

## به کارگیری آزمون RT-PCR جهت تشخیص قطعی آلودگی به ویروس HCV در موارد Anti-HCV مثبت

الهه تاج‌بخش<sup>۱</sup>، دکتر حسن ممتاز<sup>۲</sup>، دکتر عباس دوستی<sup>۳</sup>، دکتر رامین یعقوبی<sup>۴</sup>، منوچهر مؤمنی<sup>۵</sup>

### چکیده

#### سابقه و هدف

علی‌رغم وجود تزریق خون به عنوان تنها راه نجات بیمار، عفونت‌های منتقله از راه خون از جمله ویروس هپاتیت C، یکی از معضلات بهداشتی در علم انتقال خون بوده که موجب عوارض و صرف بودجه‌های سنگین می‌گردد. هپاتیت C یک مشکل بهداشتی در دنیا است و در حال حاضر ۲۰۰ میلیون نفر به آن مبتلا می‌باشند. کشور ما از نظر شیوع هپاتیت C جزو مناطق با شیوع کم می‌باشد، ولی میزان بروز موارد جدید در حال افزایش است.

#### مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع مقطعی بود. در این تحقیق که با همکاری پایگاه انتقال خون شهرستان شهرکرد صورت گرفت، تعداد ۵۰ نمونه از افراد مراجعه کننده به پایگاه انتقال خون شهرستان شهرکرد که از نظر الایزا و RIBA مثبت تشخیص داده شده بودند و تا هنگام انجام آزمایش هیچ‌گونه درمانی جهت هپاتیت دریافت نکرده بودند، با روش RT-PCR نیز مورد بررسی قرار گرفتند.

#### یافته‌ها

مقایسه نتایج آزمایش RIBA و RT-PCR نشان می‌دهد که در آزمایش RIBA، ۶۰٪ موارد مثبت، ۱۶٪ موارد بینابینی و ۲۴٪ موارد منفی می‌باشند. در حالی که در RT-PCR، ۶۲٪ موارد مثبت و ۳۸٪ منفی گزارش گردیدند.

#### نتیجه‌گیری

با توجه به این نتایج مشخص گردید که استفاده از آزمایش‌های سرولوژی در تشخیص آلودگی به HCV و هم چنین استفاده از آزمایش RT-PCR در تایید نتایج مثبت و تثبیت نتایج بینابینی با آزمایش RIBA، می‌تواند با دقت مناسب ابلا به عفونت HCV را نشان دهد.

**کلمات کلیدی:** Rt per، هپاتیت C، ایران

تاریخ دریافت: ۱۶/۹/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۷/۱۰/۱۱

۱- مؤلف مسؤل: کارشناس ارشد میکروبیولوژی - مربی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد - صندوق پستی: ۱۶۶

۲- PhD میکروبیولوژی - استادیار دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد

۳- PhD ژنتیک مولکولی - استادیار دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد

۴- PhD ویروس شناسی - استادیار دانشگاه علوم پزشکی شیراز - مرکز تحقیقات پیوند اعضا

۵- کارشناس شیلات - مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد

**مقدمه**

امروزه یکی از مهم‌ترین مشکلات در انتقال خون، انتقال بیماری‌های عفونی به ویژه هپاتیت و ایدز و لزوم پیشگیری از انتقال آن‌ها از طریق قطع زنجیره انتقال، غربالگری خون‌ها و جلوگیری از رفتارهای پرخطر در جامعه می‌باشد. خوشبختانه در کشور ما HCV در اهداکنندگان خون از شیوع بالایی برخوردار نمی‌باشد و این سلامت خون‌های اهدایی را نشان می‌دهد. با توجه به روند رو به افزایش HCV و عوارض شناخته شده و عدم اطلاع از وضعیت آن در کشور، هم‌چنین به منظور مقایسه و تحلیل نتایج آزمایش‌های RIBA و RT-PCR، این تحقیق با همکاری پایگاه انتقال خون شهرستان شهرکرد بر روی نمونه‌های سرمی ۱۱۴۷۲ اهداکننده خون صورت گرفت (۱).

با انجام آزمایش‌های اختصاصی غربالگری خون، میزان ابتلا به هپاتیت C از طریق ترانسفوزیون کاهش یافته است. ویروس هپاتیت C، مهم‌ترین عامل هپاتیت nonA nonB و یکی از علل مهم هپاتیت پس از تزریق خون به شمار می‌آید (۲).

