

# 昆明地区 HBsAg 与抗-HBs 双阳性慢性 HBV 感染患者流行病学调查及 *PreS/S* 基因突变特征\*

白丽萍<sup>1</sup> 张颖慧<sup>1</sup> 杨雪艳<sup>1</sup> 白丽仙<sup>2</sup> 马志坚<sup>3</sup>

(1. 云南大学附属医院消化内科, 云南 昆明 650021; 2. 玉溪市人民医院儿科, 云南 玉溪 653199;

3. 昆明市第一人民医院急诊科, 云南 昆明 650031)

**【摘要】** 目的 探讨昆明地区 HBsAg 与抗-HBs(Anti-HBs)双阳性乙型肝炎病毒(HBV)感染患者流行病学及 *PreS/S* 基因突变特征。方法 选择 2018 年 5 月—2022 年 4 月于云南大学附属医院住院及门诊定量检测乙肝两对半的 438 例慢性 HBV 感染患者为观察对象,将 202 例 HBsAg(+)/抗-HBs(+)患者作为观察组,将 236 例 HBsAg(+)/抗-HBs(-)患者作为对照组,对比两组患者临床特征。使用巢式聚合酶链反应扩增出 *PreS/S* 基因全长序列,确定基因型并分析 *PreS/S* 基因突变特征。结果 观察组患者在 <10 岁及高于 80 岁人群中的流行率较高,而对照组在 20~49 岁人群中的流行率较高。与对照组比较,观察组患者年龄、HBsAg<250 IU/mL 比例、C 型 HBV 感染及乙肝携带者比例均显著增加( $P<0.05$ )。成功扩增 *PreS/S* 并测序成功的观察组样本共 132 例,其中 B 型基因 81 例,C 型基因 51 例;对照组样本中 B 型基因 110 例,C 型基因 65 例。B 型基因患者中,与对照组比较,观察组 N 末端区域突变率明显增加( $P<0.05$ )。C 型基因患者中,与对照组比较,观察组 MHR、a 决定簇及 N 末端区域突变率明显增加( $P<0.05$ )。在观察组中,81 例 B 型基因患者中 *PreS* 基因缺失突变 14 例(17.28%),51 例 C 型基因患者中 *PreS* 基因缺失突变 19 例(37.25%),而在对照组中未发现 *PreS* 基因缺失突变。结论 HBsAg/抗-HBs 双阳性 HBV 感染者在 <10 岁及高于 80 岁 HBsAg 阳性人群多见,HBsAg/抗-HBs 双阳性可能与 HBsAg 突变及 *PreS* 基因突变有关。

**【关键词】** 乙型肝炎病毒;乙型肝炎病毒表面抗原;抗乙型肝炎病毒表面抗原抗体;*PreS/S* 区基因;突变

**【中图分类号】** R512.6<sup>+</sup>2 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2023.12.014

## Epidemiological investigation and mutation characteristics of *pres/s* gene in patients with chronic HBV infection with double positive HBsAg and anti HBS in the region

BAI Liping<sup>1</sup>, ZHANG Yinghui<sup>1</sup>, YANG Xueyan<sup>1</sup>, BAI Lixian<sup>2</sup>, MA Zhijian<sup>3</sup>

(1. Department of Gastroenterology, The Affiliated Hospital of Yunnan University, Kunming 650021, China;

2. Department of Pediatrics, Yuxi People's Hospital, Yuxi 653199, Yunnan, China;

3. Department of Emergency, The First People's Hospital of Kunming, Kunming 650031, China)

**【Abstract】** **Objective** To investigate the epidemiology and mutation characteristics of *pres/s* gene in patients with hepatitis B virus (HBV) infection with double positive HBsAg and anti HBS (anti HBS) in Kunming area. **Methods** From May 2018 to April 2022, 438 patients with chronic HBV infection who quantitatively detected two and a half pairs of hepatitis B in our hospital and outpatient department were selected as the research objects. 202 HBsAg (+) /anti HBS (+) double positive patients were taken as the experimental group, and 236 HBsAg (+) /anti HBS (-) patients were taken as the control group. The difference of clinical data between the two groups were analyzed. The full-length sequence of *pres/s* gene was amplified by nested polymerase chain reaction, and the genotype was determined and the mutation characteristics of *pres/s* gene were analyzed. **Results** The prevalence rate of patients in the experimental group is higher in the population aged < 10 and above 80, while the prevalence rate of patients in the control group is higher in

