

# 无偿献血者中隐匿性乙型肝炎病毒感染及表面抗原突变分析

陈长荣<sup>1</sup>, 袁权<sup>2</sup>, 葛胜祥<sup>2</sup>, 欧山海<sup>1</sup>, 倪宏英<sup>1</sup>, 张永昌<sup>1</sup>, 裴斌<sup>1</sup>, 李安<sup>2</sup>, 闫强<sup>2</sup>,  
林永财<sup>1</sup>, 陈清瑞<sup>2</sup>, 夏宁邵<sup>2</sup>, 张军<sup>2</sup>

(1. 厦门市中心血站, 厦门 361004; 2. 厦门大学 国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心, 厦门 361005)

**摘要:**采用多种免疫学检测和核酸检测相结合的方法调查了我国南方某城市无偿献血者中隐匿性乙型肝炎病毒 (HBV) 感染的存在情况。结果在 9 023 例乙肝表面抗原 (HBsAg) 阴性的无偿献血者中, 共发现 17 例 HBV DNA 阳性, 隐匿性 HBV 感染者的发生率为 0.19% (95%CI: 0.11~0.30%)。序列分析显示其中 6 例在 HBsAg “a” 表位 (aa124~aa147) 存在不同程度氨基酸突变, 突变发生率为 42.9% (6/14, 有 3 例未扩增出 “a” 表位片段序列), G145R 突变是该地区隐匿性 HBV 携带者中发生频率最高的突变 (4/6, 66.7%)。隐匿性 HBV 感染者中基因型 C 的比例 (10/17) 显著高于 HBsAg 阳性的 HBV 感染者 (0/15,  $P < 0.01$ )。

**关键词:**乙型肝炎病毒; 隐匿性感染; “a” 表位; 突变; 基因型

**中图分类号:** R373.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8721(2009)03-0178-07

乙型肝炎 (简称“乙肝”) 是我国最主要的疾病负担之一。乙肝表面抗原 (HBsAg) 是检测乙肝病毒 (HBV) 感染的最常用指标, 也是包括中国在内的大多数发展中国家用于血液制品 HBV 感染筛查的唯一指标。HBsAg 检测试剂阴性但 HBV-DNA 阳性的感染被称为隐匿性 HBV 感染 (Occult HBV infection)。有多种原因可能造成隐匿性 HBV 感染, 其中 HBsAg 突变导致的 HBsAg 试剂漏检是最主要原因之一<sup>[1]</sup>。位于 aa124~147 的 “a” 表位是 HBsAg 的主要免疫优势表位, 也是现有 HBsAg 检测试剂的主要靶点。近年来因 “a” 表位及周边主要亲水区域 (MHR, aa100~160) 氨基酸突变引起 HBsAg 抗原活性的明显改变已有多次报道<sup>[2]</sup>。由于 “a” 表位同时也是乙肝疫苗的主要保护性表位以及乙肝免疫球蛋白 (HBIG) 的主要靶点, “a” 表位突变株的流行可能会使现有乙肝疫苗及 HBIG 的有效性下降, 因此具有特别重要的公共卫生意义。

为了解在我国当前献血者 HBV 筛查体系下, 城市合格无偿献血者中隐匿性 HBV 感染及 HBsAg 突变株流行情况, 本研究对南方某城市中心血站 9 091 名无偿献血员进行了多个 HBV 感染指标的检测, 根据这些指标提示的 HBV 感染可能性高低进行逐份标本或混合标本的 HBV-DNA 检测, 发

现隐匿性 HBV 感染者, 并对病毒株的 “a” 表位区域进行序列测定, 分析 “a” 表位氨基酸突变情况。

## 材料与方法

**1 标本** 9 091 份无偿献血者血清标本由南方某城市中心血站于 2007 年 7 月到 2007 年 12 月期间采集, 男女性别比为 5.5:4.5, 平均年龄为 26 ± 9 岁。全部标本经 HBsAg 胶体金试剂 (北京万泰生物药业股份有限公司) 初筛均为阴性, 血清离心分离后 -70 保存。

