



## PRÉVALENCE DE L'INFECTION OCCULTE LIÉE AU VIRUS DE L'HÉPATITE B ET LES GÉNOTYPES CIRCULANTS AU BURKINA FASO

### PREVALENCE OF OCCULT INFECTION LINKED TO HEPATITIS B VIRUS AND CIRCULATING GENOTYPES IN BURKINA FASO

**DOUMBIA B<sup>1</sup>, KEITA A<sup>1</sup>, DIARRA B<sup>2</sup>, DJIGMA F<sup>2</sup>, KONE B<sup>3</sup>, COULIBALY C<sup>1</sup>, SIMPORE J<sup>2</sup>**

1. Institut National de Santé Publique, Bamako, Mali

2. Laboratoire de Biologie et de Génétique Moléculaire (LABIOGENE) de l'Université Ouaga I Pr Joseph Ki-Zerbo

3. Centre Universitaire de Recherche Clinique, Bamako, Mali

**Auteur correspondant : DOUMBIA Boubacar, Email : [doumbiab44@gmail.com](mailto:doumbiab44@gmail.com)**

#### RÉSUMÉ

**Introduction :** L'infection occulte par le virus de l'hépatite B (IOB) caractérisée par l'antigène HBs indétectable dans le sérum et une présence de l'ADN viral, constitue un grand problème de santé publique et un enjeu majeur des formes cliniques d'hépatite dans le monde. La persistance d'IOB conduit très souvent au carcinome hépatocellulaire (CHC) et à l'immunosuppression. Le but de cette étude était d'estimer la prévalence d'IOB et caractériser les génotypes incriminés du virus. **Méthodes :** Les plasmas de 252 volontaires négatifs à l'Ag HBs, ont été utilisés pour la mise en évidence de l'ADN viral par PCR classique. La PCR multiplex utilisant des amorces spécifiques de 6 génotypes (A à F) a été utilisée pour la caractérisation. **Résultats :** Une prévalence de 11,9% (30/252) de l'IOB a été obtenue avec 7,5% chez les femmes et 4,4% pour les hommes. Les génotypes E (60,0%) et A3 (23,3%) étaient présents et les génotypes B, C, D, et F étaient absents. Une infection mixte aux génotypes E/A3 (16,7%) a été observée. L'anticorps anti-HBc était présent dans 80% des cas IOB. **Conclusion :** La prévalence de l'infection occulte au virus de l'hépatite B est relativement élevée au Burkina Faso. Dans notre étude, elle était de 11,9%. Pour minimiser les infections liées au virus de l'hépatite B, il est nécessaire de renforcer le plateau technique pour la détection de ces infections occultes, notamment dans les centres de transfusion sanguine.

**Mots clés :** IOB, PCR Multiplex, Génotypage, Burkina Faso

#### ABSTRACT

**Background:** Introduction: occult hepatitis B virus infection (OBI) defined by DNA viral presence and surface antigen (HBs Ag) undetectable in serum, is a great issue for the public health and a challenge for the clinical entity worldwide. The persistence of OBI can lead to hepatocellular carcinoma (HCC) and immune deficiency. The aim of this study was to provide an estimation of OBI and to characterize the virus genotypes involved. **Methods:** Surface antigen (HBs Ag) negative plasmas of 252 volunteers were used for DNA viral detection by classic PCR. Multiplex PCR with specific primers for 6 genotypes (A, B, C, D, E, and F) has been used for characterization. **Results:** The prevalence of OBI was 11.9% (30/252 and the genotypes E (60.0%) and A3 (23.3%) has been predominant while B, C, D and F were absent. Cases of coinfection by genotype E/A3 (16.7%) have been observed too. **Conclusion:** The prevalence of occult hepatitis B virus infection is relatively high in Burkina Faso. In our study, it was 11.9%. To minimize infections linked to the hepatitis B virus, it is necessary to strengthen the technical platform for the detection of these occult infections, particularly among blood donors.

