

Е. В. Богословская, Г. А. Шипулин

ДИАГНОСТИКА ВИЧ-ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ ПЕРВЫХ МЕСЯЦЕВ ЖИЗНИ, РОЖДЕННЫХ ОТ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ МАТЕРЕЙ

ФБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

В работе описана проблема постановки диагноза ВИЧ-инфекции детям, рожденным от ВИЧ-инфицированных матерей. Представлен алгоритм и методы диагностики детей, которые позволяют поставить диагноз ВИЧ-инфекции в первые месяцы жизни ребенка.

Ключевые слова: ВИЧ-инфицированные матери, ВИЧ-инфицированные дети, алгоритм и методы диагностики детей

DIAGNOSIS OF HIVINFECTION IN CHILDREN OF THE FIRST MONTHS OF LIFE, BORN FROM HIVINFECTED MOTHERS

Bogoslovskaja E.V., Shipulin G.A.

The article deals with a problem of diagnosis of HIVinfection in children, born from HIVinfected mothers. The algorithm and methods of diagnostics in children, which allows to make the diagnosis of HIVinfection in the first months of a child's life.

Key words: HIVinfected mothers, HIVinfected children, the algorithm and methods of diagnostics in children

Введение. Одной из важнейших задач в диагностике ВИЧ-инфекции является выявление ВИЧ у детей, рожденных от ВИЧ-инфицированных матерей. Среди зарегистрированных в РФ случаев ВИЧ-инфекции на конец 2010 г. на долю детей до 15 лет приходится более 5000 случаев, из них 3651 ребенок инфицирован при перинатальном контакте с матерью [1]. Еще более 25 000 детей в возрасте до полутора лет, рожденных в 2009—2010 гг. от зараженных ВИЧ матерей, находятся под наблюдением до окончательного установления диагноза [1].

Диагностика ВИЧ-инфекции у детей, рожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, затруднена в связи с тем, что в крови таких детей в течение длительного времени сохраняются материнские антитела к ВИЧ. Однако далеко не каждый ребенок, рожденный инфицированной женщиной, заражен ВИЧ, несмотря на то что дети подвергаются высокому риску заражения ВИЧ внутриутробно, во время родов и при кормлении грудью. Если не предпринимать никаких профилактических мер, то риск передачи ВИЧ от матери ребенку у детей, находящихся на искусственном вскармливании, составляет 25—30% [3]; грудное вскармливание повышает риск до 45% [2]. На сегодняшний день разработаны эффективные методы профилактики вертикальной передачи ВИЧ: антиретровирусная (АРВ) терапия, которая проводится у матери во время беременности и родов и у ребенка в первые недели жизни; акушерские вмешательства, включая плановое кесарево сечение; отказ от грудного вскармливания. Там, где эти методы доступны и применяются, частоту передачи ВИЧ от матери ребенку удается снизить до 1—2% [4, 5].

Поскольку материнские антитела сохраняются в крови новорожденных детей в течение нескольких

месяцев, с помощью серологических методов диагноз ВИЧ-инфекции не подтвердился у детей только в возрасте 15—18 мес с последующим подтверждением результата в иммунном блоте. По существовавшим до 2011 г. в России рекомендациям постановка или снятие диагноза ВИЧ-инфекции детям, рожденным от ВИЧ-инфицированных матерей, проводилась на основании результатов серологического обследования не ранее 18 мес [2].

Для более ранней диагностики ВИЧ у детей, рожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, необходимо выявлять сам вирус, а не антитела к нему. На сегодняшний день оптимальным методом прямого выявления вируса в организме является метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), позволяющий с высокой специфичностью и чувствительностью определять нуклеиновые кислоты инфекционных агентов.

