细胞损伤。该类突变可同时存在,可能与病情加重或重型肝炎、HCC的发生相关^[42-46]。前C区/BCP突变检测技术与HBV基因型和耐药突变类似。

5. cccDNA:cccDNA是HBV的转录模板,在肝细胞核内持久复制,造成HBV感染慢性化,也可导致OBI患者在接受免疫抑制药物治疗时出现再激活^[47]。当前抗病毒治疗方案均难以彻底清除cccDNA,导致停药后易复发。检测cccDNA的样本主要为肝组织,来源受限;也有检测单个肝细胞或外周血cccDNA的探索,但结果的可靠性仍需进一步验证^[48]。DNA印迹(Southern blot)是检测cccDNA的经典方法,但灵敏度有限,操作繁琐,无法临床常规开展;实时荧光定量PCR等技术检测cccDNA时,通过精巧设计引物和探针,可与rcDNA等进行区分,但这类方法缺乏标准化,不同实验室的结果有很大差异^[49],因此,cccDNA检测在临床开展仍面临很大挑战。当前,数字PCR(digital PCR, ddPCR)技术开始被尝试用于cccDNA的检测。

共识要点2:HBV DNA定量用于评估HBV感染者病毒复制水平,是当前抗病毒治疗适应证及疗效判断最重要的标志物。慢性HBV携带状态和非活动性HBsAg携带状态患者,需6~12个月检测HBV DNA;NAs治疗中,应每3~6个月检测HBV DNA;Peg-IFN- α 治疗时,应每3个月检测HBV DNA(A1)。

三、经典HBV标志物的技术改进及其临床意义

(一) 定量HBsAg(quantitative HBsAg, qHBsAg)和高灵敏度HBsAg检测

qHBsAg反映肝细胞内cccDNA数量或转录活性,也反映免疫系统对HBV的控制力。qHBsAg可预测HCC发生,低病毒载量(HBV DNA < 2 000 IU/ml)的HBeAg阴性慢性感染者,qHBsAg > 1 000 IU/ml是HCC发生的高危因素^[50]。HBsAg < 1 000 IU/ml联合HBV DNA < 2 000 IU/ml,区分非活动性HBsAg携带状态和HBeAg阴性CHB的准确性为78%^[51]。

鉴于PEG-IFN- α 治疗不良反应较大,对患者基线指标进行评估,有助于判断是否适合使用干扰素治疗。基线高水平HBsAg(> 25 000 IU/ml)和病毒活跃复制(HBV DNA > 10⁶ IU/ml)患者,经干扰素治疗后获得HBeAg血清学转换和HBV DNA < 2 000 IU/ml的概率较低^[52]。干扰素治疗早期识别无应答者也尤为重要,HBeAg阳性患者治疗12周,HBsAg > 20 000 IU/ml(B或C基因型),或qHBsAg未降低(A或D型),均建议停止治疗^[40],因此,qHBsAg对PEG-IFN- α 治疗应答有较高的阴性预测价值(negative predictive value, NPV)^[53]。接受NAs治疗的患者往往qHBsAg下降缓慢。HBeAg阴性CHB患者在停药前HBsAg水平低于100~200 IU/ml,提示持续应答甚

至HBsAg消失的可能性较高,而qHBsAg高水平意味着较高的停药复发风险^[54-58]。

HBsAg转阴是可靠的NAs停药指标,也是获得“临床治愈”的标志。近年来,多项研究探索CHB的临床治愈,NAs和PEG-IFN- α 序贯或联合治疗的优化方案针对部分优势人群显示出一定的疗效。基于qHBsAg基线特征指导治疗和应答指导治疗的策略可用于指导NAs序贯联合PEG-IFN- α 的治疗决策。NAs序贯联合PEG-IFN- α 治疗,基线低HBsAg水平(< 1 500 IU/ml)且HBeAg阴转,或治疗早期(12或24周)HBsAg < 200 IU/ml或HBsAg下降 > 1个log₁₀ IU/ml,可预测最有可能获得HBsAg阴转的患者;而治疗24周时HBsAg仍然 \geq 200 IU/ml的患者获得HBsAg阴转的可能性小,应考虑停用PEG-IFN- α ,继续NAs治疗。

已有高灵敏度HBsAg试剂的临床应用报道^[59-63]。所谓“高敏”试剂的表述,是基于和传统试剂灵敏度比较而得,其最低检测限(limit of detection, LOD)要达到何种阈值并无严格的界定。当前主流的基于化学发光技术的HBsAg试剂LOD一般为0.05 IU/ml,而高敏HBsAg试剂LOD可达0.000 2~0.005 IU/ml,其应用有助于进一步缩短急性HBV感染的诊断窗口期,提高OBI的检出率,但也对“临床治愈”的标准提出了新挑战^[63-64],同时,对检测平台的稳定性和抵抗样本交叉污染等性能也提出了更高的要求。

解读qHBsAg结果需考虑到,血清HBsAg水平受多种因素影响,例如,前S1、前S2或S区突变等因素会导致HBsAg表达或分泌减少^[65-66]，“a”决定簇的氨基酸突变或HBsAg翻译后修饰可能影响检测试剂的灵敏度,导致qHBsAg被低估^[67]。此外,CHB患者(特别是HBeAg阴性CHB患者)HBsAg还可能源自整合HBV DNA的表达,整合HBsAg的临床意义并不明确,且当前试剂均无法区分HBsAg是由病毒合成还是源于整合^[68-70]。

共识要点3:PEG-IFN- α 治疗中应监测qHBsAg,HBeAg阳性CHB患者治疗12周qHBsAg > 20 000 IU/ml或水平不降可作为停用干扰素指征,NPV接近100%(A1);而NAs治疗中,qHBsAg往往下降缓慢,低水平qHBsAg提示停药后复发风险较低(A1)。

共识要点4:检测qHBsAg有助于甄别CHB临床治愈的优势人群。治疗前低HBsAg水平(< 1 500 IU/ml)且HBeAg阴转,或治疗早期(12或24周)HBsAg < 200 IU/ml或HBsAg下降 > 1个log₁₀ IU/ml,是获得临床治愈的积极因素(B2)。

(二) HBeAg定量(qHBeAg)检测

qHBeAg可用于HBeAg阳性CHB患者的抗病毒治疗监测。PEG-IFN- α 治疗时,基线或治疗过程中检测qHBeAg有助于预测HBeAg血清学转化。基线HBeAg \leq 31 IU/ml的患者在PEG-IFN- α 治疗结束24周后,54%可获得HBeAg血清学转换,而基线HBeAg > 1 294 IU/ml的患者仅有24%获得HBeAg血清学转换^[71];PEG-IFN- α 治疗12或24周时若qHBeAg呈高水平,预示着治疗结束后获得HBeAg血清

学转换的概率很低^[71-72]。qHBeAg也有助于预测 NAs 治疗的 HBeAg 血清学转换,恩替卡韦治疗 24 周时 qHBeAg 出现明显下降,对治疗 2 年后获得 HBeAg 血清学转换的阳性预测值可达 83.3%^[64],应鼓励患者继续治疗。

