

STUDIU RETROSPECTIV AL FACTORILOR DE RISC AI INFECȚIEI HIV-1 LA O COHORTĂ DE GRAVIDE INFECTATE ȘI NOU-NĂSCUȚI DIN SPITALUL CLINIC DE BOLI INFECȚIOASE ȘI TROPICALE „DR. VICTOR BABEȘ” BUCUREȘTI

Retrospective observational study on risk factors of HIV-1 infection on a group of infected pregnant women and new-born children from “Dr. Victor Babes” Clinical Hospital for Infectious and Tropical Diseases, Bucharest

Doctorand Dr. Andre Muila, Prof. Dr. Adrian Georgescu
Institutul de Ocrotire a Mamei și Copilului „Alfred Rusescu“

REZUMAT

În 1994, s-a demonstrat că un regim antiretroviral cu zidovudină, administrat în timpul sarcinii, travaliului și la nou-născut a redus transmiterea materno-fetală cu 67% (1). În țările dezvoltate, transmiterea verticală a fost redusă la mai puțin de 2%, deoarece majoritatea femeilor infectate primesc HAART, sunt îndrumate către operația cezariană programată, iar alimentația cu formule de lapte este disponibilă.

Am evaluat rata de transmitere materno-fetală a infecției HIV, factorii de risc asociați și eficiența măsurilor de profilaxie, într-un studiu retrospectiv (ian. 2004 – apr. 2008), observațional, care a inclus 30 de gravide cu infecție HIV și 34 de copii, născuți de aceste paciente în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale “Dr. Victor Babeș” București, România.

Prelucrarea datelor a fost efectuată cu ajutorul testelor chi-pătrat și Fisher exact test și analiza Mann Whitney. În ceea ce privește infecția HIV, s-au folosit teste ELISA HIV1+2, Western blot HIV-1, PCR ARN-HIV-1 și număr de limfocite CD4.

Vârsta medie a celor 30 de paciente a fost 23 de ani (17-36 ani). În lotul de copii, 18 au fost de sex masculin (54%) și 12 de sex feminin (46%). Rata generală de transmitere a infecției HIV la nou-născut a fost de 26,4 (9/34). În grupul celor 11 perechi mamă-copil cu profilaxie completă (cu sau fără cezariană programată), rata de transmitere a fost nulă. (26-78%) dintre copii au fost născuți la termen, dar prematuritatea s-a asociat cu statusul de infectat HIV al copilului ($p < 0,01$, OR=6,50). Cei mai mulți dintre copii (20) au fost normoponderali (2800-3800g), dar subponderabilitatea în grupul copiilor născuți la termen s-a asociat cu statusul de infectat HIV ($p < 0,05$, OR=3,33). Lipsa profilaxiei ARV în grupul mamelor cu naștere pe cale vaginală s-a asociat cu infecția HIV la copil ($p < 0,04$, OR=5). Cei mai mulți copii infectați au provenit din rândul celor alimentați la sân (7/12, 59%, $p < 0,01$, OR=6,42), iar asocierea dintre prezența rupturii premature a membranelor și statutul de infectat HIV al copilului născut a fost semnificativă statistic ($p < 0,01$, OR=4,64). Administrarea de zidovudină intrapartum (per os) s-a dovedit protectoare împotriva nașterii unui copil infectat ($p < 0,05$), iar tratamentul ARV la nou născut încă de la naștere a fost și el asociat cu un risc mai mic de infecție ($p < 0,01$). Încărcătura virală a gravidelor în ultima lună de sarcină a fost mai mare în cazul celor care au născut copii infectați decât în cazul celor care au născut copii neinfecțați (170296c/ml vs 800c/ml) ($p < 0,01$). Nu am observat o diferență semnificativă statistic între valorile mediene ale numărului de limfocite CD4 înregistrate în aceste două grupuri ($p = ns$).

La gravidele care nu au primit profilaxie sau aceasta a fost incompletă, rata de transmitere a fost înaltă, în timp ce în grupul gravidelor care au primit profilaxie completă a fost nulă.

