

# بررسی تست‌های آزمایشگاهی عفونت HIV و راه‌های پیشگیری از آن

■ اکرم فرهادی مدیر کیفی آزمایشگاه تشخیص طبی دانش

■ محمد حسن یوسفی مسئول علمی آزمایشگاه تشخیص طبی دانش

## چکیده

ایدز توسط ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV) به وجود می‌آید. HIV نام ویروسی است که به سیستم دفاع طبیعی در برابر بیماری‌ها است، حمله می‌کند. ویروس HIV بعد از ورود به بدن شروع به رشد و تکثیر کرده و پس از آنکه شرایط از هر نظر آماده شد حملات خود را به گلوبول‌های سفید که در بدن نقش دفاعی بازی می‌کنند، آغاز می‌کند. برخی از افراد مبتلا به عفونت HIV تا چندین ماه یا حتی چند سال پس از ابتلا به ویروس دچار عوارض نمی‌شوند. با این حال، حدود ۸۰ درصد ممکن است علائم مشابه آنفولانزا را پس ۲ تا ۶ هفته بعد از ابتلا به ویروس نشان دهند. پژوهش برای تشخیص ایدز نیاز به یک تست تاییدی برای افراد HIV مثبت دارد. تست HIV آزمایشی دو مرحله‌ای است که شامل آزمون غربالگری و یک آزمون تأییدی می‌باشد.

گام اول معمولاً یک آزمایش غربالگری است که آنتی‌بادی‌ها علیه HIV را در خون جستجو می‌کند. اگر تست غربالگری HIV مثبت شد، نیاز است که نتایج توسط یک تست تاییدی بنام وسترن بلات تایید شود. هدف ما از نوشتمن این مقاله آشنایی بیشتر شما با تست‌های غربالگری و تاییدی ایدز و راه‌های پیشگیری از آن می‌باشد.

**کلید واژگان:** ایدز، HIV، الایزا، وسترن بلات، HIV-PCR، آنتی ژن P24

## مقدمه

انسان امروزه با شناخت دقیق عوامل بیماری و چگونگی گسترش آن، راه‌های پیشگیری از بیماری‌ها را شناسایی نموده و با شناخت راه‌های پیشگیری و بکار بردن آن می‌تواند قبل از ایجاد بیماری آن را کنترل نموده و از شیوع بیماری در جامعه جلوگیری نماید. بیماری ایدز که از سه دهه پیش شروع شده و به سرعت در حال گسترش در همهٔ جهان است، یک بیماری عفونی محسوب می‌گردد که راه‌های انتقال منحصر به فرد این بیماری، آن را از سایر بیماری‌های عفونی متمایز نماید. برای اولین بار در سال ۱۹۸۱ در شهر لس آنجلس نموده‌هایی از این بیماری به این صورت که مردان جوانی با عده‌های عجیب در قسمت‌های مختلف بدن با عالیم ناشناخته‌ای که به مرگشان منجر می‌شد، مشاهده شدند.

به تدریج روش شد که بیشتر مبتلایان به این بیماری هولناک مردان هم جنس باز هستند به همین سبب در ابتدای این بیماری را طاعون هم جنس بازان نامیدند و بعدها این بیماری در سال ۱۹۸۲ به بیماری ایدز که مخفف Acquired Immune Deficiency Syndrome (سندروم نقص ایمنی اکتسایی) می‌باشد، تغییر نام یافت.<sup>(۱)</sup>

عامل بیماری‌زا ویروسی است که قدرت آلوده کنندگی و سرایت پذیری بالایی دارد و به نام ویروس نقص ایمنی انسان یا H.I.V نامیده می‌شود، زیرا باعث ضعف دستگاه دفاعی بدن انسان می‌شود. ویروس ایدز در بدن انسان مراحل مختلفی را طی می‌کند که یکی از آنها دورهٔ فعالیت پنهانی (دورهٔ پنجه) است، در این مرحله ویروس در حال رشد و تکثیر است و پس از آنکه شرایط از هر نظر آماده شد، حملات خود را شروع می‌کند و به گلوبول‌های سفید حمله نموده و بسیار سریع شروع به زیاد شدن می‌کند و کم کم تمامی نیرو و استقامت بدن را از بین می‌برد؛ به طوری که بیمار شاید تنها از یک بیماری ساده مانند سرما خوردگی بمیرد. بنابراین خود ویروس به تنها یک موجب مرگ بیمار نمی‌شود بلکه با ناتوان کردن سیستم دفاعی بدن موجب مرگ می‌شود.<sup>(۲)</sup>