共识要点 5: PEG-IFN- α 治疗 12 或 24 周时检测 qHBeAg,其高水平提示不太可能获得 HBeAg 血清学转换,对治疗结束后获得 HBeAg 血清学转换的阴性预测值很高;而 NAs 治疗早期 qHBeAg 下降则是获得 HBeAg 血清学转换的积极因素(A2)。

(三) 核心抗体定量 (qAnti-HBc) 检测

qAnti-HBc 与肝脏炎症和纤维化程度正相关,可辅助诊断 ALT 正常或低于 2 倍正常值上限的慢性 HBV 感染者是否需启动治疗^[73-75]。在接受抗病毒治疗的 HBeAg 阳性 CHB 患者中,基线高水平 qAnti-HBc 预示较高的 HBeAg 血清转换率,阈值分别为 4.46 log₁₀ IU/ml (NAs 治疗), 3.95 log₁₀ IU/ml (PEG-IFN- α 治疗) 和 4.4 log₁₀ IU/ml (联合治疗)^[76-77]。高水平 qAnti-HBc (≥ 3 log₁₀ IU/ml) 提示 NAs 停药后临床复发风险较低^[78-80]。在接受免疫抑制治疗人群中,高水平的 qAnti-HBc 提示较高的 HBV 再激活风险^[18, 81-83]。

共识要点 6: 高水平 qAnti-HBc 提示肝脏存在炎症和纤维化,是 ALT 的补充,有助于判断是否需要启动抗病毒治疗(A2);若治疗前 qAnti-HBc 水平较高,或抗病毒治疗中大幅下降,提示较高的应答率和较低的停药后复发风险(A2)。

(四) 高灵敏度 HBV DNA 检测

近 10 年来,随着核酸提取和检测技术的不断成熟,高灵敏度 HBV DNA 检测试剂应运而生,但对高灵敏度 HBV DNA 检测的 LOD 并无统一的定义,当前国内外高灵敏度 HBV DNA 检测试剂可对 10 IU/ml 左右的病毒载量进行精准定量。应用高灵敏度 HBV DNA 检测有助于发现低病毒载量的慢性 HBV 感染者,若符合抗病毒治疗适应证,应及时启动抗病毒治疗。此外,接受 NAs 治疗患者中,有一部分患者未能取得完全病毒学应答,表现为低病毒血症 (low level viremia, LLV),即血清 HBV DNA 持续或间歇高于试剂 LOD,同时低于 2 000 IU/ml。LLV 可促进肝纤维化进展^[84],增加 NAs 治疗 CHB 患者 HCC 发病风险^[29]。使用高灵敏度 HBV DNA 检测有助于及时发现 LLV,有报道更换 NAs 治疗方案可进一步减少 LLV 的发生并降低患者 ALT 水平^[85]。另外,OBI 患者血清病毒载量往往很低(一般 < 200 IU/ml),使用高敏 HBV DNA 监测也有助于及时发现免疫缺陷人群 OBI 的再激活^[86]。

各 CHB 诊治指南对 HBV DNA 试剂的灵敏度都提出了很高要求^[87]。高灵敏度 HBV DNA 检测技术以实时荧光定量 PCR 为主导,同时,等温扩增技术、数字 PCR 和规律间隔成簇短回文重复序列 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR) 等技术也有一定的应用前景^[88]。见表 3^[1, 40, 89-90]。高灵敏度 HBV DNA 检测要求对极低病毒载量检测结果有很好的重复性,要避免出现样本交叉污染或气溶胶污染引起的低值、假阳性结果,因此,

表 3 国内外指南对 HBV DNA 检测灵敏度的要求

指南	对 HBV DNA 灵敏度 (或 LOD) 的要求
APASL, 慢性乙型肝炎诊治指南 (2015 年) ^[89]	12 IU/ml
EASL, 慢性乙型肝炎诊治指南 (2017 年) ^[90]	10 IU/ml
AASLD, 慢性乙型肝炎诊治指南 (2018 年) ^[90]	5 ~ 10 IU/ml
中华医学会, 慢性乙型肝炎防治指南 (2022 年) ^[1]	10 ~ 20 IU/ml 或更高灵敏度

注: APASL: 亚太肝病学会; EASL: 欧洲肝病学会; AASLD: 美国肝病学会; HBV: 乙型肝炎病毒; LOD: 最低检测限

对检测技术和操作者的要求也大大提高。

共识要点 7: 建议使用高灵敏度 HBV DNA 检测试剂 (LOD 为 5 ~ 20 IU/ml) 监测和管理 NAs 治疗中的 LLV 患者,也有助于监测 OBI 患者 HBV 再激活 (A2)。

四、新型 HBV 标志物及临床意义

1. HBcrAg: HBcrAg 包括 HBeAg、HBcAg 以及 p22cr^[21], 检测的是 149 个氨基酸的共有序列^[91-93], 反映 Dane 颗粒、空核衣壳颗粒和 HBeAg 的总和, 对于 HBeAg 阳性患者, 血清中 72% 的 HBcrAg 来源于 HBeAg, 而 HBeAg 阴性患者 HBcrAg 的组成比例难以确定^[94]。由于 HBcrAg 与 HBV pgRNA 都来源于 3.5 kb mRNA, 而 3.5 kb mRNA 仅从 cccDNA 转录而来, 并非源于整合的 HBV 片段^[95], 因此, pgRNA 和 HBcrAg 均反映肝组织 cccDNA 数量或转录活性^[85, 96-101]。同时, 两个标志物的相关性且强且较少受治疗的影响^[97], 血清 HBV pgRNA 与 HBV DNA 和 HBsAg 的相关性在抗病毒治疗后均下降甚至消失, 但与 HBcrAg 在治疗前后皆存在较好的相关性^[102]。HBeAg 阴性 CHB 患者 HBcrAg 水平高于 HBeAg 阴性的无症状携带者, 肝脏炎症活动度和纤维化程度也更明显^[14-15]。NAs 停药时 HBcrAg 水平 > 3.7 log₁₀ IU/ml 是 1 年内病毒学复发的高危因素^[103]。持续高水平的 HBcrAg 是 HCC 发生的高危因素^[97], 预测价值高于 HBV DNA^[104-107]。HBcrAg 对 HCC 术后复发也有预测价值, 基线 HBcrAg > 4.8 log₁₀ U/ml 的患者 2 年内 HCC 复发的危险比接近 9^[108-109]。检测 HBcrAg 的样本需预处理以裂解病毒外膜, 并去除与 HBcAg 结合的血清抗-HBc。当前仅有一家试剂商提供商品化 HBcrAg 检测试剂, 假阳性率为 9.3%, 假阴性率为 12% ~ 35%。新一代试剂灵敏度可提高 8 倍, 但仍存在检测假阳性的问题^[94, 110]。

