

MicroRNAها: بیومارکرها برای تشخیص HIV

● شبنم بابایی

دانشجوی کارشناسی علوم آزمایشگاهی
دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران



● صفا طهماسبی

دانشجوی کارشناسی ارشد ایمونولوژی، دانشگاه
علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
s-tahmasebi@razi.tums.ac.ir



● محدثه خداوردیان

دانشجوی کارشناسی علوم آزمایشگاهی
دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران



در بازه سال‌های ۱۹۸۸ تا ۲۰۱۹ در پایگاه‌های اطلاعاتی PubMed, Sciencedirect, Karger, Embase و Google Scholar جستجو و بررسی شد که ۳۱ مقاله مرتبط در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. کلید واژه: ایدز، بیومارکر، تست تشخیصی، HIV MicroRNA

□ مقدمه

ویروس نقص ایمنی اکتسابی انسان (HIV) متعلق به خانواده لنتی ویروس، از رتروویروس‌های حیوانی است که باعث سندرم نقص ایمنی اکتسابی می‌شود [۱]. دو نوع HIV به نام‌های HIV-1/2 شناخته شده است که HIV-1 شایع‌ترین عامل ایدز می‌باشد [۱]. پاتوژن HIV در سه مرحله عمده پیشرفت می‌کند: حاد، مزمن، ایدز [۱]. ویروس HIV ابتدا رده مونوسیت/ماکروفاژها را هدف قرار داده و در آن تکثیر می‌شود، سپس در لنفوسیت‌های T CD4⁺ تکثیر خود را ادامه می‌دهد [۱، ۲]. اولین و رایج‌ترین روش تشخیص عفونت، شناسایی آنتی بادی بود که

چکیده: با توجه به افزایش روز افزون مبتلایان به ایدز و مرگ و میر ناشی از آن، درمان بحث بسیار مهمی برای جلوگیری از این میزان است که آن هم وابسته به تشخیص زود هنگام و دقیق می‌باشد. در حال حاضر روش‌های تشخیصی از جمله کشت ویروس، تست‌های سریع و وسترن بلات و ... برای این عفونت وجود دارند که از بین آن‌ها HIV RNA TESTING خصوصاً APTIMA HIV RNA ASSAY و تست‌های EIA نسل چهارم که علاوه بر آنتی بادی‌های IgG و IgM می‌تواند آنتی ژن P24 را نیز تشخیص دهد، از حساسیت و اختصاصیت بالایی برخوردارند که توسط سازمان‌های FDA و CDC توصیه و تأیید شده‌اند. روش تشخیصی دیگری که نسبتاً جدید می‌باشد، اندازه‌گیری اختلاف میزان miRNA هاست که این‌ها بیومارکرهایی پایدار، قابل شناسایی، قوی و مقرون به صرفه می‌باشند و برای تشخیص و پیش‌آگهی و پیگیری روند بیماری مناسب هستند.

روش کار: مقالات مربوطه با استفاده از کلید واژه‌ها

مایعات بدن پایدار هستند و به راحتی می‌توانند اندازه‌گیری شوند. ارتباط بین MIR ها و عفونت HIV رو به رشد است به طوری که این عفونت باعث ایجاد تغییرات در پروفایل برخی MIR ها می‌شود. این تغییرات در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC) و سلول‌های $T CD4^+$ یا سرم افراد آلوده مشاهده می‌شود. MIR سلولی نقش مهمی در پاتوژنز ویروس HIV دارد به طوری که در عفونت و نهفتگی ویروس دخالت می‌کند. در نتیجه اندازه‌گیری پروفایل برخی MIR ها توسط روش‌های تشخیصی جدید می‌تواند در جهت تشخیص زودرس و با اختصاصیت بالای این عفونت امید بخش باشد که در ادامه به بیان برخی از آن‌ها می‌پردازیم [۴].

miRNA

ثابت شده است که miR-29b بیان بسیار بالایی در پلاسما بیماران HIV-1 دارد و همچنین سطوح پایین‌تر miR-29c پلاسما، ویرمی بالا، تعداد $T CD4^+$ کم و سطوح زیاد HIV-1 DNA اینترگره شده را نشان می‌دهد. بنابراین پیشنهاد شده است که خانواده miR-29 می‌توانند در پاتوژنز عفونت HIV-1 درگیر شوند [۵]. همچنین سطوح miR-29a به صورت معکوس با میزان بار ویروسی و درجه سرکوب ایمنی (تعداد $T CD4^+$ cell و نسبت CD4 به CD8) همبستگی دارد. سطوح miR-29a و پاسخ به درمان بین بیماران متفاوت است به صورتی که میزان آن در بیمارانی که شکست درمانی را تجربه کرده‌اند، پایین است. بنابراین این miR می‌تواند به عنوان یک بیومارکر برای بیمارانی که درمان را دریافت کرده‌اند و برای پیش‌آگهی بیماری استفاده شود [۲].