**2 血清学检测** HBsAg 检测采用 3 种不同的商品化试剂进行: (i) Murex HBsAg V3 (Abbott Murex, 英国); (ii) HBsAg ELISA (北京万泰公司); (iii) HBsAg ELISA (厦门新创公司)。乙肝表面抗体 (抗-HBs)、乙肝核心抗体 (抗-HBc) 检测试剂均购自北京万泰公司。以 HBV Dane 颗粒相关抗原检测试剂 (Dane-ELISA, 旧称乙肝核酸相关抗原检测试剂) 检测血清中 HBV preS1 抗原和核心抗原 (合称为 Dane 颗粒抗原, Dane-Ag)<sup>[3]</sup>, 由北京万泰公司提供。全部的免疫检测均按厂家操作说明在 Hanmilton ELISA (r) STARlet 全自动系统上完成。

**3 HBV DNA 检测及 S 基因片段测序** HBsAg 阳性标本、Dane-ELISA 阳性而 HBsAg 阴性标本或抗-HBc 阳性而抗-HBs 阴性标本均逐份进行 HBV-DNA 检测。其他血清学模式的标本采用 10 份混合的方式进行 HBV-DNA 检测。HBV-DNA 检测以不同区段的 6 套巢式 PCR (表 1) 和商品化实时荧光定量检测 (qPCR) 试剂盒 (购自广州达安公司或上海科华公司) 进行。血清中 HBV-DNA 采用 Qiagen 公司的 QIAamp DNA Blood Mini Kit, 第一轮 PCR 扩增 35 个循环 (94 40s, 55 40s, 72 40s), 第二轮 PCR 采用相同条件扩增 25 个循环。S 基因区 “a” 表位片段 (aa110~aa165) 测序由上海英骏生物技术有限公司用 ABI 3 100 DNA 全自动

收稿日期: 2009-02-19; 修回日期: 2009-04-22

基金项目: 福建省科技计划重点项目 (闽科计 [2008] 59 号), 厦门市科技计划项目 (3502Z20074035), 国家高技术研究发展计划 (863 计划, 课题号: 2006AA02Z442)

通讯作者: 陈长荣 (zxxz @public.xm.fj.cn), 张军 (E-mail: zhangj @xmu.edu.cn)

测序仪进行。

**4 基因型及 HBsAg“a”表位突变分析** 测得的“a”表位片段序列与各基因型参比序列用 MEGA v3.1 (www.megasoftware.net) 中的 Clustal 方法进行同源列队。同源列队用 MEGA v3.1 中的 Neighbor-Joining 法 (Kimura two parame-

ter 模型) 构建进化树, Bootstrap 验证复数为 1 000, Bootstrap 值大于 70 % 的系统进化分支认为具有较高的可信度。“a”表位基因片段按 HBsAg 的读码框翻译成氨基酸序列, 通过与参比序列的比较分析其氨基酸突变情况<sup>[4]</sup>。

