خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۶ شماره ۳ پاییز ۸۸ (۱۹۸-۱۹۱)

مقاله پژوهشی

بررسی مولکولی HCV RNA در اهداکنندگان خون anti-HCV منفی

دکتر محمود محمودیان شوشتری[۱]، حسین بهرامی[۲]، دکتر زهره شریفی[۳]

چکیده

سابقه و هدف

در سال‌های اخیر برخی از کشورهای پیشرفته با استفاده از فن‌آوری NAT به طور قابل ملاحظه‌ای خطر انتقال بیماری‌های ویروسی را کم کرده‌اند. هدف از این مطالعه بررسی مولکولی HCV RNA در اهداکنندگان خون anti-HCV منفی در مرکز انتقال خون اهواز بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی ـ مقطعی، تعداد ۸۰۰۰ نمونه سرم از اهداکنندگانی که در آزمایش الایزای نسل سوم anti-HCV منفی بودند، جمع‌آوری شد. از این نمونه‌ها مجموعه‌های ۲۵ تایی تهیه و ۳۲۰ مجموعه سرم آماده شد. روی کلیه مجموعه‌ها آزمایش HCV-RNA به روش RT-PCR انجام شد. حساسیت کیت برابر با ۲۰۰ IU/ml بود.

یافته‌ها

کلیه مجموعه‌های سرمی از نظر HCV RNA به روش RT-PCR منفی بودند. در طی این بررسی دو مورد از مجموعه‌های سرمی دارای باند بودند که با آزماش نمونه‌های سازنده این مجموعه‌ها، مورد مثبتی گزارش نشد. بنابراین این موارد به عنوان نتیجه مثبت کاذب تلقی شدند.

نتیجه گیری

غربالگری عفونت HCV RNA با استفاده از مجموعه‌های ۲۵ تایی به روش RT-PCR هم مفید و هم از نظر اقتصادی مقرون به صرفه می‌باشد. جهت کاهش خطا و جلوگیری از موارد مثبت کاذب در مطالعه تعداد زیادی از اهداکنندگان خون، روش‌های تمام اتوماتیک پیشنهاد می‌شود. با روش‌های تمام اتوماتیک میزان موارد غیر قابل قبول و نمونه‌های مثبت کاذب به شدت کاهش می‌یابد.

کلمات کلیدی: RT-PCR ، اهداکنندگان خون، الایزا، پلاسما، آنتی بادی های هپاتیت C

تاریخ دریافت : ۸۷/۲/۱۵
تاریخ پذیرش : ۸۸/۶/۲۱

۱ـ PhD ویروس شناسی ـ استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۲ـ دانشجوی کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۳ـ مؤلف مسؤول: PhD ویروس‌شناسی ـ استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران ـ صندوق پستی ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]

مقدمه

با وجود انجام آزمایش‌های متداول برای غربالگری واحدهای خون در مراکز انتقال خون، احتمال انتقال برخی از عفونت‌های ویروسی(اگر چه به طور اندک) از طریق انتقال خون از اهداکنندگان به ظاهر سالم به دریافت‌کنندگان خون وجود دارد. یکی از دلایل این امر دوره پنجره(window period) این ویروس‌ها می‌باشد، زیرا در این دوره آنتی‌بادی علیه این ویروس‌ها به حد قابل اندازه‌گیری نرسیده است و قابل تشخیص نیست(۲، ۱). در سال‌های اخیر برخی از کشورها با استفاده از فن‌آوری NAT (Nucleic acid Amplification Technology) روی خون‌های اهدا شده(فرآورده‌های پلاسمایی)، به طور قابل ملاحظه‌ای خطر انتقال بیماری‌های ویروسی را کم کرده‌اند، زیرا به وسیله این آزمایش، دوره پنجره(window period) عفونت ویروسی به طور قابل ملاحظه‌ای کوتاه می‌شود(۴، ۳).

امروزه حدود ۲۱۰ میلیون نفر در جهان یعنی تقریباً ۳ درصد جمعیت جهان به ویروس هپاتیت C آلوده هستند(۵، ۲). اگر چه بعد از ابداع آزمایش‌های غربالگری خون، از تعداد موارد جدید به شدت کاسته شده ولی هنوز شیوع آن به عنوان یکی از نگرانی‌های بهداشتی جامعه مطرح می‌باشد. لذا استفاده از روش‌هایی که بتواند دوره پنجره ویروس را کوتاه‌تر کند، قطعاً در کاهش انتقال و جلوگیری از بروز موارد جدید مؤثر هستند.

