

عفونت نهفته هپاتیت B در اهداکنندگان خون شهرستان رفسنجان

محمد کاظمی عرب‌آبادی^{۱*}، علی‌اکبر پورفتح‌الله^۲، عبدالله جعفرزاده^۳، غلامحسین حسن‌شاهی^۴، محمدرضا افروز^۵، محمود حدادیان^۰

- ۱- مری، گروه میکروبیولوژی، ایمنولوژی و هماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ایران
- ۲- استاد، گروه ایمنولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- ۳- دانشیار، گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران
- ۴- استادیار، گروه هماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران
- ۵- کارشناس، سازمان انتقال خون ایران، مرکز رفسنجان، رفسنجان، ایران

درباره مقاله: ۸۷/۱۰/۸
پذیرش مقاله: ۸۷/۱۲/۲۱

چکیده

هدف: عفونت نهفته هپاتیت B یک فرم بالینی از بیماری هپاتیت B است که در آن فرد با وجود این‌که از نظر HBsAg منفی است اما دارای HBV-DNA در خون محيطی است. این فرم از بیماری مشکلات عدیدهای را در انتقال خون به وجود خواهد آورد. هدف از انجام این تحقیق بررسی وضعیت عفونت نهفته هپاتیت B در میان اهداکنندگان خون رفسنجان است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی توصیفی تعداد ۳۷۰۰ نمونه پلاسما از انتقال خون رفسنجان جمع‌آوری شد و بهوسیله آزمایش ELISA از نظر HBsAg و anti-HBc مورد ارزشیابی قرار گرفتند. بهمنظور بهدست آوردن موارد عفونت نهفته هپاتیت B تمام نمونه‌های HBsAg منفی و anti-HBc مثبت از نظر وجود HBV-DNA با روش واکنش تکثیر زنجیره‌ای (PCR) بررسی شدند.

نتایج: نتایج این تحقیق روی نمونه‌های HBsAg منفی نشان داد که ۳۵۲ نمونه ۹/۵۱ (درصد) از این نمونه‌ها از نظر anti-HBc مثبت هستند. با بررسی این نمونه‌های HBsAg منفی و anti-HBc مثبت از نظر HBV-DNA با آزمایش PCR، مشخص شد که ۵۷/۱۶ (درصد از افراد anti-HBc مثبت و HBsAg منفی و حدود ۱/۵۴ درصد از کل نمونه‌ها) نمونه HBV-DNA مثبت بودند.

نتیجه‌گیری: این نتایج با بررسی های قبلی محققان حاضر روی اهداکنندگان خون مطابقت دارد و آن‌ها را تأیید می‌کند. بنابراین بهنظر می‌رسد که شیوع این فرم از عفونت نهفته هپاتیت B در بین اهداکنندگان خون بالا است و باید بررسی بیشتری در ارتباط با امکان احتمال هپاتیت B بعد از تزریق خون و فراورده‌های خونی از این طریق به عمل آید.

کلیدواژگان: عفونت نهفته هپاتیت B، anti-HBc، HBsAg، HBV-DNA

۱- مقدمه

خطر انتقال عفونت از طریق انتقال خون طی سال‌های اخیر به شده است [۱، ۲، ۳]. هپاتیت B در میان عفونت‌های منتقل شده از میزان زیادی کاهش یافته است [۱]. اما با این وجود گزارش‌هایی

* نشانی مکاتبه: رفسنجان، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، دانشکده پزشکی، گروه میکروبیولوژی، ایمنولوژی و هماتولوژی، صندوق پستی: ۸۳۵-۷۷۱۷۵ Email: kazemi24@yahoo.com

طی (Fresh Frozen Plasma: FFP) به میزان ۰/۵ سی سی ماههای دی ۱۳۸۶ تا فروردین ۱۳۸۷ از مراجعه‌کنندگان به سازمان انتقال خون رفسنجان که دارای سنین بین ۱۸ تا ۵۰ سال داشتند جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها در ۲۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت دو ماه نگهداری شد و برای نگهداری بیش از دو ماه از دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. حجم کل نمونه براساس مطالعات گذشته و با استفاده از فرمول‌های آماری به تعداد ۳۵۰۰ نفر تعیین شد و در این تحقیق ۳۷۰۰ اهداکننده بررسی شد.