به علت تظاهر بیماری به شکل هپاتیت مزمن، یکی از عوامل مهم در ایجاد سیروز، ویروس هپاتیت C محسوب می‌گردد. تظاهرات بالینی عفونت با ویروس هپاتیت C، از سایر علل هپاتیت ویروسی قابل افتراق نبوده و تمایل به سیروز مزمن در آن‌ها بسیار شایع است (۱).

به طور کلی آزمایش‌های تشخیص هپاتیت C به دو گروه تقسیم می‌شوند:

گروه اول شامل آزمایش‌های سرولوژیک که آنتی‌بادی علیه ویروس را می‌سنجند و گروه دوم آزمایش‌های مولکولی می‌باشند که ژنوم ویروس هپاتیت C (HCV-RNA) را مورد بررسی قرار می‌دهند.

آزمایش‌های سرولوژیک شامل آزمایش‌های اولیه نظیر الایزا و آزمایش تکمیلی و تاییدی آن یعنی RIBA می‌باشد (۳). RIBA با هدف حذف واکنش‌های غیر اختصاصی نمونه‌های مثبت در روش ELISA به کار می‌رود (۴).

شناسایی RNA ویروس HCV با روش‌های مولکولی

مانند PCR جهت شناسایی عفونت با ویروس، تایید تشخیص عفونت و پی‌گیری پاسخ به درمان‌های ویروسی انجام می‌شود.

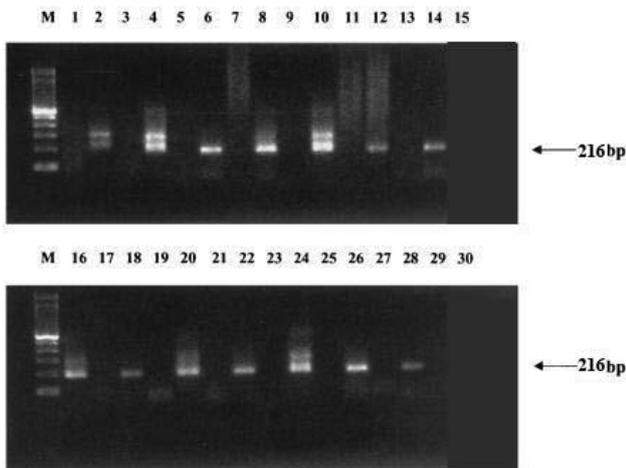
**مواد و روش‌ها**

مطالعه انجام شده از نوع مقطعی بود. در این تحقیق که با همکاری پایگاه انتقال خون شهرستان شهرکرد صورت گرفت، نمونه‌های سرمی ۱۱۴۷۲ اهداکننده خون از تابستان ۱۳۸۴ تا تابستان ۱۳۸۵ به صورت سرشماری با روش‌های الایزا، HCV-RIBA و RT-PCR مورد بررسی قرار گرفتند. در ابتدا نمونه‌های سرمی با استفاده از کیت اورتو Test HCV3 Elisa بررسی شدند.

به منظور بررسی آنتی‌بادی علیه قسمت‌های مختلف ژنوم ویروس، نمونه‌های مثبت با الایزا، از نظر HCV-RIBA با استفاده از کیت INNO-LIA-HCV ساخت آلمان مورد بررسی قرار گرفتند. در آزمون HCV-RIBA، آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های C1، C2، NS3، NS4، NS5 مورد بررسی قرار گرفتند.

آنتی‌ژن‌های مصرفی دارای ساختمانی نو ترکیب بوده و باندهای کنترل موجود در هر نوار نیترو سلولزی، معیاری برای تعیین درجه و شدت باندها در هنگام قرائت نتیجه می‌باشد. کلیه مراحل HCV-RIBA مطابق دستورالعمل کیت و در حضور کنترل‌های مثبت و منفی صورت گرفت. در تفسیر آزمون HCV-RIBA، اگر هیچ باندهای بر روی نوار نیتروسلولزی مشاهده نگردد جواب منفی، اگر باندهای مربوط به آنتی‌ژن‌های C1، C2، NS3، NS4 و NS5 مشاهده گردد جواب مثبت و در صورتی که فقط یک باند مشاهده گردد جواب بینابینی گزارش می‌شود.

