Archive of SID

شاخص های Anti-HBc و DNA ویروس هپاتیت B در اهداکنندگان خون HBsAg منفی در شهر مشهد

مجید شهابی[۱]، دلارام صیاد پور زنجانی[۲*]، سید عباس طباطبائی[۳]، محمد اسماعیل خیامی [۴]، حسین شکیبائی [۵]، ریحانه بازرگانی[۶]

۱. PhD فرآورده های بیولوژیک، مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و اداره کل انتقال خون خراسان رضوی
۲. متخصص پاتولوژی، اداره کل انتقال خون خراسان رضوی
۳. متخصص پاتولوژی،گروه پاتولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۴. پزشک عمومی، اداره کل انتقال خون خراسان رضوی
۵. فوق لیسانس ایمونولوژی، اداره کل انتقال خون خراسان رضوی
۶. پزشک عمومی، اداره کل انتقال خون خراسان رضوی

* **نشانی برای مکاتبه:** مشهد، انتهای خیابان سناباد، اداره کل انتقال خون خراسان رضوی، تلفن: ۰۵۱۱-۸۴۳۳۳۳۰، نمابر: ۰۵۱۱-۸۴۱۰۰۵۶،
delteh2003@yahoo.com
دریافت مقاله: مهر هشتاد و هفت پذیرش برای چاپ: آذر هشتاد و هفت

چکیده

سابقه و هدف: *هپاتیت B یکی از عفونت های منتقله از راه خون می باشد. غربالگری برای ویروس عامل این بیماری در مراکز انتقال خون از سال ۱۹۶۷ با استفاده از آنتی ژن سطحی ویروس (HBsAg) انجام می شود. مطالعات مختلف نشان داده است که ممکن است ژنوم ویروس در خون هائی که از نظر HBsAg منفی ولی از نظر Anti-HBc مثبت هستند وجود داشته باشد. هدف از انجام این مطالعه تعیین شیوع Anti-HBc در اهداکنندگان شهر مشهد که از نظر HBsAg منفی هستند بوده است.*

روش کار: *در این مطالعه توصیفی-مقطعی از ۱۷۵۴۷ مراجعه کننده به پایگاههای اهدای خون شهر مشهد به طور تصادفی ساده ۵۰۵۹ نفر انتخاب شدند. تمام این افراد از نظر شاخص Anti-HBc بررسی شده و در صورت مثبت بودن، برای آنها آزمایش های Anti-HBs، Anti-HBe، ALT و PCR انجام شد.*

یافته ها: *از ۵۰۵۹ نمونه مورد بررسی، ۴۳۲ مورد از نظر Anti-HBc مثبت بودند. ۳۵۵ نمونه (۸۲٪) از نظر Anti-HBs و ۲۵۵ نمونه (۵۹٪) از نظر Anti-HBe نیز مثبت بودند. تنها ۵ نمونه (۱/۲۵٪) دارای مقادیر غیرطبیعی برای آنزیم ALT بوده و در هیچکدام از ۶۰ نمونه ای که آزمایش PCR برای آنها انجام شد ژنوم ویروس یافت نشد.*

نتیجه گیری: *با توجه به این که تنها انجام آزمایش HBsAg برای غربالگری هپاتیت B در اهداکنندگان خون نمی تواند باعث حذف تمام موارد مثبت شود لذا انجام آزمایش Anti-HBc برای خون های اهدائی می تواند باعث کاهش خطر انتقال این ویروس در نتیجه تزریق فرآورده های خونی شود.*

واژگان کلیدی: ***ویروس هپاتیت B، Anti-HBc، عفونت مخفی هپاتیت B،اهداکنندگان خون***