۲-۲- آزمایش‌های ELISA

برای غربال کردن نمونه‌ها از نظر HBsAg از کیت‌های ELISA تجاری (Behring, Germany) طبق رهنمودهای شرکت HBsAg سازنده، استفاده شد. نمونه‌های منفی دوباره از نظر آزمایش شدند. در این آزمایش از روش ساندویچ استفاده شد. سپس نمونه‌های HBsAg منفی با روش ELISA و با استفاده از کیت‌های تجاری (RADIM, Italy) برای غربال کردن نمونه‌ها از نظر anti-HBc (anti-Hepatitis B core antigen) anti-HBC (anti-Human Immunodeficiency Virus) anti-HIV نیز با کیت‌های تجاری (Behring, Italy) ELISA بررسی شدند.

۳-۲- استخراج DNA

برای استخراج HBV DNA از ۲۰۰ میکرولیتر پلاسما استفاده شد به‌گونه‌ای که ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر پلاسما با ۲۰۰ میکرولیتر پروتئیناز k (۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) مخلوط و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و سپس ۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس استخراج توسط روش استاندارد فل/کلروفرم انجام شد. بعد از تهشیش کردن DNA توسط اتانول مقدار ۳۰ میکرولیتر آب فاقد DNase (DNase free) DNase

طریق انتقال خون بیشترین میزان انتقال را به خود اختصاص داده است [۲]؛ به‌گونه‌ای که چندین مطالعه (Hepatitis B Virus: HBV) از طریق انتقال خون (Post Transfusion Hepatitis: PTH) از گزارش کردند [۲، ۴]. برای کاهش انتقال HBV از طریق خون و فراورده‌های آن از آزمایش غربالی الایزا (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA) برای تشخیص HBsAg در فراورده‌های خونی استفاده می‌شود [۵]؛ اما با این وجود گزارش‌هایی مبنی بر انتقال عفونت HBV از طریق خون‌های HBsAg منفی وجود دارد [۲، ۵] که نشان می‌دهد بررسی فراورده‌های خونی از نظر HBsAg برای تشخیص آلدگی به HBV کفایت نمی‌کند. از آنجا که PCR یک آزمایش بسیار حساس بوده و قادر است مقادیر پایین DNA را در نمونه تشخیص دهد [۶، ۵]، می‌توان از آن به عنوان آزمایش حساس‌تر استفاده کرد به‌گونه‌ای که می‌توان آلدگی به HBV را در غیاب HBsAg تشخیص داد [۵]. با توجه به این که anti-HBc اولین آنتی‌بادی است که علیه HBV قابل اندازه‌گیری است و تیتر بالاتری از همه آنتی‌بادی‌های دیگر دارد [۵، ۷]، می‌توان به عنوان آزمون تکمیلی از این آنتی‌بادی برای تشخیص هپاتیت B در افرادی که با HBV برخورد داشته‌اند استفاده کرد [۵]. با توجه به این که یکی از دلایل اصلی ایجاد PTH وجود فرم بالینی عفونت نهفته هپاتیت B (Occult hepatitis B virus (HBV) Infection: OBI) است [۵، ۸] و محققان حاضر نیز در مطالعات قبلی به بررسی این فرم از عفونت پرداخته بودند [۱۰، ۸] پژوهه حاضر برای بررسی وضعیت OBI در میان اهداکنندگان خون شهرستان رفسنجان طراحی شده تا تأییدی بر وضعیت کنونی OBI در میان اهداکنندگان خون این منطقه جغرافیایی باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- جمع آوری نمونه

تعداد ۳۷۰۰ عدد پلاسمای تازه منجمد شده

اهداکنندگان خون مراجعه کننده به سازمان انتقال خون رفسنجان انجام شد. نتایج آزمایش‌های ELISA به منظور تشخیص و اندازه‌گیری HBsAg نشان داد که تمامی نمونه‌ها (۱۰۰ درصد) از نظر HBsAg منفی بودند و تمامی اهداکنندگان از نظر HCV و HIV نیز منفی بودند. با انجام آزمایش ELISA به منظور تعیین وجود anti-HBc در اهداکنندگان HBsAg منفی، مشخص شد که ۳۵۲ نمونه (۹/۵۱ درصد) از نظر anti-HBc مثبت بودند. با بررسی این نمونه‌های HBsAg منفی و anti-HBc مثبت با PCR مشخص شد که ۵۷ (۱۶/۱ درصد از افراد anti-HBc مثبت و HBsAg منفی) نفر از آن‌ها DNA-HBV مثبت بودند (جدول ۱). شکل ۱ نتایج این الکتروفورز را نشان می‌دهد. با مقایسه آزمون حاضر با کیت‌های HBV-DNA-PCR از شرکت CinnaGen که قادر به رهگیری ۱۰۰ نسخه DNA در هر دسی‌لیتر هستند مقایسه شدند که نتایج یکسانی را در برداشتند. بنابراین می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که آزمون HBV-DNA حاضر قادر به رهگیری حداقل ۱۰۰ نسخه از در هر دسی‌لیتر خون محیطی است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود ستون‌های ۴ و ۵ حاوی باند ۱۰۰ جفت‌بازی هستند که نشان‌دهنده مثبت بودن این نمونه‌ها است. نتایج این تحقیق نشان داد که ۱۶/۱ درصد از نمونه‌های HBsAg منفی و anti-HBc مثبت از نظر HBV مثبت بودند و حدود ۱/۵۴ درصد از کل نمونه‌ها به HBV آلوده بودند که نشان‌دهنده OBI در اهداکنندگان خون است (جدول ۱).