表 1 巢式 PCR 检测 HBV DNA 所用引物

Table 1 Primer sets of “in-house” nested-PCR assay for HBV-DNA

Target	Primer name	Sequences(5'-3')	Position (nt) *	Product length (bp)
A	1st set primer			
	sence AF1	5 - GTCTGCGGCGTTTTC-3	419-435	340
	antisense AR1	5 - ACA GTGGGGAAA GC-3	745-759	
	2nd set primer			
	sence AF2	5 - TGCCCGTTTGCTCTA-3	503-519	199
	antisense AR2	5 - AGAAACGGRCTGA GGC-3	687-702	
S	1st set primer			
	sence S1	5 - CCTGCTGGTGGCTCCAGTTC-3	56-75	751
	antisense S2	5 - ATACCCAAA GACAAAA GAAAA-3	827-807	
	2nd set primer			
	sence S3	5 - GCGGGGTTTTTCTTGTGAC-3	203-222	564
	antisense S4	5 - GGGACTCAAGATGTTGTACAG-3	787-767	
Hc	1st set primer			
	sence AbF	5 - CTGCTATGCCCTCACTTCT-3	454-469	867
	antisense AdR	5 - AGGAGTCCGCA GATG-3	1305-1321	
	2nd set primer			
	sence AaF	5 - CAA GGTA TGTGCCCCGT-3	493-509	238
	antisense AcR	5 - ACAAATKGCRCTAGTAACT-3	712-731	
Vq	1st set primer			
	sence AfF	5 - CAGAGTCTAGACTCGTGGT-3	280-298	424
	antisense AbR	5 - GAGAAACGGRCTGAGG-3	689-704	
	2nd set primer			
	sence AeF	5 - CCCMAA YCTCCARTCACT-3	356-373	300
	antisense AaR	5 - GAYGATGGGATGGGAA-3	641-656	
C	1st set primer			
	sence 1763	5 - GCTTTGGGGCATGGACATGACCCGTATAA-3	1763-1792	298
	antisense 2032	5 - CTGACTACTAATTCCTGGATGCTGGGTCT-3	2032-2061	
	2nd set primer			
	sence 1778	5 - GACGAAATCCATTGACCCGTATAAGAAAT-3	1778-1807	268
	antisense 2017	5 - ATGGGATCCCTGGATGCTGGGTCTTCCAAA-3	2017-2046	
P	1st set primer			
	sence 970F	5 - CCTATTGATTGGAAA GATGTCA-3	970-992	339
	antisense 1309	5 - AGAATGTTTGCTCCAGACC-3	1309-1291	
	2nd set primer			
	sence 970F	5 - CCTATTGATTGGAAA GATGTCA-3	970-992	302
	antisense 1272R	5 - AGTATGGATCGGCA GAGGA G-3	1272-1253	

## 结 果

### 1 无偿献血者中 HBV 感染血清标志及隐匿性 HBV 感染情况

在 9 091 例 HBsAg 快速诊断试剂初筛阴性的无偿献血者中, 以 ELISA 试剂再次检测 HBsAg、

抗-HBs、抗-HBc 和 Dane-颗粒抗原。结果其中 68 份 (0.7%) HBsAg (+)。在 9 023 例 HBsAg (-) 标本中, 共有 8 例 Dane-Ag (+)、413 例单独抗 HBc (+) (抗-HBs、Dane-Ag、HBsAg 均阴性), 均逐份进行 HBV-DNA 检测; 另外 8 602 份其他反应模式标本以 10 例一组等量混合后进行 HBV-DNA 检测。任何检测阳性的标本均重复 2 两次实验证实, 并对

扩增阳性的 PCR 产物进行序列测定和进化分析,确定所携 HBV 的基因型。

9 023 例 HBsAg (-) 标本中,共发现 17 例 HBV-DNA (+) 的隐匿性感染者 (0.2%, 95% 可信限: 0.12 ~ 0.31%) (表 2)。其中 2 例 Dane-Ag (+), 15 例抗-HBc 单独阳性。其他血清学模式标

本中未发现 HBV-DNA 阳性。以两种 q-PCR 试剂对 17 例隐匿性 HBV 感染者中 HBV-DNA 进行定量检测,结果仅 1 例 HBV-DNA 含量为  $1.1 \times 10^3$  copies/ml,另 16 例 HBV-DNA 含量低于 q-PCR 检出限 (< 500 copies/ml)。

表 2 隐匿性 HBV 感染者各种 HBV 相关指标

Table 2 HBV infectious markers of donors with occult infection

No.	Dane-Ag	HBcAb	HBsAb	Postive primers	q-PCR copies/ml	Genotype	"a" epitope Mutations <sup>#</sup>
BX2557	+	-	+	A and S	$1.1 \times 10^3$	C	S136P, G145R, C147R
BX2755	+	+	-	A and P	$<5 \times 10^2$	C	G145R
BX2060	-	+	-	A and C	$<5 \times 10^2$	C	G145R
BX2215	-	+	-	A and P	$<5 \times 10^2$	C	G145R
BX0755	-	+	-	A and C	$<5 \times 10^2$	B	C139R
BX6333	-	+	-	A and Vq	$<5 \times 10^2$	B	T140I
BX0844	-	+	-	A and C	$<5 \times 10^2$	C	Wt
BX2426	-	+	-	A and C	$<5 \times 10^2$	C	Wt
BX8686	-	+	-	Only A	$<5 \times 10^2$	C	Wt
BX3541	-	+	-	A and P	$<5 \times 10^2$	B	Wt
BX5741	-	+	-	A and Vq	$<5 \times 10^2$	B	Wt
BX6195	-	+	-	A and Vq	$<5 \times 10^2$	B	Wt
BX6210	-	+	-	A and Vq	$<5 \times 10^2$	B	Wt
BX6490	-	+	-	Only A	$<5 \times 10^2$	B	Wt
BX2267	-	+	-	Only P	$<5 \times 10^2$	C	U K
BX9840	-	+	-	Only C	$<5 \times 10^2$	C	U K
BX9904	-	+	-	Only C	$<5 \times 10^2$	C	U K