Проблема более ранней диагностики ВИЧ-инфекции у новорожденных детей за рубежом была решена несколько лет назад с появлением молекулярно-генетических методов, которые позволяют выявлять фрагменты генома ВИЧ в периферической крови на ранних сроках инфицирования. Было показано, что у большинства инфицированных детей ДНК вируса ВИЧ в лимфоцитах крови определяется к 1-му месяцу жизни и практически у всех к 6-му месяцу [6—8].

За рубежом была разработана тест-система, предназначенная для выявления ДНК провируса ВИЧ (Ampligor HIV-1 test, фирма "Хоффманн-Ла Рош"). В силу высокой изменчивости вируса оказалось, что данная тест-система не может быть использована в ряде стран, в том числе России, из-за недостаточной эффективности выявления ВИЧ ряда субтипов [9], в частности субтипа А, наиболее распространенного в России. В 2003 г. было официально признано, что тест-система Ampligor HIV-1 test не пригодна для использования на территории РФ. Причинами тому были невысокая эффективность выявления ВИЧ субтипа А, отсутствие внутреннего контрольного образца

Информация для контакта.

Богословская Елена Владимировна — ст. науч. сотр. ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, e-mail: lenabo@pcr.ru

(ВКО), что часто приводило к появлению ложноположительных результатов [10].

В странах, где тест система Amplicor HIV-1 test не может быть использована, рекомендуется проводить диагностику новорожденных детей с помощью тест-систем, предназначенных для определения концентрации РНК ВИЧ в плазме крови [11]. Помимо высокой стоимости таких исследований, есть и другие существенные ограничения для замены. В частности, если новорожденному ребенку назначают профилактический курс АРВ-терапии сразу после рождения, выявление РНК ВИЧ для постановки диагноза у него будет неэффективным, поскольку лекарственные препараты приводят к быстрому подавлению репликации вируса и тем самым к уменьшению содержания РНК ВИЧ.

Проблема ранней диагностики ВИЧ у новорожденных детей была решена в России, когда на базе Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора были разработаны ПЦР-тест-системы АмплиСенс ДНК-ВИЧ-96 (М) и АмплиСенс ДНК-ВИЧ-FRT, предназначенные для выявления ДНК провируса ВИЧ в лейкоцитах крови. К отличительным особенностям тест-систем относятся:

1) праймеры, комплиментарные наиболее консервативной области генома ВИЧ — гену полимеразы, позволяющие выявлять с высокой эффективностью большинство субтипов ВИЧ-1, особенно субтип А, наиболее распространенный на территории РФ;

2) стандартизованный метод выделения ДНК и наличие внутреннего контрольного образца, позволяющие полностью исключить риск получения ложноположительных результатов, приближая эффективность ДНК-диагностики ВИЧ-инфекции к 100%.

На сегодняшний день описанные тест-системы являются единственными зарегистрированными и разрешенными в России для ранней диагностики ВИЧ у детей, рожденных от ВИЧ-инфицированных матерей. В ходе клинических и государственных испытаний (на базе ГИСК им. Л. А. Тарасевича) инфицированным детям удалось поставить диагноз ВИЧ-инфекции на несколько месяцев раньше, чем при использовании стандартных подходов, основанных на серологических методах.

Наличие зарегистрированных тест-систем в России и их высокая эффективность для ранней диагностики ВИЧ у новорожденных детей способствовали появлению в 2011 г. санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.5.2826—10 "Профилактика ВИЧ-инфекции", согласно которым диагноз ВИЧ-инфекции может быть снят у новорожденного ребенка в возрасте 4—6 мес на основании результатов ПЦР-диагностики.