基金项目:云南省基础研究计划(2019FE001)

通讯作者:马志坚,E-mail:davidrochest@163.com

引用本文:白丽萍,张颖慧,杨雪艳,等.昆明地区 HBsAg 与抗-HBs 双阳性慢性 HBV 感染患者流行病学调查及 *PreS/S* 基因突变特征[J].西部医学,2023,35(12):1793-1797. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2023.12.014

the population aged 20–49. Compared with the control group, the age of patients in the experimental group, the proportion of HBsAg < 250iu/ml, the infection of type C HBV and the proportion of hepatitis B carriers were significantly increased ( $P < 0.05$ ). A total of 132 HBsAg (+) / anti HBS (+) samples were successfully amplified and sequenced, including 81 B-type genes and 51 C-type genes; In HBsAg (+) / anti HBS (-) samples, there were 110 cases of B-type gene and 65 cases of C-type gene. In patients with type B gene, the mutation rate of N-terminal region in double positive group was significantly higher than that in single positive group ( $P < 0.05$ ). In patients with type C gene, compared with the single positive group, the mutation rates of MHR, a determinant and N-terminal region in the double positive group were significantly increased ( $P < 0.05$ ). Among 81 patients with type B gene, 14 (17.28%) had deletion mutation of pres gene, and 19 (37.25%) had deletion mutation of pres gene in 51 patients with type C gene, but no deletion mutation of pres gene was found in the single positive group. **Conclusion** HBsAg / anti HBS double positive HBV infection is common in HBsAg positive people aged < 10 and above 80. The rates of HBsAg mutation and PreS gene deletion mutation in double positive patients were higher than those in single positive patients, suggesting that double positive HBsAg/anti HBs may be related to HBsAg mutation and PreS gene mutation.

**【Key words】** Hepatitis B virus; Hepatitis B virus surface antigen; Anti HBsAg antibody; Pres/s region gene; Mutation

乙型病毒性肝炎(以下简称乙型肝炎)是乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染常见的慢性病毒感染疾病<sup>[1]</sup>,临床上通常采用血清学标志物对乙型肝炎进行筛查,其中乙型肝炎表面抗原(Hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)具有较强的免疫原性,可诱导机体产生抗-HBs,从而与外周血中循环 HBsAg 和 HBV 颗粒进行特异性中和反应,二者无法共存<sup>[2-3]</sup>。然而,临床研究证实<sup>[4]</sup>,HBV 感染者可能存在 HBsAg/抗-HBs 双阳性的异常情况,且机制尚不明确。有研究发现 HBsAg 与抗-HBs 双阳性可能会促进肝纤维化、肝细胞癌的发生和发展<sup>[5]</sup>。目前的研究<sup>[6-7]</sup>认为,HBsAg/抗-HBs 均为阳性与 HBsAg 的核苷酸序列发生变异有关,尤其是 MHR、a 决定簇突变,但由于患者感染 HBV 的基因型存在差异,导致国内外研究结果对于 HBsAg/抗-HBs 双阳患者 HBsAg 中氨基酸发生突变最常见位点存在差异。因此,本研究旨在对 HBsAg/抗-HBs 双阳性慢性 HBV 感染患者进行流行病学调查,并进一步分析患者 PreS 的基因突变特征,以期为临床提供参考。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2018 年 5 月—2022 年 4 月于云南大学附属医院门诊定量检测乙肝两对半的 438 例慢性 HBV 感染患者为观察对象,将 202 例 HBsAg/抗-HBs 同时阳性者作为观察组,将 236 例 HBsAg(+)/抗-HBs(-)的慢性 HBV 感染者作为对照组。纳入标准:① HBV DNA > 10<sup>3</sup> IU/mL, HBsAg 阳性。② 临床病理资料齐全。排除标准:① 合并其他病毒性肝炎。② 合并免疫功能障碍。