مقدمه

حفظ سلامت خون های اهدائی و فرآورده های خونی تهیه شده از آنها هدف اصلی سازمان های انتقال خون در سراسر دنیا می باشد. به رغم پیشرفت های روزافزون در آزمایش های غربالگری خون های اهدائی، هنوز هم خون یکی از راه های انتقال برخی از عوامل عفونی می باشد. ارتباط ویروس هپاتیت B و انتقال خون در دهه ۱۹۴۰ میلادی مطرح شد و از آن پس روش های مختلف آزمایشگاهی برای غربالگری این ویروس بکار گرفته شد. بررسی آنتی ژن سطحی این ویروس (HBsAg) در سال ۱۹۶۷ به عنوان شاخص قابل قبولی در این زمینه از سوی سازمان های انتقال خون سراسر دنیا پذیرفته شد. در مراکز انتقال خون Anti-HBc در ابتدا به عنوان شاخصی برای تعیین هپاتیت non-A, non-B به کار می رفت ولی با ابداع کیت های Anti-HCV برای غربالگری هپاتیت C، امروزه از آن به عنوان عاملی برای پیشگیری از انتقال عفونت مخفی هپاتیت B استفاده می شود زیرا مشخص شده است که ویروس هپاتیت B ممکن است در خون های اهدائی که از نظر HBsAg منفی و از نظر Anti-HBc مثبت باشند وجود داشته باشد اگرچه احتمال انتقال آن بسیار کم است(۶-۱).

www.SID.ir

Archive of SID

Anti-HBc ممکن است تنها یافته سرولوژیک عفونت هپاتیت B در بیماران مبتلا به عفونت مزمن با ویروس جهش یافته، افراد با عفونت بهبود یافته یا موارد عفونت مزمن به شکل ناقل سالم باشد. مطالعات نشان می دهند که در خون یا کبد صفر تا ۴۰٪ از افرادی که تنها نشانگر Anti-HBc آنها مثبت است DNA ویروس هپاتیت B با روش PCR(واکنش های زنجیره ای پلیمراز) یافت می شود که این اختلاف قابل توجه در آمار ارائه شده مربوط به شیوع کم یا زیاد آلودگی در مناطق مختلف و نیز حساسیت روش های بکار گرفته شده می باشد(۲ و ۹-۷). بررسی های انجام شده با روش های تکثیر اسیدهای نوکلئیک از جمله PCR نشان می دهند که افرادی که مبتلا به عفونت بهبود یافته هپاتیت B هستند در ۲۵-۰/۵ درصد موارد DNA ویروس را در خون و سلول های خونی خود نگه می دارند که اصطلاحاً به این حالت عفونت مخفی هپاتیت B یا (Occult hepatitis B infection)گفته می شود. به عبارت دیگر وجود DNA ویروس هپاتیت B بدون آنکه HBsAg مثبت باشد را عفونت مخفی هپاتیت B می گویند(۲). غربالگری برای تشخیص آلودگی با این ویروس در اهداکنندگان خون در کشورهای مختلف بر حسب اینکه میزان شیوع عفونت هپاتیت B چقدر است متفاوت می باشد. در کشورهای با شیوع کم مثل ایالات متحده امریکا، ژاپن و برزیل تمامی خون های اهدائی از نظر HBsAg و Anti-HBc غربالگری می شوند.این استراتژی تقریباً تمام عفونت های منتقله از راه خون به استثنای موارد نادر فاز پنجره را حذف می کند. ولی انجام چنین کاری در کشورهای با شیوع بالای آلودگی با هپاتیت B مقدور نیست زیرا باعث حذف بسیاری از اهداکنندگان و عدم استفاده از فرآورده های خونی آنها می شود. در بسیاری از کشورهائی که این ویروس آندمیک می باشد غربالگری فقط با انجام HBsAg صورت می گیرد(۲، ۸ و ۱۰).کشور ایران جزو مناطق با شیوع کم این ویروس می باشد و شیوع آلودگی در اهداکنندگان خون در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۰۳ در مناطق مختلف کشور ۲/۶-۰/۷ درصد گزارش شده است (۱۱). در کشور ما غربالگری خون های اهدائی با آزمایش HBsAg انجام می شود و آزمایش Anti-HBc متداول نیست. هدف از انجام این مطالعه این بود که با توجه به اهمیت مسئله، Anti-HBc در اهداکنندگان شهر مشهد که از نظر شاخص HBsAg منفی می باشند ارزیابی شود تا مشخص گرددکه آیا افزودن این آزمایش به آزمایش های غربالگری اهداکنندگان با توجه به اینکه از یک طرف باعث کاهش خطر انتقال ویروس هپاتیت B و سلامت فرآورده های خونی و از طرف دیگر باعث از دست رفتن تعدادی از اهداکنندگان و افزایش هزینه ها خواهد شد ضروری است یا خیر.