## پیشگیری از بیماری ایدز

از آنجا که تاکنون واکسن و یا علاج قطعی برای این بیماری کشف نشده است و در آینده نزدیک نیز امکان پذیر به نظر نمی‌رسد مهم‌ترین راه مبارزه با این بیماری پیشگیری و آموزش است.

برای پیشگیری از انتقال اچ آی وی، بهترین راه خودداری از برقراری رابطه جنسی با فرد آلوده به ایدز و استفاده از کاتدوم‌های جنس لاتکس است. معتادان تزریقی نیز می‌توانند با خودداری از مصرف سرنگ‌های مشترک خطر آلودگی به HIV را کاهش دهند. (۵)

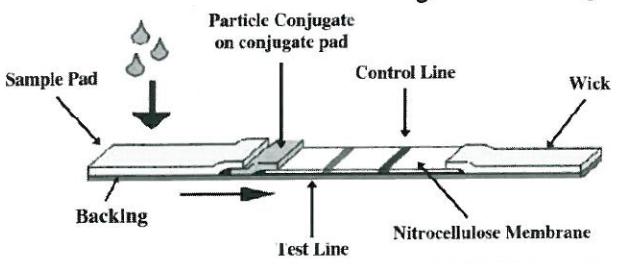
## تست‌های غربالگری و تشخیصی HIV

آخررا با گسترش روش‌های دقیق با حساسیت بالا، امکان تشخیص عفونت در مراحل اولیه نیز وجود دارد. به طور معمول در آزمایشگاه‌ها از تست‌های غربالگری که حساسیت بالایی برای شناسایی بیماران دارند، استفاده می‌شود. علاوه بر تست‌های غربالگری جهت تایید نهایی یک نمونه مثبت باید از تست‌های تاییدی استفاده کرد. (۶) براین اساس سعی ما در این مقاله این است که شمارا با روش‌های تشخیصی ویروس HIV آشنا کنیم.

### تست‌های غربالگری Rapid Test .۱

این روش به عنوان یک روش تشخیصی سریع بیماری ایدز کاربرد دارد. اساس این روش بر آگلوبلیناسیون، ایمونوفیلتراسیون و ایمونوکروماتوگرافی می‌باشد.

در این روش بر روی نوار تست‌های نیتروسلولزه آنتی‌ژن‌های پوشش بروتئین-2 HIV و HIV-1 که شامل گلیکوپروتئین‌های gp120 و gp41 در HIV-1 و گلیکوپروتئین‌های gp36 در HIV-2 می‌باشند، قرار داده شده‌اند. همچنین در روی این نوارها یک ناحیه جهت کنترل در نظر گرفته شده است. (شکل ۱)



شکل ۱

## علاوه شایع این بیماری

شامل: تب، راش ماکولوپاپولار، زخم‌های دهانی، لنفادنوباتی، درد مفاصل، فارنزیت، احساس کسالت، کاهش وزن، منژیت غیر عفنونی و درد عضلانی می‌باشد.

## راه‌های انتقال

هر چند ویروس HIV در تمام ترشحات بدن فرد مبتلا (بجز عرق) وجود دارد ولی تنها سه راه برای انتقال و انتشار آن به اثبات رسیده است. شایع‌ترین راه سرایت آلودگی، تماس جنسی است که ویروس ممکن است از فرد آلوده به شریک جنسی اش منتقل شود. آلودگی از راه تماس جنسی ۸۰ درصد کل موارد را شامل می‌شود که بیشتر از ۷۰ درصد آن از راه تماس با جنس مخالف و ۱۰ درصد آن از طریق هم‌جنس بازی است. هرچند در ایران این روند متفاوت است، به طوری که شایع‌ترین راه انتقال ایدز در ایران استفاده از سرنگ آلوده توسط معتادین تزریقی و یا انتقال خون آلوده است. (۳)