جدول ۱ تعداد کل اهداکنندگان مورد بررسی و همچنین نتایج حاصل از بررسی‌های آزمایشگاهی نشانگرهای HBV را نشان می‌دهد.

موارد HBV-DNA مثبت در میان اهداکنندگان anti-HBc مثبت	موارد HBV-DNA مثبت در میان اهداکنندگان	موارد anti-HBc مثبت در میان اهداکنندگان	موارد HBsAg مثبت در میان اهداکنندگان	تعداد کل اهداکننده موربد بررسی
۵۷ نفر (۱۶/۱ درصد)	۵۷ نفر (۱/۵۴ درصد)	۲۵۲ نفر (۹/۵۱ درصد)	۰ نفر (۰ درصد)	۳۷۰۰ نفر

سانتی‌گراد نگهداری شد.

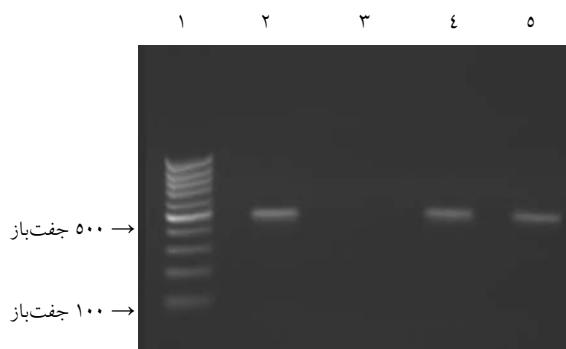
۴-۲ PCR و الکتروفورز

PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد که شامل این موارد بود: ۱۰ میلی‌مولار، Tris-HCL KCl ۱/۵ میلی‌مولار، ۰/۶ میکرومول از هر dNTP، ۰/۶ میکرومول از هر آغازگر (Primer)، ۵۰۰ نانوگرم از DNA استخراج شده (Taq DNA Taq DNA پلیمراز polymerase) به همراه ۵ واحد آنزیم PCR به این گونه بود: یک چرخه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۵/۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و سپس ۳۵ چرخه به صورت: ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و ۵۸/۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه. ترتیب توالی آغازگر جلوبرنده به این‌گونه بود: ۵'-TCGTGGTGGACTTCTCTC-۳' و ترتیب توالی آغازگر معکوس به این‌گونه بود: ۳'-ACAGTGGGGAAAGCCAT-۵'. مقدار ۵۰۰ جفت‌باز از ژن S از HBV تکثیر داده شد. یک نمونه کنترل مثبت از ژنوم HBV از شرکت CinnaGen تهیه و استفاده شد. برای الکتروفورز ابتدا یک ژل آگاراز ۱/۵ درصد درست شد سپس ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR را به همراه ۴ میکرولیتر از بافر رنگی همراه (بروموفنل بلسو به‌همراه ساکاراز) روی این ژل الکتروفورز شد. وجود باند ۵۰۰ جفت‌بازی نشانگر مثبت بودن نمونه است. در ضمن برای نشان دادن اندازه باند از ۱۰۰ ladder CinnaGen شد (شکل ۱). تمام مواد فوق از شرکت CinnaGen تهیه شدند. بایستی ذکر کرد که آزمون PCR با کیت‌های HBV-DNA-PCR از شرکت CinnaGen برای تعیین حساسیت آزمون مقایسه شدند.