2. pgRNA: 血清 pgRNA 存在于带包膜的 RNA 病毒样颗粒和不带包膜的裸核衣壳中 (图 1), 以全长、剪接体和 3' 端截短体等形式存在^[111-114]。如前所述, pgRNA 和 HBcrAg 的临床意义较为接近。经 NAs 治疗 HBV DNA 消失后, 可继续监测 pgRNA 水平, 转阴对指导停药有一定价值, 而 pgRNA 阳性应继续治疗^[115]。此外, pgRNA 与肝组织炎症活动度和纤维化相关, 并可预测 HCC 发生风险, HCC 患者术前高水平 pgRNA 提示预后较差^[116-119]。国内外已有多商品化 pgRNA 定量试剂, 但缺乏国际标准品, 不同试剂的灵敏度也有较大差异。

共识要点 8 :血清 HBcrAg 和 HBV pgRNA 水平均可反映 cccDNA 水平或转录活性,二者相关性较好且不受治疗的影响。NAs 治疗过程中 HBV DNA 低于检测下限时,可进一步检测 pgRNA 或 HBcrAg,结果“阳性”则提示应继续治疗以规避停药后复发风险(B2)。

五、HBV 标志物检测的质量控制

经典的 HBV 血清学标志物定性检测在我国开展较早,检测质量较为可靠。然而,对于 HBV 定量标志物,除 HBV DNA 定量以外,大部分尚未纳入我国检验室间质量评价(external quality assessment, EQA)体系。实验室在应用这些标志物时,需对试剂的灵敏度、准确性、重复性、线性范围、临床可报告范围、抗干扰或抗污染能力等指标进行充分评价^[1120-122]。例如,qHBsAg 试剂的线性范围上限多在 200 IU/ml 左右,大部分 CHB 患者 HBsAg 水平高于此值,需稀释后复测,要注意评价稀释后 qHBsAg 结果的准确性和重复性;在使用高灵敏度 HBV DNA 检测试剂时,需充分评价其 LOD、抵抗 PCR 污染等性能,以保证低病毒载量结果的可靠性。

qHBsAg、抗-HBs、qHBeAg、qAnti-HBc 和 HBV DNA 等定量标志物均有国际定量标准品,结果单位为 IU/ml 或 mIU/ml,实验室推广应用国际标准品,有助于提高结果的量值溯源性和不同实验室间结果的可比性。

六、HBV 标志物的特点见表 4。

七、尚待研究和解决的问题

1. HBV 经典和新型标志物众多,需进一步明确不同临床场景下多个标志物检测的最佳组合,使其实现最大预测价值的同时也符合卫生经济学原则。

2. 定量标志物(如 qHBeAg、qAnti-HBc、HBcrAg 和 HBV pgRNA 等)应用于指导 CHB 治疗的阈值的确立,尚待更多临床研究数据。

3. 经典和新型 HBV 标志物对新型抗病毒药物临床试验终点及疗效评判的指导价值尚需进一步研究。

4. 区分病毒来源的 HBsAg 和重组 HBsAg 的试剂尚待研发。

5. HBcrAg 和 HBV pgRNA 等新型定量标志物的检测需进一步标准化。

6. 建立规范的 cccDNA 检测技术,并探索外周血脱落肝细胞或血清 cccDNA 的检测技术,提高 cccDNA 检测的临床可及性;或继续探索能更好反映肝内 cccDNA 数量或转录活性的标志物,使其能更好地用于指导临床。

执笔专家 :

杨瑞锋(北京大学人民医院);廖昊(深圳市第三人民医院,国家感染性疾病临床医学研究中心);于广鑫(北京大学基础医学院病原生物学系,北京大学感染病研究中心);陆海英(北京大学第一医院);赵素贤(河北医科大学第三医院);刘灿(福建医科大学附属第一医院);戴二黑(石家庄第五医院);欧启水(福建医科大学附属第一医院);饶慧瑛(北京大学人民医院);徐小元(北京大学第一医院);南

月敏(河北医科大学第三医院);鲁凤民(北京大学基础医学院,病原生物学系暨感染病研究中心);陈红松(北京大学人民医院);

编写组专家(以姓氏拼音排序):

陈煜(首都医科大学附属北京佑安医院);邓国宏(陆军军医大学第一附属医院);窦晓光(中国医科大学盛京医院);段钟平(首都医科大学附属北京佑安医院);封波(北京大学人民医院);高春芳(上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院);韩涛(南开大学人民医院);韩英(空军军医大学西京医院);侯金林(南方医科大学南方医院);胡鹏(重庆医科大学附属第二医院);贾继东(首都医科大学附属北京友谊医院);李杰(北京大学医学部基础医学院);李军(南京医科大学第一附属医院,江苏省人民医院);李明慧(首都医科大学附属北京地坛医院);刘峰(北京大学人民医院);刘景丰(福建省肿瘤医院);陆伦根(上海交通大学医学院附属第一人民医院);罗新华(贵州省人民医院);任万华(山东省立医院);尚佳(河南省人民医院);魏来(清华大学附属北京清华长庚医院);许钟(贵州省人民医院);杨东亮(华中科技大学同济医学院);尤红(首都医科大学附属北京友谊医院);张欣欣(上海交通大学医学院附属瑞金医院);张跃新(新疆医科大学第一附属医院);赵景民(解放军总医院第五医学中心);中华医学会肝病学会基础医学与实验诊断协作组全体委员

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

[1] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2022年版)[J].中华肝病杂志,2022,30(12):1309-1331. DOI: 10.3760/cma.j.cn501113-20221204-00607.
[2] Yan H, Zhong G, Xu G, et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus[J]. Elife, 2012, 1: e00049. DOI: 10.7554/eLife.00049.
[3] Schulze A, Gripon P, Urban S. Hepatitis B virus infection initiates with a large surface protein-dependent binding to heparan sulfate proteoglycans[J]. Hepatology, 2007, 46(6): 1759-1768. DOI: 10.1002/hep.21896.
[4] Hong X, Hu J. Understanding HBcrAg components improves the interpretation of clinical HBcrAg assay results[J]. J Hepatol, 2021, 75(4): 997-998. DOI: 10.1016/j.jhep.2021.04.041.
[5] Chai N, Chang HE, Nicolas E, et al. Properties of subviral particles of hepatitis B virus[J]. J Virol, 2008, 82(16): 7812-7817. DOI: 10.1128/JVI.00561-08.
[6] Junker-Niepmann M, Bartenschlager R, Schaller H. A short cis-acting sequence is required for hepatitis B virus pregenome encapsidation and sufficient for packaging of foreign RNA[J]. EMBO J, 1990, 9(10): 3389-3396. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1990.tb07540.x.
[7] Yang W, Summers J. Integration of hepadnavirus DNA in infected liver: evidence for a linear precursor[J]. J Virol, 1999, 73(12): 9710-9717. DOI: 10.1128/JVI.73.12.9710-9717.1999.

