خون
فصلنامه پژوهشی
بهار ۸۴ دوره ۲ شماره ۳

غربالگری خون‌های اهدایی برای عفونت با ویروس هپاتیت C در مجموعه‌های کوچک پلاسمایی اهداکنندگان خون ایرانی- مطالعه اولیه

دکتر صدیقه امینی کافی‌آباد[۱]، دکتر علی طالبیان[۲]، فهیمه رنجبر کرمانی[۳]، مینا مقتدایی[۴]، مریم سبحانی[۵]، شهرام سمیعی[۶]

چکیده

سابقه و هدف

غربالگری اهداکنندگان با آزمایش‌های سرولوژیک، احتمال ابتلا به عفونت‌های پس از انتقال خون، به‌ویژه هپاتیت C پس از تزریق خون را کاهش داده است. اما احتمال خطر ابتلا به علت وجود دوره قبل از تغییرات سرولوژیک، هم‌چنان وجود دارد. انجام آزمایش HCV RNA (RT-PCR) بر روی خون‌های اهدایی، احتمال خطر ابتلا به هپاتیت C پس از تزریق خون را کاهش داده است. در این مطالعه ضمن ارزیابی جامعه کوچکی از اهداکنندگان منفی برای هپاتیت C در تست سرولوژیک با روش مولکولی، سری آزمایش‌های غیرقابل قبول با روش غیر اتوماتیک نیز مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد وروش‌ها

در این مطالعه مقطعی، نمونه پلاسمای اضافی از ۱۰۲۶ اهداکننده خون جمع‌آوری گردید. از ۱۰۲۶ نمونه، ۱۰۰۰ نمونه در آزمایش‌های آنزیم ایمنواسی نسل۳، Anti-HCV، HBsAg، RPR، Anti-HIV منفی بودند. هر پنج نمونه در یک مجموعه پلاسمایی مورد آزمایش قرار گرفتند. حساسیت آزمایش برای سنجش HCV-RNA با روش RT-PCR به میزان ۳۸۰geq/ml طبق پانل‌های سطح کارآیی VQC برآورد گردید. ۱۰۰۰ نمونه در ۲۰۰ مجموعه پلاسمایی مورد آزمایش قرار گرفت.

یافته‌ها

نتایج غیرقابل قبول به‌علت جواب ندادن نمونه مثبت، ۵/۵٪ و موارد غیرقابل قبول به علت باندهای غیراختصاصی ۵/۵٪ بود. ۶ درصد از مجموعه‌های پلاسمایی مثبت کاذب بودند. زمانی‌که در اولین مرحله آزمایش مجموعه‌های پلاسمایی، نتیجه آزمایش مثبت و در تکرار آن، آزمایش به شکل منفرد منفی گزارش شد، به‌عنوان مثبت کاذب تلقی گردید. در مجموع کلیه نمونه‌ها برای HCV-RNA با روش RT-PCR منفی گزارش شدند.

نتیجه گیری

نمونه‌ای یافت نشد که در آزمایش‌های سرولوژیک منفی ولی در HCV-RNA مثبت گزارش گردد. در این زمینه انجام مطالعات گسترده‌تری توصیه می‌گردد.

کلمات کلیدی: غربالگری اهداکنندگان ، اهدای خون، ویروس هپاتیت C، پلاسما، پولد، PCR

۱- مؤلف مسؤول: متخصص آسیب شناسی تشریحی و بالینی- استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۲- متخصص آسیب شناسی تشریحی و بالینی- مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۳- کارشناس ارشد ژنتیک- مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۴- کارشناس ارشد انگل‌شناسی- مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۵- کارشناس ارشد ژنتیک- مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۶- کارشناس ارشد بیوشیمی- مربی مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-03]