**Keywords:** OBI, Multiplex PCR, Genotyping, Burkina Faso.

**Pour citer cet article :** Doumbia B, Keita A, Diarra B, Djigma F, Kone B, Coulibaly C, Simpoire J. Prévalence de l'infection occulte liée au virus de l'hépatite B et les génotypes circulants au Burkina Faso. Rev. Ben. Mal. Inf. 2023;2(2): 6-11.

#### INTRODUCTION

Les L'infection par le virus de l'hépatite B (VHB) reste un problème majeur de santé publique dans le monde. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, environ 2 milliards de personnes sont infectées par le virus de l'hépatite B (VHB). Les porteurs d'une hépatite B chronique sont estimés à environ 350 millions dont plus de 700 000

*Doumbia B et al.*

décèdent chaque année de cirrhose et/ou de carcinome hépatocellulaire (CHC) [1]. Le Burkina Faso (BF) est un pays à forte endémicité avec une prévalence de VHB variant entre 8% et 14,5% dans la population générale [2]. Des prévalences de 14,3% ; 17% et 12,9% ont été rapportées respectivement chez les donneurs de sang de

*Prévalence de l'infection occulte liée au VHB...*

Nouna, de Ouagadougou et du centre national de transfusion sanguine du Burkina Faso [3]. La transfusion sanguine constitue un facteur de risque majeur de transmission du virus de l'hépatite B occulte (IOB) suite au dépistage de sang des donneurs sans utilisation des tests d'amplification nucléiques [4]. L'utilisation des tests d'amplification d'acide nucléique pour dépister les donneurs de sang aux VHC, VIH, VHB, et IOB, peut prévenir la survenue d'infections dues à ces virus [5]. La mise en œuvre de ces tests d'amplification nucléique n'est pas encore un acquis pour les pays en développement. La prévalence de l'IOB parmi les donneurs de sang varie d'un pays à un autre [6]. Au Burkina Faso, cette prévalence était de l'ordre de 32,8% parmi les donneurs de sang [7]. La détection de l'antigène de surface (Ag HBs) dans le sérum reste l'élément de base dans le dépistage et diagnostic de l'infection chronique du VHB dans les pays en développement [8]. La majorité des individus positifs à l'Ag HBs sont aussi positifs pour l'ADN du VHB dans le sérum. L'infection occulte du VHB (IOB) est caractérisée par la présence de l'ADN viral chez les individus à Ag HBs indétectable, avec la présence ou non de l'anticorps anti-HBc [9]. Les portages chroniques des virus de l'hépatite C (VHC) et de l'immunodéficience humaine (VIH) sont associés à une forte prévalence de l'IOB [10]. La coinfection IOB/VHC, accélère la progression de l'hépatite vers la cirrhose et augmente le risque d'évolution vers le carcinome hépatocellulaire (CHC) [11]. Cette coinfection diminue également la réponse au traitement de l'hépatite par l'interféron alpha. Les mécanismes moléculaires à la base de la survenue de l'IOB, jouent un rôle direct dans le développement du carcinome hépatocellulaire (CHC) [12]. Le génome du VHB est génétiquement variable. Des études phylogénétiques ont permis de classer le VHB en 10 génotypes (A-J) [13]. Ces génotypes et leurs variantes (sous génotypes) ont une distribution géographique distincte et ont été associés au développement de la cirrhose et du cancer du foie (CHC). Cette variabilité génétique du VHB joue un rôle important dans la survenue de l'IOB [14]. Au Burkina Faso, nous disposons de peu de données sur la prévalence l'infection occulte du virus de l'hépatite B dans la population générale. Le but de cette

étude était d'estimer la prévalence de l'infection occulte du VHB et de caractériser les génotypes du virus incriminés chez des volontaires dans la population de Ouagadougou.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Type, période et cadre d'étude

Il s'agit d'une étude transversale et analytique à collecte prospective réalisée entre juin 2020 et décembre 2021. L'étude s'est déroulée dans laboratoire de biologie et de génétique moléculaire de l'Université Ouaga I Pr Joseph Ki-Zerbo au Burkina Faso.