۳- نتایج

این تحقیق روی ۳۷۰۰ نمونه جمع‌آوری شده از

اخیر محققان حاضر روی جمعیت گسترده‌تر اهداکنندگان نه تنها تأییدی بر نتایج گذشته بلکه نشان‌دهنده شیوع ۲-۱ درصدی OBI در میان اهداکنندگان خون ایرانی است. در سایر مناطق جهان نیز مطالعات زیادی به بررسی این نوع بیماری در میان اهداکنندگان خون پرداخته‌اند که به‌طور مثال آقای آلمدیا (Almedia) با بررسی ۱۵۳۶ اهداکننده خون میزان شیوع anti-HBc را ۳/۶ درصد در برزیل گزارش کرد [۱۲]. این مطالعه تنها به وجود ۲ مورد OBI در میان نمونه‌های مورد بررسی دست یافت [۱۲]. در مطالعه دیگری که در کشور ایتالیا روی ۶۳۱۳ نمونه انجام گرفت نشان داده شد که ۴/۸۵ درصد افراد anti-HBc مثبت بودند که در این میان ۱۴ نفر آلوده به HBV-DNA بودند؛ بنابراین میزان شیوع OBI در میان ایتالیایی‌ها ۰/۲۲ درصد تخمین زده می‌شود [۱۳]. در پاکستان ۵ نفر از ۹۶۶ (۰/۵ درصد) اهداکننده مورد بررسی آلوده به HBV-DNA بودند [۱۴]. در عمان [۱۵] و مکزیک [۱۶] به ترتیب شیوع ۰/۵ درصدی و ۰/۷ درصدی OBI گزارش شده است. محققین ایرانی نیز به بررسی میزان شیوع OBI در میان اهداکنندگان خون توجه داشته‌اند به‌گونه‌ای که مطالعه بهبهانی (Behbahani) و همکاران روی ۲۰۰۰ اهداکننده مراجعه‌کننده به سازمان انتقال خون استان فارس نشان داد که ۰/۸ درصد از آن‌ها آلوده به فرم بالینی OBI بودند [۲]. طی مطالعه دیگری امینی (Amini) و همکاران نیز ضمن بررسی ۲۰۰۰ اهداکننده تهرانی شیوع ۰/۱۵ درصدی را در تهران نشان دادند [۱۷]. به‌نظر می‌رسد که در مقایسه با مطالعات انجام شده دنیا و در سایر استان‌هایی که در ایران مطالعه شده است، مطالعه حاضر بیشترین شیوع OBI را در میان اهداکنندگان خون نشان می‌دهد. این تفاوت ممکن است به دلایل زیر باشد: ۱) نوع ژنتوپ شایع HBV در ایران که اغلب نوع D است [۱۸]، ۲) نژاد و پس‌زمینه ژنتیکی و ایمونولوژیکی متفاوت ایرانیان نسبت به دیگر جوامع و همچنین ۳) شیوع بالاتر anti-HBc در میان اهداکنندگان مورد بررسی در مطالعه حاضر [۱۰، ۸]. در پاسخ به این سؤال که با وجود شیوع بالای OBI در میان اهداکنندگان خون، چرا میزان PTH نیز به همان اندازه گزارش



شکل ۱ نتایج تکثیر PCR توسط DNA در اهداکنندگان خون با anti-HBc مثبت؛ وجود باند ۵۰۰ جفت‌بازی نشان‌دهنده آلودگی به HBV است. ستون ۱: کنترل مثبت؛ ستون ۲: HBV DNA متفق؛ ستون‌های ۳ و ۴: دو نمونه مثبت

۴- بحث

هپاتیت‌های ویروسی از خطرناک‌ترین بیماری‌هایی هستند که توسط ویروس‌های مختلفی از جمله HBV ایجاد می‌شوند [۱۱]. HBV از روش‌های مختلفی مانند انتقال خون و فراورده‌های خونی منتقل و بیماری‌زایی می‌نماید [۱۱]. طی سال‌های اخیر به علت آزمایش‌های غربالگری HBsAg و همچنین تغییر در برنامه‌های جذب اهداکنندگان، میزان انتقال HBV از طریق انتقال خون به میزان زیادی کاهش یافته است [۲، ۵]. اما با وجود استفاده از این آزمایش غربالی، انتقال HBV بالاترین میزان را در میان بیماری‌های ویروسی منتقل شده از طریق انتقال خون را تشکیل می‌دهد [۸]. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که ۱/۵۴ درصد از اهداکنندگان خون مبتلا به فرم نهفته هپاتیت B هستند. مطالعات گذشته محققان حاضر روی ۵۴۵ اهداکننده اصفهانی و ۲۷۰ اهداکننده رفسنجانی نشان داد که به ترتیب ۰/۹۲ درصد [۸] و ۱/۴۵ درصد [۱۰] از اهداکنندگان مبتلا به OBI بودند. با مقایسه دو مطالعه قبلی مشخص می‌شود که گرچه تعداد نمونه مورد مطالعه در میان اهداکنندگان رفسنجانی کمتر بوده اما شیوع OBI به‌دست آمده در میان اهداکنندگان خون بالاتر است. دلیل این امر را می‌توان در تفاوت‌های نژادی، ژنتیکی و ایمونولوژیکی دو گروه مورد بررسی دانست. بنابراین مطالعه