روش کار

این مطالعه از نوع توصیفی و مقطعی بوده است. از میان ۱۷۵۴۷ اهداکننده (۱۶۰۶۶ نفر مرد و ۱۴۸۱ نفر زن) که در یک فاصله زمانی دو ماهه به پایگاه های اهدا خون شهر مشهد مراجعه کرده بودند ۵۰۵۹ نفر به صورت تصادفی ساده انتخاب شدند. همه این افراد قبل از اهدا مصاحبه و معاینه شده و نیز از نظر شاخص های HBsAg، Anti-HCV، Anti-HIV Ag/Ab و Anti-HTLV I/II منفی بودند. برای این افراد آزمایش Anti-HBc با روش الایزا و با کیت Enzygnost®Anti-HBc monoclonal (Dade Behring, Germany) انجام شد. وجود یا عدم وجود آنتی بادی با مقایسه جذب نوری نمونه با Cut-Off ارزیابی شد. نمونه های مثبت یکبار دیگر با همان کیت و نیز با کیت الایزای دیگری Hepanostika® Anti-HBc Uniform (Biomerieux Netherland) آزمایش شدند. در نهایت نمونه هائی مثبت تلقی شدند که حداقل در دو نوبت از سه بار آزمایش مثبت گزارش شده بودند. که تعداد انها ۴۳۲ نمونه از بین ۵۰۵۹ نمونه بود. سپس نمونه های مثبت از نظر Anti-HBs با کیت Enzygnost®Anti-HBs II (Dade Behring, Germany) و از نظر Anti-HBe با کیت Enzygnost® HBe monoclonal (Dade Behring, Germany) آزمایش شدند. همچنین در نمونه های مثبت از نظر Anti-HBc در صورت کافی بودن حجم، میزان فعالیت آنزیم آلانین ترانسفراز (ALT) با کیت شرکت پارس آزمون اندازه گیری شد. برای استخراج DNA از کیت QIAamp® Ultrasene™ Virus (Qiagene GmbH, Germany) استفاده شد. یک سی سی از پلاسمای سیتراته پس از هضم با پروتئیناز k جذب ستون شده و پس از شستشو با ۶۰µL از بافر استخراج شد.برای تکثیر ژنوم ویروس از روش nested PCR استفاده شد. پرایمرهای استفاده شده مکمل نواحی کاملاً محافظت شده ای از ژنوم HBV هستند که ناحیه Core را کد می کند. حساسیت این روش در مطالعات قبلی 30-10 copy/mlمشخص شده بود(۴). توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره ۱ آمده است. واکنش اول در حجم ۵۰ µL و غلظت ۰/۵ µM از هر کدام از پرایمرهای ۱۷۶۳ و۲۰۳۲ ، غلظت 1x بافر (حاوی 10 mM Tris-HCl و 1.5 mM $MgCl_2$)، ۲۰۰µL از هر کدام از نوکلئوتیدهای چهارگانه، ۱ واحد از آنزیم Taq و ۱۰µL از DNA استخراج شده انجام شد. برای واکنش دوم شرایط مانند واکنش اول بود به استثنای آنکه از پرایمرهای ۱۷۷۸ و ۲۰۱۷ استفاده شده و ۱۰µL از محصول واکنش اول به عنوان الگو استفاده شد. شرایط دمائی برای هر دو واکنش اول و دوم یکسان و به شرح زیر بود: ۱ سیکل به صورت ۳ دقیقه در ۹۴ درجه، ۳۰ سیکل به صورت ۹۴ درجه ۱ دقیقه، ۵۵ درجه ۱ دقیقه، ۷۲ درجه ۱/۵ دقیقه و در پایان ۱ سیکل به صورت ۷۲ درجه ۵ دقیقه. ده میکرولیتر از محصول واکنش اول و ۱۰µL از محصول واکنش دوم روی ژل آگاروز ۱/۵٪ حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز شده و با نور UV بررسی شد. در هر نوبت آزمایش از کنترل های مناسب مثبت و منفی استفاده شد.

