Archive of SID

نتیجه مثبت کاذب در آزمایش غربالگری *HIV* به روش الیزا پس از واکسیناسیون هاری در یک اهداءکننده پلاسما

غلامرضا خمیسی پور

کارشناس ارشد هماتولوژی دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

طب جنوب / سال سوم؛ شماره دوم / ۱۳۷۹

چکیده:

پلاسمافرز روشی است که برای جمع آوری پلاسما جهت تولید مشتقات پلاسمایی مانند ایمنوگلبولین ضد هاری بعنوان واکسن پاسیو بکار میرود. استانداردهای بین‌المللی بانک خون ملزم می‌سازند تمام فراورده‌های خونی قبل از مصرف باید از نظر آنتی بادی *HIV* منفی باشند. در این گزارش، یک مورد نتیجه مثبت الیزا از نظر آنتی بادی ضد *HIV* پس از واکسیناسیون هاری در یک خانم ۱۹ ساله، ارائه میشود که به هیچیک از گروههای پرخطر تعلق نداشت و آزمایش تأئیدی وسترن بلات منفی بود. این یافته میتواند نشان دهندهٔ فیلوژنی مشترک برای ویروس *HIV* و ویروس هاری باشد.

واژگان کلیدی: هاری، *HIV* ، واکسیناسیون، الیزا

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه:

یکی از آزمایشات ضروری جهت بررسی آلودگی در خون و یا فرآورده‌های خونی نظیر پلاسما، آزمایش بررسی آنتی‌بادی ضد *HIV* به روش الیزا می‌باشد و در این مرحله عموماً از الیزای نسل اول استفاده می‌گردد که از خصوصیات آن داشتن حساسیت بالا و ویژگی یا دقت کم است (۱و ۲) و اگر چه نتایج منفی کاذب را کاهش می‌دهد، ولی در برخی از موارد، بدلیل حساسیت زیاد، نتایج مثبت کاذب ایجاد می‌کند و باعث نگرانی در فرد آزمایش شده می‌گردد. در نتیجه تمام نتایج مثبت یا مشکوک بعنوان *Reactive* محسوب شده و زمانی نتیجه قطعی مثبت اعلام میشود که می‌بایست بوسیله آزمایشات تکمیلی مانند وسترن بلات و *PCR* تائید شوند (۵ - ۳). اولین مورد نتیجهٔ مثبت کاذب *HIV* بعد از واکسیناسیون هاری، در سال ۱۹۹۴ گزارش گردیده است. این گزارش نیز به یک مورد مثبت کاذب *HIV* بعد از واکسیناسیون هاری می‌پردازد که این یافته‌ها لزوم تلاش جهت تعیین توالی ژنومی ویروس *HIV* و ویروس هاری را گوشزد می‌نماید.

معرفی بیمار:

یک خانم ۱۹ ساله ساکن شهر بوشهر بعنوان داوطلب اهدای پلاسمای ضد هاری به بخش پلاسما فرزیس تولیدی مرکز انتقال خون بوشهر در سال ۱۳۷۵ مراجعه کرد. وی ازدواج نکرده و باردار نیز نبود. هیچگونه سابقه بیماری خاصی، عمل جراحی و تزریق خون نداشت و نیز اعتیاد، تزریق مواد یا داروهای هورمونی نداشته است. قبل از انجام واکسناسیون، از خون وی نمونه‌گیری شد و از نظر، *HBsAg* , *Anti - HIV* , *Anti - HCV* ، سیفلیس و تست‌های کبدی بررسی شد، سپس در ۶ مرحله در تاریخ‌های ۷۵/۶/۲۸، ۷۵/۶/۳۱، ۷۵/۷/۴، ۷۵/۷/۱۱، ۷۵/۷/۲۷ و در ۷۵/۸/۱۲ (بعنوان دوز یادآور) تحت واکسیناسیون هاری قرارگرفت. بعد از واکسن پنجم و قبل از تزریق مرحلهٔ ششم، مجدداً خون وی بررسی شد. بررسی عملکرد کبدی در مجموع هیچ گونه اختلالی را از نظر کبدی نشان نداد. همچنین از نظر عامل هپاتیت *B* و هپاتیت *C* ونیز سیفلیس منفی بوده است. در حالیکه این بررسی‌ها نشان دهنده مثبت شدن نتیجه آزمایش الیزای *HIV-Ab* بعد از واکسیناسیون می‌باشد. این تست چند بار تکرار شد و هر بار نتیجه مثبت بود. به همین دلیل مجدداً از وی نمونه‌گیری شده و از نظر *HIV* بررسی شد و چون نتیجه مثبت بود تحت آزمایشات تکمیلی یا انجام وسترن بلات *HIV* قرار گرفت؛ و برخلاف نتیجه الیزا، آزمایش وسترن بلات منفی بود. با توجه به عدم امکان آزمایش *PCR* جهت بررسی سرم از نظر *DNA* پرووویروس، ۸ ماه بعد، آزمایش وسترن بلات مجدداً انجام شد که نتیجه منفی بود.