表 4 HBV 标志物的特点总结

标志物	临床应用	局限性
qHBsAg	感染筛查；慢性 HBV 感染自然分期及预后判断；基线 qHBsAg 指导治疗方案；高水平 qHBsAg 不建议选择干扰素治疗；治疗监测：干扰素治疗中无明显 qHBsAg 降低，则应考虑更换为 NAs 治疗；疗效判断：HBsAg 消失和 / 或血清学转换是可靠的 NAs 停药标志，也是“临床治愈”的指标；低水平 qHBsAg 可用于筛选“临床治愈”优势人群；新药研发：核心指标	可能源于整合基因表达；基因突变或翻译后修饰等因素可导致 HBsAg 表达或分泌减少，或导致试剂低估定量结果
抗-HBs	≥ 10 mIU/ml 提示有免疫力；降低免疫缺损 OBI 患者 HBV 再激活风险	
qHBeAg	预测治疗中 HBeAg 血清学转换	仅适用于 HBeAg 阳性患者
qAnti-HBc	HBeAg 阳性感染者：反映肝脏炎症活动程度，提示启动治疗；基线高水平 qAnti-HBc 患者对抗病毒治疗的应答较好；HBeAg 阴性感染者：qAnti-HBc 反映肝细胞内 HBcAg 和 cccDNA 水平，高水平 qAnti-HBc 提示 OBI 再激活风险	用于指导诊治的阈值仍需更多研究数据
HBcrAg	判断慢性 HBV 感染的自然病程分期；NAs 治疗停药预测指标；新药（如研发衣壳组装调节剂）疗效监测的重要指标	用于指导诊治的阈值仍需更多研究数据；需对样本进行预处理，检测难度大，可供使用的商品化试剂数量极为有限；HBeAg 阳性患者血清 HBcrAg 主要由 HBeAg 构成，实际相当于检测 qHBeAg；临床价值与 pgRNA 有重叠
pgRNA	判断慢性 HBV 感染的自然病程分期；NAs 治疗停药预测指标；新药研发的重要指标	缺乏国际标准品和量值溯源；试剂性能（包括灵敏度）需要进一步验证；临床价值与 HBcrAg 有重叠
HBV DNA 及高灵敏度 HBV DNA	感染筛查；诊断 OBI：极低载量的血清 HBV DNA（一般 < 200 IU/ml）；慢性 HBV 感染自然病程分期及预后预测；> 2 × 10 ⁷ IU/ml 提示处于免疫耐受期；HBV DNA 载量与 HCC 风险呈正相关；治疗监测：核心指标，监测病毒学应答，管理 NAs 治疗中的 LLV	当前高灵敏度 HBV DNA 试剂灵敏度的真实世界评价数据较为缺乏
HBV 基因型	与疾病进展和治疗应答有关；对新药研发方案的制定可能有指导价值	预测价值较弱，我国常见的 B 或 C 基因型治疗方案鲜有区别
HBV 耐药突变	监测 NAs 耐药，调整治疗方案	高耐药屏障 NAs 的广泛使用使耐药突变检测的意义减弱
cccDNA	HBV 转录的模板；慢性 HBV 感染迁延不愈和 OBI 再激活的原因	临床肝组织样本来源困难；rcDNA 等对 cccDNA 的检测可能存在干扰

标志物	主要检验方法	量值溯源性和单位	有无在国家药品监督管理局注册试剂	我国临床应用情况
qHBsAg	化学发光法	第 3 代 WHO 国际标准品（基因亚型 B4，血清型 ayw1/adw2，NIBSC 12/226），单位为 IU/ml	有	逐渐推广应用
抗-HBs	化学发光法	第 3 代 WHO 国际标准品，NIBSC 07/164，单位为 mIU/ml	有	广泛应用
qHBeAg	化学发光法	第 1 代 WHO 国际标准品（PEI code 129 097/12），单位为 IU/ml	有	开始应用
qAnti-HBc	化学发光法	第 1 代 WHO 国际标准品（NIBSC code: 95/522），单位为 IU/ml	有	开始应用
HBcrAg	化学发光法	无国际标准物质，单位为 U/ml	无	尚未开始应用
pgRNA	实时荧光定量 PCR 或等温扩增技术	国家标准品（中国食品药品检定研究院，批号 340008-201901），单位为 U/ml	有	开始应用
HBV DNA 及高灵敏度 HBV DNA	实时荧光定量 PCR、等温扩增、数字微液滴 PCR 或 CRISPR 技术	第 4 代 WHO 国际标准品（NIBSC 10/266），单位为 IU/ml 或 copies/ml	有	开始应用
HBV 基因型	DNA 杂交（如反向线性杂交）、PCR 产物 Sanger 测序或 NGS、实时荧光 PCR	无	有	应用较少
HBV 耐药突变	DNA 杂交（如反向线性杂交）、PCR 产物 Sanger 测序或 NGS、实时荧光 PCR	无	有	应用逐渐减少
cccDNA	DNA 印迹（Southern blot）、原位杂交、实时荧光定量 PCR、等温扩增技术或数字微液滴 PCR	无	无	广泛应用较困难

注：qHBsAg：乙型肝炎表面抗原定量；抗-HBs：乙型肝炎表面抗体；qHBeAg：乙型肝炎 e 抗原定量；qAnti-HBc：乙型肝炎核心抗体定量；HBcrAg：乙型肝炎核心相关抗原；pgRNA：前基因组 RNA；HBV：乙型肝炎病毒；cccDNA：共价闭合环状 DNA；qHBsAg：乙型肝炎表面抗原定量；NAs：核苷（酸）类似物；OBI：隐匿性乙型肝炎病毒感染；HBeAg：乙型肝炎 e 抗原；rcDNA：松弛环状 DNA；HCC：肝细胞癌；LLV：低病毒血症；CRISPR：规律间隔成簇短回文重复序列；NGS：新一代测序；WHO：世界卫生组织

