

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2026.16.018

# 超敏 HBsAg 检测技术及其临床应用的最新进展<sup>\*</sup>

公庆豪<sup>1,2</sup>, 裘敏丽<sup>2</sup>, 成 军<sup>2</sup>综述, 戴玉柱<sup>2△</sup>审校

1. 蚌埠医科大学检验医学院, 安徽蚌埠 233000; 2. 中国人民解放军联勤保障部队  
第九〇三医院检验科, 浙江杭州 310013

**摘 要:** 乙型肝炎病毒(HBV)感染是全球重大公共卫生挑战。乙型肝炎表面抗原(HBsAg)作为 HBV 感染的主要生物标志物, 其分析灵敏度直接影响筛查、病情监测及疗效评估。该文系统综述了超敏 HBsAg 检测技术的分类与发展现状, 阐述了化学发光免疫分析、CRISPR-Cas 检测、生物传感器及微流控纸基分析装置四大主流平台的最新研究进展, 总结了其在低浓度 HBsAg 检测中的优势及在 HBV 感染全周期管理中的应用价值, 同时分析了当前存在的标准化程度不足等问题, 并对未来的发展研究趋势进行展望, 为此技术的应用推广及相关研究提供参考。

**关键词:** 乙型肝炎; 超敏乙型肝炎表面抗原; 隐匿性肝炎; 化学发光免疫分析; 生物传感器

**中图法分类号:** R446.6; R512.62

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1672-9455(2026)16-2278-06

## Recent advances in ultrasensitive HBsAg detection technologies and their clinical application<sup>\*</sup>

Gong Qinghao<sup>1,2</sup>, Qiu Minli<sup>2</sup>, Cheng Jun<sup>2</sup>, Dai Yuzhu<sup>2△</sup>

1. School of Laboratory Medicine, Bengbu Medical University, Bengbu, Anhui 233000, China;

2. Department of Laboratory, No. 903 Hospital of Joint Logistic Support Force of PLA, Hangzhou, Zhejiang 310013, China

**Abstract:** Hepatitis B virus (HBV) infection poses a major global public health challenge. As the primary biomarker for HBV infection, the analytical sensitivity of hepatitis B surface antigen (HBsAg) directly affects disease screening, condition monitoring and therapeutic efficacy evaluation. This article systematically reviews the classification and current development status of ultrasensitive HBsAg detection technologies, elaborates on the latest research progress of four mainstream platforms: chemiluminescence immunoassay, CRISPR-Cas detection, biosensors and microfluidic paper-based analytical devices, and summarizes their advantages in detecting low-concentration HBsAg and their application value in the full-cycle management of HBV infection. Meanwhile, it analyzes the existing problems such as insufficient standardization and prospects the future development and research trends, providing a reference for the application and promotion of these technologies as well as related research.

**Key words:** hepatitis B; ultrasensitive hepatitis B surface antigen; occult hepatitis; chemiluminescence immunoassay; biosensor

乙型肝炎(简称乙肝)是由乙肝病毒(HBV)感染引起的以肝脏炎症和坏死为主要特征的传染性疾病, 慢性感染会引发肝硬化、肝衰竭和原发性肝癌等肝脏相关并发症<sup>[1]</sup>。HBV 传染性极强, 慢性肝炎(CHB)患者体内病毒难以彻底清除, HBV 感染目前仍是我国肝硬化和肝细胞癌的主要病因<sup>[2]</sup>。乙肝表面抗原(HBsAg)是病毒颗粒表面的外膜结构蛋白多肽, 在感染后 4~7 周即可在血清中检出, 是判断 HBV 感染、评估病情进程的主要血清学标志物。检测技术是消

除乙肝工作的关键一环, 早期且精准的检测有助于减少病毒传播并及时启动抑制性治疗<sup>[3]</sup>, 对维护患者健康具有重要意义。

传统的 HBsAg 检测方法, 包括酶联免疫吸附试验(ELISA)、化学发光免疫分析(CLIA)<sup>[4]</sup>, 虽然能满足常规感染筛查需求, 但是在低浓度 HBsAg 检测中存在明显局限, 容易漏检隐匿性 HBV 感染(OBI)<sup>[5]</sup>、HBV 感染窗口期及治疗后病毒残留等情况, 而此类隐匿性感染或低水平病毒表达状态仍然是 HBV 传

<sup>\*</sup> 基金项目: 浙江省卫生健康行业科技计划项目(2025HY0843); 浙江省杭州市医药卫生科技项目(ZD20230078、B20254490)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: dyz5895@qq.com。

中文引用格式: 公庆豪, 裘敏丽, 成军, 等. 超敏 HBsAg 检测技术及其临床应用的最新进展[J]. 检验医学与临床, 2026, 23(16): 2278-2283.

英文引用格式: Gong Q H, Qiu M L, Cheng J, et al. Recent advances in ultrasensitive HBsAg detection technologies and their clinical application[J]. Lab Med Clin, 2026, 23(16): 2278-2283.