سطح بیان miR-150 در PBMC ها با افزایش تعداد $T CD4^+$ cell ها افزایش می‌یابد. همچنین سطح بیان miR-146b-5p و miR-16 در PBMC ها ارتباط معکوسی با بار ویروسی دارد. سطح پلاسمایی miR-150 و miR-146b-5p ارتباط قابل توجهی با تعداد $T CD4^+$ cell ها و بار ویروسی ندارند. سطح پلاسمایی و miR-150 PBMC و با درجه کمتری miR-146b-5p پیش‌بینی کننده‌های مناسبی در عفونت

در طول زمان توسعه پیدا کرد. بدین ترتیب که ابتدا نسل اول (Enzyme Immune Assay) EIA ابداع شد که تقریباً ۸ الی ۱۰ هفته بعد از ابتلا تنها می‌توانست آنتی‌بادی ضد HIV-1 از کلاس IgG را تشخیص دهد که البته موارد مثبت و منفی کاذب زیادی در نتایج این تست وجود داشت. در ادامه نسل دوم تست‌های EIA ابداع شد که می‌توانست به طور تقریبی ۴ الی ۶ هفته پس از ابتلا به عفونت آنتی‌بادی IgG را برای هر دو نوع HIV-1/2 تشخیص دهد. ظهور نسل سوم تست‌های EIA قوی‌تر از دو نسل قبل، علاوه بر آنتی‌بادی IgG، می‌توانست IgM را نیز تقریباً ۳ هفته پس از ابتلا شناسایی کند. نهایتاً نسل چهارم EIA که علاوه بر آنتی‌بادی‌ها می‌توانست آنتی‌ژن P24 را نیز شناسایی کند مورد استفاده قرار گرفت که این تست‌ها توسط FDA تأیید شده‌اند و ۱۶ تا ۲۰ روز پس از ابتلا به عفونت می‌توانند بیماری را تشخیص دهند. در این بین روش‌های تشخیصی دیگری از جمله تست‌های RAPID، کشت ویروس، وسترن بلات و اندازه‌گیری مارکرهای بیولوژیک مثل بتا-دو-میکروگلوبولین، نئوپترین و سایر مارکرها و همچنین روش تشخیص قطعی عفونت یعنی HIV RNA TESTING نیز ابداع شدند که در ادامه به بررسی آن‌ها می‌پردازیم. بر اساس الگوریتم منتشر شده توسط CDC، توصیه شده که از EIA نسل چهارم و همچنین NAT جهت غربالگری و تشخیص تسهیل شده بیماران مبتلا به عفونت حاد HIV استفاده شود. بنابراین تشخیص به موقع و زود هنگام عفونت حاد به جهت شروع زود هنگام دارو درمانی و همچنین کنترل و پیشگیری از شیوع عفونت بسیار با اهمیت است. MicroRNA ها به عنوان مارکری با نقش محوری در طیف وسیعی از فعالیت‌های سلولی شناخته شدند [۲]. miRNA ها، RNA های کوچک غیر کد گذاری تکامل یافته و حفظ شده با طول ۱۹ الی ۲۴ جفت نوکلئوتید هستند [۲، ۳]. MIR ها به طور بالقوه می‌توانند به عنوان بیومارکر های حساس و دقیق و مقرون به صرفه و غیر تهاجمی برای تشخیص و فاز بندی این عفونت و سایر بیماری‌ها و بررسی پیشرفت بیماری‌ها نسبت به یافته‌های بالینی استاندارد موجود و پیش‌آگهی استفاده شوند [۲، ۳]. به علاوه MIR ها در بافت‌ها و

