

شیوع عفونت نهفته هپاتیت B در اهدا کنندگان خون با HBsAg منفی و HBcAb مثبت با روش Real time PCR در جنوب ایران

علیرضا منخیان^۱، افسون شریعت^{۱*}^۱ گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۹/۰۸/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۴

چکیده

زمینه و هدف: عفونت نهفته ویروس هپاتیت B در اهدا کنندگان خون، سلامت خون‌های اهدایی را تهدید می‌کند. در عفونت نهفته ویروسی با وجود منفی بودن آنتی ژن سطحی ویروس هپاتیت B (HBsAg)، ژنوم ویروسی به میزان کم در سرم فرد قابل تشخیص است. هدف از این مطالعه، تعیین و ارزیابی شیوع عفونت نهفته هپاتیت B در اهدا کنندگان خون با HBsAg منفی و HBcAb مثبت با روش Real time PCR در جنوب ایران بود.

روش بررسی: این یک مطالعه توصیفی مقطعی می‌باشد که بر روی ۱۰۰۰ نفر از اهدا کنندگان خون مراجعه کننده به سازمان انتقال خون بوشهر در طی آبان ماه ۱۳۹۶ تا دی ماه ۱۳۹۷ انجام شد. همه افراد، HBsAg منفی بودند و نمونه‌های سرم آن‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد، سپس این ۱۰۰۰ نمونه، جهت شناسایی HBcAb با روش الیزا ارزیابی شدند. نمونه‌های HBcAb مثبت جهت تشخیص ژنوم ویروس هپاتیت B با روش Real time PCR بررسی شدند. حساسیت PCR، ۱۰۰ کپی از ژنوم ویروسی در هر میلی‌لیتر بود. داده‌ها با از آزمون‌های آماری کای دو و فیشر، تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: از ۱۰۰۰ فرد اهدا کننده خون HBsAg منفی، ۳۰ نفر (۳ درصد) HBcAb مثبت بودند. از این تعداد ۲۹ نفر (۹۷ درصد) مرد و ۱ نفر (۳ درصد) زن بودند. اختلاف آماری معنی‌داری بین سطح تحصیلات و میزان HBcAb مثبت به دست آمد ($p=0/028$). همچنین، تفاوت معنی‌داری بین فاکتور تأهل و خطر بروز HBcAb مثبت وجود داشت ($p=0/001$). ژنوم ویروسی در هیچ یک از نمونه‌های HBcAb مثبت شناسایی نشد، نتایج، ارتباط معنی‌داری بین عفونت نهفته هپاتیت B و HBcAb مثبت نشان نداد ($p>0/05$).

نتیجه‌گیری: اگرچه ژنوم ویروسی در هیچ یک از دهنندگان خون HBcAb مثبت و HBsAg منفی در سازمان انتقال خون بوشهر وجود نداشت، اما جهت بهبود سلامت خون‌های اهدایی پیشنهاد می‌شود آزمایش HBcAb همراه با روش PCR برای تعیین میزان شیوع عفونت نهفته هپاتیت B در دهنندگان خون HBsAg منفی، در طیف وسیع‌تری از اهدا کنندگان خون انجام شود. بنابراین، آزمایش سرولوژیکی HBsAg به تنهایی نمی‌تواند عفونت نهفته هپاتیت B در دهنندگان خون را تشخیص دهد.

واژه‌های کلیدی: عفونت نهفته هپاتیت B، آنتی بادی ضد HBc، اهدا کنندگان خون

*نویسنده مسئول: افسون شریعت، کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، واحد کازرون، گروه میکروبیولوژی

Email: afsoonsh1980@yahoo.com

مقدمه

ویروس هپاتیت B^(۱) از خانواده هپادنا ویریده^(۲) با ژنوم DNA حلقوی است که بیشترین آسیب را به کبد انسان وارد کرده و می‌تواند سبب هپاتیت حاد و مزمن گردد (۲ و ۱). این ویروس می‌تواند از طریق خون یا مایعات بیولوژیکی آلوده منتقل شود (۳). در ایران ویروس هپاتیت B علت نیمی از موارد هپاتیت حاد، بیش از ۶۰ درصد هپاتیت‌های مزمن و سیروز کبدی و بیش از ۸۰ درصد سرطان کبد می‌باشد (۴). با انجام واکسیناسیون نوزادان و افراد در معرض خطر و شناسایی به موقع بیماران و درمان آنها می‌توان این عفونت را در جامعه کنترل کرده و از بروز سیروز و سرطان کبد پیشگیری کرد (۴).

براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، مرگ و میر ناشی از هپاتیت و ویروس در حال افزایش است (۵)، به طوری که در سال ۲۰۰۰، ۱/۱ میلیون نفر در اثر هپاتیت و ویروس در جهان فوت کردند. این تعداد در سال ۲۰۱۵، با ۱۵ درصد افزایش به ۱/۳ میلیون نفر رسید (۵). میزان شیوع این بیماری در ایران نیز در استان‌های مختلف متفاوت بوده و به طور میانگین ۲/۱۴ درصد جمعیت عمومی می‌باشد (۶). این شیوع کمتر از ۰/۰۸ درصد از جمعیت اهداء کنندگان خون را تشکیل می‌دهد (۷).

آنتی‌ژن سطحی ویروس هپاتیت B^(۳) یک نشانگر سرولوژیکی کلیدی جهت تشخیص عفونت هپاتیت B حاد یا مزمن می‌باشد (۸). در مراکز انتقال خون تنها از این نشانگر جهت تشخیص عفونت هپاتیت

B استفاده می‌شود (۸). با این حال، چندین نشانگر سرولوژیکی دیگر و ویروس نیز از نظر بالینی در تشخیص عفونت HBV مفید هستند (۸). از جمله آنتی‌بادی ضد هسته مرکزی هپاتیت B^(۴) ممکن است در بیماران مبتلا به عفونت مزمن HBV تا مدت‌های طولانی قابل تشخیص باقی بماند (۸). بنابراین در تشخیص عفونت نهفته هپاتیت B نشانگر HBcAb می‌تواند کمک کننده باشد (۹). عفونت نهفته هپاتیت B^(۵) با حضور کم DNA ویروسی و عدم وجود HBsAg در سرم افراد شناسایی می‌شود که با حضور یا عدم حضور مارکرهای سرولوژیک عفونت قبلی (HBcAb و یا HBsAb) همراه می‌باشد (۱۰). در عفونت نهفته هپاتیت B گاهی اوقات علی‌رغم منفی بودن HBV-DNA، HBsAg در خون محیطی فرد وجود دارد، اما در عین حال عفونت نهفته هپاتیت B به طور کامل شناخته شده نبوده و می‌تواند علل دیگری نیز داشته باشد (۱۱).

در کشورهای توسعه یافته تست ملکولی PCR جهت تشخیص عفونت نهفته هپاتیت B در دهنندگان خون به کار می‌رود. به طوری که شناسایی ژنوم ویروسی به وسیله تست اسید نوکلئیک حساس‌تر از سنجش HBsAg در خون‌های اهدایی است (۱۲)، اما در کشورهای در حال توسعه غربالگری HBV در بین دهنندگان خون متکی بر تشخیص سرولوژیکی HBsAg

- 1-1-Hepatitis B virus (HBV)
- 2-Hepadnaviridae
- 3-Hepatitis B surface Antigen (HBsAg)
- 4-Hepatitis B core antibody (HBcAb)
- 5-Occult Hepatitis B Infection

میانگین سنی $40 \pm 11/3$ بودند. نمونه‌های سرم این افراد در دمای 20°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آزمایش HBsAg با کیت غیر رقابتی HBsAg (شرکت SIEMENS-آلمان) به روش الیزا بر اساس دستورالعمل کیت انجام شد. در این مطالعه اطلاعات دموگرافی مانند سطح تحصیلات (شاخصی از آگاهی در زمینه بهداشت فردی و اجتماعی)، شغل (آزاد، اداری) و وضعیت تأهل افراد جمع‌آوری شد که در (جدول ۱) آمده است. سپس بر روی این ۱۰۰۰ نمونه، شناسایی سرولوژیکی مارکر HBcAb به روش الیزا با استفاده از کیت رقابتی HBcAb (شرکت SIEMENS-آلمان) بر اساس دستورالعمل کیت انجام شد، سپس افراد HBcAb مثبت جهت انجام پژوهش‌های مولکولی انتخاب شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت DynaBio Viral Nucleic Extraction Mini (شرکت تکاپوزیست-ایران) طبق دستورالعمل کیت انجام شد. جهت بررسی لود ویروس، از روش Real-time PCR (Gene Proof Kit, Iran) به وسیله دستگاه ترموسیکلر (Rotor-Gene Q6000, Germany) استفاده شد. پرایمرها و پروب اختصاصی به کار رفته در (جدول ۲) و چرخه دمایی در (جدول ۳) آورده شده‌اند (۱۴). حساسیت PCR، ۱۰۰ کپی از ژنوم ویروسی در هر میلی‌لیتر بود.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری کای دو و فیشر تجزیه و تحلیل شدند.