播、病情进展及疾病复发的重要隐患。随着免疫检测技术、材料科学及分子生物学技术的快速发展,HBV 诊断领域的最新进展是超敏 HBsAg 检测,其检出限低至 0.005 IU/mL,可实现对急性感染、HBsAg 清除、HBV 再激活或血清学清除后亚临床水平的 HBsAg 及 OBI 的早期检测<sup>[6]</sup>。

近年来,超敏 HBsAg 检测技术快速发展,新型检测平台、检测方法不断问世,检测性能持续优化提升,同时其临床应用也不断开展,从感染筛查延伸至疗效监测、预后评估等多个领域,为 HBV 的精准检测提供了更可靠的技术支撑。本文对超敏 HBsAg 检测技术的最新研究进展及其临床应用进行系统综述,旨在全面梳理该领域的研究现状,为临床应用和创新研究提供参考。

## 1 CLIA

CLIA 是目前临床应用最广泛、最成熟的超敏 HBsAg 检测技术,结合了高灵敏度的化学发光测定技术与高特异性的免疫反应,可用于检测各种抗原、半抗原、抗体、脂肪酸等<sup>[7]</sup>,具有操作简单、分析灵敏度高、精密度好、检测速度快、检测范围广等核心优势,且支持全自动化检测<sup>[8]</sup>,适合大批量临床标本的筛查和监测需求。

高分析灵敏度、高可靠性的 HBsAg 检测对于 HBV 感染的普遍筛查、快速诊断至关重要。有研究开发出一种半自动、超高分分析灵敏度(检出限:0.000 5 IU/mL)的 HBsAg 免疫复合物转移化学发光酶免疫分析法(ICT-CLEIA),该法初筛的特异度为 99.49%,复核后特异度可达 100%,可为 HBV 再激活提供一种相对廉价、快速且便捷的替代方案<sup>[9]</sup>。Shen 等<sup>[10]</sup>研究评价 MAGLUMI HBsAg 化学发光免疫分析法的检测性能,结果显示 MAGLUMI HBsAg 诊断灵敏度为 100%,检出限为 0.05 IU/mL,分析灵敏度达 0.039 IU/mL,表明该法高度灵敏、可靠,可对不同 HBV 亚基因型均有理想的检测效能。有研究称采用 PRISM HBsAg 实施微粒子化学发光法,可将 CLIA 的分析灵敏度从 0.08 ng/mL 提高至 0.005 ng/mL<sup>[11]</sup>。电化学发光免疫分析法(ECLIA)采用自动化标记免疫方法检验病原体,是当前最先进的免疫检验技术之一,既可确定人体是否感染 HBV,还可进行定量分析,通过检验得到 HBsAg 阳性率为 77.00%,有较高的临床准确率<sup>[12]</sup>。CLIA 测定的最新发展带来了高精度、可靠性、全自动化等优势,尤其适用于大工作量的临床实验室<sup>[13]</sup>。

CLIA 法具有诸多优势,包括更高分析灵敏度、高精度、高稳定性、低试剂消耗。此外,CLIA 相比传统检测提供了更高的特异度和更高的阳性预测值<sup>[14]</sup>。作为当前临床实验室的主流检测技术,电化学发光平台在低浓度标本检测中的批内和批间精密度明显优于直接化学发光平台<sup>[8]</sup>,国产 CLIA 平台在高浓度

HBsAg 标本中与进口平台的总符合率达 97% 以上<sup>[14]</sup>。CLIA 技术具备全自动化操作、检测周转时间短及高通量标本处理能力优势,单标本检测成本为 ELISA 法的 2~3 倍,但显著低于 HBV 核酸检测<sup>[15]</sup>,国产平台的综合检测成本较进口平台降低约 40%<sup>[10]</sup>,因此成为各级医院常规检测与大规模人群筛查的首选方法。在 HBV 感染的临床诊断与管理体系中,核酸检测技术同样占据着重要地位,与血清学检测形成互补。核酸检测是直接对各类病原体核酸加以检测的一系列技术总称,与 CLIA 联合检测可有效分析 OBI 血清学特征<sup>[15]</sup>。