در زمینه عفونت HIV-1، miR-155 توسط تبدیل زیر مجموعه‌های T CD4⁺ cell بکر به زیر مجموعه‌های فعال شده‌اش منجر به پیشرفت بیماری می‌شود. به علاوه این miRNA اثرات ضد HIV-1 را توسط هدف گیری چندین فاکتور وابسته به HIV-1 که وقایع پس از ورود و قبل از اینترگره شدن را درگیر می‌کند، اعمال می‌کند و منجر به کاهش شدید عفونت HIV-1 می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که سطح miR-155 در T CD4⁺ cell و PBMC، T CD4⁺ cell بیماران HIV-1 افزایش دارد. این مارکر در بیمارانی که به درمان پاسخ نداده‌اند و بیمارانی که تحت Highly active antiretroviral therapy (HAART) قرار نگرفته‌اند نسبت به بیماران پاسخ دهنده به درمان و کنترل‌های سالم دارای سطح بسیار بالاتری هستند. سطح miR-155 در PBMC بیمارانی که به درمان پاسخ نداده‌اند نسبت به بیمارانی که تحت درمان با HAART قرار نگرفته‌اند بالاتر است. بیمارانی که تحت درمان با HAART قرار نگرفته‌اند دارای بالاترین سطح miR-155 در T CD4⁺ cell های جدا شده هستند که ممکن است مربوط به تکثیر بالای ویروس یا فعال سازی سیستم ایمنی در این بیماران باشد. سطح تقریباً مشابهی از miR-155 بین بیماران پاسخ دهنده به درمان و کنترل‌های سالم نشان می‌دهد که HAART مؤثر می‌تواند بیان این miRNA را در خون محیطی بیماران HIV-1 کاهش دهد تا به سطح نرمال برسد. همچنین هیچ ارتباطی بین miR-155 محیطی و تعداد T CD4⁺ cell ها یا بار ویروسی یافت نشده است. نهایتاً نتایج نشان دهنده این مطلب هستند که سطح miR-155 در خون محیطی یک بیومارکر مناسب برای تشخیص عفونت HIV-1 است [۸]. فعال سازی T CD4⁺ cell ها یک پیش نیاز برای تولید عفونت HIV-1 است و شامل تغییرات رونویسی، از جمله تغییر در بیان miRNA های سلولی است. جالب توجه است که فعال سازی T CD4⁺ cell های سطح سلولی چندین miRNA ضد HIV-1 را کاهش می‌دهند که مستقیماً RNA ویروسی را هدف قرار داده و یا کوفاکتورهای سلولی را مهار می‌کند. بنابراین افزایش miRNA هایی

HIV-1 برای قبل و بعد از درمان هستند. سطح miR-150 در PBMC بیماران HIV-1 کاهش می‌یابد ولی با Anti-Retroviral Therapy (ART) دوباره به حالت اول بر می‌گردد، ولی در بیمارانی که نسبت به دارو مقاومت پیدا کرده‌اند همچنان کاهش می‌یابد. وضعیت درمانی بیماران می‌تواند توسط این miR ها مشخص و اندازه گیری شود. در افراد مبتلا به HIV-1 سطح پلاسمایی miR-150 افزایش می‌یابد و در افراد علامت دار بیشترین میزان را دارد. به علاوه سطح پلاسمایی miR-146b-5p نیز در افراد مبتلا افزایش یافته و در بیماران بدون علامت بیشترین میزان را دارا است. در افراد تحت درمان سطح این miR بسیار کاهش یافته (بسیار کمتر از سطح نرمال) و در افراد مقاوم به درمان سطح آن نصف حالت نرمال می‌شود. دقت اندازه گیری miR ها در PBMC نسبت به پلاسما بیشتر است چون ویروس HIV-1 سلول‌ها را درگیر می‌کند ولی در پلاسما می‌تواند منشاهایی غیر از PBMC نیز داشته باشد [۶]. سطوح بیان miR-150 در PBMC و پلاسما می‌تواند یک شاخص مناسب برای پیشرفت بیماری، مانیتورینگ درمان و مقاومت دارویی باشد [۳]. طبق گزارشی پنج miR به طور قابل توجهی در پلاسمای بیماران HIV-1 در مقایسه با کنترل‌های سالم افزایش می‌یابد، که شامل: miR-29a، miR-223، miR-27a، miR-19b و miR-151 هستند (Table 1). این miR ها به طور قابل توجهی با تعداد T CD4⁺ cell ها مرتبطاند و بدین ترتیب می‌توانند به عنوان بیومارکری مناسب برای نظارت بر پیشرفت ایمنی HIV-1 استفاده شوند. این miR ها به صورت ترکیبی نیز به عنوان بیومارکرهای مفید برای تشخیص ساده و کارآمد عفونت HIV-1 به کار می‌روند [۷].