Для проведения исследования по выявлению провирусной ДНК ВИЧ используется цельная кровь или сухие пятна крови. У новорожденных детей нельзя исследовать пуповинную кровь, так как при взятии возможно попадание материнской крови в образец. Цельную кровь следует собирать в одноразовую пробирку с 3% раствором этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) в соотношении 1:20 или в специализированную вакуумную пробирку с ЭДТА. После взятия крови пробирку перемешивают 3—4-кратным переворачиванием и хранят при температуре 2—8°C не более 2 сут (замораживать цельную кровь нель-

зя). При необходимости сохранения образца до проведения исследования необходимо в течение 2 сут от момента взятия образца крови провести процедуру осадка лейкоцитов, который допускает хранение при температуре не выше -16°C в течение 2 нед либо длительно при температуре -70°C. Транспортирование подобных образцов необходимо проводить со строгим контролем температуры, недопустимо оттаивание материала. Для получения образцов сухой капли крови 50 мкл цельной крови наносят в 5 повторах на карточки из специализированной фильтровальной бумаги (например Whatman 903) и высушивают на воздухе при комнатной температуре в течение 4—12 ч (допустимо высушивание в течение ночи). Полученные карточки упаковывают с осушителем в индивидуальные пакеты типа "зип-лок". Высушенные и упакованные карточки при низкой влажности могут храниться при температуре 2—8°C в течение 6 мес. Карточки с сухими пятнами крови могут быть транспортированы в лабораторию в течение 2 нед при комнатной температуре.

Обследование ребенка, рожденного от ВИЧ-инфицированной матери, на ДНК провируса ВИЧ желательно проводить в возрасте: до 48 ч жизни; 1—2 мес; 3—6 мес.

Выявление ДНК провируса ВИЧ в первые часы жизни ребенка может свидетельствовать о внутриутробном инфицировании и отчасти о более тяжелом течении заболевания. Отсутствие ДНК провируса в ранние сроки и появление ДНК ВИЧ в более поздние сроки может свидетельствовать об инфицировании в процессе родов или при возможном грудном вскармливании.

Положительный результат на наличие ДНК провируса ВИЧ должен быть подтвержден, для повторного анализа необходимо использовать дополнительный образец крови, полученный в более поздние сроки по сравнению с предыдущим образцом. Положительные результаты обследования на ДНК провируса ВИЧ в двух отдельно взятых образцах крови у ребенка старше 1 мес являются лабораторным подтверждением диагноза ВИЧ-инфекции.

Получение двух отрицательных результатов обследования на ДНК провируса ВИЧ в возрасте старше 4—6 мес (при отсутствии грудного вскармливания) свидетельствует против наличия у ребенка ВИЧ-инфекции, однако снять ребенка с диспансерного учета по поводу интранатального и перинатального контакта по ВИЧ-инфекции можно в возрасте старше 1 года при одновременном наличии следующих условий:

два отрицательных результата исследования ДНК ВИЧ методом ПЦР, один из которых выполнен в возрасте 4 мес или старше;

два отрицательных результата исследования и более на наличие антител к ВИЧ методом ИФА, выполненные в возрасте 12 мес или старше;

отсутствие гипогаммаглобулинемии на момент исследования крови на наличие антител к ВИЧ;

отсутствие клинических проявлений ВИЧ-инфекции.

Таким образом, на сегодняшний день в России диагноз ВИЧ-инфекции новорожденным детям может быть выставлен в максимально короткие сроки (до