## 2 成簇规律间隔短回文重复序列及其相关蛋白(CRISPR-Cas)检测

成簇规律间隔短回文重复序列(CRISPR)及其相关蛋白(Cas)所构成的 CRISPR-Cas 系统的发现,深刻改变了生物学研究的格局,并正推动医疗健康体系迈入精准分子医学时代<sup>[16]</sup>。CRISPR-Cas 系统根据其核酸靶向特性分为几个亚型,其中 Cas9、Cas12 和 Cas13 最为广泛使用<sup>[17]</sup>,Cas9 可实现高效基因敲除与敲入,Cas12a、Cas13a 具有附带切割活性,可用于信号放大检测。该技术具有简便、高效、低成本等优势,广泛应用于基因编辑、基因治疗及病原分子诊断。近年来,基于适配体的 CRISPR-Cas 平台已在生物医学、环境监测、食品安全和临床诊断等领域进行应用<sup>[18]</sup>。研究证实,HBsAg 是 cccDNA 转录与翻译的产物,血清中 HBsAg 的浓度与肝脏内 cccDNA 水平呈高度正相关,其在乙肝患者的临床诊断与个体化治疗中具有重要作用<sup>[19]</sup>。Li 等<sup>[20]</sup>利用 CRISPR-Cas12a 系统的高特异度与高效酶切活性,构建了一种新型 CRISPR 辅助纳米孔传感方法,实现对 HBsAg 的超敏检测与精确定量,该法基于 HBsAg 与适配体的竞争性结合,由限制性内切酶消化后在纳米孔检测,结果检出限可达 10 fmol/L,实现了 HBsAg 的超敏检测,为 HBV 的早期筛查、诊断和精准治疗提供了新策略,同时也为纳米孔技术在临床诊断中的应用奠定基础。Suzuki 等<sup>[21]</sup>引入了简便、快速且高分分析灵敏度的非核酸靶标检测方法,将 CRISPR-Cas12a 系统与纸基 ELISA 相结合,设计了一种折叠式纸基检测设备,利用 CRISPR-Cas12a 切割荧光淬灭标记的单链 DNA 探针,产生荧光信号以实现靶标检测,同时采用多重 DNA 标记的抗体作为检测抗体激活 CRISPR-Cas12a 系统,可对人免疫球蛋白(Ig)G 和 HBsAg 实现高分分析灵敏度检测,其 HBsAg 检出限低至 12 pg/mL,分析灵敏度较商用 ELISA 试剂盒提高 10 倍以上。

除 HBsAg 外,HBV RNA 检测以病毒前基因组 RNA 为靶标,可作为反映肝内 cccDNA 主动转录的潜在生物标志物<sup>[22]</sup>。为进一步明确其临床定位,将 CRISPR-Cas 超敏 HBsAg 检测与临床主流的 HBV 核酸检测方法进行系统对比,核心性能指标与临床应

用场景差异见表 1。

表 1 CRISPR-Cas 超敏 HBsAg 检测与主流 HBV 核酸检测方法性能及临床应用对比

| 检测类型                 | 核心靶标        | 检出限                         | 临床应用场景                                                                                                                                                                                                                     |
|----------------------|-------------|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 超敏 HBsAg(CRISPR-Cas) | HBsAg       | 12 pg/mL(约 0.002 IU/mL)     | 区分真正病毒清除与低水平抗原持续存在,监测功能性治愈 <sup>[20]</sup> ;隐匿性 HBV 感染的献血者筛查与肝移植供体评估 <sup>[5]</sup> ;免疫抑制治疗期间 HBV 再激活的早期预警 <sup>[23]</sup> ;HBsAg 血清学清除后残留病毒监测,预测肝癌长期风险 <sup>[14]</sup> ;基层及现场即时检测(POCT)用于资源有限地区与流行病学调查 <sup>[20-21]</sup> |
| 常规 HBV DNA 检测        | 血清病毒基因组 DNA | 20~50 IU/mL <sup>[24]</sup> | 评估 CHB 患者病毒复制水平,指导抗病毒治疗启动时机 <sup>[25]</sup> ;治疗前 3 个月高载量阶段的疗效监测 <sup>[26]</sup> ;预测 CHB 患者肝纤维化病变进展 <sup>[25]</sup> ;流行病学调查及大规模人群 HBV 感染率筛查 <sup>[25]</sup>                                                                 |
| 高精度 HBV DNA 检测       | 血清病毒基因组 DNA | 5~10 IU/mL <sup>[26]</sup>  | 核苷(酸)类似物治疗后后期低水平抗原血症检测 <sup>[25]</sup> ;HBeAg 阳性 CHB 患者停药前的病毒抑制状态确认及复发风险分层 <sup>[27]</sup> ;非肝硬化 CHB 患者 HCC 风险的分层预测 <sup>[28]</sup> ;抗病毒治疗后 cccDNA 转录活性的间接评估 <sup>[29]</sup>                                               |
| HBV RNA 检测           | 血清前基因组 RNA  | 10~30 IU/mL <sup>[30]</sup> | 抗病毒治疗应答不佳的原因分析 <sup>[25]</sup> ;初治患者 HBV RNA 与 HBV DNA 共存模式分析,揭示不同病毒学特征 <sup>[31]</sup> ;早期治疗(12 周)血清 HBV RNA 下降幅度预测 HBeAg 血清转换 <sup>[32]</sup> ;评估停药后病毒学复发风险 <sup>[25]</sup>                                              |