Table 1. MiRNA sensitivity and specificity

miRNA	sensitivity%	specificity%
mir29a	79.7	97.3
mir223	71.9	100
mir27a	84.4	81.1
mir19b	94.5	97.3
mir151	88.3	94.6
combined mirs	96.1	97.3

را تغییر می‌دهد [۱۱، ۱۰]. در مطالعه‌ای دیگر، دو miRNA 199a-5p (miR-miR720) در T CD4⁺ cells و دو miRNA (miR-1323 و miR-941-3s) در T CD8⁺ cells بررسی شدند. نتایج نشان داد که در مقایسه سلول‌های آلوده به عفونت HIV با سلول‌های غیرعفونی مشاهده شده است که miR-199a-5p در T CD4⁺ cells های عفونی نسبت به سلول‌های غیرعفونی کاهش می‌یابد (بیشتر از ۵ برابر)، در حالی که miR-720 در حدود ۴ برابر افزایش می‌یابد. به علاوه در T CD8⁺ cell های عفونی، miR-941-3s در حدود ۳ برابر افزایش می‌یابد، در حالی که miR-1323 نزدیک به ۴ برابر کاهش می‌یابد. هیچ‌گونه miRNA ای بین سلول‌های HIV مثبت و منفی همپوشانی ندارد و تفاوت بیان در زیر مجموعه‌های CD4 و CD8 منحصر بفرد است [۱۲]. MiRNA ها در T CD8⁺ cell بهتر از T CD4⁺ cells مراحل بیماری HIV را پیش‌بینی می‌کنند. در مطالعه‌ای که miRNA ها در T CD8⁺ cell افراد HIV⁺ از گروه‌های بیماری (ویرمیک، آویرمیک، long term non-progressor (LTNP) یا عدم پیشرفت در طولانی مدت بدون درمان) بررسی شد، مشخص شد که برخی از miR ها برای مقایسه این گروه‌های بیماران با کنترل‌های منفی بسیار خاص است. بر همین اساس miRNA های 1323، 541، 570 با گروه ویرمیک CD8، 1298، CD8 ویرمیک و miRNA های 486-5P، 151-5P، 126، 572، 885-3P با گروه CD8 LTNP همراه بودند [۱۲].

miRNA های منحصر بفرد در بیماری HIV بدون پیشرفت، شامل miR های 126، 199a-5p، 1280 و T CD4⁺ cell ها، miR های 151-5p، 486-5p، 572، 885-3p و T CD8⁺ cell ها و MiR-126 در هر دو سلول T CD8⁺ و T CD4⁺ گروه‌های LTNP مقایسه با کنترل‌های منفی بیان متفاوت دارد. همچنین miR-199a-5p در T CD4⁺ cell کل گروه‌های مربوط به HIV مثبت، بیان متفاوتی دارند، با این حال قوی‌ترین کاهش آن در گروه LTNP مشاهده شده است. بنابراین miR-199a-5p در T CD4⁺ cell ها برای پیش‌بینی

که در فعالسازی T CD4⁺ cell ها نقش دارند، ممکن است تکثیر HIV-1 را بالا ببرد. بر همین اساس سطح miR-132 به طور قابل توجهی در فیتوهمگلوتینین فعال کننده T cell های جدا شده از کنترل‌های سالم و PBMCS بیماران HIV-1، افزایش می‌یابد [۱]. IP-10 یک کموکاین پیش التهابی است که در انواع مختلف سلولی با عملکرد پلیوتروپیک بیان شده و نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های التهابی مرتبط به مونوسیت و افزایش فعال سازی ایمنی در نتیجه تسهیل پیشرفت بیماری HIV-1 دارد. در مطالعه‌ای مشخص شد که IP-10 با تعداد T CD4⁺ cell ارتباط منفی و با بار ویروسی ارتباط مثبت دارد. بنابراین ارتباط بین IP-10 و پیشرفت بیماری بر آن دارد که IP-10 یک مارکر خوب در پیشرفت بیماری HIV-1 است. miR-21 ترشح IP-10 را تنظیم می‌کند. همچنین براساس این که مونوسیت منبع اصلی IP-10 است، مطالعات نشان می‌دهند که سطح miR-21 در مونوسیت های بیماران HIV-1 در مقایسه با کنترل‌های سالم، بسیار کاهش می‌یابد. در حالی که سطح IP-10 در پلاسما گرایش مخالفی را نشان می‌دهد و یک روند منفی بین بیان miR-21 در مونوسیت ها و غلظت IP-10 پلاسما وجود دارد. در عفونت HIV-1 افزایش miR-21 در سرم امکان تشخیص افراد مبتلا از غیر مبتلا را فراهم می‌کند. البته در زمان تمایز مونوسیت به ماکروفاژ، برخی از ژن‌های کلیدی تنظیم کننده که بیان IP-10 را تنظیم می‌کنند، تغییر کرده و این امر نقش تنظیمی miR-21 بر روی IP-10 را ضعیف می‌کند [۹]. سطح miR-34c-5p در هر دو عفونت HIV-1 و HIV-2 در سلول‌هایی که TCR آن‌ها تحریک شده، به طور مداوم کاهش می‌یابد که این کاهش بخشی از واکنش میزبان علیه ویروس است. بیان miR-34c-5p منجر به افزایش تکثیر ویروس می‌شود و به طور کلی به عنوان یک miR جدید به شدت القا شده توسط تحریک TCR در T CD4⁺ cell بکر شناسایی شده است که مشخص شد این miR در پاسخ به عفونت ویروسی به طور مداوم کاهش دارد، سرانجام معلوم شده است که miR-34c-5p بیان چندین ژن درگیر در سیگنالینگ TCR و فعال سازی سلول