Prematuritatea, greutatea mai mică la naștere în grupul celor născuți la termen, nașterea pe cale vaginală sau prin operație cezariană de necesitate, ruptura prematură de membrane, alăptarea la sân, încărcătura virală de HIV cu valori înalte în ultima lună de sarcină s-au asociat cu un risc mai mare al copiilor de a fi infectați HIV.

Cuvinte cheie: transmitere materno-fetală, profilaxie ARV, infecție HIV

Adresă de corespondență:

Dr. Andre Muila, Institutul pentru Ocrotirea Mamei și Copilului, Bd. Lacul Tei Nr. 120, Sector 2, București
email: andremuila@yahoo.com

ABSTRACT

In 1994, it was showed that an antiretroviral regime based on zidovudine administered during pregnancy, labor and to the new born, reduced the mother to child transmission rate of HIV by 67 % (1). In developed countries, vertical transmission of HIV has decreased to less than 2% because the majority of infected women receive HAART, are counseled for a scheduled cesarean section and formula feeding is available.

We have evaluated the MTC rate, associated risk factors and the efficacy of prophylactic measures in a retrospective observational study (Jan 2004 – Apr 2008), in which we have included 30 HIV infected pregnant women and 34 children born by these mothers, in "Dr. Victor Babes" Clinical Hospital for Infectious and Tropical Diseases, Bucharest, Romania.

Data has been processed using the chi-square and Fisher exact tests as well as the Mann Whitney analysis. As regards the HIV infection we have used ELISA HIV1+2, Western blot HIV-1, PCR RNA-HIV-1 tests and CD4 count.

The median age of the 30 patients was 23y (17-36y). Eighteen children were males (54%) and 12 were females (46%). The overall HIV transmission rate was 26,4 (9/34). For the 11 paired mothers and children who underwent complete prophylaxis measures (with or without scheduled C-section), the transmission rate was zero. Twentysix (78%) babies were full term, but prematurity was associated with the HIV infection of the children ($p < 0.01$, OR=6.50). Most babies (20) were born with a normal birth weight (2800-3800g), but low birth weight in the subgroup of the full term children was found to be associated with their HIV infected status ($p < 0.05$, OR=3.33). The lack of ARV prophylaxis for the mothers who delivered naturally was associated with the HIV transmission to the children ($p < 0.04$, OR=5). Most of the infected children were a part of the breastfed group (7/12, 59%, $p < 0.01$, OR=6.42) and it was shown that the mothers' prematurely ruptured membranes was associated with HIV transmission ($p < 0.01$, OR=4.64). Zidovudine prophylaxis during labor (orally) was found to be protective against having an infected child ($p < 0.05$) and giving ARV prophylaxis to the child from birth was associated with a lower risk of transmission ($p < 0.01$). The mothers' viral loads in the last month of pregnancy were higher for those who gave birth to infected children as compared to those who delivered healthy ones (170296c/ml vs 800c/ml) ($p < 0.01$). We found no difference between the median CD4 count amongst these two groups ($p = ns$).

For the mothers who didn't undergo full prophylaxis or didn't receive any, the transmission rate was high while for the group of those who had complete prophylaxis it was zero.

Prematurity, low birth weight in the group of the full term babies, natural birth or through emergency C-section, early rupture of the membranes, breastfeeding and high values of the HIV viral load in the last month of pregnancy were found to be risk factors for acquiring HIV through MTC transmission.

Key words: mother to child transmission, ARV prophylaxis, HIV infection

INTRODUCERE

La scară globală, se estimează că anual aproximativ 700.000 de copii se infectează cu HIV-1, adică aproape 2000 de copii în fiecare zi. Numărul de copii care decedează anual prin SIDA este de aproximativ 330.000 de cazuri, iar cel al copiilor cu HIV aflați în viață până la sfârșitul anului 2007 este de 2,5 milioane. Majoritatea acestor infecții aparțin Africii Subsahariene. Oriunde în lume, principala cale de transmitere la copii a virusului este de la mamă.