CRISPR-Cas 系统,尤其是 CRISPR-Cas12a 和 CRISPR-Cas13a,以其高灵敏度、高特异度、高碱基分辨率和核酸识别可编程性等特点,已成为多种强大诊断工具的核心,正在彻底改变检测病毒的方式<sup>[33]</sup>。由表 1 可见,CRISPR-Cas 超敏 HBsAg 检测在特定临床场景下具有一定的应用价值,但在实际推广应用中仍面临诸多挑战,如活性降低、动力学减慢、复杂生物标本的干扰及缺乏统一标准化规范等<sup>[34]</sup>。CRISPR-Cas 检测技术通过核酸信号放大机制可实现 fg/mL 级的超高分析灵敏度<sup>[20]</sup>,且具有单核苷酸水平的高特异性<sup>[16]</sup>,检测时间缩短至 30~60 min<sup>[21]</sup>,但目前多为低通量检测,操作需一定的分子生物学技能,试剂成本较低但需配套专用荧光检测设备<sup>[33]</sup>,更适用于即时检测(POCT)与基层医疗机构的精准诊断。总之,CRISPR-Cas 系统与分子诊断的集成提升了分析灵敏度,为快速、便捷的病原体检测提供了坚实的技术支持,在生物医学、生物技术领域具有广泛应用前景<sup>[35]</sup>。

3 生物传感器

生物传感器是由生物识别元件、信号转换器和信号输出或放大元件构成的信号装置,它可针对某一特定目标,利用转换器将不同强度的输入信号转变为光信号、电信号、荧光等易检测的信号<sup>[36]</sup>。根据信号转换器的不同可分为光学、声学、电化学生物传感器,理想的生物传感器可灵敏、特异地识别靶标,在不影响细胞生长的同时实现信号耦合,可完成靶标高通量精确检测,在高通量筛选等相关研究中发挥重要作用<sup>[37]</sup>。乙肝生物传感器是利用生物物质,结合比色法、荧光法、拉曼光谱法、电化学检测等多种检测系统,对生物体液中 HBV 生物标志物进行检测的一类检测装置,在 HBV 生物标志物检测领域展现出良好的应用潜力<sup>[4]</sup>。

Bajpai 等<sup>[38]</sup>制备了一种用于检测 HBsAg 的超敏电化学免疫传感器,检出限低至 1.13 fg/mL,且在优化条件下,其电信号与 1.13 fg/mL~100 ng/mL 的 HBsAg 水平呈线性关系,在 HBV 快速诊断中具有良好的选择性、重复性和重要的应用潜力。Sanjay 等<sup>[39]</sup>研发了一种可重复使用、经济环保的聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)/纸张混合即插即用(PnP)免疫检测装置,通过分析物富集与高效洗涤提高分析灵敏度。该装置对 IgG 与 HBsAg 检出限分别为 200 pg/mL、270 pg/mL,分析灵敏度较商用 ELISA 试剂盒提高 10 倍以上,在传染病、癌症及其他重要生物分子的低成本但高分析灵敏度检测方面具有巨大潜力。Xu 等<sup>[40]</sup>开发了一种具有夹层结构的表面增强拉曼散射(SERS)传感器用于 HBsAg 检测,12 min 内实现 0.005 76 IU/mL 的高分析灵敏度,最终传感器在 0.05 IU/mL 阈值下表现出 100%的特异度和灵敏度,此研究为临床 HBsAg 超敏检测提供了理论与技术支撑。可视化 POCT 可将生物分子信号转为肉眼可读信号,适用于临床诊断与应急检测,有研究开发了带辅助等离子体赋能(TAPE)传感器,其对 HBsAg 检出限为 2.80 ng/mL,30 min 内可检测全血标本,还能高通量检测 6 种病毒标志物,结合智能手机成像和机器学习,是极具潜力的 POCT 诊断平台<sup>[41]</sup>。

目前,生物传感器在医疗检测领域提供了一种简单、快速、经济的策略,能为基础研究和临床诊断提供可靠的检测结果,展现出巨大的应用潜力。尽管已研发出多种可准确、灵敏、特异性检测生物标本中疾病相关分子的生物传感器,但受限于器件集成与小型化难度较大,其临床转化与实际应用仍面临诸多困难<sup>[42]</sup>。生物传感器技术检出限可达 pg/mL 至 fg/mL 级别<sup>[40]</sup>,检测时间为 15~30 min,部分可实现可视化

检测与多重分析<sup>[41]</sup>,另有部分传感器可重复使用进一步降低耗材成本,在床旁检测与现场快速筛查中展现出良好的应用前景。将生物传感器集成到便携式、植入式等设备中可实现多重便捷检测,有望改善资源匮乏地区的检验诊断和健康管理方式<sup>[43]</sup>。

#### 4 微流控纸质分析

近些年,已开发出微型化检测设备以实现现场检测。微流控纸质分析设备( $\mu$ PADs)是微型化大型仪器实现 POCT 的最有前景的平台之一<sup>[4]</sup>。 $\mu$ PADs 是微流控技术的核心分支,也是当前 POCT 领域的研究热点,尤其在 HBV 血清标志物(如 HBsAg)的超敏、现场、低成本检测中具备极高的应用价值。