یکی از این روش‌ها، RT-PCR است که می‌تواند فاز پنجره ویروس را با تشخیص زود هنگام RNA آن و قبل از به وجود آمدن آنتی‌بادی، به میزان قابل توجهی کوتاه کند. امروزه این آزمایش در بسیاری از کشورهای پیشرفته دنیا روی فرآورده‌های پلاسمایی اجباری شده است.

در آوریل ۱۹۹۸، انجام غربالگری روی خون‌های اهدایی در مجموعه‌های کوچک پلاسمایی به عنوان یک مطالعه اولیه در اسکاتلند و در شمال ایرلند آغاز شد. بعد از اعلام نتایج، در سپتامبر ۱۹۹۹، آزمایش‌هایی با روش NAT برای کلیه خون‌های اهدایی در مجموعه‌های کوچک پلاسمایی در اسکاتلند اجباری گردید. اعلام مصرف خون و کلیه فرآورده‌های آن مشروط به نتیجه منفی در آزمایش HCV NAT شد(۶).

در کشور ایتالیا انجام آزمایش HCV RNA به روش مولکولی در کل کشور و انجام آزمایش HIV RNA در بعضی از مناطق اجباری شده است. قبل از انجام این آزمایش در این کشور و زمانی که تنها از آزمایش الایزا برای غربالگری نمونه‌ها استفاده می‌شد، میزان خطر باقیمانده (residual risk) برای انتقال عفونت HCV و HIV یک مورد در هر ۱۲۷۰۰۰ مورد بود. اما بعد از انجام این آزمایش، این میزان به ۰/۵ تا یک مورد در هر یک میلیون نفر کاهش پیدا کرد(۳).

احتمالاً میزان خطر باقی‌مانده به این دلیل است که این نمونه‌ها به صورت مجموعه‌های کوچک سرمی و نه به صورت نمونه‌های منفرد انجام می‌شود. علت آن رقیق شدن RNA ویروس در مجموعه‌های کوچک سرمی است(۳). در بررسی ۲ سال آزمایش مولکولی بر روی خون‌های اهدایی در ایالات متحده آمریکا، میزان احتمال خطر برای عفونت با HCV یک مورد 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.

در این مطالعه برای ۸۰۰۰ اهداکننده خون که در طول ۵ ماه به مرکز انتقال خون اهواز مراجعه نمودند و از نظر HCV به روش الایزا منفی بودند، آزمایش HCV RNA با استفاده از مجموعه‌های ۲۵ تایی به روش RT-PCR انجام شد.

مواد و روش ها

مطالعه انجام شده از نوع توصیفی ـ مقطعی بود و نمونه‌برداری به روش ساده و غیر تصادفی انجام شد. نتایج به وسیله برنامه آماری SPSS ۱۰ و آزمون کای‌دو مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

تهیه و نگهداری نمونه‌های سرم:

در طول پنج ماه یعنی در فاصله زمانی بین تیر ماه تا آذر ماه سال ۱۳۸۶، تعداد ۸۰۰۰ نمونه سرم از اهداکنندگان خون(مستمر، نوبت اول و با سابقه بدون تفکیک جنسیت)

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]

مراجعه کننده به دو پایگاه مرکزی و بیمارستان رازی اهواز گرفته شد. این نمونه‌ها در زمان اهدا و در لوله‌های خلاء ژل‌دار (شرکت vacunat , Greiner Bio One GmbH) ساخت کشور اتریش از اهداکنندگان به دست آمد و از نظر آزمایش الایزا برای HBsAg ، HIV ، HCV و نیز RPR منفی بودند.

آماده کردن مجموعه‌های سرمی:

تهیه مجموعه‌های سرمی قبل از انجماد نمونه‌ها صورت گرفت و فاصله بین تهیه مجموعه‌های سرمی و نمونه‌گیری بین ۱۰ تا ۱۲ ساعت بود. در این مدت نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده بودند. از نمونه‌های انتخاب شده، مجموعه‌های ۲۵ تایی تهیه شد. حدود ۳۲۰ مجموعه سرمی به صورت زیر آماده شد. لازم به ذکر است در زمان تهیه این مجموعه‌ها، از ورود هر گونه مهارکننده‌ای به درون لوله‌ها و نمونه‌های مورد آزمایش جلوگیری شد.