Înainte apariției metodelor de reducere a transmiterii materno-fetale, ratele de transmitere erau estimate la aproximativ 15-25% în populațiile care nu alăptează la sân din Statele Unite ale Americii și Europa și de aproximativ 25-40% în populațiile care alăptează la sân din țările în curs de dezvoltare. În 1994, protocolul Pediatric AIDS Clinical Trials Group (PACTG) 076 a demonstrat că un regim antiretroviral cu zidovudină (ZDV, AZT) administrat în timpul sarcinii, travaliului și la noul-născut a redus transmiterea materno-fetală cu 67% (1).

În țările dezvoltate, transmiterea materno-fetală a fost redusă la mai puțin de 2%, iar eliminarea acesteia este posibilă deoarece majoritatea femeilor infectate HIV-1 primesc HAART, sunt îndrumate către operația cezariană programată.

HIV-1 poate fi transmis în timpul sarcinii, delivrenței și prin laptele matern. Deși mai mulți factori este posibil să influențeze transmiterea în fiecare dintre aceste perioade, încărcătura virală plasmatică de HIV-1 a fost recunoscută ca și factor predictiv major și independent indiferent de momentul transmiterii (2).

În absența alimentației la sân și a profilaxiei anti-retrovirale, transmiterea in utero este apreciată la aproximativ 25-30% din totalul transmiterii materno-fetale, iar cea intrapartum la aproximativ 65-70%. Pe perioada sarcinii, placenta reprezintă o barieră importantă fizică și imunologică între circulația maternă și cea fetală și, se pare, și împotriva transmiterii in utero a infecției HIV, deoarece rata absolută a transmiterii in utero este de doar 5-10%. Deși mecanismul exact de transmitere transplacentară nu a fost complet elucidat încă, factorii care conduc la modificarea integrității placentare cum ar fi corioamniotita, este posibil să aibă un rol.

Transmiterea intrapartum este posibilă prin accesul direct al virusului intra- sau extracelular în circulația sistemică a fătului prin transfuzii materno-fetale; acestea pot apărea prin intermediul contracțiilor uterine în timpul travaliului, sau indirect prin înghițirea de către copil a virusului prezent în fluidele

din tractul genital matern. Importanța transmiterii intrapartum este subliniată și de eficiența măsurilor de prevenire care au în vedere această perioadă, cum este operația cezariană programată practicată înaintea declanșării travaliului și a ruperii membranelor (3,4,5,6,7).

Pasajul transplacentar poate să intereseze virusul liber (prin intermediul trofoblaștilor sau al macrofagelor vilozitare) sau particulele virale intracelulare, prin microtransfuzie materno-fetală. Prin studii asupra celulelor trofoblastice și a precursorilor hematologici s-a demonstrat prezența infecției la fătul de 8 săptămâni (8). Pasajul transplacentar poate fi favorizat la sfârșitul sarcinii de contracțiile uterine, dar și de creșterea permeabilității placentare mediată de prostaglandine și de citokinele secretate local (9,10).

Infecția pe cale ascendentă se poate produce în cazul ruperii premature a membranelor, dar ea se poate realiza și prin membrane intacte, prin lichidul amniotic colonizat cu virusul excretat la nivelul colului uterin. În această situație, HIV este transmis fătului prin mucoase sau pe cale digestivă (10,11,12,13).

Infecția pe cale descendentă se realizează prin contactul fătului cu secrețiile și sângele matern în timpul trecerii prin canalul pelvin. Rolul contaminant al glerei cervicale în cursul travaliului a fost evocat de prezența unui risc crescut de contaminare pentru primul născut, în cazul unei sarcini gemelare (11,12,13).

Încărcătura virală maternă antenatală și utilizarea terapiei antiretrovirale au fost asociate atât cu risc de transmitere *in utero*, cât și intrapartum. Dacă aceste două aspecte au fost controlate, greutatea mică la naștere a fost semnificativ asociată cu transmiterea *in utero*, în timp ce vârsta maternă, numărul de limfocite CD4 antenatal, anul nașterii, nașterea prematură, greutatea la naștere și durata perioadei de ruptură a membranelor au fost asociate cu transmiterea intrapartum.

Mai multe studii au demonstrat eficiența diferitelor tipuri de regimuri terapeutice în prevenția transmiterii *in utero* și intrapartum, dar aceasta este limitată în țările cu resurse reduse de transmiterea postnatală prin intermediul laptelui matern.