مقدمه

احتمال سرایت عفونت‌های ویروسی قابل انتقال از راه خون، به‌واسطه انتخاب اهداکنندگان بعد از مصاحبه پزشک و معاینات پزشکی و استفاده از آزمایش‌ها با حساسیت زیاد کاهش یافته است. با این حال احتمال انتقال عفونت هرچند کاهش شدیدی نشان می‌دهد ولی به صفر نرسیده است. از جمله بیماری‌های منتقله از راه خون، عفونت با ویروس هپاتیت C است. با پیدایش آزمایش‌های غربالگری نسل سوم جهت شناسایی آنتی‌بادی بر علیه ویروس هپاتیت C در طب انتقال خون، احتمال عفونت کاهش شدیدی یافته است. ولی به هرحال هنوز احتمال انتقال عفونت ویروس هپاتیت C مطرح می‌باشد (۱). این احتمال خطر باقی‌مانده، به‌علت وجود دوره نهفتگی بیماری قبل از تغییرات سرولوژیک در اهداکنندگان است (۲). دراین دوره تعداد ویروس در اهداکننده خون می‌تواند بین صدهزار تا ده میلیون کپی در هر میلی‌لیتر باشد (۴، ۳). احتمال انتقال عفونت با ویروس هپاتیت C به‌طور متوسط یک مورد از هر ۱۰۳ هزار انتقال خون در صورت غربالگری خون‌های اهدایی با روش الیزا برآورد شده است (۵،۶).

با استفاده از روش‌های تکثیر اسیدهای نوکلئیک (NAT)[1]، مانند واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)[2]، شناسایی مواردی از آلودگی در طی دوره نهفتگی بیماری مقدور شده و کاهش انتقال عفونت با HCV در گیرندگان خون و فرآورده‌های آن رخ داده است. با استفاده از این روش بر روی نمونه‌های خون اهداکنندگان، دوره پنجره از ۷۰ روز به ۱۱ روز کاهش یافته است (۷). ولی به این علت که انجام تست بر روی نمونه‌های منفرد اهداکنندگان، هزینه قابل توجهی را به مراکز انتقال خون تحمیل می‌کرد و مقرون به‌صرفه بودن آزمایش‌ها نیز مطرح بود، انجام آزمایش درمجموعه‌های پلاسمایی پیشنهادگردید (۹، ۸، ۲).

مؤسسه پل ارلیش آلمان، حساسیت آزمایش برای HCV-RNA را حداقل ۵ هزار واحد در میلی‌لیتر (هر واحد بین‌المللی معادل ۲ تا ۶ ژنوم تعریف شده است) برای هر خون اهدایی توصیه می‌کند. بنابراین می‌توان براساس حساسیت تست مورد استفاده در آزمایش اهداکنندگان، تعداد نمونه‌ها را در یک مجموعه پلاسمایی برای انجام آزمایش تنظیم نمود (۱۲، ۱۱، ۱۰). در مطالعات مختلف برمبنای حساسیت قابل قبول، تعدادی پلاسما در مجموعه‌های پلاسمایی برای تأمین پلاسمای مورد نیاز صنایع پلاسما طراحی و مورد آزمایش قرار گرفتند، البته در مواردی فرآورده‌های سلولی حتی قبل از ارسال نیز جهت مصرف بررسی شدند و در صورتی‌که از نظر آزمایش‌های اسیدنوکلئیک جهت عفونت با HCV و HIV منفی بودند، مجوز مصرف دریافت نمودند (۱۳، ۷).

در این مطالعه بر روی ۱۰۰۰ نمونه تهیه شده از اهداکنندگان در سال ۱۳۸۰، ضمن برآورد احتمال وجود عفونت در دوره پنجره در اهداکنندگان خون کشور به عنوان یک مطالعه اولیه، مجموعه آزمایش‌های غیر قابل قبول و علل آن نیز مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه و نگهداری نمونه

در این مطالعه مقطعی، خون تام از ۱۰۲۶ اهداکننده خون شامل اهداکنندگان نوبت اول، مستمر و با سابقه اهدا از خرداد ۱۳۸۰ تا پایان شهریور ۱۳۸۰ با روش نمونه‌گیری تصادفی ساده در پایگاه مرکزی انتقال خون تهران در لوله‌های دارای EDTA جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها بلافاصله به دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و حداکثر در طی۶ ساعت پس از سانتریفیوژ، پلاسمای آن‌ها در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری تقسیم و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری شدند. کلیه نمونه‌هایی که دارای نتیجه مثبت در یکی از آزمایش‌های غربالگری شامل HBsAg، Anti-HCV، Anti-HIV وRPR[3] بودند از مطالعه حذف شدند. این آزمایش‌ها به‌ترتیب با کیت‌های Hepanostika HBsAg Uni-form II از محصولات کارخانه Organon Teknika، Anti-HCV-EIA-3rd Generation از تولیدات Avicena Medical Center، Genscreen HIV 1/2 محصول BIO-RAD وکیت RPR تولیدشرکت انیسان انجام شدودرنهایت ۱۰۰۰ نمونه موردبررسی‌وآزمایش قرارگرفتند.