راه دیگر انتقال، تبادل خون یا فرآورده‌های آن می‌باشد. ویروس می‌تواند از راه مصرف خون و یا فاکتورهای انعقادی آلوده هم منتقل شود، ویروس می‌تواند از راه یک ورید (مثلاً در حین تزریق وریدی)، مقعد، واژن، آلت، دهان و سایر غشاهای مخاطی (نظیر چشم و مخاط داخل بینی) و یا بریدگی‌ها و زخم‌ها وارد بدن می‌زیان شود. بیماران هموفیلی و معتادان تزریقی که از سرنگ و سوزن بطور مشترک استفاده می‌کنند از گروه‌های پر خطر در ابتلاء ایدز به حساب می‌آیند.

ویروس همچنین می‌تواند از طریق مادر آلوده به جنین در داخل رحم و یا حین زایمان و یا در طی دوران شیردهی (که می‌توان به وسیله جایگزینی شیر مادر، از آن جلوگیری کرد) به جنین یا نوزاد منتقل شود.

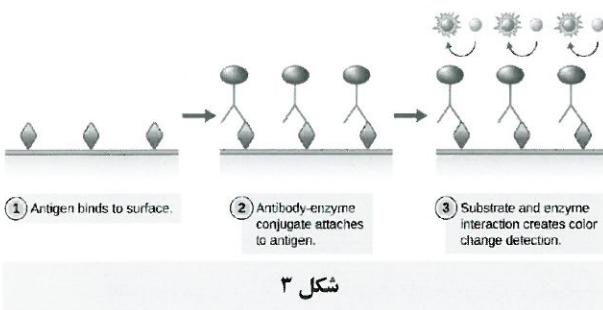
این شیوه در مورد ابتلاء کودکان، بسیار شایع است به طوری که ۹۰ درصد تمامی کودکان آلوده به HIV در سال ۲۰۰۳ از طریق انتقال مادر به کودک آلود شدند هرچند داروهای در کاهش شанс این انتقال موثرند.

ویروس ایدز، از طریق هوا، سرفه و عطسه، بوسیدن، تماس پوستی یا دست دادن، استفاده مشترک از لوازم آشیزی مانند دیگ و چاقو و ...، از طریق تماس با صندلی توالت، از طریق نیش حشرات و شنا در استخرهای عمومی و خوردن غذایی که توسط فرد آلوده به اچ آی وی تهیه شده باشد، منتقل نمی‌شود. (۴)

انجام داد و همچنین این آزمایش از حساسیت و اختصاصیت لازم برخوردار نمی‌باشد.(۷)

## ۲. روش ایمونوآسی

اساس این روش‌ها مانند سنجش‌های اینمنی رادیواکتیو همان واکنش آنتی ژن-آنتی بادی است، با این تفاوت که برای ردیابی واکنش مذکور به جای رادیواکتیویته از آنزیم و واکنش آنزیمی استفاده می‌شود. در این روش می‌توان برای ردیابی واکنش به دلخواه آنتی ژن یا آنتی بادی را با آنزیم نشان‌دار کرد. به عمل نشاندارسازی کونزوگاسیون و به مولکول آنزیم دار، کونزوگه آنزیمی گفته می‌شود. (شکل ۳)



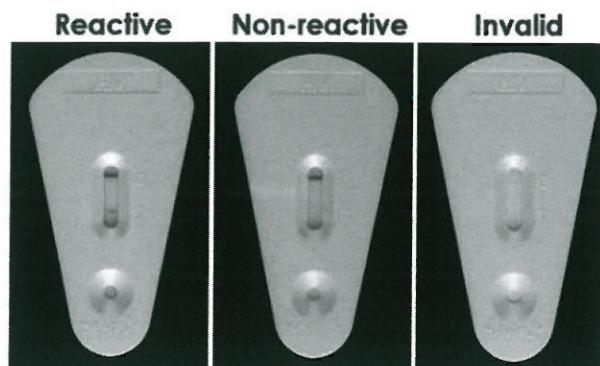
**آزمایش الایزا**  
در تست الایزا مستقیماً خود ویروس را جستجو نمی‌کنند. در این روش، میزان آنتی بادی‌هایی که بدن شخص آلوده برعلیه HIV تولید کرده، اندازه گرفته می‌شود. ELISA آزمایش نسبتاً ارزان و دقیقی است. در این آزمایش، هنگامی که ماده معرف ELISA به سرم اضافه شود یک آزمایش شیمیایی که محلول رارنگی می‌کند وجود آنتی بادی‌های HIV را مشخص می‌سازد.