جدول ۱. توالی پرایمرها

پرایمر	توالی
۱۷۶۳	(5’-GCTTTGGGGCATGGACATTGACCCGTATAA-3’)
۲۰۳۲	(5’-CTGACTACTAATTCCCTGGATGCTGGGTCT-3’)
۱۷۷۸	(5’-GACGAATTCCATTGACCCGTATAAAGAATT-3’)
۲۰۱۷	(5’-ATGGGATCCCTGGATGCTGGGTCTTCCAAA-3’)

www.SID.ir

Archive of SID

یافته ها

تعـداد ۵۰۵۹ اهداکننـده کـه شـامل ۴۲۷ نفـر (۸/۴٪) زن و ۴۶۳۲ نفـر (۹۱/۶٪) مرد بودند و میانگین سنی آنها ۳۲/۷ سال بود، مورد آزمایش قرار گرفتند. از بین این افراد ۴۳۲ نفر از نظر شاخص Anti-HBc مثبت بودند که ۴۴ نفر (۹/۸٪) آنها زن و ۳۸۸ نفر (۸۹/۲٪) مرد بودند. محـدوده سـنی این افراد ۶۲-۱۷ سال و میانگین سنی آنها ۴۰/۴ سال بـود. شـیوع Anti-HBc در بین اهداکنندگان ۸/۵٪ بـود. بیشـترین تعـداد اهداکننـدگان در محـدوده سـنی ۲۵-۲۱ سـال قـرار بودنـد ولـی بـازه سـنی ۴۵-۴۱ سـال بیشترین افراد Anti-HBc مثبت را شامل می شد (جدول ۲).

از میان ۴۳۲ نمونه ۳۵۵ نمونه (۸۲٪) از نظـر Anti-HBs مثبـت و بقیـه منفی بودند. از نظر Anti-HBe نیز ۲۵۵ نفر (۵۹٪) مثبت و بقیـه منفـی بودند. ۲۳۸ نمونه (۵۵٪) نیز از نظر هر سه شـاخص مثبـت بودنـد. تعـداد افرادی که تنها از نظر شاخص Anti-HBc بـوده و اصـطلاحاً Isolated HbcAb نامیده می شوند ۵۹ نفر (۱۴٪) بود. از تعداد ۴۰۰ نمونه ای کـه سرم آنها برای انجام آزمایش ALT کافی بود تنها ۵ نمونه (۱/۲۵٪) دارای مقـادیر غیرطبیعـی بودنـد کـه ایـن افـراد از نظـر الگـوی شـاخص هـای سرولوژیکی تفاوتی با افرادی که ALT آنها طبیعی بود نداشتند.

تنها ۶۰ نمونه از نظر کمی و کیفی برای بررسی مولکولی مناسب بودند که در هیچکدام از آنها ژنوم ویروس هپاتیت B تشخیص داده نشد.

جدول۲. توزیع اهدا کنندگان خون و افراد Anti-HBc مثبت بر اساس طیف سنی. سازمان انتقال خون مشهد.

بازه سنی (سال)	اهداکنندگان تعداد(٪)	افراد +Anti-HBc تعداد (٪)
۲۰-۱۷	۲۷۰ (۵/۴)	۱۰ (۲/۳)
۲۵-۲۱	۱۰۱۱ (۲۰)	۳۴ (۷/۹)
۳۰-۲۶	۹۹۶ (۱۹/۷)	۴۵ (۱۰/۴)
۳۵-۳۱	۷۹۸ (۱۵/۸)	۴۹ (۱۱/۳)
۴۰-۳۶	۷۰۶ (۱۳/۹)	۶۹ (۱۶)
۴۵-۴۱	۵۳۱ (۱۰/۵)	۷۸ (۱۸)
۵۰-۴۶	۳۹۰ (۷/۷)	۷۲ (۱۶/۷)
۵۵-۵۱	۲۲۵ (۴/۴)	۴۶ (۱۰/۶)
۶۰-۵۶	۹۹ (۲/۰)	۲۵ (۵/۸)
۶۵-۶۱	۳۲ (۰/۶)	۴ (۰/۹۳)
۷۰-۶۶	۱ (۰/۰)	۰ (۰/۰)

بحث

علیرغم غربالگری اهداکنندگان خون از نظر HBsAg در جهت شناسائی آلودگی با ویروس هپاتیت B، مطالعات مختلف وجود HBV DNA را در خون و بافت بعضی از افراد HBsAg منفی نشان داده است(۶-۱). شاخص Anti-HBc که قبل از ابداع روش های تشخیص Anti-HCV برای غربالگری از نظر هپاتیت non-A, non-B بکار برده می شد امروزه در بعضی از کشورها همرا با HBsAg برای غربالگری هپاتیت B در اهداکنندگان خون استفاده می شود که این امر در شناسائی موارد احتمالی عفونت مخفی هپاتیت B و ارتقاء سلامت خون موثر بوده است. از آنجائی که در کشور ما غربالگری خون های اهدائی از نظر ویروس هپاتیت B فقط از طریق شاخص HBsAg انجام می شود این مطالعه با هدف تعیین شیوع شاخص Anti-HBc و DNA ویروس هپاتیت B در اهداکنندگان خون و لزوم افزودن آزمایش های دیگری همچون Anti-HBc یا NAT به آزمایش های غربالگری انجام گرفت.