1.2 主要仪器与试剂 ADV2400 全自动生化分析仪(Simens,德国),荧光定量 PCR 仪(Roche,瑞士),

ABI7300 荧光定量 PCR 检测仪(ABI,美国)。HBV 核酸定量测定试剂盒(上海通派生物科技有限公司),病毒 DNA/RNA 提取试剂盒(ThermoFisher,美国),ALT 检测试剂盒(Simens,德国),Premix Taq、PMD 19-T Vector Cloning Kit、E. coli JM109 Competent Cells 及 PCR 产物纯化试剂盒(TaKaRa,日本)。

1.3 检测 HBsAg 与抗-HBs 采用化学发光仪进行 HBsAg 与抗-HBs 检测,检测过程严格按照试剂盒操作规程。判定标准:HBsAg > 0.05 IU/mL 为阳性;抗-HBs > 10 mIU/mL 为阳性。

1.4 血清 HBV DNA 提取及检测 采集血清样本,提取 HBV DNA,使用 ABI7300 荧光定量 PCR 检测仪进行定量检测,检测范围为  $5 \times 10^2 \sim 5 \times 10^9$  IU/mL。

1.5 HBV DNA 的 PreS/S 区 PCR 扩增与序列检测 使用 Expand High Fidelity PCR system 进行巢式 PCR 扩增,第一轮以 HBV DNA 为模板,第二轮以第一轮 PCR 产物为模板。PCR 引物由上海生工合成,第一轮扩增引物:HBV Del-F-out: 5'-GCCTCATTTT-GYGGGTCACCATATTC -3'; HBV Del-F-in: 5'-GGGT-CACCATATTCTTGGAACAAGA -3'; HBV-975: 5'-AATTCGTTGACANACTTTCCAATCAAT。第一轮 PCR 反应体系为: ExTaq 12.5  $\mu$ L、上下游引物各 0.5  $\mu$ L、并无菌去离子水补足至总体积 25  $\mu$ L。PCR 反应条件为: 95  $^{\circ}$ C 变性 10 s, 55  $^{\circ}$ C 退火 15 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 共 39 个循环,最后 72  $^{\circ}$ C 修复延伸 5 min。第二轮 PCR 反应体系为: ExTaq 25  $\mu$ L、上下游引物各 1  $\mu$ L、并无菌去离子水补足至总体积 50  $\mu$ L。PCR 反应条件为: 95  $^{\circ}$ C 变性 10 s, 55  $^{\circ}$ C 退火 15 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 共 39 个循环,最后 72  $^{\circ}$ C 修复延伸 5 min。1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物目的条带,并送至上海生

工进行测序,测序结果用 CExpress、BioEdit 等软件进行拼接,并于 NCBI 的 GenBank 中 HBV 野生株对比,确定基因型。

1.6 统计学分析 数据分析采用 SPSS 23.0 版,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用  $t$  检验;计数资料使用(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者年龄频数分布 统计两组不同年龄段患者人数结果显示,观察组 HBV 感染者在 <10 岁及高于 80 岁 HBsAg 阳性人群更多见,而对照组 HBV 感染者在 20~49 岁 HBsAg 阳性人群更多见,见图 1。

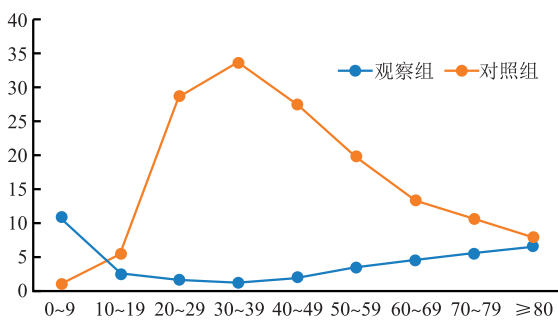


图 1 两组患者年龄频数分布折线图

Figure 1 Broken line graph of age frequency distribution of the two groups of patients