#, wt = wildtype; U K = unknown.

### 2 隐匿性 HBV 感染者及 HBsAg (+) 携带者中 HBV 优势株分子进化分析

A 引物扩增区段对应于 HBsAg 的 aa110 ~ aa165, 在所有巢式 PCR 引物中检出率最高, 同时包含 "a" 表位 (aa124 ~ aa147), 因此用此区段进行基因进化分析。以 A 引物从 17 例隐匿性 HBV 感染者中扩增出 14 例, 另从 54 例 (共 68 例, 另 14 例因样本不足) HBsAg (+) 标本扩增出 15 例。将这 29 例标本的 A 引物扩增产物直接测序, 进行基因进化分析。结果可见 29 例感染者分别携带基因 B 型或基因 C 型 HBV (图 1)。值得注意的是, 17 例 HBsAg (-) 的隐匿性感染者中 7 例属于基因 B 型, 10 例属于基因 C 型 (3 例标本未基于 A 引物的扩增未获成功, 因以其他区段序列进行基因分型, 具体见表 2); 但 15 例 HBsAg (+) 携带者均为基因 B 型 (表 3)。在隐匿性感染者中基因 C 型的比例显著高于 HBsAg (+) 携带者 (Fisher 精确概率,  $P < 0.01$ ), 而两组的平均年龄、性别比例均相当, 提示基因 C 型 HBV 更易出现隐匿性感染 (表 3), 但有待进一步研

究证实。

表 3 献血者中 HBV 携带者的病毒学和人口统计学特征比较

Table 3 Demographic and virological characteristics of HBV carriers in blood donors

Characteristics	HBsAg		P value
	+	-	
	(N = 15)	(N = 17)	
Age (Mean ±SD)	29 ±7	29 ±8	> 0.05
Sex (M:F)	14:1	16:1	> 0.05
Bloodtype (A:B:O)	3:2:9	4:2:9	> 0.05
HBV genotype (B:C)	15:0	7:10	< 0.01

### 3 隐匿性 HBV 感染者表面抗原 "a" 表位区氨基酸突变分析

22 株基因 B 型和 7 株基因 C 型的 "a" 表位序列 (aa124 ~ aa147) 分别与各自基因型的野生型代表株比较 (图 2)。共有 7 例在该区域内出现了氨基酸突变, 除 1 例为 HBsAg (+) 外, 其余 6 例均出现在隐匿性感染者中 (图 2、表 3)。隐匿性感染者中, 7 例 HBV 基因 C 型感染者有 4 例出现 "a" 表位区域突