1- Nucleic Acid Amplification Technique
2- Polymerase Chain Reaction
3- Rapid Plasma Reagin

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-03]

آماده نمودن مجموعه‌های پلاسمایی

۱۰۰میکرولیترازهرنمونه توسط سمپلرهای‌نیمه اتوماتیک کالیبره به‌داخل یک میکروتیوب ۱/۵میلی‌لیتری منتقل وازهر ۵ نمونه یک مجموعه پلاسمایی کوچک تهیه شد(۱۵، ۱۴). جمعاً۲۰۰ مجموعه پلاسمایی برای انجام تست آماده شدند.

استخراج و تخلیص (Extraction)

برای استخراج RNA ژنوم ویروس هپاتیت C از ۵۰۰ لاندا پلاسما استفاده شد که پس از سانتریفیوژ در دور ۱۰ هزار تا ۱۳ هزار با برداشت ۳۰۰ لاندا از محلول روی آن، ۲۰۰ لاندا از پلاسما که حاوی ویروس است باقی ماند. با افزودن محلول لیزکننده حاوی گوانیدین ایزوتیوسیانات، پروتئین‌های پوشش ویروس از پروتئین‌ها جدا گردید. اسید نوکلئیک جدا شده از پروتئین‌های پوششی ویروس و سایر پروتئین‌های موجود در محیط با استفاده از سیلیکاژل (Sorbent) جدا شد. RNA ویروس متصل به سیلیکاژل با استفاده از بافر حل‌کننده از سیلیکا جدا شده و به‌عنوان محصول نهایی، حاوی RNA ویروس تخلیص شده بود.

تکثیر ژنوم ویروس (Amplification)

۱۰ لاندا محصول مرحله تخلیص و استخراج (RNA ویروس) را با ۵ میکرولیتر مخلوط اصلی ساخت cDNA شامل راندوم هگزامر، ۱ میلی مول نوکلئوتید و آنزیم MMLV[1] مخلوط نموده به مدت یک ساعت در ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرارگرفت و سپس به‌مدت۱۰ دقیقه در۹۵ درجه سانتی‌گراد جهت غیرفعال شدن قرار داده شد. در مرحله دوم به میکروتیوب حاوی cDNA، ۱۰ پیکومول پرایمر، بافر ۱۰X، ۲/۵ میلی‌مول منیزیم کلراید و یک واحد آنزیم Taq Polymerase اضافه شد و تکثیر DNA انجام گرفت.

شناسایی و ارزیابی (Detection)

۱۳ لاندا از محصول تکثیر ژنوم ویروس با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. به‌وسیله رنگ اتیدیوم بروماید و در طول موج ۳۰۲ نانومتر، باند DNA در جایگاه ۲۳۰bp رویت شد.

ارزیابی کیفی هر سری آزمایش

جهت ارزیابی هر سری آزمایش که شامل ۱۱ مجموعه پلاسمایی بود، از نمونه پلاسمای مثبت قطعی به عنوان نمونه مثبت استفاده شد که مطابق مجموعه‌های پلاسمایی کلیه مراحل آزمایش بر روی آن انجام گرفت. نمونه کنترل مثبت، RNA ویروس هپاتیت C بود که از منابع تجاری تهیه گردید و به‌عنوان کنترل منفی از آب مقطر استفاده شد.

هر سری آزمایش که نمونه مثبت، کنترل مثبت و یا کنترل منفی آن منطبق با شرایط فوق نبود غیرقابل قبول اعلام شده و تکرار گردید.