می‌باشد. همچنین تست HBcAb روش مؤثری جهت ردیابی عفونت نهفته هپاتیت B بوده و انجام این تست در دهندگان خون می‌تواند سبب کاهش انتقال عفونت نهفته ویروسی از طریق خون‌های اهدایی گردد (۱۲).

در کشورهایمانند لهستان، ایتالیا، اسپانیا و آلمان میزان شیوع عفونت نهفته هپاتیت B به ترتیب: $0/006$ ، $0/22$ ، $0/06$ و $0/05$ و $0/006$ درصد گزارش شده است (۱۳). به دلیل شیوع بالای عفونت هپاتیت B از طریق انتقال خون از دهندگان واجد عفونت نهفته ویروسی و همچنین با توجه به تزریق سالانه بیش از یک میلیون واحد خون به گیرندگان، بررسی میزان عفونت نهفته HBV در اهدا کنندگان خون اهمیت به سزایی دارد، لذا هدف از این مطالعه، تعیین و ارزیابی شیوع عفونت نهفته هپاتیت B در اهداکنندگان خون با HBsAg منفی و HBcAb مثبت با روش Real time PCR در جنوب ایران بود.

روش بررسی

این یک مطالعه توصیفی مقطعی می‌باشد که بر روی ۱۰۰۰ نفر از اهدا کنندگان خون مراجعه کننده به سازمان انتقال خون بوشهر در طی آبان ماه ۱۳۹۶ تا دی ماه ۱۳۹۷ که دارای نتیجه HBsAg منفی بودند، انجام شد.

از این تعداد مورد مطالعه، ۹۲۶ نفر (۹۲/۶ درصد) مرد و ۷۴ نفر (۷/۴ درصد) زن با

جدول ۱: اطلاعات دموگرافی افراد مورد مطالعه

تعداد (درصد)	مشخصات	
۲۴۷ (۲۴/۷)	مجرد	تأهل
۷۵۳ (۷۵/۳)	متأهل	
۷۸۹ (۷۸/۹)	دیپلم و زیر دیپلم	تحصیلات
۲۱۱ (۲۱/۱)	فوق دیپلم و بالاتر	
۷۶۶ (۷۶/۶)	شغل آزاد	شغل
۲۳۴ (۲۳/۴)	شغل اداری	

جدول ۲: توالی پرایمرهای مورد استفاده

نام پرایمر	توالی 5'→3'
HBV (فوروارد)	5'-CTGAATCCTGCGGACGACCC-3'
HBV (ریورس)	5'-CCCAAGGCACAGCTTGGAGG-3'
HBV (پروپ)	5Cy5/CCTCTKCATCCKGCTGCTATGCCTYMWC/31AbRQSp

جدول ۳: چرخه دمایی بر اساس دما و زمان

چرخه دمایی	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان (ثانیه)
۱	۳۷	۱۲۰
۱	۹۵	۶۰۰
	۹۵	۵
۴۵	۶۰	۴۰
	۷۲	۲۰

یافته‌ها

یک از این فاکتورهای دموگرافی با تولید HBcAb مثبت

در (جدول ۴) نشان داده شده است.

در این پژوهش ۸۰ درصد افراد HBcAb مثبت،

متأهل و ۲۰ درصد مجرد بودند. اختلاف آماری

معنی‌داری بین فاکتور تأهل و خطر بروز HBcAb مثبت

به دست آمد ($p=0/001$). مقایسه سطح تحصیلات بین

افراد مورد مطالعه، اختلاف قابل توجه تحصیلات بین

در این مطالعه از ۱۰۰۰ فرد اهداء کننده خون

مورد بررسی، ۳۰ نفر (۳ درصد) HBcAb مثبت بودند.