از هر نمونه، ۲۰۰ میکرولیتر سرم به وسیله سمپلراپندورف نیمه اتوماتیک کالیبره شده برداشت شد و در لوله استریل درپیچ‌دار به ظرفیت ۶ سی‌سی ریخته شد. به این ترتیب حجم نهایی هر مجموعه به ۵ سی‌سی رسید. این مجموعه‌ها به خوبی مخلوط شدند. کلیه اطلاعات مربوط به نمونه‌ها و اجزای تشکیل دهنده مجموعه‌ها در فرم‌های مخصوصی ثبت و نگهداری شده بودند. بلافاصله کلیه مجموعه‌ها در دمای ۸۰°C- تا زمان آزمایش نگهداری شدند.

مجموعه‌های ۲۵ تایی با توجه به حساسیت کیت مورد استفاده انتخاب گردید. انستیتو پل ارلیخ در آلمان برای تجسس HCV ، توانایی تشخیص حداقل ۵۰۰۰ IU/ml در نمونه‌های منفرد را در نظر گرفته است. البته باید در نظر داشت در تهیه مجموعه‌های چندتایی، فاکتور رقتی نیز باید در نظر گرفته شود بنابراین تعداد اجزای مجموعه طبق رابطه زیر به دست می‌آید(۶):

حساسیت کیت × تعداد اجزا مجموعه = ۵۰۰۰

از آن جایی که حساسیت کیت استفاده شده معادل ۲۰۰ IU/ml بود، بنابراین مجموعه‌ها به صورت ۲۵ تایی تهیه شدند.

استخراج و تکثیر اسید نوکلئیک ویروس:

برای انجام استخراج RNA ژنوم ویروس HCV (کیت شرکت بهار افشان)، مجموعه‌های سرمی به صورت ۸ تایی از دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد خارج شدند و در دمای اتاق ذوب و مخلوط شدند. برای استخراج از مجموعه‌ها، مقدار ۱۵۰ میکرولیتر برداشته شد. طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت، مراحل استخراج ژنوم انجام شد. محصول حاصل از استخراج در میکروتیوب‌های مخصوص قرار گرفت و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای تکثیر ژنوم، RNA ویروس ابتدا به روش RT-PCR تبدیل به cDNA شد سپس به روش PCR تکثیر گردید. آغازگر مورد استفاده از ناحیه UTR- '۵ بود. کیت PCR مورد استفاده ساخت شرکت سیناژن کشور ایران بود. برای ارزیابی و مشاهده محصول تکثیر ژنوم، ۱۰ میکرولیتر از آن به وسیله ژل آگاروز ۲ درصد بدون اضافه کردن Loading buffer الکتروفورز شد و به وسیله رنگ اتیدیوم بروماید و در طول موج ۳۰۲ نانومتر که به وسیله دستگاه ترانس الئومینیتور تابیده می‌شد، باند DNA در جایگاه bp ۲۱۶ مشاهده شد.

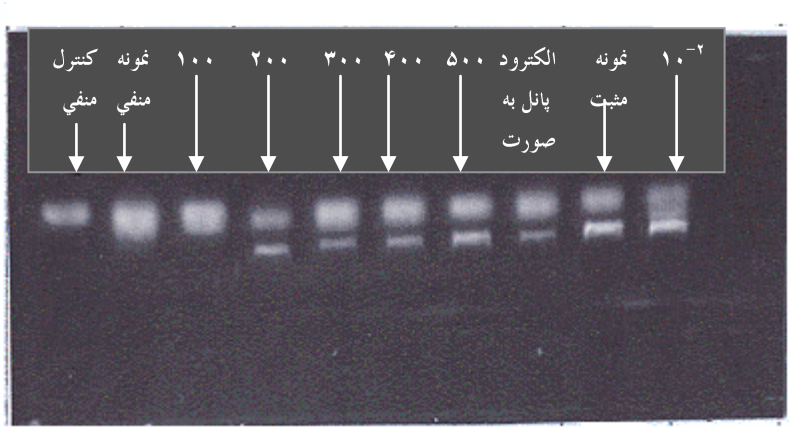
یافته ها

اعتبار بخشی(Validation) کیت:

جهت ارزیابی اختصاصیت کیت‌های مورد استفاده، از دو روش استفاده شد. در روش اول بر روی ۲۸ نمونه که از نظر HCV به روش الایزا و RT-PCR منفی و مورد تایید بودند، عمل استخراج و تکثیر ژنوم انجام شد. در نهایت با انجام آزمایش RT-PCR هیچ واکنش مثبتی مشاهده نشد. در روش دوم برای تایید اختصاصی بودن کیت‌ها، بر روی یک نمونه سرم حاوی ویروس هپاتیت G(HGV) که عضوی از خانواده فلاوی ویریده و هم خانواده ویروس HCV است، مراحل استخراج ژنوم و آزمایش RT-PCR به وسیله کیت‌های مورد نظر انجام شد که پس از الکتروفورز هیچ‌گونه واکنش مثبتی دیده نشد.

جهت بررسی حساسیت کیت‌های مورد استفاده بر

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]



شکل ۱: نتیجه الکتروفورز بر روی رقت‌های مختلف پانل HCV جهت ارزیابی حساسیت کیت‌های مورد استفاده($۱۰^{-۲}$: نمونه مثبت با رقت ۱٪)

روی ۲۵ نمونه HCV مثبت که از قبل وجود RNA ویروس در آن‌ها ثابت شده بود، عمل استخراج و تکثیر ژنوم انجام شد. پس از الکتروفورز نتیجه همه آن‌ها مثبت بود، هم چنین از یک نمونه پانل لیوفلیزه HCV RNA WHO با استفاده از سرم نرمال، رقت‌های ۵۰۰، ۴۰۰، ۳۰۰ ، ۲۰۰ و ۱۰۰ کپی در میلی‌لیتر تهیه شد و بر روی این رقت‌ها مراحل استخراج، تکثیر و الکتروفورز انجام شد که تا رقت ۲۰۰ کپی در میلی‌لیتر مثبت بود(شکل ۱). بنابراین حساسیت کیت‌های مورد استفاده که طبق دستورالعمل‌های WHO و مؤسسه پل‌ارلیخ پیشنهاد شده بود، مورد تایید قرار گرفت(۷، ۲).

از ۸۰۰۰ نمونه جمع‌آوری شده، تعداد ۳۲۰ مجموعه سرمی ۲۵ تایی تهیه شد. توزیع اهداکنندگان از نظر جنسیت حدود ۷۴۹۵ نفر مرد(۹۳/۶٪) و ۵۰۵ نفر(۶/۳٪) زن بودند. از نظر میانگین سنی، اکثر شرکت‌کنندگان در مطالعه سنی بین ۲۸ تا ۳۸ سال داشتند. از نظر وضعیت تأهل، ۸۱/۷ درصد از شرکت‌کنندگان در این مطالعه متأهل و ۱۸/۳ درصد از آن‌ها مجرد بودند. در مجموع از ۳۲۰ مجموعه پلاسمایی، دو مورد واکنش مثبت دیده شد(شکل ۲). با آزمایش تمامی نمونه‌های سازنده این مجموعه‌ها به طور منفرد، هیچ مورد مثبتی یافت نشد. بنابراین این نمونه‌ها به عنوان مثبت کاذب فرض شدند. در مجموع همه نمونه‌ها(مجموعه‌های سرمی) از نظر HCV RNA به روش RT-PCR منفی بودند.



شکل۲ : در یک نوبت کاری دو مورد از مجموعه‌های سرمی دارای واکنش مثبت بودندکه با علامت پیکان مشخص شده‌اند.

بحث

یکی از مشکلات در رابطه با اهدای خون، انتقال عفونت‌های قابل انتقال از طریق خون می‌باشد. این مشکل مخصوصاً درمناطقی که شیوع هپاتیت بالا است و هم چنین اهدای خون جنبه تجاری و درآمدزایی دارد، دارای اهمیت بیشتری می‌باشد. گزارش‌های اخیر نشان داده است که شیوع anti-HCV در اهداکنندگان خون در کشورهای مختلف بین ۰/۳ تا ۱/۵ درصد می‌باشد(۸). در کشور ما شیوع عفونت در میان اهداکنندگان خون پایین است(اولین مورد در سال ۱۳۷۳ شمسی، ۰/۳ درصد گزارش شده

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]

است) ولی در سال ۱۳۸۴، میزان شیوع عفونت ۰/۱۴ درصد گزارش شده که میزان آن سیر نزولی داشته است(۹). به دلیل انجام آزمایش‌های سرولوژی رایج برای غربالگری کیسه‌های خون در مراکز انتقال خون، شاهد کاهش انتقال عفونت‌های ویروسی از راه انتقال خون هستیم. میزان شیوع عفونت درمیان اهداکنندگان خون ایرانی در مقایسه با بعضی از گزارش‌ها در سایر کشورها مانند پاکستان(۴٪)، یمن(۱/۱٪) و مصر(۱۳/۶٪) بسیار پایین است(۱۲-۱۰).