حساسیت و ویژگی آزمایش (Sensitivity and Specificity)

پرایمر مورد استفاده از ناحیه غیرقابل ترجمه ۵´ (Untranslated Region 5´-UTR 5´) انتخاب شده و جهت تعیین ویژگی پرایمر با برنامه نرم‌افزاری بلاست (Blast Program) که جهت ویروس هپاتیت C کاملاً اختصاصی بود، مورد ارزیابی قرار گرفت.

جهت تعیین حساسیت کیت مصرفی از پانل‌های تعیین سطح کارآیی VQC (VQC Proficiency Panel) استفاده و میزان حساسیت آزمایش‌حداقل ۳۸۰geq/ml برآورد گردید.

روش بررسی نتایج مجموعه‌های پلاسما

مطابق شکل ۱، در هر مجموعه پلاسمایی پس از انجام آزمایش HCV RNA (RT-PCR) در صورتی‌که فاقد واکنش بود، کلیه نمونه‌ها منفی گزارش شدند و در صورتی‌که مثبت بود، نمونه‌های تشکیل دهنده مجموعه پلاسمایی منفرد مورد بررسی و آزمایش مجدد قرار گرفتند. در صورتی‌که در آزمایش‌های نمونه‌های منفرد، نمونه فاقد واکنش بود به عنوان منفی گزارش شد و در صورتی‌که در مرحله شناسایی، دارای باند مثبت بود مجدداً مورد آزمایش در دو نوبت کاری مجزا قرار گرفت. در مجموع نمونه‌هایی که ۲ بار از ۳ بار فاقد واکنش بودند به‌عنوان منفی گزارش شدند. اگر نمونه‌ای ۲ بار از ۳ بار دارای واکنش باشد، طبق شکل باید به‌عنوان نمونه مثبت گزارش شود (۱۷، ۱۶).

1- Moloney Murine Leukemia Virus (MMLV)

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-03]

شکل ۱ : الگوریتم بررسی نتایج مجموعه‌های پلاسمایی و نمونه‌های منفرد

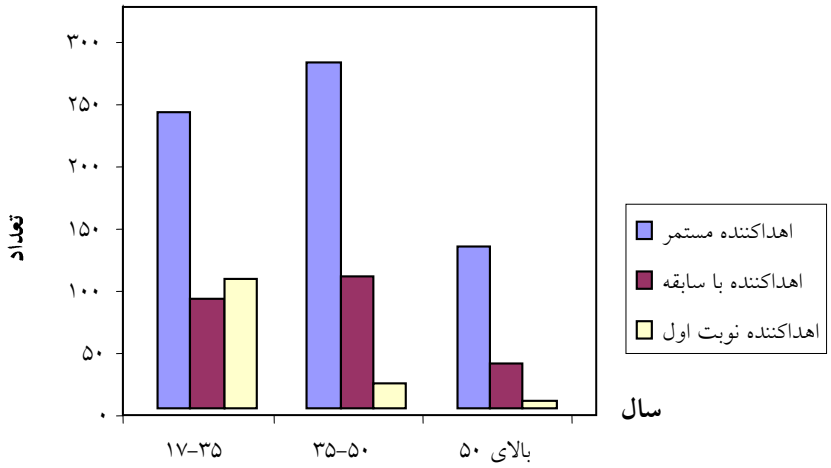
[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-03]

یافته‌ها

از ۱۰۲۶ نمونه که از اهداکنندگان تهیه گردید، ۲۶ نمونه از مطالعه به علت داشتن واکنش در یکی از تست‌های HBsAg، Anti-HIV، Anti-HCV و RPR حذف شدند. کلیه نمونه‌های مورد مطالعه پس از انجام آزمایش‌ها در مجموعه‌های پلاسمایی و منفرد برای HCV-RNA با روش RT-PCR منفی بودند. در شکل ۲ توزیع سنی اهداکنندگان در بین سه گروه اهداکنندگان نوبت اول، با سابقه اهدا و مستمر نشان داده شده است. محدوده سنی اهداکنندگان ۱۷ تا ۶۹ سال بود. از نظر توزیع سنی بیشترین اهداکنندگان در گروه سنی ۳۵ تا ۵۰ سال بوده و از دیدگاه سابقه اهدا در جمعیت اهداکنندگان مستمر قرار می‌گرفتند.