Chen 等<sup>[44]</sup>开发了一种新型纸基电化学发光生物传感平台,用于 HBsAg 检测,通过优化的磁悬浮夹心免疫分析方案,实现了临床标本中 HBsAg 的快速、灵敏检测,检出限低至 34.2 pg/mL,表现出高分析灵敏度、高选择性与良好的重现性,其性能优于 CLIA 和 ELISA。Abu 等<sup>[45]</sup>总结了 HBsAg 检测侧向流分析(LFA)的高敏技术,通过金纳米颗粒优化、量子点/磁性纳米颗粒信号放大等策略,将检出限最低降至 0.06 ng/mL,较传统试纸提升超 30 倍,为乙肝现场即时筛查、低浓度感染检测提供了高效方案。Boonkaew 等<sup>[46]</sup>将电化学技术与微流控纸基分析器件相结合,开发了一种基于纸质用于连续免疫传感流体输送的顺序 ePAD,实现对 HBsAg 和丙型肝炎核心抗原(HCV-cAg)的同时检测,对 HBsAg 的检出限低至 18.2 pg/mL,该 ePAD 操作简便、便携易用、可拓展性强,在其他多种生物检测领域展现出良好的应用前景。

$\mu$ PADs 无需样品预处理即可进行准确、可靠的直接检测,能够减轻患者的医疗负担并快速得出检测结果,帮助医生选择合适的治疗方案<sup>[47]</sup>。由于真实临床样本验证有限、信号读数不一致且难以量化、长期储存稳定性研究不足等问题存在,无法广泛应用于临床实践<sup>[48]</sup>。 $\mu$ PADs 设备包括侧向流分析等传统形式,检出限通常为 ng/mL 级别<sup>[45]</sup>,结合 CRISPR 或纳米颗粒信号放大技术可提升至 0.1 IU/mL 左右<sup>[46]</sup>,检测时间极短,材料成本极低且无需复杂专业设备,非专业人员即可操作,特别适合资源有限地区的大规模现场筛查<sup>[47]</sup>。但与传统微流控技术相比, $\mu$ PADs 具有简便性、成本效益、稳定性、可储存性、一次性和便携性等优势<sup>[49]</sup>,在临床检验诊断等领域仍显示出巨大的应用潜力。

#### 5 其他超敏 HBsAg 检测技术

高效、高灵敏、简便稳定、低成本的病毒标志物检测方法,对 HBV 早期诊断至关重要,尤其要适配基层医疗场景。

有研究构建了一种基于双功能聚苯乙烯纳米球(PS)与金纳米颗粒(AuNPs)的 HBsAg 可视化免疫比色检测方法,可快速、高灵敏度、高特异度检测 HB-

sAg,血清检测回收率为 88.17%~102.50%,相对标准偏差(RSD)为 2.01%~4.52%,肉眼检出限为 0.5 ng/mL,酶标仪低至 0.01 ng/mL,在灵敏、可靠及低成本的医疗诊断方面具有广阔的前景<sup>[50]</sup>。Wu<sup>[51]</sup>采用侧壁间隔层蚀刻技术制备出多晶硅纳米线场效应管(NWFET)生物传感器,探讨了纳米线长度与数量对 HBsAg 检测性能的影响,该传感器检测下限低至 800 ag/mL,明确了纳米线参数与分析灵敏度的关联规律,为 HBsAg 高敏检测传感器的研发制备提供了实验依据。现有第二代 HBsAg 检测试剂定量下限(LLOQ)为 0.005 IU/mL,研究人员基于 iTACT 技术开发出新型 iTACT-HBsAg 试剂检测 LLOQ 低至 0.000 5 IU/mL,分析灵敏度较第二代试剂提升 10 倍,该试剂在 OBI 患者中检出率更高,为慢性乙肝隐匿感染阶段的血清学检测提供了更灵敏的解决方案<sup>[52]</sup>。有研究验证了 ARCHITECT HBsAg Next(HBsAgNx)的检测性能,其检出限低至 0.004 IU/mL,分析灵敏度显著提升,可检出常规方法阴性的 HBsAg 清除及 HBsAg DNA 阴性标本,特异度与常规试剂相当,在 HBV 全感染阶段表现更优,适配低成本内部中和试验确认低水平 HBsAg<sup>[23]</sup>,可更好地预防 HBV 传播与再激活,也有助于更有效地制订和实施预防 HBV 相关并发症的策略<sup>[53]</sup>。这些方法为 HBsAg 快速筛查与现场检测提供了新型可靠技术方案。