变,而另 7 例 HBV 基因 B 型感染者中,2 例出现“a” 出现了 G145R 突变。  
表位区域突变株。9 例隐性性 HBV 感染者中,4 例

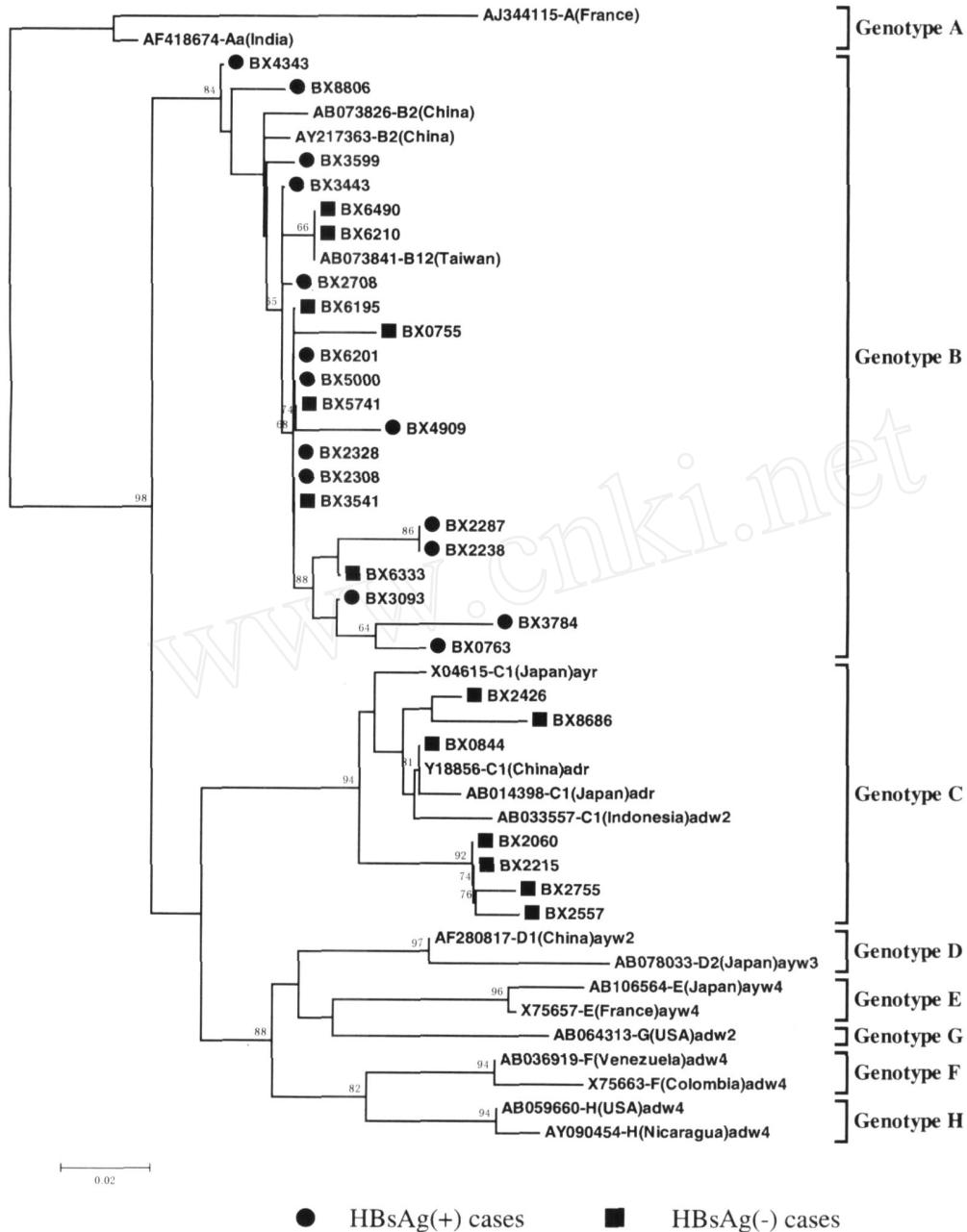


图 1 隐性性及非隐性性 HBV 感染者的 HBsAg 片段分子进化分析

Figure 1 Phylogenetic analysis of HBsAg fragment in occult or nonoccult HBV carriers

### 讨 论

隐性性 HBV 感染是指 HBsAg 检测阴性但 HBV DNA 阳性的感染状态。隐性性 HBV 感染者献血而导致受血者感染 HBV 或引起肝炎的病例时有报道。1978 年 Hoofnagle 等<sup>[5]</sup>首次报道了使用

一例 HBsAg(-)/HbcAb(+) 的血液而引起受血者 HBV 感染。Brechot 等<sup>[6]</sup>用 HBsAg(-)/DNA(+) 的血浆接种大猩猩,观察到受体动物急性乙肝的发生。Liu 等<sup>[7]</sup>调查了中国台湾地区 4448 例受血者,发现其中 0.9% 的个体出现 HBV 病毒血症。Wendel 等<sup>[8]</sup>报道了一例接受 HBsAg(-)/HBV DNA(+) 的受血者经过 12 个月的窗口期进而发展