دراین بررسی ،آزمایش‌های الیزا *Anti - HIV (HIV 1-2)* با استفاده از دو نوع کیت از شرت ارگانون و شرکت بیوتست، *HBsAg* از شرکت بیوتست، *Anti - HCV* از شرکت *Avicenna* و نیز آزمایش *RPR* از شرکت انیسان انجام شدند. همچنین آزمایشهای عملکرد کبدی نظیر *SGOT* ، *SGPT* و پروتئین تام با استفاده از کیت‌های ساخت شرکتهای داخلی بر اساس دستورات سازنده انجام شدند. آزمایش تائیدی وسترن بلات با استفاده از کیت *HIV BLOT 2.2* ساخت شرکت *GENELABS DIAGNOSTICS* انجام شد.

بحث:

آزمایشهای الیزا که بمنظور غربالگری خون‌ها و یا فرآورده‌های خونی از نظر آلودگی *HIV* انجام می‌شوند، دارای حساسیت بسیار زیاد و ویژگی پائین هستند به همین دلیل در عین حالیکه احتمال گزارش منفی کاذب را کم می‌کنند ولی نتایج مثبت کاذب نیز دارند. لذا نتایج مثبت با استفاده از تست‌های تکمیلی نظیر وسترن بلاتینگ و *PCR* تائید می‌شوند. در این گزارش، فردی که قبل از واکسیناسیون هاری تحت آزمایش قرار گرفته و از نظر آزمایش *Anti HIV* منفی بوده است پس از چند نوبت واکسیناسیون نتیجه مثبت الیزا را نشان می‌دهد که در تست تائیدی رد

www.SID.ir

Archive of SID

می‌شود. از آنجا که امکان انجام *PCR* جهت یافتن ژنوم پرووویروس موجود نبود، هشت ماه بعد نمونه‌گیری و آزمایش صورت می‌گیرد و نتیجه بدست آمده الیزای مثبت و وسترن بلات منفی گزارش می‌شود. با این تفاوت که میزان جذب *(OD)* خوانده شده در مرحله دوم پائین‌تر از قبل بود و احتمالاً بدلیل کاهش تیتر آنتی‌بادی مربوطه در خون فرد بوده است. همانطور که قبلاً ذکر شد این فرد هیچگونه سابقه تزریق، رفتار پر خطر و اعتیاد نداشته و با توجه به اینکه نتایج آلودگی به ویروس هپاتیت‌های *C* و *B* منفی هستند و آزمایش عملکرد کبدی *(SGPT, SGOT)* و پروتئین تام) طبیعی هستند، بنظر می‌رسد تنها علت مثبت شدن آزمایش الیزا، القاء تولید یک سری آنتی‌بادیهای مشابه با آنتی‌بادیهای ضد ویروس *HIV* که دارای واکنش متقاطع با یکدیگر هستند، پس از واکسیناسیون هاری بوده است. نکته جالب گزارش این است که اولین مورد نتیجه مثبت کاذب *HIV* بعد از واکسیناسیون هاری، در سال ۱۹۹۴ نیز در یک خانم مشاهده شده است (۶) و از آن به بعد تلاشهائی جهت تعیین توالی ژنومی ویروس *HIV* و ویروس هاری صورت گرفت و مشخص شد که توالی ۱۷۰-۱۶۰ گلیکوپروتئین ۱۲۰ *(gp120)* در *HIV-1* مشابه قطعه ژنومی مربوط به گیرنده گلیکوپروتئینی نیکوتینیک در ویروس هاری است و تصور میرود این توالی در اتصال *HIV-1gp120* به جایگاههای اتصالی گیرنده‌های نیکوتینیک استیل کولین دخالت دارد (۷ و ۸). با توجه به پیچیده بودن ژنوم ویروس هاری و تولید ساختمان ویروسی که همانند یک سوپر آنتی‌ژن قادر به القاء آنتی‌بادی‌های زیادی در فرد می‌باشد، احتمال ایجاد قطعات مشابه و بنوبه آن آنتی‌بادیهای مشترک با *HIV* که شاخص‌های مشابهی که در هر دو ویروس وجود دارد را می‌شناسند، بعید بنظر نمی‌رسد (۹). همچنین تحقیقات انجام گرفته با استفاده از آنتی‌بادیهای منوکلونال، مشابهت ساختمانی را بین نواحی بسیار متغییر آنتی‌بادیهای ضد هاری و ضد *HIV* ثابت می‌کنند (۱۰). با توجه به نتایج این گزارش و تحقیقاتی که ارتباط فیلوژنی میان دو ویروس را نشان میدهند شاید با شناسائی کامل ژنوم مشابه و ساخت مصنوعی آن و به بیان کامل‌تر، تشخیص قطعه پایدار و حیاتی ژنوم ویروس *HIV* ، بتوان آنتی‌بادیهای اختصاصی بر ضد ویروس و یا واکسن‌های مؤثری جهت درمان و جلوگیری از انتقال آن تولید کرد. همچنین سئوالات دیگری در این زمینه مطرح می‌شود که عبارتند از:

۱- آیا واکسیناسیون بر ضد هاری قادر است مقاومت نسبت به *HIV* را القاء کند؟

۲- آیا می‌توان با تزریق لنفوسیت‌های حساس شده فرد واکسینه به بیمار مبتلا به ایدز، سلولهای آلوده به ویروس را از بین برده و یا مقاومت نسبت به ویروس را افزایش داد؟

۳- آیا اثبات ارتباط فیلوژنی بالا، میان *HIV* با رتروویروسهایی نظیر هاری می‌تواند کلید درمان قطعی بیماری ایدز باشد؟

در جهت هر یک سئوالات فوق، تحقیقاتی صورت گرفته است، اما تاکنون نتیجه قطعی و روشنی حاصل نشده است و بررسیهای بیشتر در آینده ضرورت دارد (۱۳-۱۱).

REFERENCES:

1. *Simon F, Ly TD, Baillou - Beaufils A, et al. Sensitivity of screening kits for anti - HIV 1 subtypes O antibodies. AIDS 1994;8:1628 - 29.*

2. *Constantine NT, Groen G, Belsey EM, et al. Sensitivity of HIV antibody assays determined by seroconversion panels. AIDS 1994;8:1715-20.*

www.SID.ir

Archive of SID

3. Zaauer HL, Exel -Qeholers PV, Kraaueveldt T, et al. Early detection of antibodies to HIV by third generation assays. Lancet 1992;340:770-72.

4. Mathiesent T, Chiodi F, Broliden PA, et al. Analysis of a subclass restricted HIV gp41 epitope by amission peptides. Immunol 1989;67:1-7.

5. Gao F, Yue. L, Robertson DL, et al. Genetic diversity of human immunodeficieny virus type 2: evidence for distinct sequence subtypes with differences in virus biology. J Virol 1994;68:7433-47.

6. Neri P, Braccil P, Rustici M, et al. Sequence homology between HIV gp 120 rabies virus glucoprotein and snake venom neurotoxins. Is the nicotinic receptor a HIV receptor? Arch Virol 1990;114:265 - 69.

7. Bracci L, Ballas SK, Spreafic A, et al. Molecular mimicry between the rabies virus glycoprotein and human immunodeficiency virus - 1gp/20: cross - reacting antibodies induced by rabies vaccination. Blood 1997;90:3623-28.

8. Pearlman ES, Ballas SK. False - positive human immunodeficiency virus screening test related to rabies vaccination. Arch Pathol Lab Med 1994;118:805-6.

9. Ikematsu W, Kobary J, Ikematsu H, Ichiyoshi Y, et al. Clonal analysis of human antiboay response: Nucleotide sequence of monoclonal IgM, IgG, and IgA to rabies virus reveal restricted V kappa gene utilization, junctional V kappa J kappa and V lambda J lambda diversity, and somatic hypermutation. J Immunol 1998;161:2895-905.

10. Torre BA, Tanabe T, subramaniam PS, et al. Mechanism of HIV pathogenesis: role of superantigenes in disease. Alcohol Clin Exp Res 1998;22:188-192.

11. Sonnerbory A, Johanson B. The neurotoxin - like sequence of human immunodeficiency virus gP120: a comparison of sequence data from patients with and without neurolgical symptoms. Virus Genes 1993;7:23-31.

12. Burke DS. Vaccine therapy for HIV: a historical review of the treatment of infectious disease by active specific immunization with microbe - derived antigens. Vaccine 1993; 11:883-91.

13. Scot L, Algara D, Lafon M, Vuiller F, et al. Viral superantigen - induced hyporesponsiveness of T cells and polyclonal B cell activation in HIV-1 infection. Eur J Immunol 1994;24:2595 - 601.

www.SID.ir