از این تعداد ۲۹ نفر (۹۷ درصد) مرد و ۱ نفر (۳ درصد)

زن بودند و میانگین سنی $44 \pm 5/2$ داشتند. در این

افراد تحصیلات در دو سطح زیر دیپلم و دیپلم و

(فوق دیپلم و بالاتر) طبقه‌بندی شده است. ارتباط هر

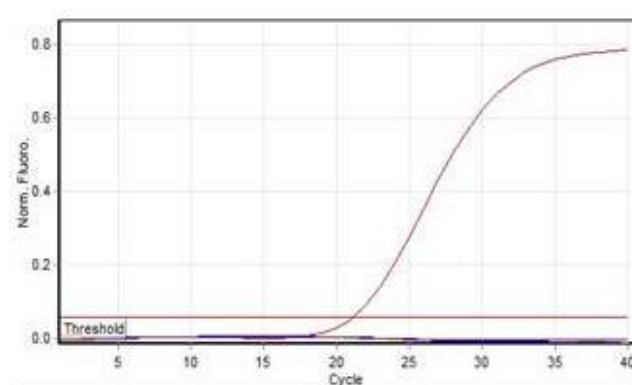
نظر لود ویروسی منفی بودند، به طوری که DNA ویروس در هیچ یک از ۳۰ نمونه HBcAb مثبت وجود نداشت؛ بنابراین، ارتباط آماری معنی داری بین مثبت شدن HBcAb و عفونت نهفته هیپاتیت B به دست نیامد ($p > 0.05$). نتایج Real time PCR جهت بررسی لود HBV-DNA در نمونه‌های HBcAb مثبت در (شکل ۱) نشان داده شده است.

دو گروه را نشان داد. با توجه به این که متغیر تحصیلات به عنوان شاخص بهداشت فردی و اجتماعی در نظر گرفته شده است، پایین بودن سطح آگاهی فردی با بروز بیماری، ارتباط معنی دار نشان داد ($p = 0.028$)، اما اختلاف آماری معنی داری بین نوع شغل افراد و خطر بروز HBcAb مثبت دیده نشد ($p = 0.068$). همه افراد مورد مطالعه (۱۰۰ درصد)، از

جدول ۴: اطلاعات دموگرافی افراد اهدا کننده خون HBcAb مثبت

اطلاعات دموگرافی	تعداد افراد HBcAb مثبت (تعداد = ۳۰)	تعداد افراد HBcAb منفی (تعداد = ۹۷۰)	سطح معنی داری
تأهل	۶	۲۴۱	
مجرد	۲۴	۷۲۹	* / ۰.۰۰۱
تحصیلات	۲۱	۷۶۸	
دیپلم و زیر دیپلم	۹	۲۰۲	* / ۰.۰۲۸
فوق دیپلم و بالاتر	۲۰	۷۴۶	
شغل	۱۰	۲۲۴	۰ / ۰.۶۸
آزاد			
اداری			

* $p < 0.05$: ارتباط معنی دار



شکل ۱: نتایج Real time PCR جهت بررسی لود HBV-DNA در نمونه‌های HBcAb مثبت. خط آبی بیانگر نمونه‌های مورد مطالعه (HBcAb مثبت) بوده که هیچ‌گونه منحنی نداشته و نشان دهنده منفی بودن وجود ویروس می‌باشد. خط قرمز، استاندارد مثبت بوده که دارای منحنی است.

بحث

عفونت نهفته ویروسی ممکن است پیشرفت فیبروز کبدی را سرعت داده و ریسک سرطان کبد را افزایش دهد. همچنین فاکتور مهمی جهت انتقال هپاتیت B در بخش همودیالیز می‌باشد (۱۰).

بدین منظور هدف از این پژوهش، تعیین شیوع عفونت نهفته HBV در اهداکنندگان خون در بوشهر و مشخص کردن ارزش واقعی تست HBcAb به عنوان یک تست غربالگر در شناسایی عفونت نهفته هپاتیت B و تشخیص DNA ویروسی در نمونه‌های HBcAb مثبت با روش ملکولی Real time PCR بود. نتایج نشان داد بین HBcAb مثبت با میزان تحصیلات و وضعیت تأهل ارتباط معنی‌داری وجود دارد، اما به لحاظ آماری هیچ ارتباط معنی‌داری بین مثبت شدن HBcAb و عفونت نهفته هپاتیت B به دست نیامد ($p > 0.05$).

طی بررسی انجام شده به وسیله محمود و همکاران، آزمایش HBcAb و تست تأییدی اسیدنوکلئیک می‌تواند تضمین کننده سطح ایمنی خون اهدایی بر علیه هپاتیت نهفته باشد (۱۸). همچنین بر اساس تحقیق صورت گرفته به وسیله اسپوسیتو و همکاران، انجام آزمایش HBcAb ضمن افزایش سطح ایمنی گیرندگان خون، تنها فقط ۱ درصد باعث کاهش اهداکنندگان خون می‌شود (۱۹).