	124	145	147
Wild-AB073826 :	C T T P A Q G T S M F P S C C C T K P T D G N C		
sAg (+)-BX0763 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (+)-BX2238 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (+)-BX2287 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (+)-BX2308 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (+)-BX2328 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (+)-BX2708 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (+)-BX3093 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (+)-BX3443 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (+)-BX3599 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (+)-BX6210 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (+)-BX5000 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (+)-BX8006 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (+)-BX4343 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (+)-BX3784 :	- - - - -	N S	- - - - -
sAg (+)-BX4909 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (-)-BX6201 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (-)-BX3541 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (-)-BX5741 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (-)-BX6195 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (-)-BX6490 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (-)-BX0755 :	- - - - -	R	- - - - -
sAg (-)-BX6333 :	- - - - -	I	- - - - -
Wide-AF286594 :	C T I P A Q G T S M F P S C C C T K P S D G N C		
sAg (-)-BX0844 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (-)-BX2557 :	- - - - -	P	R R
sAg (-)-BX2755 :	- - - - -	- - - - -	R -
sAg (-)-BX2215 :	- - - - -	- - - - -	R -
sAg (-)-BX2426 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -
sAg (-)-BX2060 :	- - - - -	- - - - -	R -
sAg (-)-BX8686 :	- - - - -	- - - - -	- - - - -

图 2 隐匿性及非隐匿性 HBV 感染者的 HBsAg“a”表位区域氨基酸变异分析  
 Figure 2 Amino acid mutant analysis of “a” epitope region (aa124-aa147) of HBsAg in overt HBV carriers or occult HBV carriers

成为典型的 HBV 感染的病例。王良华等<sup>[9]</sup>采用混浆检测的方式在深圳市 16 320 例 HBsAg 筛查阴性的无偿献血者中,筛查出 8 例(0. 049 %) HBV DNA 阳性的隐匿性 HBV 携带者。

在 HBV 低流行的发达国家,多通过 HBsAg 及 HBcAb 甚至是核酸扩增技术(NAT)一起检测来降低隐匿性 HBV 感染对受血者造成的可能风险。NAT 是目前检测隐匿性 HBV 感染的主要手段,但其高昂的价格以及混浆检测时敏感性的降低使得其很难在发展中国家推广使用。除了 NAT 外,据报道在“抗-HBc 单独阳性”的个体中 HBV DNA 的阳性率显著高于其他血清学模式,可以作为检测隐匿性 HBV 感染的指标,但其阳性预测值偏低(约 5%)<sup>[10-12]</sup>。袁权等<sup>[3]</sup>报道了一种联合检测 HBV S1 前抗原和 C 相关抗原(合称 Dane-Ag)的 ELISA 方法,也可用于隐匿性 HBV 感染尤其是 HBsAg“a”表位突变株感染的筛查。

在本研究中,对中国南方某地的献血员血浆标本平行检测 HBsAg、Dane-Ag、抗-HBs 和抗-HBc,并对 HBV 抗原指标检测阳性(HBsAg/Dane-Ag)和 HBcAb 单独阳性的标本进行单份多区段套式 PCR 检测,同时对其他标本进行每 10 份混合的

NAT 检测。结果在 9023 例 HBsAg 阴性的标本中发现 17 例 HBV DNA 阳性(阳性率 0. 19 %,95 %可信限:0. 11 % ~ 0. 30 %)。此 17 例标本的转氨酶(ALT)、抗-HIV、抗-HCV 和抗-TP 等指标均为阴性,按照现行筛查标准属于合格血浆。本研究发现的 HBsAg 阴性的献血者中的隐匿 HBV 携带者比例显著高于王良华等<sup>[9]</sup>在 2005 年的同类研究中报道的比例(0. 049 %,  $P < 0. 01$ ),这可能是因为本研究采用了单份多区段套式 PCR 检测方式,更大程度上避免了由于混浆导致的检测灵敏度不足和病毒变异对 PCR 检测造成的影响。