از ۱۰۰۰ نمونه، ۲۰۰ مجموعه پلاسمایی ۵ تایی تهیه گردید و مورد آزمایش قرار گرفت. در هر نوبت کاری ۱۱ مجموعه پلاسمایی مطالعه شد. از ۲۰۰ مجموعه پلاسمایی ۱۲٪ دارای نتایج غیرقابل قبول بودند که علل و میزان هریک در جدول شماره ۱ بیان شده است.

در مجموعه آزمایش‌ها و پس از تکرار مواردی که غیرقابل قبول اعلام شده بودند، ۱۲ مجموعه پلاسمایی از ۲۰۰ مجموعه پلاسمایی مثبت بودند (شکل۳). بنابراین کلیه این موارد به شکل منفرد (جمعاً ۶۰ نمونه منفرد) مورد آزمایش مجدد قرار گرفتند. در تکرار نمونه‌ها به شکل منفرد همگی منفی گزارش شدند (شکل ۴).

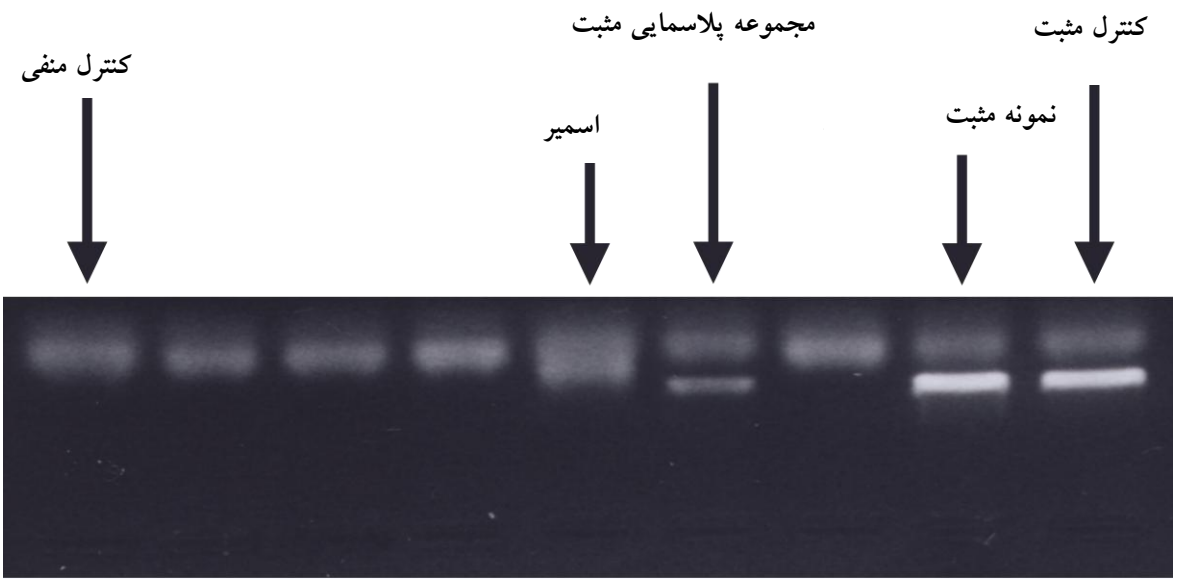


شکل ۲ : توزیع سنی اهداکنندگان به تفکیک در اهداکنندگان نوبت اول، با سابقه و مستمر در ۱۰۰۰ اهداکننده خون در سال ۱۳۸۱ پایگاه تهران

جدول ۱ : میزان و علل نتایج غیرقابل قبول در ۲۰۰ مجموعه پلاسمایی تهیه شده از ۱۰۰۰ اهداکننده خون در پایگاه تهران

علت‌های غیرقابل قبول بودن هر سری آزمایش	تعداد مجموعه‌های پلاسمایی
عدم جواب‌دهی نمونه مثبت	۱۱(۵/۵)
عدم جواب‌دهی کنترل مثبت	۰
نمونه اسمیر	۲(۱)
وجود باندهای غیراختصاصی	۱۱(۵/۵)
جمع	۲۴(۱۲)

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-03]



شکل ۳- در یک سری آزمایش یک مجموعه پلاسمایی مثبت بود که در مرحله بعد کلیه نمونه‌های متعلق به مجموعه پلاسمایی فوق، به شکل منفرد موردآزمایش قرارگرفت. یک مجموعه پلاسمایی نیز اسمیر شده است. این مجموعه پلاسمایی مجدداً موردآزمایش قرار گرفت.