در این مطالعه از ۵۰۵۹ نفر اهداکننده خون HBsAg منفی(۸/۵٪) ۴۳۲ نفر از نظر Anti-HBc مثبت بودند. اگر چه آمار جامعی در رابطه با شیوع Anti-HBc در اهداکنندگان خون در سراسر کشور وجود ندارد اما دو بررسی انجام شده در تهران و شیراز حکایت از شیوع به ترتیب ۱۱/۵ و ۶/۵ درصدی این آنتی بادی دارد(۵ و ۱۲). بعلاوه مطالعات انجام شده در سایر کشور ها شیوع Anti-HBc را در اهداکنندگان خون در عربستان سعودی ۱۵/۸٪ (۱۳)، یونان ۱۴/۹٪ (۱۴)، آلمان ۱/۴٪ (۶)، هندوستان ۱۰/۸٪ (۱۵)، و ژاپن ۱/۱٪ (۱۶) و ۲/۸٪ (۱۷) گزارش کرده اند. اولین توجیه در رابطه با این اختلاف می تواند تفاوت در شیوع عفونت در مناطق مختلف جغرافیائی باشد. ولی عوامل دیگر از جمله استفاده از دو کیت متفاوت Anti-HBc و نیز حجم بالاتر نمونه های آزمایش شده در نتایج بدست آمده تاثیر دارد در بررسی ما برای تائید وجود Anti-HBc از دو کیت مختلف استفاده شده و حجم نمونه ما نسبت به مطالعات شیراز و تهران بیشتر (بیش از دو برابر) بوده است که این امر نتایج بدست آمده را قابل اعتمادتر می سازد.

در بررسی ما تفاوت آشکاری بین بازه سنی اهداکنندگان (۲۵-۲۱ سال) و افراد Anti-HBc مثبت (۴۵-۴۱ سال) مشاهده می شود که شاید دلایل این اختلاف افزایش آگاهی جامعه در رابطه با هپاتیت B و راه های انتقال آن و نیز بکارگیری ضوابط سختگیرانه در انتخاب و غربالگری اهداکنندگان خون توسط سازمان انتقال خون در سالیان اخیر باشد.

همچنین در مطالعه ما به رغم استفاده از حجم زیاد پلاسما (۱ سی سی) برای استخراج DNA و نیز بکارگیری روش nested-PCR در جهت افزایش حساسیت، در هیچکدام از ۶۰ نمونه ای که کیفیت و کمیت آنها برای آزمایش PCR مناسب بود ژنوم HBV یافت نشد. تقریباً در تمام مطالعات انجام شده حداقل در درصد کوچکی از افراد Anti-HBc مثبت ژنوم HBV یافت شده و تنها در بررسی تهران (۱۲) و نیز یک مطالعه در کانادا (۱۸) HBV DNA در اهداکنندگان Anti-HBc مثبت یافت نشده است. موارد مثبت HBV DNA در اهداکنندگان Anti-HBc مثبت در مصر ۱۲٪ (۸)، برزیل ۳/۳٪ (۱۹)، آلمان ۱/۵٪ (۶)، عربستان سعودی ۳/۲٪ (۱۳)،پاکستان ۳٪ (۷) کانادا ۰/۵۲٪ (۱۰)، لبنان ۰/۲٪ (۹) و ایران (شیراز) ۱۲٪ (۵) گزارش شده است. برای نیافتن HBV DNA در نمونه های ما دلایل متفاوتی را می توان بیان نمود. از نظر تکنیکی حساسیت روش مورد استفاده بخصوص در مواردی که تعداد کپی ژنوم ویروس کم باشد (مانند عفونت مخفی هپاتیت B) عامل تعیین کننده می باشد (۲). در بررسی ما اگرچه روش استخراج DNA و PCR از حساسیت بالائی برخوردار بود اما روش آشکارسازی حساسیت متوسطی داشته و در صورت استفاده از روش هائی با حساسیت زیاد ممکن بود نتایج مثبت نیز حاصل شود. همچنین به دلیل مناسب نبودن نمونه ها از نظر کمی و کیفی امکان انجام PCR برای تمام افراد Anti-HBc مثبت وجود نداشت و حدود ۱۳٪ نمونه ها آزمایش شدند و در صورت بررسی تمام نمونه ها امکان یافتن نمونه های مثبت نیز وجود داشت. به علاوه همچنان که قبلاً اشاره شد ۸۲٪ از نمونه های ما دارای Anti-HBs بودند، و از انجائیکه ظهور Anti-HBs به معنی بهبود عفونت و پاک شدن ویروس می باشد (۲۰) و حتی در صورت وجود HBV DNA در این افراد تیتر آن بسیار پائین بوده و یافتن آن نیازمند روش های بسیار حساس می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