۲۲ روز پس از آلودگی با HIV تست الایزا، در ۵۰٪ موارد مثبت می‌شود و پس از ۶ هفته در ۹۵٪ موارد مثبت می‌شود. حساسیت (Sensitivity) الایزا بالا می‌باشد. برای جلوگیری از نتایج مثبت کاذب نتایج تکرار شده باید بوسیله تست western blot تایید گردد.(۸)

## تست‌های تاییدی HIV تست وسترن بلاط

هنگامی که یکی از تست‌های غربالگری HIV مثبت شوند، تست وسترن بلاط به خاطر اختصاصیت بالای آن به عنوان تست تاییدی HIV مورد استفاده قرار می‌گیرد. تست وسترن بلاط دارای حساسیت بالا

جهت انجام تست ابتدا دو قطره سرم، پلاسمای خون تام و سپس دو قطره بافر شستشو به شیار مخصوص نمونه بر روی کاست اضافه می‌شود. چنانچه آنتی بادی اختصاصی از هر کلاس در نمونه باشد به پروتئین‌های نوترکیب HIV-1 و HIV-2 که به ذرات کلوبیدی طلا وصل است متصل می‌شود و تشکیل کمپلکس آنتی ژن و آنتی بادی رامی‌دهد. این کمپلکس سپس به صورت کروماتوگرافی در منطقه تست روی کاست حرکت می‌کند. یک واکنش مثبت با ایجاد باند صورتی یا قرمز در ناحیه تست هماه است ولی یک واکنش منفی فاقد هر گونه باندی در این ناحیه خواهد بود. (شکل ۲)



شکل ۲

تست تشخیص سریع می‌تواند عنوان تست غربالگری اولیه در افرادی که اندیکاسیون انجام تست HIV دارند بکار رود. کاست تشخیص سریع HIV عموماً می‌تواند در عرض کمتر از ۳۰ دقیقه جواب آزمایش را نشان دهد. از سایر روش‌های تشخیصی آزمایشگاهی HIV بسیار راحت تر بوده و در نتیجه می‌تواند در مراکز ارائه دهنده خدمات پیشگیری، مراقبت و درمان نظام سلامت در بخش‌های دولتی و غیر دولتی که شرایط لازم را دارا باشند، انجام شود. مزایای استفاده از کاست تشخیص سریع HIV (HIV Rapid test device) عبارتند از: افزایش دسترسی افراد دارای HIV، رفتارهای پر خطر و یا در معرض خطر اج آی وی به آزمایش HIV، افزایش دسترسی مراکز ارائه دهنده خدمات سلامت به آزمایش اج آی وی، امکان انجام آزمایش، مشاوره و ارجاع در یک روز، امکان نگهداری و انبارش وسائل تشخیص سریع اج آی وی بدون نیاز به یخچال (قابلیت نگه داری در دمای اتاق)، عدم نیاز به بیش از یک Reagent در انجام آزمایش، عدم نیاز به امکانات پیشرفته آزمایشگاهی و آموزش‌های پیچیده تخصصی، عدم نیاز به دریافت نمونه خون کامل (وریدی).

علیرغم مزایای فوق باید توجه داشت که با استفاده از کاست‌های تشخیص سریع HIV تعداد محدودی آزمایش در هر نوبت کاری می‌توان

تعداد ویروس موجود در خون کم است ممکن است منفی کاذب داشته باشیم. (۲۰)

### تست شمارش تعداد لنفوцит‌های CD4

بیشتر از همه بعنوان عامل پیشگویی کننده پیشرفت HIV بکار می‌رود. خطر پیشرفت به سمت عفونت‌های فرست طلب ایدز یا بدخیمی‌ها وقتی که CD4‌ها کمتر از  $200 \text{ cell}/\mu\text{l}$  باشد، بالاست. ممکن است درصد CD4‌ها قابل اطمینان‌تر از تعداد آنها باشد. خطر پیشرفت به سمت عفونت‌های فرست طلب ایدز یا بدخیمی‌ها وقتی که درصد CD4‌ها کمتر از ۲۰٪ باشد، بالاست.