Mecanismul prin care ZDV a redus transmiterea în studiul PACTG 076 nu a fost pe deplin clarificat. Efectul de reducere a încărcăturii virale materne (cu 0,24 log₁₀) nu explică în totalitate eficacitatea acesteia. O componentă importantă a protecției este considerată profilaxia post-expunere intrapartum a fătului, de aceea transportul transplacentar al medicamentelor ar fi foarte important. În studii asupra

circulației placentare s-a constatat că ZDV este metabolizată în placentă în trifosfat activ, ceea ce oferă protecție suplimentară. Acest fenomen nu a fost observat la alți analogi nucleozidici studiați (ddI, ddC). De asemenea, a fost demonstrat că ZDV reduce conținutul în HIV al secrețiilor cervico-vaginale și astfel contribuie la scăderea riscului de transmitere perinatală (14,15,16,17,18). O parte dintre preparatele antiretrovirale au fost detectate și în laptele matern uman: ZDV, 3TC și NVP. Altele au fost detectate doar în laptele animalelor de laborator (ddI, d4T, ABV, DLV, IDV, RTV, SQV, APV) (19,20,21). Până în prezent, nu sunt cunoscute eficacitatea ARV pentru prevenirea transmiterii prin laptele matern și nici toxicitatea expunerii cronice la ARV a copilului prin intermediul laptelui matern (22,23).

Eficiența pe termen scurt a fost demonstrată pentru regimurile terapeutice numai cu AZT, cu AZT și 3TC, NVP în doză unică și mai recent pentru asocierea unei doze unice de NVP cu AZT sau AZT și 3TC pe termen scurt. Regimurile combinate au o eficiență superioară, iar administrarea pe o perioadă mai lungă a unui regim ante-, intra- și postpartum este mai eficientă decât administrarea pe termen mai scurt ante- și intrapartum sau intra- și postpartum. Chiar și regimurile cu inițiere antenatală târzie la 36 săptămâni și fără profilaxie la noul-născut pot reduce riscul de transmitere (24). Totuși, inițierea terapiei mai devreme (începând cu săptămâna 28 de gestație) este mai eficientă decât inițierea tardivă (25).

Studiile efectuate în Thailanda, au stabilit că, sub profilaxie cu ZDV intrapartum, nivelurile ARN HIV în plasmă, în secrețiile vaginale și la nivelul colului uterin scad, dar încărcăturile virale din aceste compartimente influențează în mod independent riscul de transmitere perinatală a virusului (26,27,28,29,30). Căile genitale feminine pot servi ca rezervor pentru virusuri cu alt spectru de rezistență la preparatele medicamentoase în comparație cu subspeciile virale circulante (26,27,28,29,30).

O profilaxie post-expunere extinsă în timp nu substituie o terapie maternă pe o perioadă mai lungă.

Studiul PHPT-2 desfășurat pe femei care nu au alăptat la sân în Thailanda, studiul MASHI din Botswana, desfășurat pe nou-născuți hrăniți cu formulă de lapte și studiile DITRAME pe o populație parțial hrănită la sân în Coasta de Fildeș au demonstrat că adăugarea unei doze unice de NVP a determinat creșterea semnificativă a eficienței (25,31,32).

Totuși, un studiu clinic desfășurat în țările dezvoltate, PACTG 316, a demonstrat că adăugarea

unei doze unice de NVP nu a oferit un beneficiu semnificativ la gravidele tratate cu antiretrovirale pe perioada sarcinii și cu încărcături virale foarte scăzute la momentul nașterii (33).

Alăptarea la sân crește substanțial riscul de transmitere a virusului HIV-1 de la mamă la făt. Transmiterea postnatală poate fi răspunzătoare pentru 30-50% din totalul transmiterii materno-fetale în țările în care populația practică alăptarea la sân (34).

În țările în care se practică alăptarea la sân, impactul actualelor regimuri terapeutice de scurtă durată asupra riscului pe termen lung al nou-născutului de a fi infectat este diminuat de riscul permanent de infecție pe perioada alăptării. În studiul MASHI, riscul progresiv de transmitere între vârstele de o lună și șapte luni la copiii alăptați la sân care au primit șase luni de AZT a fost de 4,5%, adică foarte similar cu rata de 4,2% a transmiterii post-natale tardive prin alăptare la sân timp de șase luni în meta-analiza copiilor care nu au primit profilaxie antiretrovirală (31, 35).