پژوهش‌های مختلفی در ایران در زمینه میزان شیوع عفونت نهفته HBV در خون‌های اهدایی انجام شده و نتایج متناقضی به دست آمده است. در این پژوهش‌ها، به ترتیب در شهرهای؛ رفسنجان، شیراز، اصفهان و تهران ۱/۵، ۱۲، ۹/۰ و ۱۵/۰ درصد از

مهم‌ترین راه انتقال ویروس هپاتیت B از طریق تزریق خون می‌باشد (۲). به طوری که اهداکنندگان خون با HBsAg منفی و HBcAb مثبت قادرند این ویروس را به سایرین منتقل نمایند (۱۲). بنابراین شاخص HBcAb در تشخیص عفونت نهفته هپاتیت B در دهنندگان خون اهمیت بسزایی دارد (۱۲). هدف از این مطالعه، تعیین و ارزیابی شیوع عفونت نهفته هپاتیت B در اهداکنندگان خون با HBsAg منفی و HBcAb مثبت با روش Real time PCR در جنوب ایران بود.

حفظ سلامت خون‌های اهدایی هدف اصلی سازمان‌های انتقال خون در سراسر دنیا می‌باشد (۱۵). به رغم پیشرفت‌های روز افزون در آزمایش‌های غربالگری خون‌های اهدایی، هنوز خون یکی از راه‌های انتقال برخی از عوامل عفونی است (۱۵). از این رو، شناسایی دقیق و به موقع ویروس هپاتیت B می‌تواند کمک قابل توجهی در کنترل آن و پیشگیری از بروز سایر بیماری‌ها نماید (۱۶). بررسی سروزولوژیکی HBsAg به عنوان شاخص مهمی از سوی سازمان‌های انتقال خون پذیرفته شده است (۱۷). به علاوه در مراکز انتقال خون از فاکتور HBcAb به عنوان عاملی جهت پیشگیری از انتقال عفونت نهفته هپاتیت B استفاده می‌شود. زیرا ممکن است ویروس هپاتیت B در خون‌های اهدایی که HBsAg منفی و HBcAb مثبت هستند، وجود داشته باشد، گرچه احتمال انتقال آن بسیار کم است (۱۷).

دهندگان خون واجد عفونت نهفته ویروسی بودند (۲۰). طی مطالعه صورت گرفته به وسیله واعظ جلالی و همکاران در تهران ۸ درصد دهندگان خون HBcAb مثبت بودند و ژنوم ویروسی در ۵۰ درصد از این نمونه‌ها یافت شد که با این مطالعه هم‌خوانی نداشت (۲۱). هم‌چنین بر خلاف تحقیق حاضر، در پژوهش آذرکار و همکاران در استان خراسان جنوبی ۱۰ درصد از دهندگان خون HBcAb مثبت واجد عفونت نهفته هپاتیت B بودند (۲۲).

به علاوه در کشورهای مختلف نظیر؛ اوگاندا، هند، عراق و نیجریه پژوهش‌ها نشان داد که به ترتیب ۳۶، ۳۰، ۳۹ و ۱۴ درصد از دهندگان خون HBcAb مثبت، عفونت نهفته هپاتیت B داشتند (۲۶-۲۳). هم‌چنین در مطالعه‌ای که جسونی و همکاران در آمریکا انجام دادند مشخص شد اهداکنندگان خون HBcAb مثبت ممکن است دارای عفونت مزمن ویروس هپاتیت B یا عفونت با انواع سویه‌های HBV باشند (۲۷).

مشابه با تحقیق حاضر در مطالعه‌ای که در اراک انجام شد، ۲ درصد دهندگان خون HBcAb مثبت بودند و عفونت نهفته ویروسی در هیچ یک از افراد یافت نشد (۲۸). هم‌چنین در پژوهش صورت گرفته در کرمانشاه و اهواز در دهندگان خون HBcAb مثبت، عفونت نهفته هپاتیت B مشاهده نگردید که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت (۲۹). به طور مشابهی، طی مطالعه‌ای که در استان گلستان در سال ۲۰۱۹ انجام گرفت، مشخص شد در هیچ یک از اهداکنندگان خون HBcAb مثبت، DNA ویروس یافت نشد (۳۰). هم‌چنین

مشابه با مطالعه حاضر، در یک بررسی مشخص شد انجام تست HBcAb بر روی خون‌های اهدایی باعث کاهش تعداد اهداکنندگان می‌گردد (۳۱).