### Échantillonnage

L'étude a concerné deux-cent-cinquante-deux (252) volontaires membres de l'association de lutte contre les hépatites au Burkina Faso, résidents à Ouagadougou, sans distinction d'âge, de professions ou de catégories sociales ayant donné leur consentement libre et éclairé. Pour les enfants de moins de 12 ans les consentements ont été obtenus auprès des parents ou des tuteurs. Le recrutement des volontaires a eu lieu dans des différents sites sentinelles de Ouagadougou après une campagne de sensibilisation de plusieurs jours au dépistage de l'hépatite B. La collecte des échantillons sanguin (4 ml de sang veineux) a concerné les participants testés négatifs aux tests rapides de l'hépatite B.

### Détection du virus de l'hépatite B (VHB)

#### Extraction de l'ADN

Elle a été réalisée en utilisant le kit Genomic Column DNA Express (Sacace Biotechnologies, Como, Italy) selon le protocole du fabricant. Le protocole utilise une méthode d'extraction sur colonne basée sur un principe de rétention des molécules d'acide nucléique sur une membrane silicatée contenue dans une colonne.

#### PCR classique

L'amplification a concerné une région très conservée (Prés-S) de 1104 pb du génome du VHB avec l'appareil GeneAmp PCR System 9700 ® par l'utilisation d'une paire d'amorce spécifique à cette région. Les produits PCR ont été soumis à une électrophorèse sur un gel d'agarose 2%, et visualisés sous lumière UV à 312 nm puis photographiés par l'appareil « GENE FLASH® ». Pour l'interprétation des résultats la PCR a été déclarée

positive si l'échantillon présente une bande correspondante à la taille du fragment d'ADN attendu et négative en absence de bande.

**Caractérisation des génotypes par PCR multiplex**

La PCR multiplex a été réalisée en utilisant la méthode décrite par Chen et al, avec les modifications suivantes : Deux PCR-Multiplex dans les mêmes conditions avec deux Mix. Le Mix 1 permettra de caractériser les génotypes A à C et le Mix 2 les génotypes D à F. Les deux PCR-Multiplex ont été réalisées dans un volume total de 25 µl contenant 12,5 µl de Master mix Ampli Gold Taq Man® (Applied Biosystems, USA), 1 µl d'amorces sens et anti-sens des 3 génotypes (Tableau I), 1,5 µl d'eau stérile et 5 µl d'ADN.

**Outils de collecte des données**

Les registres d'enregistrement et d'admission des membres de l'association et les cartes individuelles ont été exploités pour la collecte de données. Les données ont été saisies sur le logiciels Excel et analysées sur le logiciel SPSS version 25. Pour la détermination des associations le test de Khi deux ou de Fisher a été utilisé. Le taux de significativité des tests a été fixé à 5%.

**Considération éthique**

L'étude a obtenu l'approbation du comité technique et scientifique du laboratoire de génétique et biologie moléculaire de l'Université Ouaga I Pr Joseph Ki-Zerbo. Les consentements éclairés et volontaires ont été élaborés et soumis aux participants de l'étude. Si une personne n'acceptait pas de participer, elle n'était soumise

à aucune contrainte.

**Limites**

L'étude n'a concerné que 252 volontaires membres et sympathisants de l'association de lutte contre les hépatites au Burkina Faso.

**RÉSULTATS**

La présente étude s'est portée sur 252 volontaires au dépistage du virus de l'hépatite virale B (VHB), tous négatifs à l'antigène de surface du VHB (Ag HBs). Parmi ces volontaires, l'ADN viral était présent chez 30 soit une prévalence globale de 11,9%. Chez les femmes et chez les hommes, la prévalence était respectivement de 13,77% et 9,65%. Elle était respectivement de 9,30%, 16,39%, 3,39% et 14,29%, dans les tranches d'âges de moins de 20 ans, 20-34 ans, 35-50 ans et plus de 50 ans. En fonction de la provenance, elle était de 10% dans le milieu rural et 11,98% dans le milieu urbain. Sur le plan matrimonial la prévalence était de 12,50% et 11,43% respectivement chez les célibataires et les mariés (Tableau I). La présence des génotypes E et A3 a été enregistré avec respectivement chez 18 patients soit 60,0% (18/30) et 7 soit 23,3% (7/30). Les génotypes E et A3 ont été retrouvés chez 5 patients soit 16,7% (5/30). La prévalence des marqueurs sérologiques de l'infection occulte VHB étaient respectivement de 80% ;13,3% ; 10.0% et 0.0% pour l'Ac HBc, Ac HBe, l'Ac HBs et Ag HBe. Dans notre étude, nous n'avons pas retrouvé une coinfection avec le VHC (Tableau II).