کامل عفونت‌زا در خون محیطی این افراد نیست [۲۱]. اما با وجود دلایل ذکر شده به‌نظر می‌رسد که OBI یک مشکل جدی بهداشتی در انتقال خون باشد و ممکن است مشکلاتی را در میان دریافت‌کنندگان خون ایجاد کند. بنابراین امکان‌سنجی و بررسی هزینه و فایده آزمایش‌های تكمیلی و حساس‌تر از جمله PCR و بررسی امکان آلوگی از این طریق پس از انتقال خون ضروری به‌نظر می‌رسد.

۵- تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان این مقاله از تمامی کارمندان سازمان انتقال خون رفسنجان بابت همکاری‌های بی‌دربیشان در انجام این پروژه و همچنین تمامی اهداکنندگان خون که بدون هیچ چشم‌داشته اقدام به اهدا خون برای انجام آزمایش‌های مربوط همت گماردند، تقدیر و تشکر می‌نمایند.

نمی‌شود، می‌توان به دلایل زیر اشاره کرد: ۱) احتمالاً تعداد نسخه ویروس موجود در مبتلایان به OBI بسیار پایین و حتی در بعضی موارد به زیر ۱۰۰ نسخه در هر دسی لیتر برسد [۵] و بنابراین به محض ورود ویروس سیستم ایمنی ذاتی (در افراد سالم از نظر سیستم ایمنی) قادر خواهد بود با این میزان کم ویروس مقابله کند [۱۹]; ۲) مطالعات نشان می‌دهد که سرم افراد مبتلا به OBI که تیتر بالایی از HBs-Ab (Hepatitis B surface Antibody) دارند، عفونت‌زا بسیار کمی دارند [۲۰]، بنابراین به‌نظر می‌رسد که احتمال ایجاد PTH توسط نمونه افراد مبتلا به OBI که دارای HBs-Ab با تیتر نسبتاً خوبی هستند، بسیار کم باشد [۱۰]; ۳) از آنجا که OBI طی HBV قادر به تولید HBsAg به مقدار کافی نیست، به‌نظر می‌رسد که برخی از HBV-DNA های موجود در سرم قادر قدرت عفونت‌زا بی اشند، بنابراین اگر چه آزمایش HBV-DNA با PCR در این افراد مثبت می‌شود اما این مسئله نشان‌دهنده وجود ویروس

۶- منابع

- [1] Karki S, Ghimire P, Tiwari BR, Maharjan A, Rajkarnikar M. Trends in hepatitis B and hepatitis C seroprevalence among Nepalese blood donors. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61(4):324-6.
- [2] Behzad-Behbahani A, Mafi-Nejad A, Tabei SZ, Lankarani KB, Torab A, Moaddeb A. Anti-HBc & HBV-DNA detection in blood donors negative for hepatitis B virus surface antigen in reducing risk of transfusion associated HBV infection. *Indian J Med Res* 2006; 123(1): 37-42.
- [3] Satoh K, Iwata-Takakura A, Yoshikawa A, Gotanda Y, Tanaka T, Yamaguchi T, Mizoguchi H. A new method of concentrating hepatitis B virus (HBV) DNA and HBV surface antigen: an application of the method to the detection of occult HBV infection. *Vox Sang* 2008; 95(3): 174-80.
- [4] Kocazeybek B, Arabaci U, Sezgic M. Investigation of transfusion transmitted viruses in cases clinically suspected of posttransfusion hepatitis with undetermined ethiology. *Transfus Apher Sci* 2002; 26(3): 157-65.
- [5] Arababadi MK, Hassanshahi G, Yousefi H, Zarandi ER, Moradi M, Mahmoodi M. No detected hepatitis B virus-DNA in thalassemic patients infected by hepatitis C virus in Kerman province of Iran. *Pak J Biol Sci* 2008; 11(13): 1738-41.
- [6] Milbury CA, Li J, Makrigiorgos GM. PCR-Based Methods for the Enrichment of Minority Alleles and Mutations. *Clin Chem* 2009; [Epub ahead of print].
- [7] Ollier L, Laffont C, Kechkekian A, Doglio A, Giordanengo V. Detection of antibodies to