- [8] Meier MA, Calabrese D, Suslov A, et al. Ubiquitous expression of HBsAg from integrated HBV DNA in patients with low viral load[J]. *J Hepatol*, 2021, 75(4): 840-847. DOI: 10.1016/j.jhep.2021.04.051.
- [9] Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000, 64(1): 51-68. DOI: 10.1128/MMBR.64.1.51-68.2000.
- [10] Wieland SF, Eustaquio A, Whitten-Bauer C, et al. Interferon prevents formation of replication-competent hepatitis B virus RNA-containing nucleocapsids[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(28): 9913-9917. DOI: 10.1073/pnas.0504273102.
- [11] Dusheiko G, Agarwal K, Maini MK. New approaches to chronic hepatitis B[J]. *N Engl J Med*, 2023, 388(1): 55-69. DOI: 10.1056/NEJMra2211764.
- [12] 王雷婕, 李明蔚, 刘燕娜, 等. 慢性乙型肝炎病毒感染的自然病程特征 [J]. *北京大学学报: 医学版*, 2022, 54(5): 920-926. DOI: 10.19723/j.issn.1671-167X.2022.05.019.
- [13] Mak LY, Cloherty G, Wong DK, et al. HBV RNA profiles in patients with chronic hepatitis B under different disease phases and antiviral therapy[J]. *Hepatology*, 2021, 73(6): 2167-2179. DOI: 10.1002/hep.31616.
- [14] Zhang ZQ, Lu W, Wang YB, et al. Measurement of the hepatitis B core-related antigen is valuable for predicting the pathological status of liver tissues in chronic hepatitis B patients[J]. *J Virol Methods*, 2016, 235: 92-98. DOI: 10.1016/j.jviromet.2016.05.016.
- [15] 张占卿, 陆伟, 翁齐铨, 等. 血清乙型肝炎核心相关抗原预测慢性乙型肝炎肝组织病理状态的评价 [J]. *肝脏*, 2015, 20(8): 576-582. DOI: 10.14000/j.cnki.issn.1008-1704.2015.08.003.
- [16] Wang J, Yu Y, Li G, et al. Natural history of serum HBV-RNA in chronic HBV infection[J]. *J Viral Hepat*, 2018, 25(9): 1038-1047. DOI: 10.1111/jvh.12908.
- [17] van Campenhout MJH, van Bömmel F, Pfefferkorn M, et al. Host and viral factors associated with serum hepatitis B virus RNA levels among patients in need for treatment[J]. *Hepatology*, 2018, 68(3): 839-847. DOI: 10.1002/hep.29872.
- [18] Song LW, Liu PG, Liu CJ, et al. Quantitative hepatitis B core antibody levels in the natural history of hepatitis B virus infection[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2015, 21(2): 197-203. DOI: 10.1016/j.cmi.2014.10.002.
- [19] Zhou J, Song L, Zhao H, et al. Serum hepatitis B core antibody as a biomarker of hepatic inflammation in chronic hepatitis B patients with normal alanine aminotransferase[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2747. DOI: 10.1038/s41598-017-03102-3.
- [20] Li J, Zhang TY, Song LW, et al. Role of quantitative hepatitis B core antibody levels in predicting significant liver inflammation in chronic hepatitis B patients with normal or near-normal alanine aminotransferase levels[J]. *Hepatol Res*, 2018, 48(3): E133-E145. DOI: 10.1111/hepr.12937.
- [21] Mak LY, Wong DK, Cheung KS, et al. Review article: hepatitis B core-related antigen (HBcrAg): an emerging marker for chronic hepatitis B virus infection[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2018, 47(1): 43-54. DOI: 10.1111/apt.14376.
- [22] Bruce MG, Bruden D, Hurlburt D, et al. Protection and antibody levels 35 years after primary series with hepatitis B vaccine and response to a booster dose[J]. *Hepatology*, 2022, 76(4): 1180-1189. DOI: 10.1002/hep.32474.
- [23] 傅晓春, 刘灿, 欧启水. 慢性乙型肝炎患者 HBsAg 和抗 HBs 共存的发生机制及其临床意义 [J]. *临床检验杂志*, 2016, 34(8): 566-570. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2016.08.02.
- [24] Wang J, Ding W, Liu J, et al. Association of coexistent hepatitis B surface antigen and antibody with severe liver fibrosis and cirrhosis in treatment-naïve patients with chronic hepatitis B[J]. *JAMA Netw Open*, 2022, 5(6): e2216485. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2022.16485.
- [25] Su S, Wong WC, Zou Z, et al. Cost-effectiveness of universal screening for chronic hepatitis B virus infection in China: an economic evaluation[J]. *Lancet Glob Health*, 2022, 10(2): e278-e287. DOI: 10.1016/S2214-109X(21)00517-9.
- [26] Liu C, Chen T, Lin J, et al. Evaluation of the performance of four methods for detection of hepatitis B surface antigen and their application for testing 116, 455 specimens[J]. *J Virol Methods*, 2014, 196: 174-178. DOI: 10.1016/j.jviromet.2013.10.039.
- [27] Yang R, Cui L, Liu Y, et al. A hook-effect-free homogeneous light-initiated chemiluminescence assay: is it reliable for screening and the quantification of the hepatitis B surface antigen?[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(9): 606. DOI: 10.21037/atm.2020.02.59.
- [28] Hou JL, Zhao W, Lee C, et al. Outcomes of long-term treatment of chronic HBV infection with entecavir or other agents from a randomized trial in 24 countries[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(2): 457-467.e21. DOI: 10.1016/j.cgh.2019.07.010.
- [29] Kim JH, Sinn DH, Kang W, et al. Low-level viremia and the increased risk of hepatocellular carcinoma in patients receiving entecavir treatment[J]. *Hepatology*, 2017, 66(2): 335-343. DOI: 10.1002/hep.28916.
- [30] Liu CJ, Kao JH. Global perspective on the natural history of chronic hepatitis B: role of hepatitis B virus genotypes A to J[J]. *Semin Liver Dis*, 2013, 33(2): 97-102. DOI: 10.1055/s-0033-1345716.
- [31] Lin CL, Kao JH. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: recent advances[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26 Suppl 1: 123-130. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06541.x.
- [32] Livingston SE, Simonetti JP, Bulkow LR, et al. Clearance of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B and genotypes A, B, C, D, and F[J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(5): 1452-1457. DOI: 10.1053/j.gastro.2007.08.010.
- [33] Yu MW, Yeh SH, Chen PJ, et al. Hepatitis B virus genotype and DNA level and hepatocellular carcinoma: a prospective study in men[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(4): 265-272. DOI: 10.1093/jnci/dji043.
- [34] Ni YH, Chang MH, Wang KJ, et al. Clinical relevance of hepatitis B virus genotype in children with chronic infection and hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2004, 127(6): 1733-1738. DOI: 10.1053/j.gastro.2004.09.048.
- [35] Chu CJ, Hussain M, Lok AS. Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C[J]. *Gastroenterology*, 2002, 122(7): 1756-1762. DOI: 10.1053/gast.2002.33588.
- [36] Watanabe K, Takahashi T, Takahashi S, et al. Comparative study of genotype B and C hepatitis B virus-induced chronic hepatitis in relation to the basic core promoter and precore mutations[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005, 20(3): 441-449. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2004.03572.x.
- [37] Tang LSY, Covert E, Wilson E, et al. Chronic hepatitis B infection: a review[J]. *JAMA*, 2018, 319(17): 1802-1813. DOI: 10.1001/jama.2018.3795.
- [38] Rajoriya N, Combet C, Zoulim F, et al. How viral genetic variants