برای شناسایی ژنوم ویروس هپاتیت C، نمونه‌های مورد مطالعه با استفاده از کیت STR ptm ساخت شرکت سیناژن مورد بررسی قرار گرفتند. جهت انجام آزمون RT-PCR، ابتدا اقدام به استخراج از نمونه‌های سرم گردید که برای این منظور، مقدار ۵۰ میکرولیتر از نمونه سرم به ۴۵۰ میکرولیتر RNX TM plus اضافه شد و بعد از ورتکس به مدت ۱۰ دقیقه در یخ انکوبه گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر کلروفرم به محلول فوق افزوده و به مدت



شکل ۱: ژل حاصل از آزمون RT-PCR در نمونه‌های مورد بررسی. نمونه شماره ۱۶ کنترل مثبت و نمونه شماره ۱۷ کنترل منفی می‌باشد. مارکر مورد استفاده، مارکر ۱۰۰ bp، ساخت شرکت فرمتاز است. مشاهده باند ۲۱۶ bp نشان‌دهنده مثبت بودن نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد.

پس از انجام آزمون الایزا بر روی ۱۱۴۷۲ نمونه خون اهدایی، تعداد ۵۰ نمونه (۰/۴۳ درصد) از آن‌ها از نظر HCV-Ab مثبت تشخیص داده شدند (جدول ۱ و ۲). نتیجه مثبت آزمون HCV-RIBA در ۳۰ نمونه از ۵۰ (۰/۶۰) نمونه‌ای که دارای نتیجه آزمون الایزا مثبت بودند، مشاهده گردید. در ۸ نمونه از این ۵۰ عدد (۰/۱۶)، جواب بینابینی و در ۱۲ نمونه (۰/۲۴) نیز نتیجه منفی آزمون RIBA گزارش شد. نتایج نمونه‌های دارای جواب مثبت در آزمایش تکمیلی RIBA به تفکیک بر حسب باندهای ایجاد شده علیه آنتی‌ژن‌های C1 و C2 و NS3 و NS4 و NS5 بودند که از این ۱۳ نفر در ۱۲ نفر (۰/۹۲/۳) از آن‌ها، آزمون RT-PCR مثبت گزارش گردید. از ۸ نمونه که در آزمایش HCV-RIBA دارای باندهای NS4 و NS5 بودند، ۷ نمونه (۰/۸۷/۵) در آزمون RT-PCR مثبت گزارش شدند. هم چنین ۷ نمونه در آزمایش تکمیلی HCV-RIBA دارای باندهای NS3 بودند که در همه آن‌ها نتیجه آزمون RT-PCR منفی گزارش شد. مقصدار ضریب همبستگی فی برای آزمون‌های HCV-RIBA و RT-PCR برابر ۰/۸۲۶ برآورد گردید و بر این اساس همبستگی بین نتایج این آزمون‌ها برابر ۰/۸۲۶ بود که با  $p < ۰/۰۰۰۵$ ، مؤید این

۳-۵ ثانیه ورتکس و به مدت ۲ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ گردید. بعد از سانتریفوژ، سه فاز تشکیل می‌شود؛ فاز رویی که فاز آبی نامیده می‌شود را با احتیاط به یک لوله جدید منتقل نموده و هم حجم آن (۲۵۰ تا ۳۰۰ میکرولیتر) ایزوپروپانل اضافه کردیم و ۱۰ بار ورتکس شد. سپس در  $-۲۰$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه گردید و با دور  $۱۲۰۰۰$  سانتریفوژ شد، محلول رویی را دور ریخته، به رسوب باقی مانده ۲۰۰ میکرولیتر اتانل ۷۰٪ اضافه نموده و ۱۰ بار ورتکس شد. به مدت ۵ دقیقه در  $۱۲۰۰۰$ g سانتریفوژ گردید، فاز رویی را دور ریخته و لوله‌های حاوی RNA را در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار دادیم به طوری که خشک نشوند. سپس RNA استخراج شده را در ۳۰ میکرولیتر Depce water حل نمودیم. در این مرحله باید از RNA، CDNA ساخته شود برای این منظور لازم است که موارد زیر به ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده اضافه گردند:

۳۹ میکرولیتر Mixl، ۱ میکرولیتر RT-Enzyme، ۰/۳ میکرولیتر Taq DNA Ploymerse و ۴ میکرولیتر Mineral oli. مواد مخلوط شده را به مدت ۱ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم و به مدت ۳-۵ ثانیه سانتریفوژ نمودیم. به منظور ساخته شدن cDNA، برنامه مرحله اول PCR تنظیم گردید. در پایان مرحله اول PCR به این ترتیب عمل می‌شود که موارد زیر به محلول اول PCR اضافه می‌گردند:

۲۲ میکرولیتر PCR MixII، ۱ x، ۰/۲ میکرولیتر DNA تک پلی‌مراز، ۲۰ میکرولیتر Mineral oil. سپس برنامه مرحله دوم PCR تنظیم گردید. در پایان مرحله دوم PCR، نمونه‌ها به همراه کنترل مثبت، کنترل منفی و مارکر ۱۰۰ bp روی ژل یک درصد آگارز واجد اتیدیوم بروماید در حضور مارکر ۱۰۰ جفت بازی DNA (فرمتاز) الکتروفورز گردید.