- hepatitis B core antigen using the Abbott ARCHITECT anti-HBc assay: analysis of borderline reactive sera. *J Virol Methods* 2008; 154(1-2): 206-9.
- [8] Pourazar A, Salehi M, Jafarzadeh A, Kazemi Arababadi M, Oreizi F, Shariatinezhad K. Detection of HBV DNA in HBsAg Negative Normal Blood Donors. *IJI* 2005; 2(3): 172-6.
- [9] Allain JP. Occult hepatitis B virus infection. *Transfus Clin Biol* 2004; 11(1): 18-25
- [10] Jafarzadeh A, Kazemi Arababadi M, Mirzaee M, Pourazar A. Occult hepatitis B virus infection among blood donors with antibodies to hepatitis B core antigen. *Acta Medica Iranica* 2008; 46(1): 27-32.
- [11] Dhawan HK, Marwaha N, Sharma RR, Chawla Y, Thakral B, Saluja K, Sharma SK, Thakur MK, Jain A. Anti-HBc screening in Indian blood donors: Still an unresolved issue. *World J Gastroenterol* 2008; 14(34): 5327-30.
- [12] Almeida D, Tavares-Neto J, Trepo C, Almeida A, Mello C, Chemin I, Paraná R. Occult B infection in the Brazilian northeastern region: a preliminary report. *Braz J Infect Dis* 2008; 12(4): 310-2.
- [13] Manzini P, Girotto M, Borsotti R, Giachino O, Guaschino R, Lanteri M, Testa D, Ghiazza P, Vacchini M, Danielle F, Pizzi A, Valpreda C, Castagno F, Curti F, Magistroni P, Abate ML, Smedile A, Rizzetto M. Italian blood donors with anti-HBc and occult hepatitis B virus infection. *Haematologica* 2007; 92 (12): 1664-70.
- [14] Bhatti FA, Ullah Z, Salamat N, Ayub M, Ghani E. Anti-hepatitis B core antigen testing, viral markers, and occult hepatitis B virus infection in Pakistani blood donors: implications for transfusion practice. *Transfusion* 2007; 47(1): 74-9.
- [15] Kaminski G, Alnaqdy A, Al-Belushi I, Nograles J, Al-Dahry SH. Evidence of occult hepatitis B virus infection among Omani blood donors: a preliminary study. *Med Princ Pract* 2006; 15(5): 368-72.
- [16] García-Montalvo BM, Farfán-Ale JA, Acosta-Viana KY, Puerto-Manzano FI. Hepatitis B virus DNA in blood donors with anti-HBc as a possible indicator of active hepatitis B virus infection in Yucatan, Mexico. *Transfus Med* 2005; 15(5): 371-8.
- [17] Amini KS, Talebian A, Moghtadaie M, Ranjbar KF, Ferdowsian F, Samie S, Taghi NA, Sobhani M, Ataei Z, Kavari M, Paz Z. Detection of hepatitis B virus DNA (PCR) in HBsAg negative, anti-HBc positive blood donors in Tehran province. *Blood J* 2004; 3(5): 379-87.
- [18] Bahramali G, Sadeghizadeh M, Amini-Bavil-Olyaei S, Alavian SM, Behzad-Behbahani A, Adeli A, Aghasadeghi MR, Amini S, Mahboudi F. Clinical, virologic and phylogenetic features of hepatitis B infection in Iranian patients. *World J Gastroenterol* 2008; 14(35): 5448-53
- [19] Vierling JM. The immunology of hepatitis B. *Clin Liver Dis* 2007; 11(4): 727-59.
- [20] Awerkiew S, Däumer M, Reiser M, Wend UC, Pfister H, Kaiser R, Willems WR, Gerlich WH. Reactivation of an occult hepatitis B virus escape mutant in an anti-HBs positive, anti-HBc negative lymphoma patient. *J Clin Virol* 2007; 38(1): 83-6.
- [21] Raimondo G, Pollicino T, Cacciola I, Squadrato G. Occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2007; 46(1): 160-70.

۸۷