Tableau I : Répartition des cas d'IOB en fonction des caractéristiques sociodémographiques

		ADN HBV		Total	Prévalences
		Absent	Présent		
Sexe	Féminin	119 (47,2%)	19 (7,5%)	138	13,77%
	Masculin	103 (40,9%)	11(4,4%)	114	9,65%
Tranches d'âgés	< 20 ans	39 (15,5%)	4 (1,6%)	43	9,30%
	20 – 34 ans	102 (40,5%)	20 (7,9%)	122	16,39%
	35 – 50 ans	57 (22,6%)	2 (0,8%)	59	3,39%
	> 50 ans	24 (9,5%)	4 (1,6%)	28	14,29%
Provenance	Rurale	9 (3,6%)	1 (0,4%)	10	10,00%
	Urbaine	213 (84,5%)	29 (11,5%)	242	11,98%
Statut matrimonial	Célibataire	126 (50,0%)	18 (7,1%)	144	12,50%
	Divorcé	2 (0,8%)	0	2	0,00%
	Marié	93 (36,9%)	12 (4,8%)	105	11,43%
	Veuve	1 (0,4%)	0	1	0,00%
Professions	Commerçant	17 (6,7%)	3 (1,2%)	20	15,00%
	Étudiant	87 (34,5%)	12 (4,8)	99	12,12%
	Fonctionnaire	46 (18,2%)	3 (1,2%)	49	6,12%
	Ménagère	26 (10,3%)	2 (0,8%)	28	7,14%
	Secteur informel	46 (18,2%)	10 (4%)	56	17,86%

Tableau II : Répartition des cas d'infection occulte du VHB en fonction des génotypes et des marqueurs sérologiques

Génotypes		
	Effectifs (n)	Pourcentage (%)
A3	7	23,3
E	18	60,0
E/A3	5	16,7
Total	30	100,0
Paramètres sérologiques		
	Négative n (%)	Positive n (%)
Ac HBs	27 (90,0)	3 (10,0)
Ag HBc	30 (100,0)	0 (0,0)
Ac HBc	26 (86,7)	4 (13,3)
Ac HBc	6 (20,0)	24 (80,0)

## DISCUSSION

Cette L'hépatite occulte B définie par la présence de l'ADN viral dans le sérum et/ou dans les hépatocytes et l'absence de l'Ag HBs détectable, a été décrite depuis les années 1970. Mais c'est durant ces dernières décennies qu'elle a pris de l'ampleur à cause du renforcement des mesures de sécurité transfusionnelle et du développement des transplantations d'organe surtout dans les pays développés.

### Caractéristiques sociodémographiques

Parmi les 252 individus qui composent notre population d'étude 138 (54,8%) étaient des femmes et 114 (45,2%) des hommes. Le sex ratio était de 0,97 dans notre étude et 0,62 dans celle de Oluyinka et al, au Nigeria [15]. Cependant, en 2014 au Burkina Faso, Somda et al, ont trouvé une sex-ratio de 4 en faveur des hommes dans leur étude [7]. La participation majoritaire des femmes dans notre étude peut être expliquée par une disponibilité beaucoup plus importante de leur part dans le dépistage volontaire. La tranche d'âge 20-34 ans était la plus importante en nombre de participants dans notre étude comme ce fut le cas dans l'étude menée par Oluyinka et al [15]. Cependant la tranche d'âge 30-60 ans était la plus importante dans l'étude menée par Baghbanian et al [16] sur la prévalence de l'IOB chez les hémodialysés et les cancéreux en Iran.