隐匿性 HBV 感染者的病毒基因型与年龄、性别、血型相当的 HBsAg 阳性感染者相比,前者基因 C 型的比例(58. 9 %,10/17)显著高于后者(0 %,0/15) ( $P < 0. 01$ )。分析 17 例隐匿性感染中 14 例 S 区“a”表位的氨基酸序列,发现其中 6 例有氨基酸突变存在,包括 3 例 G145R 突变、1 例 M133S/ S136P/ G145R 联合突变。G145R 是一个典型的疫苗免疫逃避突变,同时也对 HBsAg 免疫检测试剂反应性具有较大影响<sup>[13,14]</sup>。除 G145R 外,C139R、T140I 及 C147R 等突变均可能影响 HBsAg 免疫检测试剂的灵敏度<sup>[3,15]</sup>。S136P 是本研究中新发现的突变,

该突变是否会导致 HBsAg 抗原性变化有待进一步实验证实。15 例 HBsAg 阳性的标本中也发现 1 例 T130N/M133S 联合突变,该标本国产 HBsAg 试剂检测阴性, Murex V3 试剂检测为弱阳性 (SCO = 1.1), 提示该突变也可导致 HBsAg 试剂检测能力下降。

本研究同时考察了 HBV Dane-Ag、“抗-HBc 单阳”和商品化荧光定量试剂对献血员中隐匿性 HBV 感染的检测能力。其中“抗-HBc 单阳”对隐匿性 HBV 感染的检出率最高,17 例中 16 例可通过这种模式检出 (94.1%, 95% 可信限: 71.3%~99.9%), 但其阳性预测值仅为 3.8% (16/413, 95% 可信限: 2.2%~6.2%), 即如果通过“抗-HBc 单阳”来筛查当前献血员中的隐匿性 HBV 感染, 可将 HBsAg 筛查后的残余 HBV 风险由 0.19% (17/9016) 降低至 0.01% (1/9016), 但需多报废 4.4% 的合格血浆 (397/8999); HBV Dane-Ag 的阳性预测值较高 (25%), 但检出率不够, 17 例中仅检出 2 例, 也非理想指标; 用国产商品化荧光定量 PCR 试剂检测仅 1 例阳性, 提示即便是单人份检测, 用现有国产荧光定量 PCR 试剂进行血液中隐匿性 HBV 感染筛查的有效性亦十分有限。

导致隐匿性 HBV 感染的因素主要有两点, 一是病毒受宿主免疫、其他病毒共感染抑制等原因导致病毒复制表达水平极低; 二是由于 HBsAg 主要免疫表位 (“a”表位) 的氨基酸突变, 导致 HBsAg 抗原性改变, 使得现有检测试剂灵敏度相对下降, 这类突变可能随着乙肝疫苗的普及、HBIG 的广泛使用、核苷类抗 HBV 药物 (HBsAg 的编码区与核苷类抗 HBV 药物针对的病毒聚合酶区重叠) 以及 HBsAg 诊断试剂在 HBV 防控工作中大量应用带来的选择压力而不断增加<sup>[16,17]</sup>。我国新生儿乙肝疫苗计划免疫已实施 16 年, 接受乙肝疫苗免疫的儿童将陆续进入无偿献血者的队伍, 隐匿性 HBV 感染对血液筛查和临床诊断带来的威胁越来越不容忽视, 发展灵敏度更高并能兼容检测各种突变株的新型 HBV 高通量筛查试剂是亟待解决的重要问题。

#### 参考文献:

[1] Raimondo G, Allain J P, Brunetto M R, et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection[J]. *J Hepatol*, 2008, 49:652-657.  
[2] Carman W F, Van Deursen F J, Mimms L T, et al. The prevalence of surface antigen variants of hepatitis B virus in Papua New Guinea, South Africa, and Sardinia[J].

*Hepatology*, 1997, 26:1658-1666.

