

فصل دوم:

آزمایش HIV

ویروس HIV چگونه شناسایی می‌گردد؟

تشخیص عفونت HIV، در اغلب موارد از طریق شناسایی آنتی‌بادی ویروس صورت می‌پذیرد. به طور معمول از تست‌های آزمایشگاهی که حساسیت^۱ بالایی برای شناسایی بیماران دارند، استفاده می‌شود؛ یعنی تست‌هایی که بتوانند فرد آلوده را به درستی، به عنوان فرد HIV⁺ شناسایی کنند. به این تست‌ها، تست‌های غربالگری^۲ اطلاق می‌شود. علاوه بر این، باید از تستی استفاده شود که اختصاصی^۳ بوده و بتواند به درستی فرد غیر آلوده را به عنوان فرد HIV⁻ متمایز نماید. به این تست‌ها، تست‌های تأییدی^۴ اطلاق می‌شود. میزان حساسیت و اختصاصی بودن آزمون‌های آنتی‌بادی به ندرت ۱۰۰ درصد بوده و به همین دلیل توصیه می‌گردد که تمام افرادی که نتیجه‌ی آزمایش ایشان مثبت شده، مجدداً و ترجیحاً با یک روش دیگر آزمایش شوند. همچنین برای اطمینان از کیفیت آزمون‌های تشخیصی، توصیه می‌شود به ازای هر ۱۰۰ آزمایش، تعداد مشخصی از نمونه‌ها، به آزمایشگاه مرجع ارسال شوند. دستورالعمل کنترل کیفی آزمایش‌ها بر حسب سیاست‌گذاری‌های هر کشور، شیوع HIV، تست‌های موجود و از زمانی به زمان دیگر متفاوت می‌باشد. برای شناسایی HIV، می‌توان از نمونه‌ی خون، بزاق و ادرار استفاده نمود؛ با این وجود آزمایش بر نمونه‌ی خون شایع‌ترین روش بالینی می‌باشد.

دوره‌ی نهفتگی^۵

از زمانی که ویروس وارد بدن فرد می‌شود تا هنگامی که پاسخی قابل اندازه‌گیری در سیستم ایمنی در مقابل عفونت ایجاد شود، دوره‌ی نهفتگی نامیده می‌شود. از آنجا که به طور معمول تشخیص این بیماری، با شناسایی آنتی‌بادی برعلیه ویروس صورت می‌گیرد، در طول این مدت نتایج آزمایش فرد آلوده به HIV، می‌تواند منفی گردد. در این دوره، ویروس در بدن فرد

¹ Sensitivity

² Screening test

³ Specificity

⁴ Confirmatory test

⁵ Window period

در حال تکثیر می‌باشد. البته در این مدت ویروس را می‌توان با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی که برای شناسایی خود ویروس (به جای شناسایی آنتی‌بادی علیه آن) تهیه شده‌اند، کشف نمود.

مدت دوره‌ی نهفتگی در افراد مختلف و بسته به روش و نوع کیت استفاده شده در آزمایش، می‌تواند بین دو هفته تا سه ماه باشد. بنابراین، نتیجه‌ی منفی یک آزمایش ممکن است مربوط به فرد آلوده در طی دوره‌ی نهفتگی باشد، مگر آنکه از روش‌های شناسایی خود ویروس استفاده شده باشد که اغلب گران بوده و ممکن است همه جا در دسترس نباشند.

انواع تست‌ها

دو روش اصلی آزمایش HIV وجود دارد: تست‌های آنتی‌بادی (مانند الایزا^۱، تست‌های سریع^۲، وسترن بلات^۳ و ریپا^۴) و تست‌های شناسایی ویروس (مانند تست آنتی ژن HIV، پی.سی.آر^۵ و کشت ویروس).

تست‌های آنتی‌بادی، آنتی‌بادی‌های علیه ویروس HIV را شناسایی می‌کنند و قادر به کشف مستقیم ویروس نمی‌باشند. با ورود ویروس به بدن، سیستم ایمنی فرد با تولید آنتی‌بادی در مقابل عفونت HIV واکنش نشان می‌دهد. از وجود این آنتی‌بادی‌ها برای شناسایی عفونت HIV استفاده می‌شود. با توجه به این که مدتی طول می‌کشد تا این گونه تست‌ها، وجود آنتی‌بادی در خون را شناسایی کنند، نتیجه‌ی مثبت بیانگر مواجهه‌ی فرد با ویروس در زمان گذشته است. بنابراین تست‌های آنتی‌بادی برای شناسایی موارد ابتلا در مواجهه‌ی اخیر محدودیت دارند. ELISA و تست‌های سریع، شایع‌ترین تست‌های به کار رفته برای غربالگری بیماری می‌باشند.