ایمونواسی ساندویچی می‌باشد. این تست در مقایسه با بقیه تست‌های نسل چهارم کارایی تشخیص اختصاصی بیشتری در شناسایی آنتی بادی‌های ضد HIV منتقل شده از مادر به نوزاد (نه آنتی بادی‌های ساخته شده توسط سیستم ایمنی خود نوزاد) دارد [۲۰]. این تست دارای اختصاصیت ۹۹/۷٪ و حساسیت (HIV-1: 99.6-100% و HIV-2: 98.1-100%) می‌باشد. زمان پاسخ دهی تست کمتر از ۱ ساعت بوده، اساس تست CMIA می‌باشد [۱۴، ۱۹].

BIO-RAD BIOPLEX 2200 HIV Ag/Ab assay.3

این روش بر خلاف بقیه تست‌های این نسل می‌تواند بین آنتی ژن P24 و آنتی بادی‌ها افتراق قائل شود و در نتیجه می‌تواند نتایج جداگانه برای آنتی ژن P24، آنتی بادی HIV-1 و آنتی بادی HIV-2 فراهم کند [۱۴، ۱۹]. این تست نسبت به تست CERNTAUR در تشخیص عفونت حاد عملکرد بهتری دارد [۱۷]. این تست دارای اختصاصیت ۹۹/۹٪ و حساسیت (HIV-2: 98.1-100% و HIV-1: 99.7-100%) است. زمان پاسخ دهی تست ۴۵ دقیقه می‌باشد [۱۴، ۱۹]. اساس تست multiplex flow immunoassay است [۱۴]. این تست توانایی تشخیص عفونت را زمانی دارد که viral load بالای 170,000 copies/ml باشد [۱۸].

BIO-RAD GS HIV combo Ag/Ab EIA.4

این تست دارای اختصاصیت ۹۹/۹٪ و حساسیت HIV-2 (98.1-100%) و HIV-1 (99.7-100%) و P24 (100%) می‌باشد و در مقایسه با تست architect در مورد P24 از حساسیت بیشتری برخوردار است و همچنین در تشخیص عفونت در جمعیت‌های کم خطر در مقایسه با architect اختصاصیت بالاتری دارد [۱۸، ۲۱]. اساس تست enzyme immunoassay micro-well format بوده و برخلاف تست‌های هم نسل خود در هر باری که تست انجام می‌شود باید external quality control نیز انجام شود [۱۴].

Western Blot.5

روشی است که در آن پروتئین‌های HIV-1 با ژل الکتروفورز جدا می‌شوند و سپس با پروتئین سرم بیمار واکنش می‌دهند. این روش آنتی بادی‌های انسانی را که با پروتئین

حالات HIV مثبت استفاده می‌شود [۱۲].

یکی از خصوصیات کلی همه رتروویروس‌ها از جمله HIV-1، نهفتگی (Latency) است که باعث ماندگاری آن‌ها می‌شود. MiRNA های سلولی در T CD4⁺ cell های در حال استراحت فراوان‌اند و ممکن است به نهفتگی HIV کمک کند. سطح بیان پنچ miR (miR-28، miR-125b، miR-150، miR-223 و miR-382) در سلول‌های در حال استراحت T نسبت به سلول‌های فعال شده آن افزایش دارد. مهار این miRNA ها توسط مهارکننده antisense خاص باعث افزایش تولید ذرات ویروسی در هر دو نوع T cell های در حال استراحت و T cell های در حال استراحت افراد مبتلا به HIV که تجربه HAART را داشته‌اند، می‌شود که نشان دهنده این است که miR ها به احتمال زیاد نقش مهمی را در نهفتگی ویروس دارند [۱۳].