2.2 两组患者临床特征比较 与对照组比较,观察组患者年龄更大、HBsAg < 250 IU/mL 比例和 HBV 基因 C 型比例更高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

2.3 两组不同基因型患者临床资料比较 成功扩增 PreS/S 并测序成功的观察组样本共 132 例,其中 B 型基因 81 例,C 型基因 51 例;对照组样本中 B 型基因 110 例,C 型基因 65 例。对比两组患者临床资料,结果显示,与观察组比较,对照组 HBV DNA 更高,差异

表 1 两组患者临床特征比较 [ $n(\times 10^{-2}), (\bar{x} \pm s)$ ]

Table 1 Comparison of clinical characteristics between the two groups

项目	观察组 (n=202)	对照组 (n=236)	$\chi^2/t$	P
性别			0.570	0.454
男性	116(57.43)	127(53.81)		
女性	86(42.57)	109(46.19)		
年龄(岁)	51.65±16.78	45.88±15.64	4.835	<0.001
HBV DNA(log <sub>10</sub> IU/mL)			0.041	0.980
<4	121(59.91)	137(58.05)		
≥4	81(40.09)	99(41.95)		
HBsAg(IU/mL)			25.168	<0.001
<250	142(70.30)	96(40.68)		
≥250	60(29.70)	140(59.32)		
ALT(IU/L)			0.091	0.837
<40	146(72.28)	168(71.19)		
≥40	56(27.72)	68(28.81)		
HBeAg			0.525	0.601
+	51(25.25)	60(25.42)		
-	151(74.75)	176(74.58)		
HBV 疫苗接种史			1.698	0.193
是	8(3.96)	12(5.08)		
否	194(96.04)	224(94.92)		
家族性 HBV 感染史			0.848	0.357
是	10(4.95)	9(3.81)		
否	192(95.05)	227(96.19)		
抗病毒治疗史			0.605	0.546
是	19(9.41)	13(5.51)		
否	183(90.59)	223(94.49)		
HBV 基因型			4.246	0.009
B 型	75(37.13)	142(60.17)		
C 型	127(62.87)	94(39.83)		
临床诊断结果			3.985	0.027
乙肝携带者	147(72.77)	146(61.86)		
慢性乙型肝炎	36(17.82)	52(22.03)		
肝硬化	5(2.48)	14(5.93)		
肝癌	14(6.93)	24(10.18)		

具有统计学意义( $P < 0.05$ ),其他临床资料两组间比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

表 2 不同基因型患者临床资料比较 [ $n(\times 10^{-2}), (\bar{x} \pm s)$ ]

Table 2 Comparison of clinical data of patients with different genotypes

项目	B 型基因		P	C 型基因		P
	观察组 (n=81)	对照组 (n=110)		观察组 (n=51)	对照组 (n=65)	
年龄	47.25±10.20	51.31±11.26	0.088	55.35±12.78	50.66±11.80	0.069
男性	50(61.73)	81(73.64)	0.597	38(74.51)	27(41.54)	0.145
HBeAg+	38(46.91)	61(55.45)	0.462	33(64.71)	38(58.46)	0.689
HBV DNA(log <sub>10</sub> IU/mL)	6.01±1.58	6.96±1.19	0.021	6.15±1.23	7.23±1.04	0.018
ALT≥40 U/L	28(34.57)	42(38.18)	0.782	19(37.25)	25(38.46)	0.894

2.4 两组 HBsAg 氨基酸突变率比较 对比两组患者氨基酸突变率发现,B 型基因患者中,与对照组比较,观察组 N 末端区域突变率更高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),两组患者 C 末端区域、MHR、a 决定