در پژوهش‌های مختلف نتایج ضد و نقیضی در مورد ارتباط خون‌های اهدایی HBcAb مثبت و عفونت نهفته هپاتیت B گزارش شده است که به نظر می‌رسد میزان شیوع عفونت HBV در بین کشورهای مختلف و حتی در یک منطقه متغیر است (۳۲). شیوع عفونت نهفته هپاتیت B در دهندگان خون ممکن است مرتبط با میزان فراوانی عفونت HBV در آن ناحیه باشد. نوع ژنوتیپ HBV نیز می‌تواند بر روی پیامد عفونت تأثیرگذار باشد. به طوری که ژنوتیپ‌های متنوع ویروسی در مناطق مختلف وجود دارند (۳۳ و ۳۲). از طرفی، اختلاف در تکنیک‌های به کار رفته جهت شناسایی عفونت نهفته ویروسی و حساسیت تست PCR، هم‌چنین تفاوت در اندازه نوع و میزان فاکتورهای خطر در جمعیت مورد مطالعه می‌تواند در ایجاد این تناقض در نتایج پژوهش‌ها نقش داشته باشد.

محدودیت این پژوهش، تعداد نسبتاً کم جمعیت اهداکننده خون بود و باید میزان شیوع عفونت نهفته هپاتیت B در جمعیت گسترده‌تری از دهندگان خون بررسی شود. پیشنهاد می‌شود جهت بهبود سلامت خون‌های اهدایی و به منظور تعیین میزان شیوع عفونت نهفته هپاتیت B در دهندگان خون HBsAg منفی، آزمایش HBcAb همراه با روش ملکولی PCR در طیف بسیار وسیع‌تری از اهداکنندگان خون مورد استفاده

قرار گیرد. بنابراین، آزمایش سرولوژیکی HBsAg به تنهایی تضمین کننده سلامت خون‌های اهدایی نبوده و نمی‌تواند عفونت نهفته هپاتیت B در دهندگان خون را تشخیص دهد.

نتیجه‌گیری

اگرچه بر اساس نتایج Real Time PCR، عفونت نهفته هپاتیت B و ژنوم ویروسی در هیچ یک از دهندگان خون HBcAb مثبت و HBsAg منفی در سازمان انتقال خون بوشهر وجود نداشت، اما انجام آزمایش‌های مولکولی از جمله روش‌های پیشرو در تشخیص عفونت‌های ویروسی در سطح دنیا بود.

تقدیر و تشکر

این تحقیق حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد میکروبیولوژی و دارای کد اخلاق IR.IAU.KAU.REC.1398.120 از کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون می‌باشد و حامی مالی نداشت. از مدیریت محترم و تمامی پرسنل سازمان انتقال خون بوشهر که در انجام این پژوهش همکاری بی‌دریغ نمودند، قدردانی می‌شود.