سایر روش‌های تشخیصی HIV

تست‌های غربالگری HIV تأیید شده توسط FDA (Table 2)

(همه این تست‌ها جزو 4th-generation Ag/Ab combination assays هستند و نمونه مورد استفاده آن‌ها سرم و پلاسما است)

ABBOT ARCHITECT HIV Ag/Ab combo assay.1

این تست نسبت به دو تست Bio-plex و CEN TAUR از حساسیت بالاتری برای تشخیص آنتی ژن P24 برخوردار است. همچنین اختصاصیت این تست نسبت به دو تست ذکر شده بالاتر است و در تشخیص عفونت حاد HIV نیز عملکرد بهتری دارد [۱۷]. این تست دارای اختصاصیت ۹۹/۸٪ و حساسیت (HIV-2: 98.2-100% و HIV-1 Ab: 99.6-100% و P24: 94.3-100%) می‌باشد. زمان پاسخ دهی تست کمتر از ۳۰ دقیقه است و اساس تست chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) می‌باشد [۱۴]. این تست توانایی تشخیص عفونت را زمانی دارد که viral load بالای 170,000 copies/ml باشد [۱۸]

ADVIA CENTAUR HIV Ag/Ab COMBO.2

این روش دارای دو مرحله شست و شو بوده و بر اساس روش

واکنش می دهند را شناسایی می کند. این روش به عنوان یک تست تاییدی بوده ۳۵ الی ۴۰ روز پس از ابتلا به ویروس می تواند عفونت را تشخیص دهد. [۲۷].

منشأ گرفته از ژن های gag (p15,p17,p24,p55), pol (p31,p51,p66), env (gp41,gp120/160)

Table2. FDA Approve Ab Rapid Tests

نام تست	مدت انجام	IgG	IgM	نمونه
DPP HIV-1/2 ASSAY	WB: 10 MIN OF: 25 MIN	+	-	WB OF
HIV-1/2 StAt-PAK	15 MIN	+	-	WB
INStI HIV-1/2 Ab TEST	<2 MIN	+	+	WB
ORA QUICK ADVANCE RAPID HIV-1/2 Ab TEST	20 MIN	+	+	WB OF
REVEAL G4 RAPID HIV-1 Ab TEST	<2 MIN	+	-	WB
SURE CHECK HIV-1/2 ASSAY	15 MIN	+	-	WB
UNI-GOLD RECOMBIGNEN HIV-1/2	10 MIN	+	+	WB

WB: whole blood

OF: oral fluid

نتایج این تست ها در صورت مثبت بودن، به عنوان مثبت فرضی محسوب شده و نیازمند تست تکمیلی و گرفتن نمونه دوم از بیمار هستند ولی در صورت منفی بودن نتیجه، منفی در نظر گرفته می شود [۲۶].

HIV RNA Testing

از آنجایی که ماده ژنتیکی HIV اولین مارکری است که تقریباً ۹ الی ۱۱ روز بعد از ابتلا به ویروس در خون به مقدار قابل شناسایی می رسد، در نتیجه می توان از این تست جهت تشخیص زودرس این عفونت استفاده کرد. این تست در تمامی مراحل عفونت حتی دوران پنجره و زمانی که EIA منفی است، مثبت می باشد. تست HIV Nucleic Acid Test (NAT) به دو روش کیفی و کمی انجام می گیرد. این تست زمانی که نتیجه

تست های فوق توسط FDA تایید شده اند و این تست ها در مقایسه با تست های آزمایشگاهی نسل چهارم دارای حساسیت کمتری برای شناسایی عفونت HIV در طول مراحل زودرس عفونت می باشند و در مناطقی که میزان شیوع این عفونت بالا است این تست ها بسیار کاربردی اند [۲۳]. تست هایی که از نمونه مایعات دهانی استفاده می کنند نسبت به نمونه خون، به علت پایین بودن غلظت آنتی بادی ها در مایعات دهانی، دارای حساسیت و اختصاصیت پایین تری اند [۲۳]. از طرفی استفاده ترکیبی از چندین rapid tests باعث افزایش حساسیت و اختصاصیت تا حدود ۱۰۰٪ می شود [۲۴، ۲۵]. دقت تشخیصی این تست ها (در صورت استفاده از نمونه خون کامل) نسبت به western blot به طور قابل ملاحظه ای بالاتر است. تمام



روش هیچ گونه واکنش متقاطعی با نمونه افراد مبتلا به بیماری‌های اتوایمیون و بیماری‌های کبدی (به‌غیر از عفونت HCV) و دیگر پاتوژن‌های blood borne ندارد [۱۴]. نوع کمی NAT نیز جهت تعیین مقدار عددی بار ویروسی و همچنین پیگیری درمان افراد مبتلا استفاده می‌شود.