شکل ۴- الکتروفورز نمونه‌های یک مجموعه پلاسمایی که مثبت بوده و سپس کلیه نمونه‌های موجود در مجموعه پلاسمایی به شکل منفرد همراه با ۵ مجموعه پلاسمایی دیگر مورد بررسی قرار گرفت. کلیه نمونه‌ها شامل نمونه‌های منفرد و مجموعه‌های پلاسمایی منفی بود.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-03]

بحث

در این مطالعه کلیه نمونه‌های مورد بررسی با روش ملکولی جهت HCV-RNA منفی بودند. با توجه به حساسیت کیت مورد استفاده برای آزمایش که ۳۸۰geq/ml بود، مجموعه‌های پلاسمایی کوچک حاوی ۵ نمونه اهداکننده مورد آزمایش قرار گرفتند که حساسیت آزمایش در مجموعه پلاسمایی این مطالعه بیش از حساسیت توصیه شده توسط مؤسسه پل ارلیش برای هر اهداکننده بود. حتی امکان انجام آزمایش با مجموعه‌های پلاسمایی بزرگ‌تر نیز وجود دارد.

انجام آزمایش PCR به روش دستی با تعدادی سری آزمایش غیرقابل قبول همراه است که اگر به روش اتوماتیک انجام شود، این موارد هرچند باز هم وجود دارند ولی کاهش چشمگیری نشان خواهند داد. در این مطالعه سری آزمایش‌های غیرقابل قبول ۱۲٪ بود که با توجه به استفاده از روش‌های دستی نمی‌توان آن را با روش‌های اتوماتیک مقایسه نمود. علت غیرقابل قبول بودن سری آزمایش‌ها، به‌دلیل عدم جواب‌دهی نمونه مثبت و کنترل مثبت ویا باندهای غیراختصاصی بودکه در روش‌های تمام اتوماتیک کمترمشاهده می‌گردد ولی در روش‌های دستی با احتمال بیشتری قابل انتظار است. ۱۲ مجموعه پلاسمایی از ۲۰۰ مجموعه پلاسمایی(۶٪) نیز دارای نتیجه مثبت کاذب بودند که در روش‌های تمام اتوماتیک نیز رخ می‌دهد ولی احتمال بروز آن کمتر است (۱۸، ۱۷، ۹).

در فاصله زمانی ژانویه ۱۹۹۷ تا مارچ ۱۹۹۷، صلیب سرخ آلمان بر روی مجموعه‌های پلاسمایی که هر یک حاوی ۹۶ نمونه اهداکننده بودند، آزمایش‌ها را انجام داد و مجموعاً ۷۸۳۳۳۱ نمونه اهداکنندگان در ۳۷۷۹ مجموعه پلاسمایی آزمایش شدند، هیچ نمونه‌ای که دارای نتیجه مثبت در روش بررسی ملکولی و منفی در آزمایش‌های سرولوژیک باشد وجود نداشت (۱۵).

در اسکاتلند در بررسی۱۲۷۶۴۳۳ اهداکننده Anti-HCV منفی، هیچ مورد مثبت برای HCV-NAT یافت نشد (۱۹).

در بررسی۲ سال آزمایش اسید نوکلئیک بر روی خون‌های اهدایی در ایالات متحده آمریکا، میزان احتمال خطر برای عفونت با HCV یک مورد انتقال عفونت به ازای ۱۶۰۰۰۰۰ تزریق برآورد شده ولی در صورت استفاده از روش‌های سرولوژیک به تنهایی یک مورد انتقال عفونت به ازای هر ۲۳۰۰۰۰ تزریق خون محاسبه شده است. البته یکی از مهم‌ترین مشکلات در استفاده از NAT بر روی خون‌های اهدایی، موارد مثبت کاذب می‌باشد (۲۰).