همچنین تشخیص عفونت مخفی هپاتیت B تا حد زیادی وابسته به حساسیت کیت HBsAg می باشد. تقریباً تمام نمونه های HBsAg مثبت دارای HBV DNA هستند(۲). در مورد نمونه هائی که تیتر HBsAg آنها پائین می باشد در صورت استفاده از کیت با حساسیت کم، نمونه به عنوان HBsAg منفی گزارش شده ولی همین نمونه در صورت انجام PCR مثبت شده و به عنوان OBI منظور می شود. کیت HBsAg مورد استفاده در غربالگری ما از حساسیت بالائی برخوردار بوده (< 0.2 ng/mL) و بنابراین با یافتن نمونه های HBsAg مثبت با تیتر پائین در حقیقت از تعداد موارد OBI می کاهد.

نتیجه گیری

از آنجائی که بر اساس مطالعات مختلف مشخص شده است احتمال انتقال عفونت هپاتیت B توسط اهداکنندگان HBsAg منفی و Anti-HBc مثبت وجود دارد و با توجه به وجود درصد نسبتاً بالائی از اهداکنندگان Anti-HBc مثبت در مطالعه ما و علیرغم عدم یافتن موارد HBV DNA، ضرورت توجه جدی به این مسئله احساس می شود. روش های تشخیص مولکولی مانند PCR علیرغم برخورداری از حساسیت بالا چون با استفاده از پولد های تهیه شده از حدود ۵۰-۲۰ نمونه انجام می شوند نمی توانند در یافتن موارد OBI، که تیتر HBV DNA در آنها پائین است چندان کمک کننده باشد. به علاوه از نظر تکنیکی و اقتصادی نیز بکارگیری این روش ها در تمام مراکز انتقال خون امکان پذیر نمی باشد. لذا شاید در کشور ما بهترین و ارزانترین روش، افزودن غربالگری با شاخص Anti-HBc به آزمایش های غربالگری اهداکنندگان باشد.

از طرف دیگر با غربالگری Anti-HBc حدود ۱۰٪ از اهداکنندگان فعلی ما واجد اهدای خون نخواهند بود که برای رفع این مشکل می توان از استراتژی مورد استفاده در بعضی از کشورها از جمله ژاپن(۲) و عربستان صعودی (۱۳) یعنی تعیین cut-off بالا برای Anti-HBc و استفاده همزمان از شاخص Anti-HBs برای تعیین وضعیت نمونه های Anti-HBc مثبت استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از سازمان مدیریت و برنامه ریزی خراسان رضوی برای تامین هزینه های طرح تشکر می نمایند.همچنین از زحمات کارکنان انتقال خون مشهد برای همکاریشان در انجام طرح قدردانی می شود.

REFERENCES

1. Rossi EC, Simon TL. Transfusion in new millennium. In Simon TL, Dzik WH, Snyder EL, et al. Rossi's principles of transfusion medicine, 3rd edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p. 1-13

2. Allain JP. Occult hepatitis B virus infection: implications in transfusion. Vox Sang 2004; 86: 83-91

3. Chun-Jen L, Ding-Shinn Ch, Pei-Jer Ch. Epidemiology of HBV infection in Asian blood donors: emphasis on occult HBV infection and the role of NAT. J clin Virol 2006; suppl: S33-44

4. Garcia-Montalvo BM, Farfan-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. Transfusion Med 2005; 15: 371-378

5. Behzad-Behbahani A, Mafi-Nejad A, Tabei SZ, Lankarani KB, Torab A, Moaddeb A. Anti-HBc and HBV DNA detection in blood donors negative for hepatitis B viruse surface antigen in reducing risk of transfusion associated HBV infection. Indian J Med Res 2006; 123: 37-42