نتیجه‌گیری و بحث

با توجه به مطالعات انجام شده، می‌توان از اندازه‌گیری و شناسایی اختلاف میزان MicroRNA (Mir) های موجود در خون، پلاسما و سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی به عنوان بیومارکری پایدار، قوی، جدید و قابل شناسایی برای تشخیص، پیش‌آگهی و مانیتورینگ وضعیت بیماران مبتلا به عفونت HIV استفاده کرد. به این صورت که با توجه به میزان افزایش یا کاهش Mir های معین، می‌توان وضعیت و مرحله بیماری را مشخص کرد. همچنین امروزه روش‌های دیگری نیز برای تشخیص زود هنگام، سریع و راحت این عفونت گسترش یافته‌اند که اغلب توسط FDA تأیید شده‌اند. بنابراین با کمک روش‌های ذکر شده می‌توان با تشخیص زود هنگام HIV، درمان را به موقع آغاز کرده، تا نتیجه مطلوبی از درمان حاصل گردد و مراقبت‌های لازم جهت جلوگیری از انتقال عفونت انجام گیرد.

EIA نامشخص است و یا حتی زمانی که فرد مشکوک به عفونت حاد HIV می‌باشد و نتیجه تست EIA آن منفی است و یا جهت تأیید عفونت HIV مزمن، به کار می‌رود. تست Aptima HIV-1 RNA Qualitative Assay نوعی از NAT می‌باشد که توسط FDA جهت تشخیص عفونت حاد HIV تأیید شده است و به عنوان ابزار کمکی برای تست‌های نسل چهارم و تاییدی بر افرادی که تست آنتی‌بادی آن‌ها منفی بوده ولی مبتلا به عفونت‌اند (دوران اولیه عفونت)، به کار می‌رود [۲۸]. این تست از حساسیت ۹۹/۹٪ و اختصاصیت ۹۹/۸٪ برخوردار است [۲۳]. این تست همچنین می‌تواند برای شناسایی عفونت زودرس و حاد در نوزادان از روی نمونه لکه خون خشک شده (DBS) به کار رود که دارای حساسیت ۹۹/۵٪ و اختصاصیت ۱۰۰-۹۹/۵٪ است [۲۹]. این تست دارای توانایی شناسایی عفونت، ۶ روز زودتر از تشخیص آنتی ژن p24 و ۱۲ روز زودتر از تست‌های آنتی‌بادی می‌باشد و در مقایسه با western blot حساسیت و اختصاصیت قابل ملاحظه‌ای دارد. نتیجه این تست طی ۲۴ الی ۴۸ ساعت مشخص می‌شود و زمان را برای بیمار حفظ می‌کند، پاسخ قطعی و سریع را فراهم می‌کند ولی هزینه بالایی دارد [۲۸]. این

References

- 1- Balasubramaniam, M., J. Pandhare, and C. Dash, Are microRNAs important players in HIV-1 infection? An update. *Viruses*, 2018. 10(3): p. 110.
- 2- Su, B., et al., Potential Application of MicroRNA Profiling to the Diagnosis and Prognosis of HIV-1 Infection. *Frontiers in microbiology*, 2018. 9: p. 3185.
- 3- Verma, P., et al., Circulating MicroRNAs: potential and emerging biomarkers for diagnosis of human infectious diseases. *Frontiers in microbiology*, 2016. 7: p. 1274.
- 4- Noguera, M.-M., *MicroRNA and HIV*. *Clinical Microbiology*, 2017. 6(1).
- 5- Faruq, O. and A. Vecchione, *microRNA: diagnostic perspective*. *Frontiers in medicine*, 2015. 2: p. 51.
- 6- Munshi, S.U., et al., *MicroRNA-150 is a potential biomarker of HIV/AIDS disease progression and therapy*. *PLoS One*, (5) 9. 2014 pe95920.
- 7- Qi, Y., et al., *MicroRNA profiling in plasma of HIV-1 infected patients: potential markers of infection and immune status*. *Journal of Public Health and Emergency*, 2017. 1(7).
- 8- Jin, C., et al., *Micro RNA-155 is a biomarker of T-cell activation and immune dysfunction in HIV-1-infected patients*. *Hiv medicine*, 2017. 18(5): p. 354-362.
- 9- Wu, X., et al., *Deregulated MicroRNA-21 expression in monocytes from HIV-infected patients contributes to elevated IP-10 secretion in HIV infection*. *Frontiers in immunology*, 2017. 8: p. 1122.