در مطالعه روث و همکارانش بر روی ۳۶۰۰۰۰۰ اهداکننده با روش تمام اتوماتیک بر روی مجموعه‌های پلاسمایی حاوی ۹۶ نمونه اهدا در اروپای مرکزی، ۶ نمونه مثبت HCV-RNA گزارش شد (درهر ۶۰۰۰۰۰ نمونه یک مورد مثبت) (۲۱). در مطالعات انجام شده بر روی تعدادی از مراکز انتقال خون در آلمان و اتریش، تعداد موارد HCV-RNA مثبت در بین اهداکنندگان منفی در تست‌های سرولوژیک (الایزا) Anti-HCV ۰/۶ تا ۶/۵ در هر یک میلیون اهدا برآورد شده است. در طی این مطالعه سری آزمایش‌های غیرقابل قبول به علت وجود مهارکننده‌ها یا عدم تکثیر کنترل داخلی، ۰/۵٪ از مجموعه‌های پلاسمایی گزارش شده و مثبت کاذب برای سنجش HCV-RNA به میزان ۰/۱٪ مجموعه‌های پلاسمایی برآورد شده است. هر مجموعه پلاسمایی حاوی ۴۸ تا ۹۶ نمونه بوده است (۲۲). در مطالعات فوق از روش‌های تمام اتوماتیک برای تهیه مجموعه‌های پلاسمایی و انجام NAT استفاده شده است.

با توجه به مطالعات فوق و سایر بررسی‌هایی که در مراکز انتقال خون انجام شده است، جستجوی HCV-RNA با روش RT-PCR بر روی جمعیت‌های بزرگ اهداکنندگان توصیه می‌گردد. جهت امکان‌پذیر بودن مطالعه در تعداد زیادی از اهداکنندگان خون، روش‌های تمام اتوماتیک جهت انجام آزمایش توصیه می‌شود تا ضمن آن‌که مطالعه نمونه‌های بیشتری فراهم گردد، میزان موارد غیرقابل قبول بودن نمونه‌های مورد آزمایش و مثبت کاذب کاهش یابد.

تشکر و قدردانی

هزینه‌های این تحقیق توسط مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران تأمین گردیده است. نویسندگان مقاله از سرکارخانم ندا پسندیده و همکاری مدیریت و پرسنل محترم واحدهای خون‌گیری، روتین و صدور کارت پایگاه منطقه‌ای آموزشی انتقال خون تهران تشکر می‌نمایند.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-03]