这类超敏 HBsAg 检测技术在灵敏度、特异度和场景适用性方面取得了多项突破。它们不仅克服了传统检测方法在识别 OBI 及监测 HBV 再激活方面的临床挑战,还为基层医疗机构开展 HBV 早期筛查与诊断提供了简便、快速且灵敏的技术方案。未来随着技术的持续优化与成本的进一步控制,此类超敏检测方案有望在基层推广普及,为乙肝的全面防控及实现消除目标提供坚实的技术支撑。

#### 6 结论与展望

HBV 是全球面临的重大健康挑战,传统检测方法在免疫功能低下人群、OBI 患者或 HBV 再激活患者等高风险人群中,实现早期且准确检测尤为困难<sup>[54]</sup>。本文系统综述了超敏 HBsAg 检测技术的最新研究进展,详细介绍了 CLIA、CRISPR-Cas 检测、生物传感器及微流控纸基分析装置四大主流技术平台的检测原理与性能特点,对比了与 HBV 核酸检测的技术差异,并分析了不同平台的成本效益与适用场景。研究表明,具有更低检出限、高分析灵敏度与高特异度的诊断工具,不仅对识别活动性感染至关重要,也可用于监测治疗反应和确定治疗终点<sup>[55]</sup>。

超敏 HBsAg 检测技术现阶段主要面临的问题与挑战:(1)标准化程度不足。不同厂商的检测试剂、平台及结果判读标准存在差异,给临床诊疗结果的一致性带来挑战。(2)新兴技术临床转化滞后。CRISPR-Cas、生物传感器及  $\mu$ PADs 等技术大多处于实验室研发

阶段,缺乏大样本临床数据验证,且复杂生物标本干扰等技术瓶颈尚未完全突破。(3)成本与性能难以平衡。高灵敏的进口 CLIA 平台检测成本较高,而低成本的  $\mu$ PADs 等技术分析灵敏度较低,难以同时满足基层医疗机构对高分析灵敏度与低成本的双重需求。

综上所述,超敏 HBsAg 检测技术凭借高分析灵敏度、精准的定量能力及良好的特异度等特点,逐渐成为 HBV 感染临床诊疗和科研实践的核心技术,同时其临床应用也不断开展,在 OBI 筛查、抗病毒治疗疗效监测等方面的应用价值得到证实。未来,超敏 HBsAg 检测技术将向更高分析灵敏度、更便捷化和更标准化方向发展,推动超敏 HBsAg 检测技术更好地服务于 HBV 感染的防控和诊疗工作,为全球消除乙肝贡献力量。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突。