簇突变率比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。C 型基因患者中,与对照组比较,观察组 MHR、a 决定簇及 N 末端区域突变率更高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 3。

表 3 不同基因型患者 HBsAg 氨基酸突变率比较 [ $n(\times 10^{-2})$ ]

Table 3 Comparison of amino acid mutation rate of HBsAg in patients with different genotypes

氨基酸序列	B 型基因		P	C 型基因		P
	观察组 (n=81)	对照组 (n=110)		观察组 (n=51)	对照组 (n=65)	
MHR(aa100-169)	40(49.38)	45(40.91)	0.625	35(68.63)	13(20.00)	0.020
a 决定簇(aa124-147)	28(34.57)	39(35.45)	0.987	35(68.63)	13(20.00)	0.020
N 末端区域(aa1-99)	61(75.31)	53(48.18)	0.024	51(100.00)	39(60.00)	0.008
C 末端区域(aa170-226)	53(65.43)	74(67.27)	0.992	48(94.12)	45(69.23)	0.105

2.5 两组 PreS 基因缺失突变特征 PreS 基因缺失突变位点及缺失大小,见表 4。132 份观察组样本中, PreS 基因缺失突变发生率为 25.00%(33/132),其中 81 例 B 型基因患者 PreS 基因缺失突变 14 例(17.28%),51 例 C 型基因患者中 PreS 基因缺失突

变 19 例(37.25%),而在对照组中未发现 PreS 基因缺失突变与对照组比较,观察组 PreS 基因缺失突变率更高(0/110 vs 33/81),差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 4 PreS 基因缺失突变位点及缺失大小

Table 4 PreS gene deletion mutation site and deletion size

PreS 基因型	缺失突变位点	缺失片段大小
B 型	aa42,aa53,aa103,aa104,aa154,aa156,aa161,aa112-131,aa40-76,aa105-108,aa105-129	3,3,3,3,3,3,3,60,111,12,63
C 型	aa66,aa128,aa130,aa21-28,aa89-115aa112-130,aa113-126,aa113-127	3,3,3,24,84,54,42,48

### 3 讨论

HBV 感染患者血清 HBsAg/抗-HBs 双阳性在临床 HBV 血清学标志物检测中不多见,目前机制尚不明确,多认为与基因突变、免疫逃逸及不同血清亚型共感染有关<sup>[8]</sup>。有研究<sup>[9]</sup>证实,HBsAg/抗-HBs 双阳性与肝纤维化、母婴阻断失败的发生密切相关,可能是诱发肝癌的独立危险因素。因此,对慢性 HBV 感染患者的临床特征进行分析,并探究其流行病学模式对于肝病防治具有重要意义。

本研究结果显示,HBsAg/抗-HBs 双阳性 HBV 感染者在 <10 岁及高于 80 岁 HBsAg 阳性人群多见,分析可能的原因为低龄儿童机体免疫功能尚未完善,随着年龄的增长,免疫系统逐渐发育成熟,抗 HBs 阳性率逐渐降低<sup>[10]</sup>;对于老年人群,其易感染不同基因型 HBV,且其免疫功能较年轻人群显著降低,HBV S 蛋白突变增加,抗 HBs 阳性率逐渐增加<sup>[11]</sup>。而 HBsAg(+)/抗-HBs(-)患者在 30~39 岁 HBsAg 阳性人群更多见,分析可能的原因为上世纪 90 年代开始我国开始推广新生儿 HBV 疫苗接种,极大的降低了新生儿的感染率,而 20~49 岁人群的获益情况不佳,感染率明显增加,随着机体功能的变化,HBV 感染者进展为肝癌、肝硬化等导致其死亡,降低了抗 HBs 阳性率<sup>[12]</sup>。进一步分析两组患者的临床特征发现,观察组患者年龄较对照组显著增加,HBsAg>250IU/mL 患者则较对照组显著降低,与傅晓春等<sup>[13]</sup>的研究结果一致。两组患者的临床诊断结果显示,观察组乙肝携带者比例较对照组显著增加,结合既往研究结果<sup>[14-15]</sup>,我们推测抗-HBs 对 HBsAg 具有部分中和作用,对 HBsAg/抗-HBs 双阳