#### یافته‌ها

ژل حاصل از آزمون RT-PCR، وجود یک باند اختصاصی مربوط به ژنوم HCV به وزن ۲۱۶ bp را در تعدادی از نمونه‌های مورد بررسی نشان می‌دهد (شکل ۱).

ارتباط معنی‌دار بین دو آزمون فوق است.

جدول ۱: توزیع مبتلایان به HCV بر حسب نتایج HCV-RIBA و RT-PCR

نتایج RIBA	نتایج HCV-RIBA		جمع
	مثبت	منفی	
مثبت	۲۸(۵۶)	۲(۴)	۳۰(۶۰)
بینابینی	۳(۶)	۵(۱۰)	۸(۱۶)
منفی	۰(۰)	۱۲(۲۴)	۱۲(۲۴)
جمع	۳۱(۶۲۶)	۱۹(۳۸)	۵۰(۱۰۰)

با محاسبه ضریب همبستگی فی برای آزمایش تکمیلی RIBA و آزمایش PCR نیز همبستگی بین نتایج این دو آزمون برابر ۰/۸۴ برآورد می‌گردد که با p-value کمتر از ۰/۰۰۰۵ ارتباط معنی‌دار بین دو آزمون مشخص می‌گردد. در حقیقت تمام مواردی که در آزمایش تکمیلی RIBA منفی بودند در PCR نیز منفی بودند و ۹۲/۳٪ افرادی که در آزمایش RIBA مثبت بودند در آزمایش PCR نیز مثبت شدند.

جدول ۲: توزیع مبتلایان به HCV تایید شده با آزمایش تکمیلی HCV-RIBA و نتایج حاصل از آزمون RT-PCR

نتایج RIBA بر حسب باندهای مشاهده شده	نتایج RT-PCR		جمع
	مثبت	منفی	
C1 ، C2 ، NS3 ، NS4	۱۲(۹۲/۳)	۱(۷/۷)	۱۳(۲۶)
NS4 ، NS5	۷(۸۷/۵)	۱(۱۲/۵)	۸(۱۶)
NS3	۰(۰)	۷(۱۰۰)	۷(۱۴)

### بحث

در مطالعه‌ای که بر روی ۲۹۴ فرد دریافت کننده خون در دانمارک انجام گرفت، در ۷۲٪ از نمونه‌های فوق نتیجه آزمون الایزا مثبت شد که ۵۹٪ آن‌ها در روش‌های RIBA و RT-PCR نیز مثبت گزارش شدند. هم چنین ۸۴٪ افرادی که دارای نتیجه مثبت RIBA بودند، در آزمایش PCR نیز مثبت گزارش شدند(۵). با توجه به شیوع کمتر HCV Ab

در مطالعه اخیر، تایید نتایج آزمون‌های RIBA، با آزمون‌های RT-PCR، با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. در استرالیا نیز طی بررسی که بر روی اهداکنندگان خون صورت گرفت، ۳۱٪ افرادی که در آزمایش RIBA مثبت گزارش شده بودند در آزمایش HCV RNA (RT-PCR) نیز مثبت شدند(۶). هم چنین در بررسی اهداکنندگان خون در شمال کالیفرنیا، ۸۰٪ کسانی که در RIBA بیش از ۲ باند واکنش نشان دادند در PCR نیز مثبت بودند(۷-۹). در این مطالعه نیز ۹۲/۳٪ بیماران RIBA مثبت در آزمایش HCV RNA نیز مثبت گزارش شدند که این نتایج با نتایج حاصل از دو تحقیق اشاره شده هم خوانی دارد. در مطالعه انجام شده توسط کافی‌آبادی و همکاران بر روی مبتلایان به ویروس هپاتیت، مشخص گردید که ۲۳ درصد تا ۸۴ درصد افرادی که در آزمایش HCV RIBA مثبت بودند، در RT-PCR نیز مثبت گزارش شدند(۱۰، ۱۱).