4—6 мес жизни ребенка) с использованием высокоэффективных отечественных ПЦР-тест-систем, предназначенных для выявления ДНК провируса ВИЧ. Вышеописанный алгоритм тестирования позволяет практически полностью исключить вероятность получения ложных результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Информационный бюл. "ВИЧ-инфекция" 2010; № 34.
2. Инструкция по профилактике передачи ВИЧ-инфекции от матери ребенку и образца информированного согласия на проведение химиопрофилактики ВИЧ (Утв. приказом МЗ РФ 19.12.2003, № 606).
3. Connor E. M., Sperling R. S., Gelber R. et al. Reduction of maternal—infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. N. Engl. J. Med. 1994; 331: 1173—1180.
4. Cooper E. R., Charurat M., Mofenson L. M. et al. Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1 infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol. 2002; 29 (5): 484—494.
5. Townsend C. L., Cortina-Borja M., Peckham C. S. et al. Low rates of mother-to-child transmission of HIV following effective pregnancy interventions in the United Kingdom and Ireland, 2000—2006. AIDS 2008; 22 (8): 973—981.
6. Bremer J. W., Lew J. F., Cooper E. et al. Diagnosis of infection with human immunodeficiency virus type 1 by a DNA polymerase chain reaction assay among infants enrolled in the Women and Infants' Transmission Study. J. Pediatr. 1996; 129 (2): 198—207.
7. Charbonneau T. T., Wade N. A., Weiner L. et al. Vertical transmission of HIV in New York State: a basis for statewide testing of newborns. AIDS Patient Care STDs 1997; 11 (4): 227—236.
8. Pugatch D. Testing infants for human immunodeficiency virus infection. Pediatr. Infect. Dis. J. 2002; 21 (7): 711—712.
9. Respass R. A., Butcher A., Wang H. et al. Detection of genetically diverse Human Immunodeficiency Virus type 1 group M and O isolates by PCR. J. Clin. Microbiol. 1997; 35: 1284—1286.
10. Бобкова М. Р., Буравцова Е. В., Суханова А. Л. и др. Применение тест-системы Amplicor HIV-1 для диагностики ВИЧ-инфекции у новорожденных детей в России: первые результаты (2001—2002 гг.). Клин. лаб. диагн. 2003; 6: 49—53.
11. Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric HIV infection. (Working Group on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children). 2011.

Поступила 18.09.11

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012
УДК 615.212.7.03:617-089.5-053.2

Т. С. Агзамходжаев, А. С. Юсупов, М. Т. Мелибаев

АНЕСТЕЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗАЩИТА НУБАИНОМ ПРИ ОПЕРАТИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВАХ У ДЕТЕЙ

Ташкентский педиатрический медицинский институт; Кафедра детской анестезиологии и реаниматологии, Узбекистан

Мы изучали изменения параметров центральной и периферической гемодинамики при сочетанной анестезии с нубаином во время хирургических вмешательств у детей.

Исследование проводилось на этапах операции и анестезии у 64 детей в возрасте от 2 до 14 лет с сопутствующими заболеваниями и врожденными пороками развития. Физическое состояние детей ASA I-II.

Было показано, что в условиях анестезии нубаином течение операционного периода сопровождалось незначительными, компенсированными изменениями центральной и периферической гемодинамики, что свидетельствует об эффективности анестезиологической защиты от операционной травмы. Этот вид анестезии создает благоприятные условия для оптимального функционирования центральной и периферической гемодинамики. Целью исследования было изучение клинических проявлений и изменений уровня гормона стресса (кортизола) при многокомпонентной анестезии с использованием нубаина.

ANESTHESIOLOGY NUBAINE PROTECTION DURING OPERATIVE INTERVENTIONS IN CHILDREN

Adzakhodjaev T.S., Yusupov A.S., Melibaev M.T.

We studied the changes in central and peripheral hemodynamic parameters under combined nubaine anesthesia during surgical interventions in children.

The study was carried out at the stages of operation and anesthesia in 64 children at the age from 2 to 14 years with concomitant diseases and congenital malformations. The physical status of the children was ASA – I-II.

It was shown, that under nubaine anesthesia, the run of the operational period was accompanied by a insignificant, compensated changes of the central and peripheral hemodynamics, which testified of the effectiveness of anesthesia protection from operative trauma. This type of anesthesia creates favorable conditions for optimal functioning of the central and peripheral hemodynamics. The aim of the research was to study the clinical manifestations and changes of the level of the stress hormone (cortisol) during nubaine multi-anesthesia.

На сегодняшний день актуальной медицинской проблемой остается защита детей от хирургической агрессии [4, 9, 10]. Для обезболивания больных в интраопе-

рационном периоде основной группой лекарственных средств остаются опиоидные анальгетики, которые применяют у 60% больных [2, 7—9]. Нубаин является