**作者贡献** 公庆豪、裘敏丽、成军:负责文献检索,撰写文章;戴玉柱:负责修改和审校文章。

#### 参考文献

- [1] Hsu Y C, Huang D Q, Nguyen M H. Global burden of hepatitis B virus; current status, missed opportunities and a call for action [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2023, 20(8): 524-537.
- [2] 李亚兰, 马圆艳, 汪德强, 等. 乙肝病毒核酸检测方法研究进展[J]. 重庆医科大学学报, 2025, 50(2): 152-157.
- [3] Al-Busafi S A, Alwassief A. Global perspectives on the hepatitis B vaccination: challenges, achievements, and the road to elimination by 2030[J]. Vaccines, 2024, 12(3): 288.
- [4] Tyas A A, Raeni S F, Sakti S P, et al. Recent advances of hepatitis B detection towards paper-based analytical devices[J]. Sci World J, 2021, 2021(1): 6643573.
- [5] Jiang X, Tian J, Song L, et al. Multi-omic molecular characterization and diagnostic biomarkers for occult hepatitis B infection and HBsAg-positive hepatitis B infection[J]. Front Endocrinol, 2024, 15: 1409079.
- [6] Prakash A, Ponnuvel S, Devadasan J D C, et al. ARCHITECT HBsAg Next assay is positioned better to resolve and refine challenging weak reactive clinical samples[J]. J Clin Virol, 2023, 166: 105524.
- [7] 王陆军. 不同化学发光免疫分析方法对乙型肝炎患者血清学标志物检测结果的影响[J]. 实用检验医师杂志, 2023, 15(3): 284-286.
- [8] 赵艳争, 陈凯, 王学菊. 两种免疫检验方法检测乙肝病毒感染血清标志物的对比分析[J]. 中国医疗器械信息, 2022, 28(2): 4-7.
- [9] Kusumoto S, Tanaka Y, Suzuki R, et al. Ultra-high sensitivity HBsAg assay can diagnose HBV reactivation following rituximab-based therapy in patients with lymphoma[J]. J Hepatol, 2020, 73(2): 285-293.
- [10] Shen L, Zhang Y, Shi M, et al. Performance evaluation of the MAGLUMI Hepatitis B virus surface antigen chemiluminescence immunoassay [J]. J Med Virol, 2024, 96(7): e29817.
- [11] Makvandi M. Update on occult hepatitis B virus infection [J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(39): 8720-8734.
- [12] 令海英. 化学发光与酶联免疫吸附试验在乙肝病毒血清学检验中的应用对比[J]. 智慧健康, 2023, 9(23): 13-16.
- [13] Lee J H, Kim H S. Current laboratory tests for diagnosis of hepatitis B virus infection[J]. Int J Clin Pract, 2021, 75(12): e14812.
- [14] Nicolai E, Sarubbi S, Pelagalli M, et al. Performance evaluation of the new chemiluminescence immunoassay CL-1200i for HBV, HIV panels [J]. Diseases, 2023, 11(2): 83.
- [15] 宁韶辉, 尹冠群, 唐翠连, 等. NAT 检测及化学发光免疫技术在乙型肝炎病毒检测中的应用[J]. 实用预防医学, 2022, 29(6): 759-761.
- [16] Kostyusheva A, Brezgin S, Babin Y, et al. CRISPR-Cas systems for diagnosing infectious diseases[J]. Methods, 2022, 203: 431-446.
- [17] Kaminski M M, Abudayyeh O O, Gootenberg J S, et al. CRISPR-based diagnostics[J]. Nat Biomed Eng, 2021, 5(7): 643-656.
- [18] Kadam U S, Cho Y, Park T Y, et al. Aptamer-based CRISPR-Cas powered diagnostics of diverse biomarkers and small molecule targets[J]. Appl Biol Chem, 2023, 66(1): 13.
- [19] Chuaypen N, Sriprapun M, Praianantathavorn K, et al. Kinetics of serum HBsAg and intrahepatic cccDNA during pegylated interferon therapy in patients with HBeAg-positive and HBeAg-negative chronic hepatitis B[J]. J Med Virol, 2017, 89(1): 130-138.
- [20] Li M, Tao C, Tang Z, et al. Ultrasensitive clinical identification of hepatitis B surface antigen (HBsAg) by CRISPR-assisted nanopore sensing [J]. Biosens Bioelectron, 2025, 286: 117579.
- [21] Suzuki H, Tong G, Nath P, et al. Origami paper-based immunoassay device with CRISPR/Cas12a signal amplification[J]. ACS Sens, 2025, 10(3): 1811-1821.
- [22] Wu D, Kao J H, Piratvisuth T, et al. Update on the treatment navigation for functional cure of chronic hepatitis B: expert consensus 2. 0 [J]. Clin Mol Hepatol, 2025, 31: S134-S164.
- [23] Steve R J, Prakash A, Ponnuvel S, et al. Versatile performance edges of HBsAg next assay in diagnosis and therapeutic monitoring of HBV infection[J]. J Clin Virol, 2023, 160: 105378.
- [24] Wang X, Chi X, Wu R, et al. Serum HBV RNA correlated with intrahepatic cccDNA more strongly than other HBV markers during peg-interferon treatment [J]. Virol J, 2021, 18(1): 4.
- [25] Tian Y, Yu H, Chen J. Emerging serum biomarkers for chronic hepatitis B: focus on serum HBV RNA and HBcrAg[J]. J Clin Transl Hepatol, 2025, 13(9): 766-775.
- [26] Watanabe M, Toyoda H, Kawabata T. Rapid quantification assay of hepatitis B virus DNA in human serum and plasma by Fully Automated Genetic Analyzer  $\mu$ TASWako gl [J]. PLoS One, 2023, 18(2): e0278143.
- [27] Suzuki T, Tamori A, Matsuura K, et al. Clinical useful-