تست‌های سریع در کمتر از ۳۰ دقیقه انجام شده و بر روی نمونه‌ی خون و یا بزاق قابل انجام می‌باشند. نوعی از تست سریع که با استفاده از نمونه‌ی بزاق انجام می‌شود، در شکل ۱ و نوع دیگر آن که بر روی نمونه‌ی خون انجام می‌شود، در شکل ۲ نشان داده شده است. تست سریع نسبت به تست ELISA، حساسیت کمتری داشته و به طور عمده در موارد زیر کاربرد دارد:

- زنان در معرض خطر HIV که قبلاً آزمایش HIV نداده‌اند، باید در زمان زایمان یا بلافاصله بعد از زایمان با یک آزمایش سریع غربالگری شده تا در صورت لزوم، پروفیلاکسی با داروهای ضد رتروویروس برای شیرخوار آغاز شود و یا در زمان زایمان به خانم حامله تجویز شود.
- زمانی که بعد از زایمان وضعیت HIV مادر نامشخص باشد و به خصوص مادر و یا پدر رفتارهای پرخطر داشته باشند، آزمایش سریع نوزاد در اولین فرصت بعد از تولد توصیه می‌شود تا بتوان پروفیلاکسی با داروهای ضد رتروویروس را برای نوزاد مواجهه یافته شروع کرد. در چنین مواردی باید به خاطر داشت که کشف آنتی‌بادی HIV در نوزاد، نشان‌دهنده‌ی عفونت مادر است.
- برای نوزادان بی‌سرپرست و همچنین نوزادان پرورشگاهی که وضعیت مواجهه‌ی HIV در آنها نامشخص است، آزمایش سریع HIV توصیه می‌شود. هدف از این کار، شناسایی نوزادان مواجهه یافته با HIV برای ارائه‌ی پروفیلاکسی با داروهای ضد رتروویروس است.

¹ Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA)

² Rapid test

³ Western Blot (WB)

⁴ Radioimmunoprecipitation Assay (RIPA)

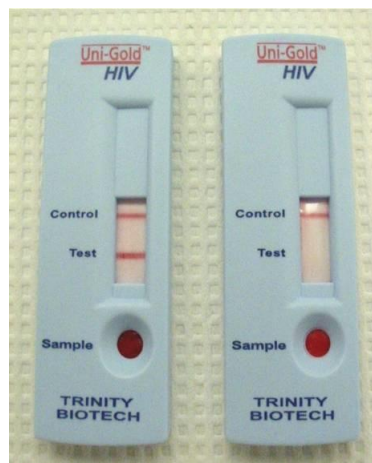
⁵ Polymerase Chain Reaction (PCR)

● در موارد مواجهه با موارد احتمالاً آلوده به HIV، فرد منبع را می‌توان با آزمایش سریع بررسی نمود تا نیاز به انجام پروفیلاکسی دارویی مشخص گردد.

همانند هر تست آنتی‌بادی، نتیجه‌ی مثبت هر تست سریع، می‌بایست پیش از تشخیص نهایی با یک روش تأییدی دیگر مشخص شوند.



شکل ۱- تست Rapid با استفاده از نمونه‌ی بزاق



شکل ۲- نتیجه‌ی مثبت و منفی در تست Rapid با استفاده از نمونه‌ی خون

بر اساس دستورالعمل کشوری، در صورت مثبت شدن تست ELISA، مجدداً این تست (ترجیحاً با یک کیت آزمایشگاهی دیگر) تکرار شده و اگر باز هم مثبت بود، تست WB انجام می‌شود. مثبت بودن نتیجه‌ی این تست، نشانه‌ی ابتلای فرد می‌باشد.

در صورتی که نتیجه‌ی ELISA بار اول مثبت و بار دوم منفی شود، با فاصله‌ی سه ماه مجدداً برای فرد آزمایش ELISA انجام می‌شود و در صورت تکرار نتیجه‌ی منفی، فرد HIV⁻ در نظر گرفته می‌شود.