REFERENCES

1. Mohammed HI, Pennap GR, Oti VB, Adoga MP. Markers of hepatitis B virus infection in a subset of young people in central Nigeria. *Scientific African* 2019; 5: e00121.
2. Schilsky ML. Hepatitis B "360". *Transplant Proc* 2013; 45(3): 982–5.
3. Harris A, Iqbal K, Schillie S. Increases in acute hepatitis B virus infections-Kentucky, Tennessee, West Virginia, 2006–2013. *MMWR Morb Mortal Wkly* 2016; 65(3): 47–50.
4. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 2011; 28(10): 2731–9.
5. Kildow B, Politzer C, DiLallo M, Bolognesi MP, Seyler TM. Short and long-term postoperative complications following total joint arthroplasty in patients with human immunodeficiency virus, Hepatitis B or Hepatitis C. *J Arthroplasty* 2018; 33(7): S86-S92.
6. Saki N, Pourfathollah AA, Dehghani Fard A, Mousavi SH, Kazemi Arababadi M, Kiani Ghalesardi O. The challenges of hepatitis B in blood transfusion in Iran. *Sci J Iran Blood Transfus Organ* 2013; 9(4): 463-77.
7. Keshvari M, Sharafi H, Alavian SM, Mehrabadi H, Zolfaghari S. Prevalence and trends of transfusion-transmitted infections among blood donors in Tehran, Iran from 2008 to 2013. *Transfus Apher Sci* 2015; 53(1): 38-47.
8. Merrill RM, Hunter BD. Seroprevalence of markers for hepatitis B viral infection. *Int J Infect Dis* 2011; 15(2): 78-121.
9. Wang Q, Klenerman P, Semmo N. Significance of anti-HBc alone serological status in clinical practice. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017; 2(2): 123-34.
10. Caviglia GP, Abate ML, Tandoi F, Ciancio A, Amoroso A, Salizzoni M, et al. Quantitation of HBV cccDNA in anti-HBc-positive liver donors by droplet digital PCR: A new tool to detect occult infection. *J Hepatol* 2018; 69(2): 301-7.
11. Kunitomo H, Morihara D, Nakane S, Tanaka T, Yokoyama K, Anan A, et al. A Case of Hepatic Pseudolymphoma with an Occult Hepatitis B Virus Infection. *Intern Med* 2018; 57(2): 223-30.
12. Makvandi M. Update on occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2016; 22(39): 8720-34.
13. Arababadi MK, Hassanshahi G, Pourfathollah AA, Zarandi ER, Kennedy D. Post-transfusion occult hepatitis B (OBI): a global challenge for blood recipients and health authorities. *Hepat Mon* 2011; 11(9): 714-8.
14. Alexanian D, Birg A, Volpicelli N, Glass J, McCarthy D. Latent hepatitis virus reactivation due to drug reaction: dressed to kill. *Dig Dis Sci* 2018; 63(5): 1143-7.
15. Pollicino T, Musolino C, Saitta C, Tripodi G, Lanza M, Raffa G, et al. Free episomal and integrated HBV DNA in HBsAg-negative patients with intrahepatic cholangiocarcinoma. *Oncotarget* 2019; 10(39): 3931-8.
16. Seeger C, Mason WS. Molecular biology of hepatitis B virus infection. *Virology* 2015; 479–80: 672–86.
17. Terrault NA, Lok AS, McMahon BJ, Chang KM, Hwang JP, Jonas MM, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance. *Hepatology* 2018; 67(4): 1560-99.
18. Mahmoud A, Elsherbiny N, Afifi N, Ahmed BM, Yasin AS. Occult Hepatitis B Infection among blood donors in Al Azhar University Hospital, Upper Egypt: The Current Status After 25 years of Vaccine Introduction. *Egypt J Immunol* 2018; 25(1): 45-56.
19. Esposito A, Sabia C, Iannone C, Nicoletti GF, Sommese L, Napoli C. Occult hepatitis infection in transfusion medicine: screening policy and assessment of current use of anti-hbc testing. *Transfus Med Hemother* 2017; 44(4): 263-72.
20. Assar S, Kazemi Arababadi M, Nasiri Ahmadabadi B, Salehi M, Kennedy D. Occult hepatitis b virus (HBV) infection: a global challenge for medicine. *Clin Lab* 2012; 58(11-12): 1225-30.
21. Vaezjalali M, Rashidpour S, Rezaee H, Hajibeigi B, Zeidi M, Gachkar L, et al. Hepatitis B Viral DNA among HBs antigen negative healthy blood donors. *Hepat Mon* 2013; 13(3): e6590.
22. Azarkar Z, Ziaee M, Ebrahimzadeh A, Sharifzadeh G, Javanmard D. Epidemiology, risk factors, and molecular characterization of occult hepatitis B infection among anti-hepatitis B core antigen alone subjects. *J Med Virol* 2019; 91(4): 615–22.
23. Apica BS, Seremba E, Rule J, Yuan H, Lee WM. High prevalence of occult hepatitis B infection in an African urban population. *J Med Virol* 2016; 88(4): 74-680.
24. Panigrahi R, Biswas A, Datta S, Banerjee A, Chandra PK, Mahapatra PK, et al. Anti-hepatitis B core antigen testing with detection and characterization of occult hepatitis B virus by an in-house nucleic acid testing among blood donors in Behrampur, Ganjam, Orissa in southeastern India: implications for transfusion. *Virol J* 2010; 7(1): 204.
25. Hassan RN, Hussain AH. Hepatitis B virus DNA in blood donors positive of anti-hepatitis b core antibodies and negative for surface antigen in Hawler major blood bank, Kurdistan region, Iraq. *Fac Med Baghdad* 2018; 60(1): 57-61.
26. Osuji A, Agbakoba NR, Ifeanyichukwu MO, Tatfeng M. Occult hepatitis B virus infection among blood donors at two teaching hospitals in Nigeria: Implications for Blood Transfusion. *AJIDM* 2018; 6(1): 16-25.
27. Gessoni G, Beggio S, Barin P, Favarato M, Galli C, Valverde S, et al. Significance of anti-HBc only in blood donors: a serological and virological study after hepatitis B vaccination. *Blood Transfus* 2014; 12(1): 63-8.