در جنوب غربی ایران(اهواز) در میان اهداکنندگان خون میزان شیوع هپاتیت C مانند سایر نقاط ایران به نسبت بسیاری از مناطق دنیا کمتر است که می‌تواند به این دلیل که اهداکنندگان خون به طور داوطلبانه و بدون هیچ گونه چشم داشت مادی اقدام به اهدای خون می‌نمایند، باشد. در این مطالعه کلیه نمونه‌ها با روش مولکولی جهت HCV-RNA منفی بودند.

بررسی خون‌های اهدا شده در مجموعه‌های سرمی یا پلاسمایی با روش‌های مولکولی از نظر عفونت‌های ویروسی می‌تواند ضریب امنیت ذخایر خونی را تا حد زیادی افزایش دهد. در بررسی ۲ سال آزمایش مولکولی بر روی خون‌های اهدایی در ایالات متحده آمریکا، میزان احتمال خطر برای عفونت با HCV یک مورد 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(۱۳). انجام آزمایش RT-PCR به روش دستی معمولاً با نتایج غیر قابل قبولی همراه است. این نتایج ممکن است بر اثر آلودگی، عدم جواب‌دهی کنترل مثبت و یا ایجاد باندهای غیر اختصاصی باشند. لذا انجام آزمایش با استفاده از روش‌های اتوماتیک تا حد زیادی از این مشکلات می‌کاهد.

در مطالعه دکتر امینی کافی‌آباد و همکاران، ۱۰۰۰ نمونه از اهداکنندگان مراجعه کننده به پایگاه انتقال خون تهران بین سال‌های ۸۰ تا ۸۱ که به روش دستی آزمایش شدند و مجموعه‌های پنج‌تایی پلاسما به روش RT-PCR بررسی شدند. در این مطالعه هیچ نمونه‌ای که دارای نتیجه مثبت در روش مولکولی باشد، یافت نشد. در این بررسی تعداد مجموعه‌های پلاسمایی که به دلیل عدم جواب‌دهی نمونه مثبت و وجود باندهای غیر اختصاصی تکرار شدند در مجموع ۱۱٪ بود(۱۴).

در مطالعه روث و همکاران، خون ۳۶۰۰۰۰۰ اهداکننده با روش تمام اتوماتیک در مجموعه‌های پلاسمایی ۹۶ تایی، در اروپای مرکزی بررسی شد که ۶ نمونه HCV RNA مثبت گزارش شد(در هر ۶۰۰۰۰۰۰ نمونه یک مورد مثبت)(۱۵).

در مطالعه‌های انجام شده دیگر بر روی تعدادی از اهداکنندگان در مراکز انتقال خون آلمان و اتریش، تعداد موارد HCV RNA مثبت در بین اهداکنندگان الایزا منفی، ۰/۶ تا ۶/۵ در هر یک میلیون اهداکننده برآورد شد. در طی این مطالعه، سری آزمایش‌های غیر قابل قبول به دلیل وجود مهارکننده یا عدم تکثیر کنترل داخلی، ۰/۵٪ از مجموعه‌های پلاسمایی گزارش شد و مثبت کاذب برای سنجش HCV-RNA به میزان ۰/۱٪ مجموعه‌های پلاسمایی برآورد شده است. هر مجموعه حاوی ۴۸ تا ۹۶ نمونه بوده است(۱۶).

در این بررسی ها نیز از روش‌های تمام اتوماتیک استفاده شده است. این یافته‌ها نشان می‌دهد استفاده از روش‌های اتوماتیک در انجام NAT در کلیه مراحل کار اعم از تهیه پولد یا انجام آزمایش‌های مولکولی، علاوه بر این که امکان بررسی در سطح بسیار گسترده‌تری را به وجود می‌آورد، از تعداد نتایج مثبت و منفی کاذب نیز به شدت می‌کاهد و نتایج قابل اطمینان‌تری را در زمان بسیار کوتاه‌تری فراهم می‌کند.