10- Amaral, A.J. and J. Andrade, miRNA profiling of human naive CD4 T cells links miR-34c-5p to cell activation and HIV replication. 2017. 36(3): p. 346-360.

11- Dey, R., et al., Anti-HIV microRNA expression in a novel Indian cohort. *Sci Rep*, 2016. 6: p. 28279.

12- Fowler, L., et al., First Evidence for the Disease-Stage, Cell-Type, and Virus Specificity of microRNAs during Human Immunodeficiency Virus Type-1 Infection. 2016. 4(2).

13- Detsika, M.G., A. Psarris, and D. Paraskevis, MicroRNAs and HIV latency: a complex and promising relationship. *AIDS Rev*, 2012. 14(3): p. 188-94.

14- <https://www.cdc.gov/hiv/testing/laboratorytests.html> /https://www.cdc.gov/hiv/pdf/testing/hiv-tests-advantages-disadvantages_1.pdf

15- Dubravac, T., T.F. Gahan, and M.A. Pentella, Use of the Abbott Architect HIV antigen/antibody assay in a low incidence population. *J Clin Virol*, 2013. 58 Suppl 1: p. e76-8.

16- Chavez, P., et al., Evaluation of the performance of the Abbott ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Assay. *J Clin Virol*, 2011. 52 Suppl 1: p. S51-5.

17- Qiu, X., et al., Comparative evaluation of three FDA-approved HIV Ag/Ab combination tests using a genetically diverse HIV panel and diagnostic specimens. *J Clin Virol*, 2017. 92: p. 62-68.

18- Eshleman, S.H., et al., Performance of the BioPlex 2200 HIV Ag-Ab assay for identifying acute HIV infection. *J Clin Virol*, 100-99.2018 p 67-70.

19- Vallefucio, L., C. Mazzarella, and G. Portella, Fourth generation assays for HIV testing. *Expert Rev Mol Diagn*, 2016. 16(7): p. 723-32.

20- Vallefucio, L., et al., Evaluation of the siemens HIV antigen-antibody immunoassay. *Intervirology*, 2014. 57(2): p. 106-11.

21- Mitchell, E.O., et al., Performance comparison of the 4th generation Bio-Rad Laboratories GS HIV Combo Ag/Ab EIA on the EVOLIS automated system versus Abbott ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo, Ortho Anti-HIV 1+2 EIA on Vitros ECi and Siemens HIV-1/O/2 enhanced on Advia Centaur. *J Clin Virol*, 2013. 58 Suppl 1: p. e79-84.

22- Uettwiller-Geiger, D.L., et al., Analytical and Clinical Performance Evaluation of the Elecsys HIV combi PT Assay on the cobas e 602 Analyzer for the Diagnosis of Human Immunodeficiency Virus. *Am J Clin Pathol*, 2019. 151(4): p. 377-385.

23- Delaney, K.P., et al., Performance of an oral fluid rapid HIV-1/2 test: experience from four CDC studies. *Aids*, 2006. 20(12): p. 1655-60.

24- Juarez, S.I., et al., Field Evaluation of Four Rapid Tests for Diagnosis of HIV Infection in Panama. *J Clin Microbiol*, 2016. 54(4): p. 1127-9.

25- Kaleebu, P., et al., Evaluation of HIV-1 rapid tests and identification of alternative testing algorithms for use in Uganda. *BMC Infect Dis*, 2018. 18(1): p. 93.

26- Branson, B.M., et al., Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: updated recommendations. To be used in conjunction with: [2018 Quick reference guide: Recommended laboratory HIV testing algorithm for serum or plasma specimens](#), [Technical update on HIV-1/2 differentiation assays](#) and [Technical update: Use of the determine HIV 1/2 Ag/Ab combo test with serum or plasma in the laboratory algorithm for HIV diagnosis](#). 2014.

27- Interpretation and use of the western blot assay for serodiagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infections. *MMWR Suppl*, 1989. 38(7): p. 1-7.

28- Manak, M.M., et al., Identification of Acute HIV-1 Infection by Hologic Aptima HIV-1 RNA Qualitative Assay. *J Clin Microbiol*, 2017. 55(7): p. 2064-2073.

29- Fiscus, S.A., et al., Validation of the Gen-Probe Aptima qualitative HIV-1 RNA assay for diagnosis of human immunodeficiency virus infection in infants. *J Clin Microbiol*, 2013. 51(12): p. 4137-40.