28. Sofian M, Aghakhani A, Izadi N, Banifazi M, Kalantar E, Eslamifar A, et al. Lack of occult hepatitis B virus infection among blood donors with isolated hepatitis B core antibody living in an HBV low prevalence region of Iran. *Int J Infect Dis* 2010; 14(4): e308–e10.
29. Karimi G, Zadsar M, Vafaei N, Sharifi Z, FalahTafti M. Prevalence of antibody to hepatitis B core antigen and hepatitis B virus DNA in HBsAg negative healthy blood donors. *Virology* 2016; 13: 36.
30. Tabar Asad Laleh R, Sharifi Z, Pourfathollah AA, Samei S. Prevalence of occult hepatitis b infection among hbsag negative blood donors in golestan province. *Int J Med Lab* 2019; 6(1): 63-70.
31. Ye X, Li T, Xu X, Du P, Zeng J, Zhu W, et al. Allain Characterisation an follow-up study of occult hepatitis B virus infection in anti-HBc-positive qualified blood donors in southern China. *Blood Transfus* 2017; 15(1): 6-12.
32. Alizadeh S, Pakzad I, Sayehmiri K, Pakzad R, Darvishi P. Prevalence of Hepatitis B among blood donors in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Asian J Biol Sci* 2014; 7(2): 35-46.
33. Alborzi AM, Kiani Ghalesardi O, Bamdad T, Pourfathollah AA, Jalalifar MA, Shahjahani M, et al. Occult hepatitis B infection and its role in blood safety: a review. *IJBC* 2013; 5(2): 61-75.

Prevalence of Latent Hepatitis B Infection Among Blood Donors with HBsAg Negative and HBcAb Positive by Real Time PCR in South of Iran

Mankhian A, Shariat A*

Department of Microbiology, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, Iran

Received: 22 Oct 2020

Accepted: 30 Dec 2020

Abstract:

Background & aim: Latent hepatitis B virus infection in blood donors threatens the safety of the blood supply. In latent viral infection, despite the negative hepatitis B virus surface antigen (HBsAg), the viral genome can be detected in a small amount in a person's serum. The aim of the present study was to assess the prevalence of occult hepatitis B virus infection among HBsAg negative and HBcAb positive in blood donors of Bushehr blood transfusion organization.

Methods: The present cross-sectional descriptive study was performed on 1000 blood donors referred to Bushehr Blood Transfusion Organization during November 2016 to January 2017. All subjects were HBsAg negative and their serum samples were stored at -20° C. Then these 1000 samples were evaluated to identify HBcAb by ELISA method. HBcAb positive samples were analyzed for hepatitis B virus genome by real time PCR. PCR sensitivity was 100 copies of viral genome per milliliter. To be completed. Data were analyzed using Chi-square and Fisher tests.

Results: Out of 1000 HBsAg negative blood donors, 30 (3%) were HBcAb positive. Of these, 29 (97%) were male and 1 (3%) were female. A statistically significant difference was seen between education level and HBcAb positive ($p=0.028$). Also, there was a significant difference between marital factor and HBcAb positive risk ($p=0.001$). The viral genome was not detected in any of the HBcAb positive samples, no significant relationship was observed between latent hepatitis B infection and HBcAb positive ($p> 0.05$).

Conclusion: Despite the fact that the viral genome was not present in any of the HBcAb positive and HBsAg negative blood donors in Bushehr Blood Transfusion Organization, but it is recommended to improve the health of donated blood. The HBcAb test is used in conjunction with PCR to determine the prevalence of latent hepatitis B infection in HBsAg-negative blood donors in a wider range of blood donors. Therefore, serological HBsAg testing alone cannot detect latent hepatitis B infection in blood donors.

Keywords: Latent Hepatitis B Infection, Anti-HBc Antibody, Blood Donors

*Corresponding author: Shariat A, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, Iran.

Email: afsoonsh1980@yahoo.com

Please cite this article as follows:

Mankhian A, Shariat A. Prevalence of Latent Hepatitis B Infection Among Blood Donors with HBsAg Negative and HBcAb Positive by Real Time PCR in South of Iran. *Armaghane-danesh* 2021; 26(3): 406-416.