- and genotypes influence disease and treatment outcome of chronic hepatitis B. Time for an individualised approach?[J]. *J Hepatol*, 2017, 67(6): 1281-1297. DOI: 10.1016/j.jhep.2017.07.011.
- [39] Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, et al. Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naïve patients is rare through 5 years of therapy[J]. *Hepatology*, 2009, 49(5): 1503-1514. DOI: 10.1002/hep.22841.
- [40] European Association for the Study of the Liver. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection[J]. *J Hepatol*, 2017, 67(2): 370-398. DOI: 10.1016/j.jhep.2017.03.021.
- [41] Cho WH, Lee HJ, Bang KB, et al. Development of tenofovir disoproxil fumarate resistance after complete viral suppression in a patient with treatment-naïve chronic hepatitis B: a case report and review of the literature[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(17): 1919-1924. DOI: 10.3748/wjg.v24.i17.1919.
- [42] Xu L, Chen EQ, Lei J, et al. Pre-core/basal-core promoter and reverse transcriptase mutations in chronic HBV infected-patients[J]. *Hepatogastroenterology*, 2012, 59(113): 212-215. DOI: 10.5754/hgel10122.
- [43] Yang G, Han M, Chen F, et al. Hepatitis B virus genotype B and mutations in basal core promoter and pre-core/core genes associated with acute-on-chronic liver failure: a multicenter cross-sectional study in China[J]. *Hepatol Int*, 2014, 8(4): 508-516. DOI: 10.1007/s12072-014-9554-4.
- [44] Kitab B, Essaid El Feydi A, Afifi R, et al. Variability in the precore and core promoter regions of HBV strains in Morocco: characterization and impact on liver disease progression[J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e42891. DOI: 10.1371/journal.pone.0042891.
- [45] Tanaka Y, Mukaide M, Orito E, et al. Specific mutations in enhancer II/core promoter of hepatitis B virus subgenotypes C1/C2 increase the risk of hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2006, 45(5): 646-653. DOI: 10.1016/j.jhep.2006.06.018.
- [46] Truong BX, Yano Y, Seo Y, et al. Variations in the core promoter/pre-core region in HBV genotype C in Japanese and Northern Vietnamese patients[J]. *J Med Virol*, 2007, 79(9): 1293-1304. DOI: 10.1002/jmv.20934.
- [47] Yang HC, Kao JH. Persistence of hepatitis B virus covalently closed circular DNA in hepatocytes: molecular mechanisms and clinical significance[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2014, 3(9): e64. DOI: 10.1038/emi.2014.64.
- [48] Huang JT, Yang Y, Hu YM, et al. A highly sensitive and robust method for hepatitis B virus covalently closed circular DNA detection in single cells and serum[J]. *J Mol Diagn*, 2018, 20(3): 334-343. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2018.01.010.
- [49] Li X, Zhao J, Yuan Q, et al. Detection of HBV covalently closed circular DNA[J]. *Viruses*, 2017, 9(6): 139. DOI: 10.3390/v9060139.
- [50] Tseng TC, Liu CJ, Yang HC, et al. High levels of hepatitis B surface antigen increase risk of hepatocellular carcinoma in patients with low HBV load[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(5): 1140-1149.e3; quiz e13-4. DOI: 10.1053/j.gastro.2012.02.007.
- [51] Liu J, Yang HI, Lee MH, et al. Serum levels of hepatitis B surface antigen and DNA can predict inactive carriers with low risk of disease progression[J]. *Hepatology*, 2016, 64(2): 381-389. DOI: 10.1002/hep.28552.
- [52] Chan HLY, Messinger D, Papatheodoridis GV, et al. A baseline tool for predicting response to peginterferon alfa-2a in HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2018, 48(5): 547-555. DOI: 10.1111/apt.14862.
- [53] Martinot-Peignoux M, Asselah T, Marcellin P. HBsAg quantification to optimize treatment monitoring in chronic hepatitis B patients[J]. *Liver Int*, 2015, 35 Suppl 1: 82-90. DOI: 10.1111/liv.12735.
- [54] Chang ML, Liaw YF, Hadziyannis SJ. Systematic review: cessation of long-term nucleos(t)ide analogue therapy in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2015, 42(3): 243-257. DOI: 10.1111/apt.13272.
- [55] Wang CC, Tseng KC, Hsieh TY, et al. Assessing the durability of entecavir-treated hepatitis B using quantitative HBsAg[J]. *Am J Gastroenterol*, 2016, 111(9): 1286-1294. DOI: 10.1038/ajg.2016.109.
- [56] Chen CH, Hsu YC, Lu SN, et al. The incidence and predictors of HBV relapse after cessation of tenofovir therapy in chronic hepatitis B patients[J]. *J Viral Hepat*, 2018, 25(5): 590-597. DOI: 10.1111/jvh.12851.
- [57] Su TH, Yang HC, Tseng TC, et al. Distinct relapse rates and risk predictors after discontinuing tenofovir and entecavir therapy[J]. *J Infect Dis*, 2018, 217(8): 1193-1201. DOI: 10.1093/infdis/jix690.
- [58] Liang Y, Jiang J, Su M, et al. Predictors of relapse in chronic hepatitis B after discontinuation of anti-viral therapy[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2011, 34(3): 344-352. DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04738.x.
- [59] Lou S, Taylor R, Pearce S, Kuhns M, Leary T. An ultra-sensitive Abbott ARCHITECT((R)) assay for the detection of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg)[J]. *J Clin Virol*, 2018, 105: 18-25. DOI: 10.1016/j.jcv.2018.05.009.
- [60] Sickinger E, Braun HB, Meyer T, et al. Performance characteristics of the high sensitivity Alinity i & ARCHITECT HBsAg Next Qualitative/Confirmatory assays[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2020, 97(2): 115033. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115033.
- [61] Deguchi M, Kagita M, Yoshioka N, et al. Evaluation of the highly sensitive chemiluminescent enzyme immunoassay "Lumipulse HBsAg-HQ" for hepatitis B virus screening[J]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(4): e22334. DOI: 10.1002/jcla.22334.
- [62] Takeda K, Maruki M, Yamagaito T, et al. Highly sensitive detection of hepatitis B virus surface antigen by use of a semiautomated immune complex transfer chemiluminescence enzyme immunoassay[J]. *J Clin Microbiol*, 2013, 51(7): 2238-2244. DOI: 10.1128/JCM.00324-13.
- [63] Yang R, Song G, Guan W, et al. The Lumipulse G HBsAg-Quant assay for screening and quantification of the hepatitis B surface antigen[J]. *J Virol Methods*, 2016, 228: 39-47. DOI: 10.1016/j.jviromet.2015.11.016.
- [64] Wang ZL, Zheng JR, Yang RF, et al. An ideal hallmark closest to complete cure of chronic hepatitis B patients: high-sensitivity quantitative HBsAg loss[J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2023, 11(1): 197-206. DOI: 10.14218/JCTH.2022.00289.
- [65] Salpini R, Colagrossi L, Bellocchi MC, et al. Hepatitis B surface antigen genetic elements critical for immune escape correlate with hepatitis B virus reactivation upon immunosuppression[J]. *Hepatology*, 2015, 61(3): 823-833. DOI: 10.1002/hep.27604.
- [66] Pollicino T, Cacciola I, Saffioti F, et al. Hepatitis B virus PreS/S gene variants: pathobiology and clinical implications[J]. *J Hepatol*, 2014, 61(2): 408-417. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.04.041.
- [67] El Chaar M, Candotti D, Crowther RA, et al. Impact of hepatitis B