### Prévalences de l'infection occulte B

Dans la présente étude, nous avons enregistré une prévalence globale de 11,9% (30/252) de l'IOB qui peut être liée au niveau d'endémicité de la zone d'étude à l'infection du VHB. Les prévalences de l'infection occulte par le VHB, varient en fonction de zone et de la population d'étude ; ainsi, une prévalence de 17% (soit 72/429) a été enregistrée par Oluyinka et al [15] chez les donneurs de sang Nigérian ; 32,8% (25/76) a été obtenue par Somda et al [7] chez les donneurs du sang Burkinabè ; 0,13% (5/2972) par Hong Lin et al [21] chez les donneurs de sang Chinois ; 4,8% et 4,3% par Baghbanian et al [16] en Iran respectivement chez les cancéreux du sang et du foie. Selon Makvandi et al [17] cette variabilité de prévalence d'IOB dépend de la sensibilité des techniques moléculaires utilisées (PCR nichée, PCR en Temps réel, ou PCR classique) pour la détection de l'ADN viral dans le sérum et / ou dans les hépatocytes, de la taille de l'échantillon utilisé et de la répartition géographique du site de l'étude. Ainsi, la prévalence de l'IOB varie de 1% (Canada) à 87% (Mexique) dans différentes régions du monde. Cependant, ces prévalences doivent être interprétées avec beaucoup de prudence. En effet, selon Samal et al [8] plusieurs facteurs peuvent influencer potentiellement le taux d'estimation de l'IOB : les groupes à risques (infection chronique du VHC, infection au VIH, cirrhose, usagers de drogues injectables, hémodialysés, carcinome hépatocellulaire), la taille de l'échantillon, les tests utilisés pour la détection de l'Ag HBs mutant et les cibles d'amplification du génome du VHB, les régions à forte et à faible endémicités.

### Caractérisation des génotypes

Actuellement les génotypes retrouvés dans les cas d'IOB dans les différentes régions du monde sont exclusivement A, C, G, E et D [6]. Dans la présente étude nous avons enregistré deux génotypes E et A3 avec respectivement 23,3% et 60%. Des résultats similaires ont été trouvés par Kurbanov et al [18] au Cameroun où les génotypes A et E étaient majoritaires avec 43,5% chacun. Le taux majoritaire du génotype E (60%) de notre étude corrobore les résultats obtenus par Oluyinka et al [15] au Nigeria où tous les 72 cas d'IOB étaient du génotype E, et Yousif et al [23] au Soudan avec 21,6% de génotype E. Par ailleurs en 2004, Mulders et al dans une

étude multicentrique concernant les pays d'Afrique de l'Ouest, ont décrit l'existence du génotype A et E du VHB au Burkina Faso [19]. Le génotype E du VHB a une faible diversité génétique selon Mulders et al [19] et il n'existe pas de différence entre le génotype E de l'infection du VHB et celui de l'infection occulte [15]. Le sous-génotype A3 enregistré dans la présente étude est un génotype qui est habituellement présent en Afrique centrale (Gabon, Cameroun, RDC Congo et Centrafrique) [20]. Il a déjà fait l'objet d'une description en 2004 au Burkina Faso [19]. La persistance de ce génotype pourrait être expliquée par le flux de migration de populations entre les différentes zones d'Afrique de l'Ouest et du Centre. Cependant, les génotypes A de l'IOB a été retrouvée dans d'autres parties du monde ainsi Escobedo et al [6] au Mexique ont enregistré un cas parmi 24 enfants souffrant d'hépatite. Les génotypes B, C, D, et F ont été absents dans la présente étude alors que Hong Lin et al [21], ont enregistré uniquement les génotypes B, C, et D chez les donneurs de sang Chinois avec l'IOB. L'absence de ces génotypes dans notre contexte, pourrait être expliquée non seulement par la répartition géographique de l'infection du VHB, mais aussi par le fait que nous n'avons pas ciblé spécifiquement des groupes à haut risque d'IOB tels que les patients hépatites chroniques, les malades CHC, les coinfectés VHC/VIH, les hémodialysés et les immunodéprimés. En effet, une forte prévalence des génotypes B (24%) et D (32%) a été observée dans l'IOB en Égypte avec évolution plus rapide de l'infection vers le CHC [22]. Dans notre étude nous avons enregistré 16,7% cas de recombinaison d'IOB entre génotypes A3 et E. Des résultats similaires ont été rapportés par d'autres auteurs. Ainsi Makuwa et al [20] au Gabon ont trouvé 1 cas sur 13, de recombinaison entre le génotype A3 et E, Kurbanov et al [18] ont également enregistré des cas de recombinaison A3/E (43,5%) au Cameroun. Cependant au Soudan, les recombinaisons dans des cas d'infection Occulte B concernaient surtout les génotypes E/D avec 13,5% [23].