性患者具有一定的保护效应。此外,C 型 HBV 感染者比例较对照组显著增加,而有研究结果显示,在我国南方城市 C 型 HBV 感染比例显著高于 B 型人群<sup>[16]</sup>,推测可能与基因突变位点相关。

目前的研究<sup>[17]</sup>认为,血清中 HBsAg/抗-HBs 双阳性与 HBsAg 突变,尤其是 MHR 和 a 决定簇有关,HBsAg 突变可引起抗原性改变,抑制 HBsAg 与 HBs 的结合,导致血清 HBsAg/抗-HBs 双阳性。本研究中 HBsAg/抗-HBs 双阳性患者 HBV PreS/S 区核苷酸替换突变率高于单阳患者,与 B 型基因比较,C 型基因 HBsAg 突变率更高,且在 B 型基因患者中,单阳患者 N 末端区域突变显著低于双阳患者,而在 C 型基因患者中,双阳患者 MHR、a 决定簇及 N 末端区域氨基酸突变率均显著高于单阳患者。a 决定簇是 S 蛋白免疫优势区,位于 aa124~147<sup>[18]</sup>,本研究 C 型基因患者突变位点位于 a 决定簇 aa126 位点,与国外研究存在差异,推测可能与观察对象 HBV 基因型存在差异有关。研究<sup>[19]</sup>表明,C 型基因在病毒复制水平上明显高于 B 型基因,且更容易引起肝炎、肝硬化等。但 HBsAg/抗-HBs 双阳患者比例较低,相关的免疫突变关系仍需进行深入研究。HBsAg/抗-HBs 双阳性 HBV 感染患者中存在 PreS 基因缺失突变,PreS 编码的蛋白是病毒结合及免疫反应的重要靶点,其突变缺失可能导致肝损害加重<sup>[20]</sup>。本研究中双阳 HBV 感染患者 PreS 基因缺失突变发生率为 25.00%,且在 B 型和 C 型基因患者中存在显著差异,而在单阳患者中未发现 PreS 基因缺失突变。但本研究纳入的样本量较少且数据来自单一中心,增加了选择偏倚的风险,尚

需增加样本数量及来源深入研究以得出更为可靠的结论。

#### 4 结论

HBsAg/抗-HBs 双阳性 HBV 感染者在 <10 岁及高于 80 岁 HBsAg 阳性人群多见,提示 HBsAg/抗-HBs 双阳性可能与 HBsAg 突变及 PreS 基因突变有关。