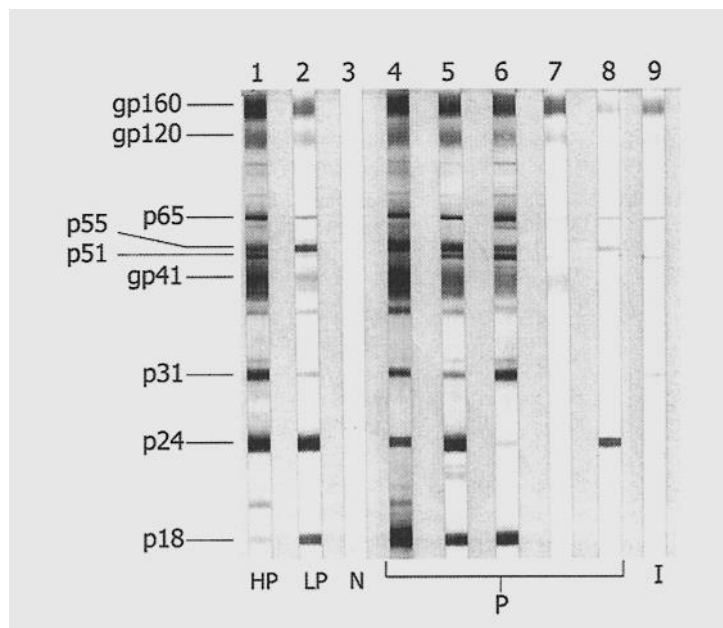
در صورتی که هر دو بار تست ELISA منفی باشد، فرد HIV⁻ در نظر گرفته می‌شود؛ مگر این که فرد طی شش ماه اخیر رفتار پرخطر از نظر انتقال HIV داشته باشد. در صورتی که بیمار مواجهه‌ی اخیر (رفتار پرخطر طی شش ماه گذشته) داشته باشد و نتیجه‌ی آزمایشات اولیه‌ی ELISA منفی باشد، این آزمایش باید سه ماه بعد تکرار شود. اگر همه‌ی این آزمایشات منفی گزارش شدند، می‌توان بیمار را HIV⁻ در نظر گرفت. نمونه‌ی ای از کیت آزمایشگاهی این تست در شکل ۳ نشان داده شده است.

در فردی که عوامل خطر ابتلا به HIV را ندارد ولی نتایج ELISA وی مثبت و WB منفی است، نتیجه‌ی تست ELISA به احتمال زیاد به صورت کاذب مثبت شده است. چنانچه فرد عوامل خطر ابتلا به HIV را داشته و ELISA وی مثبت و WB وی منفی گزارش شده، انجام مجدد تست WB در یک ماه بعد توصیه می‌شود. اگر در این تکرار آزمایش باز هم نتیجه‌ی WB منفی شد، می‌توان فرد را HIV در نظر گرفت.



شکل ۳ - نمونه‌ای از کیت آزمایش ELISA

WB آزمایش دقیق‌تری بوده، اما به دلیل هزینه‌ی بالاتر به عنوان تست تأییدی در مواردی که دو بار نتیجه‌ی آزمایش ELISA مثبت شده است، به کار می‌رود. RIPA یک آزمون تأییدی دیگر می‌باشد. این تست مشابه WB بوده و در مواردی که سطح آنتی‌بادی بسیار پایین است و یا هنگامی که نتایج WB غیرمشخص است، به کار می‌رود. RIPA نیز مانند WB، تست پر هزینه‌ای بوده و انجام آن نیاز به زمان و تخصص دارد.



شکل ۴ - باندهای مشاهده شده در نتیجه‌ی آزمایش Western Blot

بر خلاف تست‌های آنتی‌بادی، تست‌های ویرولوژیک، عفونت HIV را با شناسایی مستقیم ویروس، تشخیص می‌دهند. این تست‌ها شامل تست شناسایی آنتی‌ژن ویروس (تست آنتی‌ژن p24)، تست‌های مبتنی بر اسیدهای نوکلئیک (تست‌های تخصصی که بر شناسایی اطلاعات ژنتیک ویروس HIV از طریق PCR صورت می‌گیرند) و کشت ویروس می‌باشد. این تست‌ها به دلیل پیچیدگی و هزینه‌ی بالا، به ندرت مورد استفاده قرار می‌گیرند.

تشخیص HIV در نوزادان دشوار می‌باشد، چرا که آنتی‌بادی‌های مادر تا ۱۸ ماهگی در بدن نوزاد یافت می‌شوند. تست آنتی‌بادی مثبت تنها نشان دهنده‌ی مواجهه‌ی کودک با آنتی‌بادی‌های مادر بوده، و ممکن است که کودک توسط خود ویروس آلوده نشده باشد. به همین دلیل برای تشخیص عفونت در نوزاد، می‌بایست تنها از تست‌های شناسایی خود ویروس استفاده نمود. همچنین در موارد ابتلای اخیر فرد (دوره‌ی نهفتگی) و برای نظارت بر پیشرفت بیماری (سنجش بار ویروس)، می‌توان از روش‌های شناسایی مستقیم ویروس استفاده کرد.