- [3] 袁权, 葛胜祥, 闫强, 等. 一种联合检测乙型肝炎病毒前 S1 抗原与核心抗原方法的建立及其与病毒核酸检测结果的一致性[J]. *病毒学报*, 2007, 23:252-257.  
[4] Norder H, Courouce A M, Coursaget P, et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes[J]. *Intervirology*, 2004, 47:289-309.  
[5] Hoofnagle J H, Seeff L B, Bales Z B, et al. Type B hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen[J]. *N Engl J Med*, 1978, 298:1379-1383.  
[6] Brechot C, Kremsdorf D, Paterlini P, et al. Hepatitis B virus DNA in HBsAg-negative patients. Molecular characterization and clinical implications[J]. *J Hepatol*, 1991, 13 Suppl 4:S49-55.  
[7] Liu C J, Lo S C, Kao J H, et al. Transmission of occult hepatitis B virus by transfusion to adult and pediatric recipients in Taiwan[J]. *J Hepatol*, 2006, 44:39-46.  
[8] Raimondo G, Allain J P, Brunetto M R, et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection[J]. *J Hepatol*, 2008, 49:652-657.  
[9] 王良华, 叶贤林, 尚桂芳, 等. 免疫筛查阴性献血者血样病毒核酸检测的研究[J]. *中国输血杂志*, 2005, 18(4): 286-289.  
[10] El-Zaatari M, Kazma H, Naboulsi-Majzoub M, et al. Hepatitis B virus DNA in serum of anti-HBc only-positive healthy Lebanese blood donors: significance and possible implications[J]. *J Hosp Infect*, 2007, 66:278-282.  
[11] Vitale F, Tramuto F, Orlando A, et al. Can the serological status of anti-HBc alone be considered a sentinel marker for detection of occult HBV infection? [J]. *J Med Virol*, 2008, 80:577-582.  
[12] Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact[J]. *J Clin Virol*, 2005, 32:102-112.  
[13] Thakur V, Kazim S N, Guptan R C, et al. Transmission of G145R mutant of HBV to an unrelated contact [J]. *J Med Virol*, 2005, 76:40-46.  
[14] Weber B. Diagnostic impact of the genetic variability of the hepatitis B virus surface antigen gene[J]. *J Med Virol*, 2006, 78 Suppl 1:S59-65.  
[15] Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact[J]. *J Clin Virol*, 2005, 32:102-112.  
[16] Cooreman M P, Leroux-Roels G, Paulij W P. Vaccine and hepatitis B immune globulin-induced escape mutations of hepatitis B virus surface antigen[J]. *J Biomed Sci*, 2001, 8:237-247.  
[17] Huang X, Lu D, Ji G, et al. Hepatitis B virus (HBV)

vaccine-induced escape mutants of HBV S gene among children from Qidong area, China [J]. *Virus Res*, 2004, 99:63-68.

## Surveillance for Occult HBV Infection and HBsAg Variants in Blood Donors

CHEN Chang-rong<sup>1</sup>, YUAN Quan<sup>2</sup>, GE Sheng-xiang<sup>2</sup>, OU Sha-hai<sup>1</sup>, NI Hong-ying<sup>1</sup>, ZHANG Yong-chang<sup>1</sup>, PEI Bin<sup>1</sup>, LI An<sup>2</sup>, YAN Qiang<sup>2</sup>, LIN Yong-cai<sup>1</sup>, CHEN Qing-ru<sup>2</sup>, XIA Ning-shao<sup>2</sup>, ZHANG Jun<sup>2</sup>

(1. Xiamen Blood Services, Xiamen 361004, China; 2. National Institute of Diagnostics and Vaccine Development in Infectious Diseases, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract :** Occult hepatitis B virus (HBV) infection status of blood donors in a southern city in China was investigated by immunological assays and nucleic acid testing. Overall, 17 (0.19%, 95% CI: 0.11% ~ 0.30%) of the 9023 HBsAg negative samples were found to be positive for the presence of HBV DNA. "A" epitope sequences were obtained from 14 among them. Mutation(s) in aa124-aa147 existed in 6 (42.9%, 6/14) samples and 4 (66.7%, 4/6) were G145R mutation. Ratio of genotype C in occult donors (10/17) was statistically higher than HBs-positive donors (0/15,  $P < 0.01$ ), which implied that HBV genotype C led to occult infection more easily.

**Key words :** Hepatitis B virus; Occult infection; "a" epitope; mutation; Genotype

---

Corresponding author: CHEN Chang-rong, Email: zxxz@public.xm.fj.cn, ZHANG Jun, Email: zhangj@xmu.edu.cn