#### 【参考文献】

- [1] TU T, ZHANG H, URBAN S. Hepatitis B Virus DNA Integration: In Vitro Models for Investigating Viral Pathogenesis and Persistence[J]. *Viruses*, 2021,13(2):180. doi: 10.3390/v13020180.
- [2] WANG H, WANG M, HUANG J, *et al.* Novel hepatitis B virus surface antigen mutations associated with occult genotype B hepatitis B virus infection affect HBsAg detection[J]. *J Viral Hepat*, 2020,27(9):915-921.
- [3] TARAFDAR S, VIRATA M L, YAN H, *et al.* Multiple epitopes of hepatitis B virus surface antigen targeted by human plasma-derived immunoglobulins coincide with clinically observed escape mutations [J]. *J Med Virol*, 2022,94(2):649-658.
- [4] JIANG X, CHANG L, YAN Y, *et al.* Paradoxical HBsAg and anti-HBs coexistence among Chronic HBV Infections: Causes and Consequences[J]. *Int J Biol Sci*, 2021,17(4):1125-1137.
- [5] KWAK M S, CHUNG G E, YANG J I, *et al.* Long-term outcomes of HBsAg/anti-HBs double-positive versus HBsAg single-positive patients with chronic hepatitis B[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):19417. doi: 10.1038/s41598-019-56015-8.
- [6] LIU H, SHEN L, ZHANG S, *et al.* Complete genome analysis of hepatitis B virus in Qinghai-Tibet plateau: the geographical distribution, genetic diversity, and co-existence of HBsAg and anti-HBs antibodies[J]. *Virology*, 2020, 17(1):75. doi: 10.1186/s12985-020-01350-w.
- [7] AMIRHASHCHI F, AZARAN A, SEYEDIAN S S, *et al.* Occult Hepatitis B Virus Infection among  $\beta$ -Thalassemia Major Patients in Ahvaz City, Iran[J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2021,106(1):174-181.
- [8] HOU W, HUO Z, DU Y, *et al.* Characteristics of amino acid substitutions within the "a" determinant region of hepatitis B virus in chronically infected patients with coexisting HBsAg and anti-HBs [J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2020,44(6):923-931.
- [9] PONDE RAA. Expression and detection of anti-HBs antibodies after hepatitis B virus infection or vaccination in the context of protective immunity[J]. *Arch Virol*, 2019,164(11):2645-2658.
- [10] ZHANG X, ZOU H, CHEN Y, *et al.* The effects of increased dose of hepatitis B vaccine on mother-to-child transmission and immune response for infants born to mothers with chronic hepatitis B infection: a prospective, multicenter, large-sample cohort study[J]. *BMC Med*, 2021,19(1):148. doi: 10.1186/s12916-021-02025-1.
- [11] WANG R, LIU C, CHEN T, *et al.* Neonatal hepatitis B vaccination protects mature adults from occult virus infection[J]. *Hepatol Int*, 2021,15(2):328-337.
- [12] REN W, REN J, WU Z, *et al.* Long-term persistence of anti-HBs after hepatitis B vaccination among adults: 8-year results [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2020,16(3):687-692.
- [13] 傅晓春,陈静,叶爱珠,等.医院就诊人群 HBsAg 与抗 HBs 双阳性 HBV 感染者的流行病学与分子病毒学特征[J]. *临床检验杂志*, 2017,35(1):47-52.
- [14] FU X, CHEN J, CHEN H, *et al.* Mutation in the S gene of hepatitis B virus and anti-HBs subtype-nonspecificity contributed to the co-existence of HBsAg and anti-HBs in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. *J Med Virol*, 2017, 89(8):1419-1426.
- [15] QIAO Y, LU S, XU Z, *et al.* Additional N-glycosylation mutation in the major hydrophilic region of hepatitis B virus S gene is a risk indicator for hepatocellular carcinoma occurrence in patients with coexistence of HBsAg/anti-HBs [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(37):61719-61730.
- [16] 邹亚轩,王琳,刘笑春,等.乙肝表面抗原双试剂阳性 HBV-DNA 核酸检测阴性结果分析[J]. *中国输血杂志*, 2020,33(9):902-905.
- [17] 刘贺,沈立萍,张爽,等.表面抗原和表面抗体检测双阳性 CD 重组型乙型肝炎病毒全基因组序列分析[J]. *病毒学报*, 2020,36(3):400-406.
- [18] 龚渝蓉,张哈希,唐树萍,等.2016-2018 年德宏傣族景颇族自治州婚检人群 HBV 感染率及影响因素[J]. *中华疾病控制杂志*, 2021,25(1):48-53.
- [19] 朱锦宏,吴红,王春苗,等.乙肝患者血清 HBsAg 与 HBsAb 双阳性的临床分析[J]. *实用医学杂志*, 2019,35(4):638-640,644.
- [20] 范梦洁,曾争. HBV 感染者 HBsAg、抗-HBs 双阳性对肝细胞癌发生影响的 Meta 分析[J]. *临床肝胆病杂志*, 2019,35(8):1723-1727.

(收稿日期:2022-08-02;修回日期:2023-09-22;编辑:黎仕娟)