جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم پزشکی مدرس
دوره ۱۱، شماره ۳ و ٤: از ۸۱-۸٦
پاییز و زمستان ۱۳۸۷

عفونت نهفته هپاتیت B در اهداکنندگان خون شهرستان رفسنجان

محمد کاظمی‌عرب‌آبادی[1*]، علی‌اکبر پورفتح‌اله[2]، عبداله جعفرزاده[3]، غلامحسین حسن‌شاهی[4]، محمدرضا افروز[5]، محمود حدادیان[5]

۱- مربی، گروه میکروبیولوژی، ایمنولوژی و هماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، 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

دریافت 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 محیطی است. این فرم از بیماری مشکلات عدیده‌ای را در انتقال خون به‌وجود 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 (۱٦/۱ درصد از افراد anti-HBc مثبت و HBsAg منفی و حدود ۱/۵٤ درصد از کل نمونه‌ها) نمونه HBV-DNA مثبت بودند.

نتیجه‌گیری: این نتایج با بررسی‌های قبلی محققان حاضر روی اهداکنندگان خون مطابقت دارد و آن‌ها را تأیید می‌کند. بنابراین به‌نظر می‌رسد که شیوع این فرم از عفونت 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 به‌عمل آید.

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

۱- مقدمه

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

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

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

طریق انتقال خون بیشترین میزان انتقال را به خود اختصاص داده است [۲]؛ به‌گونه‌ای که چندین مطالعه انتقال ویروس هپاتیت B (Hepatitis B Virus: HBV) از طریق انتقال خون (Post Transfusion Hepatitis: PTH) را گزارش کرده‌اند [۲، ٤]. برای کاهش انتقال HBV از طریق خون و فراورده‌های آن از آزمایش غربالی الایزا (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA) برای تشخیص HBsAg (Hepatitis B surface Antigen) 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 آلودگی به HBV کفایت نمی‌کند. از آن‌جا که PCR یک آزمایش بسیار حساس بوده و قادر است مقادیر پایین DNA را در نمونه تشخیص دهد [۵، ٦]، می‌توان از آن به‌عنوان آزمایش حساس‌تر استفاده کرد به‌گونه‌ای که می‌توان آلودگی به HBV را در غیاب HBsAg تشخیص داد [۵]. با توجه به این‌که anti-HBc اولین آنتی‌بادی است که علیه HBV قابل اندازه‌گیری است و تیتر بالاتری از همه آنتی‌بادی‌های دیگر دارد [۵، ۷]، می‌توان به‌عنوان آزمون تکمیلی از این آنتی‌بادی برای تشخیص هپاتیت B در افرادی که با HBV برخورد داشته‌اند استفاده کرد [۵]. با توجه به این‌که یکی از دلایل اصلی ایجاد PTH، وجود فرم بالینی عفونت نهفته هپاتیت B (Occult hepatitis B virus (HBV) Infection: OBI) است [۵، ۸، ۹] و محققان حاضر نیز در مطالعات قبلی به بررسی این فرم از عفونت پرداخته بودند [۸، ۱۰] پروژه 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 (Fresh Frozen Plasma: FFP) به میزان ۰/۵ سی‌سی طی ماه‌های دی ۱۳۸٦ 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 تجارتی (Behring, Germany) طبق رهنمودهای شرکت سازنده، استفاده شد. نمونه‌های منفی دوباره از نظر HBsAg 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) آزمایش شدند. آزمایش اخیر از روش رقابتی استفاده می‌کرد. در ضمن تمام نمونه‌ها از نظر وجود anti-HCV (anti-Hepatitis C Virus) و anti-HIV (anti-Human Immunodeficiency Virus) نیز با کیت‌های تجاری ELISA (Behring, Italy) بررسی شدند.

۲-۳- 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 ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس استخراج توسط روش استاندارد فنل/کلروفرم انجام شد. بعد از ته‌نشین کردن DNA توسط اتانول مقدار ۳۰ میکرولیتر آب فاقد DNase (DNase free) به آن اضافه و در ۲۰- درجه

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

سانتی‌گراد نگهداری شد.