- virus surface protein mutations on the diagnosis of occult hepatitis B virus infection[J]. *Hepatology*, 2010, 52(5): 1600-1610. DOI: 10.1002/hep.23886.
- [68] Pollicino T, Caminiti G. HBV-integration studies in the clinic: role in the natural history of infection[J]. *Viruses*, 2021, 13(3): 368. DOI: 10.3390/v13030368.
- [69] Wang T, Dai Y, Zhang M, et al. Sequence analysis of the Pre-S gene in chronic asymptomatic HBV carriers with low-level HBsAg[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(5): 2689-2699. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3831.
- [70] Wu CC, Chen YS, Cao L, et al. Hepatitis B virus infection: defective surface antigen expression and pathogenesis[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(31): 3488-3499. DOI: 10.3748/wjg.v24.i31.3488.
- [71] Fried MW, Piratvisuth T, Lau GK, et al. HBeAg and hepatitis B virus DNA as outcome predictors during therapy with peginterferon alfa-2a for HBeAg-positive chronic hepatitis B[J]. *Hepatology*, 2008, 47(2): 428-434. DOI: 10.1002/hep.22065.
- [72] Ma H, Yang RF, Wei L. Quantitative serum HBsAg and HBeAg are strong predictors of sustained HBeAg seroconversion to pegylated interferon alfa-2b in HBeAg-positive patients[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2010, 25(9): 1498-1506. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06282.x.
- [73] Luomajoki HA, Bauer CM. WITHDRAWN: Response to letter to editor concerning: effectiveness of movement control exercise on patients with non-specific low back pain and movement control impairment: a systematic review and metaanalyse[J]. *Musculoskeletal Sci Pract*, 2018 Dec 31: S2468-7812(18)30478-8. DOI: 10.1016/j.msksp.2018.12.008.
- [74] Wu Z, Ma AL, Xie Q, et al. Significant histological changes and satisfying antiviral efficacy in chronic hepatitis B virus infection patients with normal alanine aminotransferase. Antiviral therapy decision in chronic HBV patients with normal ALT[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2021, 45(2): 101463. DOI: 10.1016/j.clinre.2020.05.011.
- [75] Wu Z, Dong X, Wang G, et al. Clinical noninvasive markers for antiviral therapy decision in chronic hepatitis B with alanine aminotransferase less than two times upper limit of normal[J]. *J Viral Hepat*, 2019, 26(2): 287-296. DOI: 10.1111/jvh.13030.
- [76] Yuan Q, Song LW, Liu CJ, et al. Quantitative hepatitis B core antibody level may help predict treatment response in chronic hepatitis B patients[J]. *Gut*, 2013, 62(1): 182-184. DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302656.
- [77] Fan R, Sun J, Yuan Q, et al. Baseline quantitative hepatitis B core antibody titre alone strongly predicts HBeAg seroconversion across chronic hepatitis B patients treated with peginterferon or nucleos(t)ide analogues[J]. *Gut*, 2016, 65(2): 313-320. DOI: 10.1136/gutjnl-2014-308546.
- [78] Chi H, Li Z, Hansen BE, et al. Serum level of antibodies against hepatitis B Core protein is associated with clinical relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogue therapy[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2019, 17(1): 182-191 e181. DOI: 10.1016/j.cgh.2018.05.047.
- [79] Tseng CH, Hsu YC, Chang CY, et al. Quantification of serum hepatitis B core antibody to predict off-entecavir relapse in patients with chronic hepatitis B[J]. *J Formos Med Assoc*, 2018, 117(10): 915-921. DOI: 10.1016/j.jfma.2017.11.012.
- [80] Wu Y, Wang X, Lin X, et al. Quantitative of serum hepatitis B core antibody is a potential predictor of recurrence after interferon-induced hepatitis B surface antigen clearance[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2021, 54(2): 238-244. DOI: 10.1016/j.jmii.2019.09.004.
- [81] Yuan Q, Song LW, Cavallone D, et al. Total hepatitis B core antigen antibody, a quantitative non-invasive marker of hepatitis B virus induced liver disease[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0130209. DOI: 10.1371/journal.pone.0130209.
- [82] Liao H, Liu Y, Li X, et al. Monitoring of serum HBV RNA, HBcrAg, HBsAg and anti-HBc levels in patients during long-term nucleoside/nucleotide analogue therapy[J]. *Antivir Ther*, 2019, 24(2): 105-115. DOI: 10.3851/IMP3280.
- [83] Yang HC, Tsou HH, Pei SN, et al. Quantification of HBV core antibodies may help predict HBV reactivation in patients with lymphoma and resolved HBV infection[J]. *J Hepatol*, 2018, 69(2): 286-292. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.02.033.
- [84] Sun Y, Wu X, Zhou J, et al. Persistent low level of hepatitis B virus promotes fibrosis progression during therapy[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(11): 2582-2591, e2586. DOI: 10.1016/j.cgh.2020.03.001.
- [85] Li ZB, Li L, Niu XX, et al. Switching from entecavir to tenofovir alafenamide for chronic hepatitis B patients with low-level viraemia[J]. *Liver Int*, 2021, 41(6): 1254-1264. DOI: 10.1111/liv.14786.
- [86] Kusumoto S, Tanaka Y, Suzuki R, et al. Monitoring of hepatitis B virus (HBV) DNA and risk of HBV reactivation in B-cell lymphoma: a prospective observational study[J]. *Clin Infect Dis*, 2015, 61(5): 719-729. DOI: 10.1093/cid/civ344.
- [87] 杨瑞锋, 陈红松, 鲁凤民. 当今慢性乙型肝炎治疗实践对HBV核酸检测方法的新需求[J]. *中国临床新医学*, 2021, 14(1): 1-7. DOI: 10.3969/j.issn.1674-3806.2021.01.01.
- [88] Tian Y, Fan Z, Xu L, et al. CRISPR/Cas13a-assisted rapid and portable HBV DNA detection for low-level viremia patients[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2023, 12(1): e2177088. DOI: 10.1080/22221751.2023.2177088.
- [89] 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. DOI: 10.1007/s12072-015-9675-4.
- [90] Terrault NA, Lok ASF, McMahon BJ, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance[J]. *Hepatology*, 2018, 67(4): 1560-1599. DOI: 10.1002/hep.29800.
- [91] Kimura T, Rokuhara A, Sakamoto Y, et al. Sensitive enzyme immunoassay for hepatitis B virus core-related antigens and their correlation to virus load[J]. *J Clin Microbiol*, 2002, 40(2): 439-445. DOI: 10.1128/JCM.40.2.439-445.2002.
- [92] Kimura T, Ohno N, Terada N, et al. Hepatitis B virus DNA-negative dane particles lack core protein but contain a 22-kDa precore protein without C-terminal arginine-rich domain[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(23): 21713-21719. DOI: 10.1074/jbc.M501564200.
- [93] Tanaka E, Matsumoto A, Yoshizawa K, et al. Hepatitis B core-related antigen assay is useful for monitoring the antiviral effects of nucleoside analogue therapy[J]. *Intervirology*, 2008, 51 Suppl 1: 3-6. DOI: 10.1159/000122592.
- [94] Adraneda C, Tan YC, Yeo EJ, et al. A critique and systematic review of the clinical utility of hepatitis B core-related antigen[J]. *J Hepatol*, 2023, 78(4): 731-741. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.12.017.