افرادی که دارای نتیجه مثبت HCV RIBA می‌باشند متناسب با باند آنتی‌ژن‌های موجود بر روی نوارهای سلولزی قابل تقسیم‌بندی هستند. بر این اساس در مطالعه‌ای که در تونس بر روی ۵۴ بیمار انجام شده بود، بنا بر واکنش آنتی‌ژن‌های ویروس با آنتی‌بادی‌های ضد آن‌ها به سه گروه تقسیم شدند که بیشترین واکنش مربوط به ۴ آنتی‌ژن Core ، NS4 ، NS3 و NS5 (۵۶/۴٪) بود(۱). در این مطالعه نیز در تایید تحقیق اشاره شده، بیشترین میزان باندهای مشاهده شده (۲۶٪) متعلق به بیمارانی بود که به هر ۴ آنتی‌ژن Core ، NS3 ، NS4 ، NS5 ، واکنش نشان داده‌اند. لازم به ذکر است، گروهی از بیماران که دارای باندهای Core ، NS3 بودند، همگی در RT-PCR مثبت گزارش شدند.

بیمارانی که دارای پاسخ بینابینی در آزمایش RIBA هستند به سه گروه تقسیم می‌شوند؛ گروهی که دارای واکنش متقاطع با آنتی‌ژن‌های ویروس بوده و عفونت با ویروس هپاتیت C ندارند، عده‌ای که به هپاتیت C مبتلا شده‌اند ولی هنوز پاسخ آنتی‌بادی کامل در آن‌ها ایجاد نشده و واکنش فقط به یکی از باندهای موجود بر روی نوارهای سلولزی مشاهده می‌شود و گروه سوم نیز کسانی هستند که

آن‌ها بینابینی گزارش شود به خصوص بیمارانی که دارای باند core هستند، جهت بررسی دقیق‌تر بهتر است با آزمایش RT-PCR مورد آزمایش قرار گیرند. اما بیمارانی که نتیجه آزمون RIBA آن‌ها منفی است ضرورتی جهت انجام آزمایش RT-PCR ندارند(۱).

### نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق علاوه بر تایید سایر محققان در زمینه بررسی روابط میان نتایج آزمایش‌های سرولوژی و مولکولی و میزان صحت نتایج هر یک از آزمایش‌های فوق در شناسایی اولیه و تایید نهایی عفونت ویروس HCV، هم چنین بر استفاده از آزمایش HCV-ELISA در تایید نتایج مثبت آزمایش‌های تیتراسیون آنتی‌بادی با روش HCV-RIBA و تایید نتایج مثبت و بینابینی آزمایش اخیر با روش HCV-RT-PCR نیز تاکید دارد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری صمیمانه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد شهرکرد و مسؤول آزمایشگاه بیوتکنولوژی آقای منوچهر مؤمنی تشکر و تقدیر به عمل می‌آید.

بهبودی یافته‌اند ولی هنوز در خون آن‌ها آنتی‌بادی ضد ویروس حتی به میزان ناچیز موجود می‌باشد. یکی از مهم‌ترین علل گزارش بینابینی در آزمایش HCV RIBA، واکنش به آنتی ژن Core 3-2 می‌باشد(۸، ۶).

در این بررسی ۵ مورد از ۸ مورد گزارش بینابینی فقط دارای باند Core هستند، هم چنین در تایید نتایج اخیر در مطالعه انجام شده در اسپانیا، همه مواردی که در آزمایش RIBA بینابینی گزارش شدند و هم چنین ۷۷٪ موارد نتایج بینابینی در اهداکنندگان خون در کالیفرنیا، در آزمایش RIBA به آنتی ژن Core واکنش نشان دادند(۱). بیمارانی که دارای گزارش بینابینی در آزمون RIBA بوده‌اند، در آزمون RT-PCR نیز دارای نتایج مثبت بودند. در این بررسی از ۸ نمونه‌ای که دارای جواب بینابینی در آزمون RIBA بودند، ۷ نفر در آزمون RT-PCR مثبت گزارش گردیدند ولی در مطالعه‌ای در استرالیا فقط در ۲۱٪ موارد نتایج مثبت این دو آزمون با یکدیگر هم‌خوانی داشت(۶).

