

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

مجید شهبابی<sup>۱</sup>، دلارام صیاد پور زنجانی<sup>۲\*</sup>، سید عباس طباطبائی<sup>۳</sup>، محمد اسماعیل خیامی<sup>۴</sup>، حسین شکیبائی<sup>۵</sup>، ریحانه بازرگانی<sup>۶</sup>

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 ایمنولوژی، 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 و ALT/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

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 (۱-۶).

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

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 پلیمرز) 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 کشورهایی 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 گردد که 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، Anti-HTLV I/II و Ag/Ab با روش الیزا و با کیت Enzygnost® Anti-HBc

## جدول ۱. توالی پرایمرها

پرایمر	توالی
۱۷۶۳	(5'-GCTTTGGGGCATGGACATTGACCCGTATAA-3')
۲۰۳۲	(5'-CTGACTACTAATTCCTGGATGCTGGGTCT-3')
۱۷۷۸	(5'-GACGAATCCATTGACCCGTATAAAGAATT-3')
۲۰۱۷	(5'-ATGGGATCCCTGGATGCTGGGTCTTCCAAA-3')

## یافته ها

تعداد ۵۰۵۹ اهداکننده که شامل ۴۲۷ نفر (۸/۴٪) زن و ۴۶۳۲ نفر (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. محدوده سنی این افراد ۶۲-۱۷ سال و میانگین سنی آنها ۴۰/۴ سال بود. شیوع Anti-HBc در بین اهداکنندگان ۸/۵٪ بود. بیشترین تعداد اهداکنندگان در محدوده سنی ۲۵-۲۱ سال قرار بودند ولی بازه سنی ۴۵-۴۱ سال بیشترین افراد Anti-HBc مثبت را شامل می شد (جدول ۲).  
از میان ۴۳۲ نمونه ۳۵۵ نمونه (۸۲٪) از نظر Anti-HBs مثبت و بقیه منفی بودند. از نظر Anti-HBe نیز ۲۵۵ نفر (۵۹٪) مثبت و بقیه منفی بودند. ۲۳۸ نمونه (۵۵٪) نیز از نظر هر سه شاخص مثبت بودند. تعداد افرادی که تنها از نظر شاخص Anti-HBc بوده و اصطلاحاً Isolated HbcAb نامیده می شوند ۵۹ نفر (۱۴٪) بود. از تعداد ۴۰۰ نمونه ای که سرم آنها برای انجام آزمایش ALT کافی بود تنها ۵ نمونه (۱/۲۵٪) دارای مقادیر غیرطبیعی بودند که این افراد از نظر الگوی شاخص های 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.

## جدول ۲. توزیع اهدا کنندگان خون و افراد Anti-HBc مثبت بر

اساس طیف سنی. سازمان انتقال خون مشهد.

بازه سنی (سال)	تعداد اهداکنندگان (%)	تعداد افراد Anti-HBc+ (%)
۱۷-۲۰	۲۷۰ (۵/۴)	۱۰ (۲/۳)
۲۱-۲۵	۱۰۱۱ (۲۰)	۳۴ (۷/۹)
۲۶-۳۰	۹۹۶ (۱۹/۷)	۴۵ (۱۰/۴)
۳۱-۳۵	۷۹۸ (۱۵/۸)	۴۹ (۱۱/۳)
۳۶-۴۰	۷۰۶ (۱۲/۹)	۶۹ (۱۶)
۴۱-۴۵	۵۳۱ (۱۰/۵)	۷۸ (۱۸)
۴۶-۵۰	۳۹۰ (۷/۷)	۷۲ (۱۶/۷)
۵۱-۵۵	۲۲۵ (۴/۴)	۴۶ (۱۰/۶)
۵۶-۶۰	۹۹ (۲/۰)	۲۵ (۵/۸)
۶۱-۶۵	۳۲ (۰/۶)	۴ (۰/۹۳)
۶۶-۷۰	۱ (۰/۰)	۰ (۰/۰)

## بحث

علیرغم غربالگری اهداکنندگان خون از نظر HBsAg در جهت شناسایی آلودگی با ویروس هپاتیت B، مطالعات مختلف وجود HBV DNA را در خون و بافت بعضی از افراد HBsAg منفی نشان داده است (۱-۶). 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 شناسایی 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 توجهی 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 یافته شده است. موارد مثبت HBV DNA در اهداکنندگان Anti-HBc مثبت در مصر ۱۲٪ (۸)، برزیل ۳/۳٪ (۹)، 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 آنجائیکه ظهور Anti-HBs به معنی بهبود عفونت و پاک شدن ویروس می باشد (۲۰) و حتی در صورت وجود HBV DNA در این افراد تیتراژ آن بسیار پائین بوده و یافتن آن نیازمند روش های بسیار حساس می باشد.

نمی توانند در یافتن موارد OBI، که تیتراژ HBV DNA در آنها پایین 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 ارزانه ترین 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 سعودی (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.

همچنین تشخیص عفونت مخفی هیپاتیت 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 هایی که تیتراژ HBsAg آنها پایین 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 بالایی برخوردار بوده ( $< 0.2 \text{ ng/mL}$ ) و بنابراین با یافتن نمونه های HBsAg مثبت با تیتراژ پایین در حقیقت از تعداد موارد OBI می کاهد.

### نتیجه گیری

از آنجائی که بر اساس مطالعات مختلف مشخص شده است احتمال انتقال عفونت هیپاتیت B توسط اهداکنندگان HBsAg منفی و Anti-HBc مثبت وجود دارد و با توجه به وجود درصد نسبتاً بالایی 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

## 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, 3<sup>rd</sup> 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

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 هیپاتیت 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 هیپاتیت 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 correlation 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