امروزه در مراکز مختلف انتقال خون دنیا، آزمایش‌های مولکولی غربالگری اهداکنندگان بسته به امکانات آن مراکز به صورت منفرد یا به صورت مجموعه‌های چندتایی انجام می‌شود. طی مطالعه‌هایی که در ایالات متحده انجام شده است، مشخص شد که انجام دادن آزمایش NAT به صورت منفرد بر روی نمونه اهداکنندگان باعث می‌شود که فاز پنجره به مدت چهار روز کوتاه‌تر از زمانی شود که این آزمایش بر روی مجموعه‌های چندتایی انجام شود. در

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]

نتیجه انجام دادن این آزمایش بر روی نمونه‌های منفرد باعث می‌شود سالانه سه تا چهار مورد از اهداکنندگان که ژنوم ویروس در خون آن‌ها وجود دارد ولی در مجموعه‌های چندتایی ممکن است شناسایی نشوند، مورد شناسایی قرار گیرند. اما از طرف دیگر از نظر اقتصادی هزینه انجام دادن این آزمایش‌ها بر روی نمونه‌های منفرد بیش از دو برابر زمانی است که این آزمایش‌ها بر روی مجموعه‌های سرمی یا پلاسمایی انجام می‌شود. با این وجود، سیاستگذاری مراکز انتقال خون در کشورهای پیشرفته بیشتر به سمت انجام این آزمایش‌ها به صورت نمونه‌های منفرد تمایل دارد(۱۹-۱۷).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه کلیه نمونه‌های مورد بررسی با روش مولکولی HCV RNA منفی بودند. غربالگری عفونت HCV RNA با استفاده از مجموعه‌های ۲۵ تایی به روش RT PCR هم مفید و هم می‌توان تعداد بیشتری نمونه را بررسی کرد. با روش‌های تمام اتوماتیک میزان موارد غیر قابل قبول و نمونه‌های مثبت کاذب به شدت کاهش می‌یابد.

تشکر و قدردانی

هزینه این تحقیق توسط مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران فراهم شده است. نویسندگان این مقاله از آقایان یحیی معروفی و قاسم حسن‌نژاد پرسنل آزمایشگاه ویروس شناسی به پاس همکاری‌های صمیمانه در امر آزمایش‌ها قدردانی می‌نمایند و نیز از همکاری مدیریت و پرسنل واحدهای خون‌گیری، کنترل کیفی و آزمایشگاه روتین سازمان انتقال خون مرکز اهواز تشکر و سپاسگزاری می‌شود.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]

References :