### Marqueurs sérologiques de l'IOB

Nous avons enregistré 80% de cas d'IOB séropositives contre 20% de séronégativités à l'anticorps anti HBc. Ces données corroborent celles trouvées par Makvandi

et al [9] en Iran lors d'un état de lieu sur l'IOB. Cependant le fait que l'IOB soit séropositive ou séronégative, la différence sur le plan clinique reste toujours cryptée [24]. Le marqueur de protection anti-HBs était présent dans des cas d'IOB à hauteur de 10%, ce phénomène a déjà été décrit par Pernice et al [25] à Marburg en Allemagne. En effet ils ont remarqué que l'apparition de l'Ac HBs détectable dans le sérum des patients, était corrélée à la baisse ou à l'absence totale de l'Ag HBs. D'autres auteurs ont pu mettre en évidence l'apparition du complexe immun Ag HBs/ anti-HBs chez les patients atteints de carcinome hépatocellulaire avec l'IOB [25].

### CONCLUSION

La prévalence de l'IOB reste relativement élevée. Elle a été de 11,9% dans notre étude. Les génotypes A3 et E ont été retrouvés respectivement dans 23,3% et 60,0% des cas chez les virus responsables de ces infections. Une infection mixte aux deux génotypes E/A3a été retrouvée dans 16,7% des cas. L'absence des génotypes B et D constitue une valeur prédictive positive puisque leur présence a été associée à une évolution plus rapide de l'infection vers le carcinome hépatocellulaire. Les résultats de cette étude montrent la nécessité de recherche systématique de l'acide nucléique du virus de l'hépatite B dans le paquet des examens de dépistage et de prise en charge des centres de soins et de transfusion sanguine.

**Déclaration de conflit d'intérêt :** les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt.

### Remerciements :

Nos remerciements vont à l'endroit de toutes les personnes qui ont accepté volontairement de participer à cette étude et à tout le personnel de laboratoire de biologie moléculaire et de génétique appliquées de l'Université Ouaga I Pr Joseph Ki-Zerbo du Burkina Faso.

### RÉFÉRENCES

1. World Health Organization. Hepatitis B Fact Sheet N204. Hepatitis B. World Health Organization. [Internet]. Disponible sur : <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>.