تشخیص قطعی HIV در ایران همانند الگوهای تعریف شده‌ی بین‌المللی، با دو آزمایش ELISA و یک آزمایش WB مثبت تعریف شده است.

تفسیر نتایج تست HIV

تنها پرسنل آموزش دیده، مجاز به تفسیر نتایج تست می‌باشند. تمامی مشاوران می‌بایست قادر باشند نتیجه‌ی آزمایش را فهمیده و برای مراجع توضیح دهند. تست منفی به معنای آن است که آنتی‌بادی علیه ویروس HIV در فرد شناسایی نشده است. این امر ممکن است به دلیل عدم ابتلای فرد بوده، و یا این که فرد هنوز در دوره‌ی نهفتگی می‌باشد. بنابراین نتیجه‌ی منفی تست لزوماً به معنای عدم ابتلای فرد و یا ایمنی فرد در مقابل ویروس نمی‌باشد و ادامه‌ی رفتارهای پرخطر، فرد و اطرافیانش را مستعد ابتلا می‌کند.

نتیجه‌ی مثبت آزمایش، به معنای آن است که آنتی‌بادی HIV در فرد شناسایی شده است. این نتیجه می‌بایست با آزمون‌های تأییدی قطعیت یابد و تنها در این حالت مشخص می‌شود که فرد مبتلا به HIV می‌باشد.

نتیجه‌ی منفی کاذب هنگامی رخ می‌دهد که نتیجه‌ی آزمایش در فردی که آلوده به ویروس می‌باشد، منفی گزارش می‌گردد. چنانچه فرد مراجعه کننده برای مشاوره و آزمایش، رفتارهای پرخطر برای ابتلا به HIV داشته باشد، باید احتمال نتیجه‌ی منفی کاذب، با وی مطرح گردد. تکرار آزمایش در آینده، برای حصول اطمینان ممکن است ضروری باشد. نتیجه‌ی منفی کاذب، اغلب در افرادی که به تازگی مبتلا شده‌اند و هنوز شروع به تولید آنتی‌بادی ننموده‌اند، دیده می‌شود.

تست‌های آنتی‌بادی HIV، تست‌های حساسی بوده و نتایج مثبت کاذب، قابل انتظار می‌باشد؛ به خصوص در جوامعی که شیوع عفونت HIV در آنها پایین باشد. در صورت تکرار نتیجه‌ی مثبت با استفاده از یک روش آزمایش تأییدی، دیگر بعید است که این بار نیز نتیجه به طور کاذب مثبت شده باشد. نتیجه‌ی مثبت کاذب ممکن است در اثر خطای تکنیکی، گرم و سرد کردن مکرر نمونه و واکنش متقاطع^۱ رخ دهد. به عنوان مثال در آزمایش ELISA و تست‌های سریع، واکنش متقابل با آنتی‌ژن‌های گلبول‌های سفید انسانی^۲، در بیماری‌ها و شرایط زیر می‌تواند نتیجه‌ی مثبت کاذب ایجاد نماید:

● آرتریت روماتوئید^۳؛

● اسکروز مولتیپل^۴؛

● لوپوس^۵؛

^۱ Cross-reaction

^۲ Human Leukocyte Antigen (HLA)

^۳ Rheumatoid Arthritis (RA)

^۴ Multiple Sclerosis (MS)

^۵ Systemic Lupus Erythmatosus (SLE)

- دیابت نوع اول؛
- بیماری آدیسون^۱؛
- اسپوندیلیت آنکیلوزان^۲؛
- هیپاتیت مزمن؛
- سرطان به ویژه بدخیمی‌های سیستم لنفاوی؛
- بیماری شدید کلیوی؛

و افرادی که:

- واکسن آنفلوانزا در ۳۰ روز گذشته دریافت نموده‌اند؛
- تزریق گاماگلوبولین داشته‌اند؛
- اخیراً خون دریافت نموده و یا پیوند عضو شده‌اند.

بدیهی است که تست‌های تأییدی موجب قطعیت یافتن نتیجه‌ی آزمایش می‌گردند.

¹ Addison's disease

² Ankylosing spondylitis