منابع

1- Eglin R, Barbara J. Genome detection and transfusion: setting the scene. Transfusion Med 2002; 24(4): 227-8.
2- Stramer SL. Nucleic acid testing for transfusion-transmissible agents. Curr Opion Hematol 2000; 7: 387-91.
3- Busch PM. HIV, HBV and HCV: New Development Related to Transfusion Safety. Vox Sang 2000; 78(suppl): 253-6.
4- Barbara Aj. NAT: Perspectives for Cellular Components. Biologicals 1999; 27: 333-6.
5- Henry JB. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 20th ed. New York: W.B. Saunders; 2001.
6- Yerly S, Pedrocchi M, and Preein L. The use of polymerase chain reaction in plasma pools for the concomitant detection of hepatitis C virus and HIV type 1 RNA. Transfusion 1998; 38: 908-14.
7- Grant PR, Busch MP. Nucleic acid amplification technology methods used in blood donor screening. Transfusion Med 2002; 24 (4): 229-42.
8- Candotti D, Richetin A, Cnat B, *et al*. Evaluation of a transcription-mediated amplification-based HCV and HIV-1 RNA duplex assay for screening individual blood donations: a comparison with a minipool testing system. Transfusion 2003; 43: 215-25.
9- Allain JP. Genomic screening for blood-borne viruses in transfusion settings. Clin Lab Haem. 2000; 22: 1-10.
10- Saldanha J. Validation and standardization of nucleic acid amplification technology (NAT) assays for the detection of viral contamination of blood and blood products. J of Clin Viro 2001; 20: 7-13.
11- Nico Lelie P, van Drimmelen AJ, Cuypers TM, and et al. Sensitivity of HCV RNA and HIV RNA blood screening assays. Transfusion 2002; 42: 527-36.
12- Saldenha J, Heath A, Lelie N, Pisan G, Nubling M, Yu M. Calibration of HCV Working Reagents for NAT Assay against tha HCV International Standard. Vox Sang 2000; 78: 217-24.
13- Jongerius JM, Bovenhorst M, van der Pole CL, *et al*. Evaluation of automated nucleic acid extraction devices for application in HCV NAT. Transfusion 2000; 40: 871-4.
14- Roth KW, Buhr S, Drosten Ch, Seifried E. NAT and viral safety in blood transfusion. Vox Sang 2000; 72 (suppl 2): 1257-9.
15- Cardoso MS, Koerner K, Kubanec B. Mini-pool screening by nucleic acid testing for hepatitis B virus, hepatitis C virus, and HIV: preliminary results. Transfusion 1998; 38: 905-7.
16- Eglin R. Implementation of genome amplification technology for HCV RNA detection. Transfusion Med 2002; 24 (4): 265-73.
17- Petrik J, Hewitt P, Barbara J, and Allian JP. Large-Scale HCV RNA Screening in First-Time Blood donors: The First Step Towards Genomic Screening of Blood donations. Vox Sang 1999; 76: 159-62.
18- Grant PR, Sims CM, Krieg-Schneider F, Love EM, Eglin R, and Tedder RS. Automated screening of blood donations for hepatitis C virus RNA using the Qiagen BioRobot 9604 and the Roche COBAS HCV Amplicor assay. Vox Sang 2002; 82: 169-76.
19- Jarvis LM, Simmonds P. Scottish experience with NAT. Transfusion Med 2002; 24 (4): 259-64.
20- Stramer SL. US NAT yield: where are we after 2 years? Transfusion Med 2002; 24 (4): 243-53.
21- Roth WK, Weber M, Buhr S, Drosten C, Weichert W, and et al. Yield of HCV and HIV-1 NAT after screening of 3.6 million blood donations in central Europe. Transfusion 2002; 42 (7): 862-8.
22- Roth WK, Seifried E. The German experience with NAT. Transfusion Med 2002; 24 (4): 255-8.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-03]

Mini-pool screening for HCV infection in Iranian blood donors: preliminary results

Amini Kafi-abad S.[1], Talebian A.[1], RanjbarKermani F.[1], Moghtadaei M.[1], Sobhani M.[1], Samiee Sh.[1]

[1]*Iranian Blood Transfusion Organization-Research Center*

Abstract

Background and Objectives

Screening the blood donors for serological markers reduced the incidence of transfusion-transmitted infections especially post-transfusion hepatitis C. However, there remains residual risk due to pre-seroconversion period. HCV RNA (PCR) of blood donations reduced the residual risk of transfusion-transmitted HCV infection. In this study, blood donations were screened for HCV RNA by RT-PCR method.

Materials and Methods

An extra plasma sample was collected from 1026 blood donors. 1000 out of 1026 samples were negative for HBsAg, anti-HCV (EIA, third generation), anti-HIV and RPR. Every 5 samples were pooled. The sensitivity of HCV-RNA detection by RT-PCR method was 380 geq/ml according to Proficiency VQC panel. 1000 donations in 200 pools were tested.

Results

False reactivity of samples considered positive accounts for 5.5% of cases, and 5.5% were invalid due to non-specilic bands. 6% of the pools were false-positive. A false positive result was defined as positive on initial testing but negative on repeat single testing. However, all of the samples were negative for HCV RNA by RT-PCR method.

Conclusions

No sample was found to be serologically negative and HCV RNA positive. However, further studies are recommended for further clarification.

Key words*:* Blood donation, Donor screening, Hepatitis C virus, plasma, Pooled, PCR

Correspondence: Amini Kafi-abad S., M.D. IBTO-Research Center
Tel.: (+9821) 8601559; Fax : (+9821) 8601559
E-mail: *amini@ibto.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-08-03]