2. Tao I, Compaoré TR, Diarra B, Djigma F, Zohoncon TM, Assih M, et al. Seroepidemiology of hepatitis B and C viruses in the general population of burkina faso. *Hepat Res Treat*. 2014; 2014:781843.
3. Tao I, Bisseye C, Nagalo BM, Sanou M, Kiba A, Surat G, et al. Screening of Hepatitis G and Epstein-Barr Viruses Among Voluntary non Remunerated Blood Donors (VNRBD) in Burkina Faso, West Africa. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2013;5(1):e2013053.
4. Candotti D, Allain JP. Transfusion-transmitted hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2009;51(4):798-809.
5. González R, Torres P, Castro E. Efficacy of hepatitis B virus (HBV) DNA screening and characterization of acute and occult HBV infections among blood donors from Madrid, Spain. *Transfusion (Paris)*. 2010;50(1):221-30.
6. Makvandi M. Update on occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*. 2016; 22(39):8720-34.
7. Somda KS, Sermé AK, Coulibaly A, Cissé K, Sawadogo A, Sombié AR, et al. Hepatitis B Surface Antigen Should Not Be the Only Sought Marker to Distinguish Blood Donors towards Hepatitis B Virus Infection in High Prevalence Area. *Open J Gastroenterol*. 2016; 6(11):362-72.
8. Samal J, Kandpal M. Molecular mechanisms underlying occult hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25(1):142-63.
9. Chaudhuri V, Tayal R, Nayak B. Occult hepatitis B virus infection in chronic liver disease: full-length genome and analysis of mutant surface promoter. *Gastroenterology*. 2004;127(5):1356-71.
10. Lledó JL, Fernández C. Management of occult hepatitis B virus infection: an update for the clinician. *World J Gastroenterol*. 2011;17(12):1563-8.
11. Coppola N, Onorato L, Pisaturo M. Role of occult hepatitis B virus infection in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol*. 2015;21(42):11931-40.
12. Xu R, Zhang X, Zhang W, Fang Y, Zheng S, Yu X-F. Association of human APOBEC3 cytidine deaminases with the generation of hepatitis virus B x antigen mutants and hepatocellular carcinoma. *Hepatol Baltim Md*. 2007;46(6):1810-20.
13. Tatematsu K, Tanaka Y, Kurbanov F, Sugauchi F, Mano S, Maeshiro T, et al. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J. *J Virol*. 2009;83(20):10538-47.
14. Zhou J-Y, Zhang L, Li L, Chen J-H. High hepatitis B virus load is associated with hepatocellular carcinomas development in Chinese chronic hepatitis B patients : a case control study. *Virol J*. 2012; 9:16.
15. Oluyinka OO, Tong HV, Bui Tien S, Fagbami AH, Adekanle O, Ojurongbe O, et al. Occult Hepatitis B Virus Infection in Nigerian Blood Donors and Hepatitis B Virus Transmission Risks. *PloS One*. 2015;10(7): e0131912.
16. Baghbanian M, Halvani M, Roghani HS. Prevalence of occult hepatitis b infection in iranian cancer patients before chemotherapy treatment. *Arq Gastroenterol*. 2016 ;53(3):175-9.
17. Minuk GY, Sun D-F, Uhanova J, Zhang M, Caouette S, Nicolle LE, et al. Occult hepatitis B virus infection in a North American community-based population. *J Hepatol*. 2005;42(4):480-5.
18. Kurbanov F, Tanaka Y, Fujiwara K, Sugauchi F. A new subtype (subgenotype) Ac (A3) of hepatitis B virus and recombination between genotypes A and E in Cameroon. *J Gen Virol*. 2005;86(7):2047-56.
19. Mulders MN, Venard V, Njajou M. Low genetic diversity despite hyperendemicity of hepatitis B virus genotype E throughout West Africa. *J Infect Dis*. 2004;190(2):400-8.
20. Makuwa M, Souquière S, Telfer P, Apetrei C, Vray M, Bedjabaga I, et al. Identification of hepatitis B virus subgenotype A3 in rural Gabon. *J Med Virol*. 2006;78(9):1175-84.
21. Lin H, Zhao H, Tang X. Serological Patterns and Molecular Characterization of Occult Hepatitis B Virus Infection among Blood Donors. *Hepat Mon*. 2016;16(10):e40492.
22. Hassan ZK, Hafez MM, Mansor TM. Occult HBV infection among Egyptian hepatocellular carcinoma patients. *Virol J*. 2011; 8:90.
23. Yousif M, Mudawi H, Hussein W, Mukhtar M, Nemer O, Glebe D, et al. Genotyping and virological characteristics of hepatitis B virus in HIV-infected individuals in Sudan. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis*. 2014;29:125-32.
24. Torbenson M, Thomas DL. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis*. 2002 ; 2(8):479-86.
25. Pernice W, Sodomann CP. Antigen-specific detection of HBsAG-containing immune complexes in the course of hepatitis B virus infection. *Clin Exp Immunol*. 1979;37(2):376-80.