۲-٤- PCR و الکتروفورز

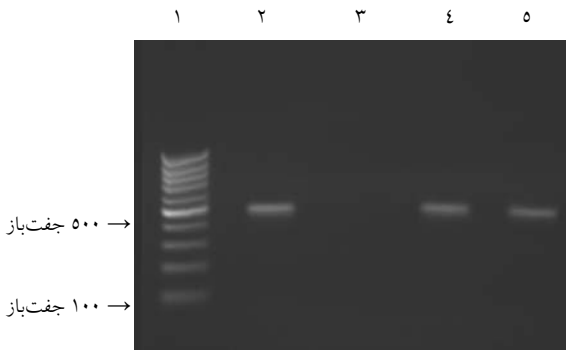
PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد که شامل این موارد بود: Tris-HCL KCl ۱۰ میلی‌مولار، $MgCl_2$ ۱/۵ میلی‌مولار، ژلاتین ۱ درصد، ۲۰۰ میکرومول از هر dNTP، ۰/٦ میکرومول از هر آغازگر (Primer)، ۵۰۰ نانوگرم از DNA استخراج شده به‌همراه ۵ واحد آنزیم DNA پلیمراز *Taq* (*Taq* DNA polymerase) نوترکیب. چرخه‌های PCR به این گونه بود: یک چرخه: ۹٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، ۵۸/۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤۰ ثانیه و سپس ۳۵ چرخه به‌صورت: ۹٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤۰ ثانیه، ۵۸/۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤۰ ثانیه. ترتیب توالی آغازگر جلوبرنده به این‌گونه بود: 5´-TCGTGGTGGACTTCTCTC-3´ و ترتیب توالی آغازگر معکوس به این‌گونه بود: 5´-ACAGTGGGGGAAAGCCCAT-3´ طی این PCR 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 آگارز ۱/۵ درصد درست شد سپس ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR را به‌همراه ٤ میکرولیتر از بافر رنگی همراه (برومو فنل بلو به‌همراه ساکارز) روی این ژل الکتروفورز شد. وجود باند ۵۰۰ جفت‌بازی نشانگر مثبت بودن نمونه است. در ضمن برای نشان دادن اندازه باند از ladder ۱۰۰ جفت‌بازی استفاده 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 اهداکنندگان خون مراجعه‌کننده به سازمان انتقال خون رفسنجان انجام شد. نتایج آزمایش‌های ELISA به‌منظور 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 به‌منظور 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 (۱٦/۱ 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 حاضر قادر به رهگیری حداقل ۱۰۰ نسخه از HBV-DNA در هر دسی‌لیتر خون محیطی است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود ستون‌های ٤ و ۵ حاوی باند ۱۰۰ جفت‌بازی هستند که نشان‌دهنده مثبت بودن این نمونه‌ها است. نتایج این تحقیق نشان داد که ۱٦/۱ درصد از نمونه‌های HBsAg منفی و anti-HBc مثبت از نظر HBV مثبت بودند و حدود ۱/۵٤ 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.

تعداد کل اهداکننده مورد بررسی	موارد HBsAg مثبت در میان کل اهداکنندگان	موارد anti-HBc مثبت در میان کل اهداکنندگان	موارد HBV-DNA مثبت در میان کل اهداکنندگان	موارد HBV-DNA مثبت در میان اهداکنندگان anti-HBc مثبت
۳۷۰۰ نفر	۰ نفر (۰ درصد)	۳۵۲ نفر (۹/۵۱ درصد)	۵۷ نفر (۱/۵٤ درصد)	۵۷ نفر (۱٦/۱ درصد)



شکل ۱ نتایج تکثیر DNA توسط PCR در اهداکنندگان خون با HBsAg منفی و anti-HBc مثبت؛ وجود باند ۵۰۰ جفت‌بازی نشان‌دهنده آلودگی به HBV DNA است. **ستون ۱:** ladder؛ **ستون ۲:** کنترل مثبت؛ **ستون ۳:** کنترل منفی؛ **ستون‌های ٤ و ٥:** دو نمونه مثبت

٤- 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 به‌علت 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 عفونت HBV بالاترین میزان را در میان بیماری‌های ویروسی منتقل شده از طریق انتقال خون را تشکیل می‌دهد [۸]. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که ۱/٥٤ درصد از اهداکنندگان خون مبتلا به فرم نهفته هپاتیت B هستند. مطالعات گذشته محققان حاضر روی ٥٤٥ اهداکننده اصفهانی و ۲۷۰ اهداکننده رفسنجانی نشان داد که به‌ترتیب ۰/۹۲ درصد [۸] و ۱/٤٥ 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 اخیر محققان حاضر روی جمعیت گسترده‌تر اهداکنندگان نه تنها تأییدی بر نتایج گذشته بلکه نشان‌دهنده شیوع ۱-۲ 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 ۱۵۳٦ اهداکننده خون میزان شیوع anti-HBc را ۳/٦ 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 ٦۳۱۳ نمونه انجام گرفت نشان داده شد که ٤/۸٥ درصد افراد anti-HBc مثبت بودند که در این میان ۱٤ نفر آلوده به HBV-DNA بودند؛ بنابراین میزان شیوع OBI در میان ایتالیایی‌ها ۰/۲۲ درصد تخمین زده می‌شود [۱۳]. در پاکستان ٥ نفر از ۹٦٦ (۰/٥ درصد) اهداکننده مورد بررسی آلوده به HBV-DNA بودند [۱٤]. در عمان [۱٥] و مکزیک [۱٦] به‌ترتیب شیوع ۰/٥ 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 ۰/۱٥ 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 ژنوتیپ 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 [۸، ۱۰]. در پاسخ به این سؤال که با وجود شیوع بالای OBI در میان اهداکنندگان خون، چرا میزان PTH نیز به همان اندازه گزارش

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 دسی‌لیتر 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، عفونت‌زایی 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 HBV طی OBI قادر به تولید HBsAg به مقدار کافی نیست، به‌نظر می‌رسد که برخی از HBV-DNAهای موجود در سرم فاقد قدرت عفونت‌زایی باشند، بنابراین اگر چه آزمایش HBV-DNA با PCR در این افراد مثبت می‌شود اما این مسئله نشان‌دهنده وجود ویروس 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 تکمیلی و حساس‌تر از جمله anti-HBc و PCR و بررسی امکان آلودگی از این طریق پس از انتقال خون ضروری به‌نظر می‌رسد.

۵- تشکر و قدردانی

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

٦- 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-hepatits 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-Dhahry 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, Ataie 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-Olyaee 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, Squadrito G. Occult hepatitis B virus infection. J Hepatol 2007; 46(1): 160-70.