- ness of an ultra-high-sensitivity hepatitis B surface antigen assay to determine the cessation of treatment for HBV reactivation[J]. *Ann Hepatol*, 2025, 30(1):101764.
- [28] Kim G A, Lim Y S, Han S, et al. Viral load-based prediction of hepatocellular carcinoma risk in noncirrhotic patients with chronic hepatitis B; a multinational study for the development and external validation of a new prognostic model[J]. *Ann Intern Med*, 2024, 177(10):1308-1318.
- [29] Testoni B, Scholtès C, Plissonnier M L, et al. Quantification of circulating HBV RNA expressed from intrahepatic cccDNA in untreated and NUC treated patients with chronic hepatitis B[J]. *Gut*, 2024, 73(4):659-667.
- [30] Maasoumy B, Geretti A M, Frontzek A, et al. HBV-RNA co-amplification may influence HBV DNA viral load determination[J]. *Hepatol Commun*, 2020, 4(7):983-997.
- [31] Hao K Y, Fan Y, Zhang Y Q, et al. Coexisting patterns and significance of serum HBV RNA and HBV DNA in patients with treatment-naïve chronic hepatitis B virus infection[J]. *Front Med*, 2024, 11:1525476.
- [32] Zhang X, Lu F, Wu R, et al. Clinical value of serum HBV RNA in patients with chronic hepatitis B during antiviral therapy[J]. *PeerJ*, 2025, 13:e20275.
- [33] Yin L, Man S, Ye S, et al. CRISPR-Cas based virus detection; recent advances and perspectives[J]. *Biosens Bioelectron*, 2021, 193:113541.
- [34] Jayakumar S, Vengadassalopathy S, Venkadassalopathy S, et al. Advancements and applications of split technology in CRISPR/Cas12a; transforming molecular diagnostics and biosensing[J]. *Biosensors*, 2025, 15(9):595.
- [35] Huang Y, Chen Z, Huang H, et al. Important applications of DNA nanotechnology combined with CRISPR/Cas systems in biotechnology[J]. *RSC Adv*, 2025, 15(8):6208-6230.
- [36] D'Oelsnitz S, Nguyen V, Alper H S, et al. Evolving a generalist biosensor for bicyclic monoterpenes [J]. *ACS Synth Biol*, 2022, 11(1):265-272.
- [37] 韩熠然, 周梦凯, 韩静, 等. 色氨酸生物传感器在合成生物学中的研究进展及应用[J]. *生物工程学报*, 2025, 41(5):1720-1735.
- [38] Bajpai V K, Haldorai Y, Khan I, et al. Au@Zr-based metal-organic framework composite as an immunosensing platform for determination of hepatitis B virus surface antigen[J]. *Microchimica Acta*, 2021, 188(11):365.
- [39] Sanjay S T, Li M, Zhou W, et al. A reusable PMMA/paper hybrid plug-and-play microfluidic device for an ultra-sensitive immunoassay with a wide dynamic range[J]. *Microsyst Nanoeng*, 2020, 6:28.
- [40] Xu S, Wu X, Wu L, et al. Systematic optimization of universal real-time hypersensitive fast detection method for HBsAg in serum based on SERS[J]. *Analytical chemistry*, 2024, 96(17):6784-6793.
- [41] Wang L, Yue Y, Chen Y, et al. Tape-assisted nanoplasmonic biosensors for facile protein-on-chip visualization and multiplexed point-of-care diagnostics [J]. *Biosens Bioelectron*, 2026, 303:118573.
- [42] 姜嘉烨, 吴娅芳, 黄志强, 等. 电化学生物传感器在乳腺癌肿瘤标志物检测中的研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2023, 43(7):101-113.
- [43] 郭红莲, 路小欢, 李琪琳, 等. 新型电化学传感器在生物分子检测中的研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2024, 44(5):99-107.
- [44] Chen Y, Wang J, Liu Z, et al. A simple and versatile paper-based electrochemiluminescence biosensing platform for hepatitis B virus surface antigen detection[J]. *Biochem Eng J*, 2018, 129:1-6.
- [45] Abu N, Mohd Bakhori N, Shueb R H. Lateral flow assay for hepatitis B detection: a review of current and new assays[J]. *Micromachines*, 2023, 14(6):1239.
- [46] Boonkaew S, Yakoh A, Chuaypen N, et al. An automated fast-flow/delayed paper-based platform for the simultaneous electrochemical detection of hepatitis B virus and hepatitis C virus core antigen[J]. *Biosens Bioelectron*, 2021, 193:113543.
- [47] Tanifuji Y, Citterio D. Progress toward real-world diagnostic applications of microfluidic paper-based analytical devices ( $\mu$ PADs)[J]. *Lab Chip*, 2026, 26(5):1191-1218.
- [48] Noviana E, Ozer T, Carrell C S, et al. Microfluidic paper-based analytical devices: from design to applications[J]. *Chem Rev*, 2021, 121(19):11835-11885.
- [49] Chen J L, Njoku D I, Tang C, et al. Advances in microfluidic paper-based analytical devices ( $\mu$ PADs): design, fabrication, and applications[J]. *Small Meth*, 2024, 8(11):2400155.
- [50] 陈如冰. 基于过氧化氢酶介导金纳米颗粒交联聚集的乙肝表面抗原可视化检测[J]. *材料导报*, 2022, 36(5):122-125.
- [51] Wu C C. Silicon nanowires length and numbers dependence on sensitivity of the field-effect transistor sensor for hepatitis B virus surface antigen detection[J]. *Biosensors*, 2022, 12(2):115.
- [52] Wong D K, Inoue T, Mak L Y, et al. A longitudinal study to detect hepatitis B surface and core-related antigens in chronic hepatitis B patients with hepatitis B surface antigen seroclearance using highly sensitive assays[J]. *J Clin Virol*, 2023, 160:105375.
- [53] Wong D K, Chen C, Mak L Y, et al. Detection of the hepatitis B surface antigen in patients with occult hepatitis B by use of an assay with enhanced sensitivity[J]. *J Clin Microbiol*, 2022, 60(2):e0220421.
- [54] Saitta C, Pollicino T, Raimondo G. Occult hepatitis B virus infection; an update[J]. *Viruses*, 2022, 14(7):1504.
- [55] Gupta E, Bhugra A, Samal J, et al. Performance evaluation of an improved HBsAg assay (HBsAg NEXT) for the detection of HBsAg levels [J]. *J Lab Physicians*, 2023, 15(4):533-538.