1- Khaja MN, Madhavi C, Thippavazzula R, Nafeesa F, Habib AM, Habibullah CM, *et al*. High prevalence of hepatitis C virus infection and genotype distribution among general population, blood donors and risk groups. Infect Genet Evol 2006; 6(3): 198-204.
2- Nubling CM, Unqer G, Chudy M, Raia S, Lower J. Sensitivity of HCV core antigen and HCV RNA detection in the early infection phase. Transfusion 2002; 42 (8): 1037-45.
3- Palla P, Vatteroni ML, Vacri L, Maggi F, Baicchi U. HIV-1 NAT minipool during the pre-seroconversion window period: detection of a repeat blood donor. Vox Sanguinis 2006; 90(1): 59-62.
4- Orton SL, stramer SL, Dodd RY, Alter MJ. Risk factors for HCV infection among blood donors confirmed to be positive for the presence of HCV RNA and not reactive for the presence of anti-HCV. Transfusion 2004; 44(2): 275-81.
5- Delwart EL, Kalmin ND, TS Jones, Ladd DJ, Foley B, Tobler LH, *et al*. First report of human immunodeficiency virus transmission via an RNA-screened blood donation. Vox Sang 2004; 86(3): 171-7.
6- Lelie PN, van Drimmelen HA, Cuypers HT, Best SJ, Stramer SL, Hyland C, *et al*. Sensitivity of HCV RNA and HIV RNA blood screening assays. Transfusion 2002; 42(5): 527-36.
7- Control Authority Batch Release of Blood Products. validation of Nucleic Acid Amplifiction technology (NAT) for the detection of Hepatitis C Virus (HCV) RNA in plasma pools EDQM. Ocabr of Biological Substances 2001.
8- WHO.Global surveillance and control of hepatitis C. Journal of Viral Hepatitis 1999; 6: 35-47.
9- Iranin Blood Transfusion Organization Annual Report. 2005. IBTO, Tehran, Iran.
10- Khattak MF, Salamat N, Bhatti FA, Qureshi TZ. Seroprevalence of HBV, HCV, and HIV in blood donor in Pakistan. J Pak Med Assoc 2000; 50(8): 269-70.
11- Haidar NA. Prevalence of hepatitis B and hepatitis C in blood donors and high risk groups in Hajjah, Yemen Republic. Saudi Med J 2002; 23(9): 1090-4.
12- Darwish MA, Raouf TA, Rushdy P, Constantine NT, Rao MR, Edelman R. Risk factor associated with a high prevalence of HCV infection in Egyptian blood donor. Am J Trop Med Hyg 1993; 49(4): 440-7.
13- Stramer SL. US NAT yield: where are we after 2 years? Transfus Med 2002; 12(4): 243-53.
14- Amini Kafi-abad S, Talebian A, Mini-pool screening for HCV infection in Iranian blood donors. The Sci J Iran Blood Transfus Org 2005; 2(3): 13-21.
15- Roth WK, Weber M, Buhr S, Drosten C, Weichert W, Sireis W, *et al*. Yield of HCV and HIV-1 NAT after screening of 3.6 million blood donation in central Europe. Transfusion 2002; 42 (7): 862-8.
16- Roth WK, Seifrid E. The German experience with NAT. Transfus Med 2002; 12(4): 255-8.
17- AuBuchon JP, Birkmeyer JD, Busch MP. Cost-effectiveness of expanded HIV test protocols for donated blood. Transfusion 1997; 37(1): 45-51.
18- Busch M, Giachetti C, Conrad A. Dynamics of HCV viremia during early HCV infection: implications for minipool (MP) vs individual donation (ID) nucleic acid amplification testing (NAT). 53rd Annual Meeting; Nov 2000; American Assn of Blood Banks, Washington DC, USA.
19- Wendel S, Levi JE, Takaoka DT, Silva IC, Castro JP, Torezan-Filho MA, *et al.* Primary screening of blood donors by nat testing for HCV-RNA: development of an "in-house" method and results. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2007; 49(3): 177-85.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]

Original Article

Molecular study of HCV RNA among anti-HCV negative blood donors

Mahmoodian Shooshtari M.[1](PhD), Bahrami H.[1](MS), Sharifi Z.[1](PhD)

[1]*Iranian Blood Transfusion Organization, Research Center,Tehran, Iran*

Abstract

Background and Objectives

In order to identify acutely infected blood donors before seroconversion and to reduce the potential risk of transfusion-associated hepatitis C, the detection of HCV RNA by NAT has therefore been introduced recently in several developed countries. In this study, the molecular screening of HCV RNA among anti-HCV negative blood donors was carried out in Iranian Blood Transfusion Organization Research Center, Tehran.

Materials and Methods

Eight thousand samples negative for anti-HCV (EIA, third generation) were screened for HCV RNA in 25 mini-pools. A total of 320 mini-pools were tested using RT-PCR method for qualitative detection of HCV RNA, with a lower limit of detection of 200 IU/ml.

Results

All samples tested by RT-PCR method were negative for HCV RNA. On initial testing, two false positive results were defined as positive but on repeat single testing they came out to be negative.

Conclusions

HCV RNA detection by PCR can be carried out routinely without any significant delay in release of blood components. The residual risk of transmission can be reduced by identification of early infection which can lead to an improvement in safety of blood components. It was also shown that combined screening using anti-HCV and 25-mini-pool HCV RNA testing can be both useful and cost-effective.

Key words: RT-PCR , Blood donors , ELISA , Plasma , Anti-HCV Antibodies
Sci J Iran Blood Transfus Org 2009; 6(3): 191-198

Received : 4 May 2008
Accepted: 12 Sep 2009

Correspondence: Sharifi Z., PhD of Virology. Assistant Professor of Iranian Blood Transfusion Organization-Research Center.
P.O.Box:14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82052229; Fax : (+9821) 88601555
E-mail: *z-sharifi@ibto.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-10]