### نتیجه گیری

تجربه گسترش HIV در جهان نشان داده است که برای کنترل این بیماری ایجاد دسترسی همگانی به خدمات تشخیصی یک ضرورت است، چرا که بیماران می‌توانند در مرحله اولیه عفونت از درمان بهره‌مند شوند و از ابتلاء شرکای جنسی خود جلوگیری کنند. در مجموع برای تشخیص قطعی HIV در یک فرد، باید ترکیبی از سه تست معتبر با نتیجه مثبت داشته باشیم.

۹۹.۳ - ۹۹.۷٪ اختصاصی (٪ ۹۹.۷) است. در این تست پروتئین اختصاصی ویروس HIV با کمک آنتی‌بادی اختصاصی آن شناسایی شده و از نظر وزن مولکولی نیز مورد بررسی و تایید قرار می‌گیرد. به همین دلیل اختصاصی این تست در مقایسه با الیزا خیلی بیشتر می‌باشد. به این جهت در بیمارانی که با روش الیزا تست HIV آنها مثبت می‌شود، حتماً باستی با روش وسترن بلات نتایج تایید گردد. (۹)

### HIV-PCR

تست HIV-PCR ژن ویروس را در خون ردیابی می‌کند. اگر شخصی آلوده شده باشد ژن ویروس ایدز در خون او وجود خواهد داشت. میزان اطمینان به دقت این تست ۹۵٪ می‌باشد. بعضی منابع این آزمایش را دو هفته بعد از داشتن ارتباط خطرناک و بعضی دیگر ۴ هفته بعد، توصیه می‌کنند. (۱۰)

### تست Ag P24

در این روش آنتی‌ژن P24 ویروس مورد بررسی قرار می‌گیرد. لذا می‌تواند در تشخیص زود هنگام آلودگی کمک کننده باشد. البته در مراحل عفونت بدون علامت و یا درمان ضد ویروس، با توجه به اینکه

### Reference:

- Mertens T . HIV / AIDS : trends of the pandemic. Glob AIDS news . 11995;(3-4):8-9.
- Kahn JO, Walker BD. Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. N Engl J Med 1998; 339:33.
- Abdul-karim SS, Abdul-karim O. Global epidemiology HIV –AIDS. Infect Dis Clin N Am 2007; 21:1-17.
- Gheiratmand R, Navipour R, Mohebbi MR, Mallik AK. Uncertainty on the number of HIV/AIDS patients: our experience in Iran. Sex Transm Infect 2005; 81(3):279
- Centers for Disease Control and Prevention. HIV surveillance—United States, 1981–2008. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2011; 60:689–93.
- US Preventive Services Task Force. Screening for HIV: recommendation statement. Issued July 2005, amended 2 April 2007. AHRQ publication No. 07-0597-EF
- Pau CP, Wells SK, Owen SM, et al. Development of a simple, rapid and inexpensive method for the qualitative detection of HIV-1 RNA. In: Proceedings of the 2010 HIV Diagnostics Conference, Orlando, FL, March 2010.
- Julia Kang Cornett and Thomas J. Kirn. Laboratory Diagnosis of HIV in Adults: A Review of Current Methods . CID 2013:57 (1 September) . MEDICAL MICROBIOLOGY.
- Branson BM, Mermin J. Establishing the diagnosis of HIV infection: new tests and a new algorithm for the United States. J Clin Virol 2011; 52(suppl 1):S3–4.
- Schito ML, D'Souza MP, Owen SM, et al. Challenges for rapid molecular HIV diagnostics. J Infect Dis 2010; 201(suppl 1):S1–6.
- Fox J, Dunn H, O'Shea S. Low rates of p24 antigen detection using a fourth generation point of care HIV test. Sex Transm Infect 2011; 87: 178–9.