6. Hennig H, Puchta I, Luhm J, Schlenke P, Goerg S, Kirchner H. Frequency and load of hepatitis B virus DNA in first-time blood donors with antibodies to hepatitis B core antigen. Blood 2002; 100 (7): 2637-41

7. 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: implication for transfusion practice. Transfusion 2007; 47: 74-79

8. El-Zayadi AR, Ibrahim EH, Badran HM, Saeid A, Moneib NA, Shemis MA, Abdel-Sattar RM, Ahmady AM, El-Nakeeb A. Anti-HBc screening in Egyptian blood donors reduces the risk of hepatitis B virus transmission. Transfusion Med 2008; 18: 55-61

www.SID.ir

Archive of SID

9. El-Zaatari M, Kazma H, Naboulsi-Majzoub M, Haidar M, Ramlawi F, Mahfoud Z, Ramia S.. Hepatitis B virus DNA in serum of anti-HBc only-positive healthy Lebanese blood donors: significance and possible implications. J Hosp Infect 2007; 66(3): 278-82

10. O'Brien SF, Fearon MA, Yi QL, Fan W, Scalia V, Muntz IR, Vamvakas EC. Hepatitis B virus DNA-positive, hepatitis B surface antigen-negative blood donations intercepted by anti-hepatitis B core antigen testing: the Canadian Blood Services experience. Transfusion 2007; 47(10):1809-15

۱۱. رضوان حوری. ویروس های عامل هپاتیت و انتقال خون در کتاب ویروس ها و انتقال خون، روش های نوین کاهش خطر. تالیف رضوان حوری. چاپ دوم تهران، تحفه بشری با همکاری مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران. ۱۳۸۴ صفحه ۴۰-۳۹

۱۲. امینی کافی آباد صدیقه، طالبیان علی، مقتدائی مینا و همکاران. بررسی وجود DNA ویروس هپاتیت B در پلاسمای حاصل از واحدهای خون اهداکنندگان HBsAg منفی و Anti-HBc مثبت استان تهران با استفاده از .PCR فصلنامه پژوهشی خون، دوره ۳، شماره ۵، زمستان ۱۳۸۵ صفحه ۳۸۶-۳۷۹

13. Panhorta BR, Al-Bahreni A, Ui-Hassan Z. Epidemiology of antibody to hepatitis B core antigen screening among blood donors in Eastern Saudi Arabia: Need to replace the test by HBV DNA testing. Saudi Med J 2005; 26 (2): 270-3

14. Zervou EK, Dalekos GN, Boumba DS, Tsianos EU. Value of anti-HBc screening of blood donors for prevention of HBV infection: results of 3-year prospective study in Northwest Greece. Transfusion 2001; 41: 652-8

15. Chaudhari V, Nanu A, Panda SK, Chand P. Evaluation of serologic screening of blood donors in India reveals a lack of corrolation between anti-HBc and PCR-amplified HBV-DNA.. Transfusion 2003; 43: 1442-8

16. Yotsuyanagi H, Yasuda K, Moriya K, et al. Frequent presence of HBV in the sera of HBsAg-negative, anti-HBc-positive blood donors. Transfusion 2001; 41: 1093-9

17. Sato S, Ohashi W, Ihara H, et al. Comparison of the sensitivity of NAT using pooled donor samples for HBV and that of a serologic HBsAg assay. Transfusion 2001; 41: 1107-13.

18. Scully LJ, Sung H, Pennie R, Gill P. Detection of HBV DNA in the serum of Canadian hepatitis B surface antigen negative, anti-HBc positive individuals, using polymerase chain reaction. J Med Virol. 1994; 44 (3): 293-7

19. Silva CM, Costi C, Costa C, Michelon C, Oravec R, Ramos AB, Niel C, Rossetti ML. Low rate of occult hepatitis B Virus infection among anti-HBc positive blood donors living in a low prevalence region in Brazil. J infect. 2005; 51 (1): 24-9

20. Pincus MR, Tierno PH, Dufour DR. Evaluation of liver function. In: Mcpherson RA, Pincus MR. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. 21st edition. China: Saunders Elsevier; 2007. p. 271

www.SID.ir