- [95] Lamontagne RJ, Bagga S, Bouchard MJ. Hepatitis B virus molecular biology and pathogenesis[J]. *Hepatoma Res*, 2016, 2: 163-186. DOI: 10.20517/2394-5079.2016.05.
- [96] Huang Q, Zhou B, Cai D, et al. Rapid turnover of hepatitis B virus covalently closed circular dna indicated by monitoring emergence and reversion of signature-mutation in treated chronic hepatitis B patients[J]. *Hepatology*, 2021, 73(1): 41-52. DOI: 10.1002/hep.31240.
- [97] Honda M, Shirasaki T, Terashima T, et al. Hepatitis B virus (HBV) core-related antigen during nucleos(t)ide analog therapy is related to intra-hepatic hbv replication and development of hepatocellular carcinoma[J]. *J Infect Dis*, 2016, 213(7): 1096-1106. DOI: 10.1093/infdis/jiv572.
- [98] Chen EQ, Feng S, Wang ML, et al. Serum hepatitis B core-related antigen is a satisfactory surrogate marker of intrahepatic covalently closed circular DNA in chronic hepatitis B[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 173. DOI: 10.1038/s41598-017-00111-0.
- [99] Testoni B, Lebossé F, Scholtes C, et al. Serum hepatitis B core-related antigen (HBcrAg) correlates with covalently closed circular DNA transcriptional activity in chronic hepatitis B patients[J]. *J Hepatol*, 2019, 70(4): 615-625. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.11.030.
- [100] Wong DK, Seto WK, Cheung KS, et al. Hepatitis B virus core-related antigen as a surrogate marker for covalently closed circular DNA[J]. *Liver Int*, 2017, 37(7): 995-1001. DOI: 10.1111/liv.13346.
- [101] Suzuki F, Miyakoshi H, Kobayashi M, et al. Correlation between serum hepatitis B virus core-related antigen and intrahepatic covalently closed circular DNA in chronic hepatitis B patients[J]. *J Med Virol*, 2009, 81(1): 27-33. DOI: 10.1002/jmv.21339.
- [102] Ghany MG, King WC, Lisker-Melman M, et al. Comparison of HBV RNA and hepatitis B core related antigen with conventional HBV markers among untreated adults with chronic hepatitis B in North America[J]. *Hepatology*, 2021, 74(5): 2395-2409. DOI: 10.1002/hep.32018.
- [103] Jung KS, Park JY, Chon YE, et al. Clinical outcomes and predictors for relapse after cessation of oral antiviral treatment in chronic hepatitis B patients[J]. *J Gastroenterol*, 2016, 51(8): 830-839. DOI: 10.1007/s00535-015-1153-1.
- [104] Drafting Committee for Hepatitis Management G, the Japan Society of H. JSH guidelines for the management of hepatitis B virus infection[J]. *Hepatol Res*, 2014, 44 Suppl S1: 1-58. DOI: 10.1111/hepr.12269.
- [105] Cheung KS, Seto WK, Wong DK, et al. Relationship between HBsAg, HBcrAg and hepatocellular carcinoma in patients with undetectable HBV DNA under nucleos(t)ide therapy[J]. *J Viral Hepat*, 2017, 24(8): 654-661. DOI: 10.1111/jvh.12688.
- [106] Urabe A, Imamura M, Tsuge M, et al. The relationship between HBcrAg and HBV reinfection in HBV related post-liver transplantation patients[J]. *J Gastroenterol*, 2017, 52(3): 366-375. DOI: 10.1007/s00535-016-1240-y.
- [107] Tada T, Kumada T, Toyoda H, et al. HBcrAg predicts hepatocellular carcinoma development: An analysis using time-dependent receiver operating characteristics[J]. *J Hepatol*, 2016, 65(1): 48-56. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.03.013.
- [108] Seto WK, Wong DK, Chan TS, et al. Association of hepatitis B core-related antigen with hepatitis B virus reactivation in occult viral carriers undergoing high-risk immunosuppressive therapy[J]. *Am J Gastroenterol*, 2016, 111(12): 1788-1795. DOI: 10.1038/ajg.2016.436.
- [109] Hosaka T, Suzuki F, Kobayashi M, et al. HBcrAg is a predictor of post-treatment recurrence of hepatocellular carcinoma during antiviral therapy[J]. *Liver Int*, 2010, 30(10): 1461-1470. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02344.x.
- [110] Inoue T, Kusumoto S, Iio E, et al. Clinical efficacy of a novel, high-sensitivity HBcrAg assay in the management of chronic hepatitis B and HBV reactivation[J]. *J Hepatol*, 2021, 75(2): 302-310. DOI: 10.1016/j.jhep.2021.02.017.
- [111] Stadelmayer B, Diederichs A, Chapus F, et al. Full-length 5'RACE identifies all major HBV transcripts in HBV-infected hepatocytes and patient serum[J]. *J Hepatol*, 2020, 73(1): 40-51. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.01.028.
- [112] Wang J, Shen T, Huang X, et al. Serum hepatitis B virus RNA is encapsidated pregenome RNA that may be associated with persistence of viral infection and rebound[J]. *J Hepatol*, 2016, 65(4): 700-710. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.05.029.
- [113] Shen S, Xie Z, Cai D, et al. Biogenesis and molecular characteristics of serum hepatitis B virus RNA[J]. *PLoS Pathogens*, 2020, 16(10): e1008945. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008945.
- [114] Liu S, Zhou B, Valdes JD, et al. Serum hepatitis B virus RNA: a new potential biomarker for chronic hepatitis B virus infection[J]. *Hepatology*, 2019, 69(4): 1816-1827. DOI: 10.1002/hep.30325.
- [115] Fan R, Zhou B, Xu M, et al. Association between negative results from tests for HBV DNA and RNA and durability of response after discontinuation of nucleos(t)ide analogue therapy[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(3): 719-727.e7. DOI: 10.1016/j.cgh.2019.07.046.
- [116] Wang J, Yu Y, Li G, et al. Relationship between serum HBV-RNA levels and intrahepatic viral as well as histologic activity markers in entecavir-treated patients[J]. *J Hepatol*, 2017 Sep 21: S0168-8278(17)32261-4. DOI: 10.1016/j.jhep.2017.08.021.
- [117] Mak LY, Huang Q, Wong DK, et al. Residual HBV DNA and pgRNA viraemia is associated with hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B patients on antiviral therapy[J]. *J Gastroenterol*, 2021, 56(5): 479-488. DOI: 10.1007/s00535-021-01780-5.
- [118] Liu S, Deng R, Zhou B, et al. Association of serum hepatitis B virus RNA with hepatocellular carcinoma risk in chronic hepatitis B patients under nucleos(t)ide analogues therapy[J]. *J Infect Dis*, 2022, 226(5): 881-890. DOI: 10.1093/infdis/jiab597.
- [119] Ding WB, Wang MC, Yu J, et al. HBV/Pregenomic RNA Increases the Stemness and Promotes the Development of HBV-Related HCC Through Reciprocal Regulation With Insulin-Like Growth Factor 2 mRNA-Binding Protein 3[J]. *Hepatology*, 2021, 74(3): 1480-1495. DOI: 10.1002/hep.31850.
- [120] 中国合格评定国家认可委员会. 临床化学定量检验程序性能验证指南[S], CNAS-GL037, 2019-2-15.
- [121] 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[S], CNAS-GL039, 2019-2-15.
- [122] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 临床检验定量测定室内质量控制[S], WS/T641-2018, 2018-12-11.