با توجه به این بررسی، افرادی که دارای جواب مثبت در آزمون RIBA هستند، به احتمال بیش از ۹۰٪ در آزمون RT-PCR نیز مثبت هستند. گروهی که آزمون RIBA در

### References :

- 1- Kafiabadi S, Talebian A. Comparison between RIBA-3 and RT-PCR in HCV patients. Faiz Journal 2005; 33: 45-49.
- 2- Maleknejad P. Medical Microbiology. Arjmand Publication; 2002: P. 573-593.
- 3- Leon P, Lopez JA, Elola C, Lee SR, Calmann M, Echevarría JM. Use of overlapping synthetic peptides to characterize samples from blood donors with indeterminate results to hepatitis C core antigen. Vox Sang 1998; 75(1): 32-6.
- 4- Dow BC, Coote I, Munro H, McOmish F, Yap PL, Simmonds P. Confirmation hepatitis C virus antibody in blood donors. J Med virol 1993; 41 (3): 215-20.
- 5- Christensen PB, Groenbaek K, Krarup HB. Transfusion-acquired hepatitis C: the Danish lookback experience. The Danish HCV [hepatitis C virus] Lookback Group. Transfusion 1999; 39(2): 188-93.
- 6- Wong PY, Dodd R, Kiely P, Carroll C, Whyte G. characteristics of hepatitis blood donors in Victoria Australia. Trans Med 1999; 9(1):5-19.
- 7- Allain JP, Coghlan PJ, Kenrick KG, Whitson K, Keller A, Cooper GJ, et al. Prevalence of hepatitis C virus infectivity in seropositive Australian blood donors by supplemental immuno assays and detection of viral RNA. Blood 1991;78(9): 2462-2468.
- 8- Tobler LH, Lee SR, Stramer SL, Peterson J, Kochesky R, Watanabe K, et al. Performance of second and third generation RIBAS for confirmation of HCV EIA-reactive blood donations. Retrovirus Epidemiology Donor study. Transfusion 2000; 40 (8): 917-23.
- 9- Tobler LH, Stramer SL, Lee SR, Masecar BL, Peterson JE, Davis EA, et al. Impact of HCV 3.0 EIA relative to HcV 2.0 EIA blood donor screening. Transfusin 2003; 43 (10): 1452-9.
- 10- Tobler LH, Busch MP, Wilber J, Dinello R, Quan S, Polito A, et al. evaluation of intermediat C22-3 reactivity in volunteer blood donors. Transfusion 1994; 34(2) : 130-4.

## RT-PCR test in confirmed diagnosis of HCV in HCV-Ab positive cases

Tajbakhsh E.<sup>1</sup>(MS) , Momtaz H.<sup>1</sup> (PhD), Dusti A.<sup>1</sup> (PhD), Yaghobi R.<sup>2</sup>(PhD), Momeni M.<sup>3</sup>(Bs)

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Islamic Azad University of Shahrekord, Iran

<sup>2</sup>Organ Transplantation Research Center, Shiraz University of Medical Science, Iran

<sup>3</sup>Biotechnology Research Center, Islamic Azad University of Shahrekord, Iran

### Abstract

#### *Background and Objectives*

Despite the fact that blood transfusion is a life saving procedure, there still exists a minimum risk for the occurrence of transfusion transmitted infections including HCV with adverse reactions and heavy cost being the immediate outcome. HCV is a health problem all over the world with 200 million people affected. Iran is classified as the country with low prevalence rate for HCV; however, the new HCV incidence rate is in an increasing trend.

#### *Materials and Methods*

In this cross sectional research, 50 Elisa and RIBA positive samples detected out of 11472 blood donors were evaluated by RT-PCR method. The positive cases had never received any treatment for hepatitis by the time the test results were reported.

#### *Results*

The results of RIBA and RT-PCR tests were compared. In RIBA, 60% of cases were positive, 16% indeterminate, and 24% negative. While in RT-PCR, the positive cases were 62% and the negative ones 38%.

#### *Conclusions*

The results of the present study show that the use of serological tests in diagnostic HCV infection, the application of RT-PCR in confirmation of positive results, and employment of RIBA tests in confirmation of indeterminate cases are all effective in detection of HCV infection.

**Key words:** Rt pcr, Hepatitis C virus, Iran

*SJIBTO 2009; 5(4): 287-292*

Received: 12 Dec 2007

Accepted: 31 Dec 2008

Correspondence: Tajbakhsh E., MS of Microbiology. Islamic Azad University of Shahrekord. Shahrekord, Iran.  
P.O.Box: 166, Shahrekord, Iran. Tel: (+98381) 2227667; Fax: (+98381) 2227667  
E-mail: ee\_tajbakhsh@yahoo.com