Pasajul în laptele matern al antiretroviralelor a fost evaluat la subiecți umani numai pentru câteva medicamente. AZT, 3TC și NVP au fost detectate în laptele matern la femeile infectate HIV.

S-a demonstrat că există replicare virală în celulele epiteliale mamare și că replicarea este stimulată hormonal în sarcină. Transmiterea infecției se produce în cele mai multe cazuri în primele luni de alăptare, mai ales prin colostru, care are o încărcătură virală mare, însă riscul crește o dată cu durata alăptării (36,37).

Eficiența cu care antiretroviralele secretate în laptele matern reduc transmiterea HIV este necunoscută. Utilizarea unor medicamente care conduc la scăderea semnificativă și susținută a încărcăturii virale în plasma mamei pot determina și scăderea acesteia în laptele matern. De asemenea, toxicitatea determinată de expunerea prelungită la antiretrovirale a nou-născutului este necunoscută. Un singur studiu a demonstrat niveluri înalte ale medicamentelor antiretrovirale în laptele femeilor care au primit HAART (31).

La aceste populații se poate constata o diminuare a eficienței măsurilor antiretrovirale de prevenție a transmiterii in utero și intrapartum. De exemplu, administrarea ZDV antepartum sau intrapartum a redus transmiterea cu 50% la copiii de origine thailandeză hrăniți cu formulă de lapte (27), dar utilizarea aceluiași regim la copiii africani hrăniți la sân a rezultat într-o eficiență la 3 luni de numai 37% care a scăzut la 28% la vârsta de 24 de luni (37,38).

Alimentația mixtă nu reduce riscul de infecție, care poate fi chiar mai mare decât în cazul alăptării

(36,39,40). Laptele matern conține concomitent virusuri libere și virusuri intracelulare, a căror cantitate poate depinde de imunosupresia maternă și de conținutul în vitamina A (41,42).

Prezența unor sângerări mamelonare, a mastitei, a abcesului mamar și a deficitului de vitamină A, precum și a candidozei orale la copil crește riscul transmiterii infecției HIV (12,41,42). Cercetările în Zimbabwe au demonstrat că 31% dintre mamele care au alăptat la sân și ai căror copii au fost infectați cu HIV aveau maladii acute mamelonare (41).

OBIECTIVELE STUDIULUI

Lucrarea de față își propune să expună experiența personală în domeniul transmiterii verticale a infecției HIV dobândită în Clinica a V-a de Pediatrie HIV „Casa Doru“ a Spitalului Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Dr. Victor Babeș“ din București, România.

Astfel, am avut în vedere următoarele obiective:

1. Evaluarea ratei de transmitere materno-fetală a infecției HIV.
2. Evaluarea factorilor de risc asociați transmiterii verticale a infecției HIV.
3. Evaluarea modului de aplicare și a eficienței măsurilor de profilaxie a transmiterii materno-fetale a infecției HIV pe lotul studiat.

MATERIALE ȘI METODE

Studiul este retrospectiv, observațional, a inclus 30 de femei gravide cu infecție HIV/SIDA demonstrată, cu vârsta cuprinsă între 17 și 36 de ani și 34 de copii născuți de aceste paciente, urmăriți pe parcursul a 4 ani, din ianuarie 2004 până în aprilie 2008.

Datele au fost obținute retrospectiv din registrele și foile de observație ale pacienților, cât și din serviciile de virusologie, biologie moleculară și hematologie. Au fost folosite documente precum: Fișa de declarare a infecției HIV la copilul cu vârsta sub 13 ani și Protocolul de evaluare a evoluției clinico-imunologice a mamei și nou născutului.

Au fost cercetate următoarele aspecte:

1. *La mamă:* vârstă, etnie, stare civilă, ocupație, factori de risc pentru infecția HIV, momentul diagnosticării infecției HIV față de momentul nașterii, tipul nașterii, stadiul clinico-imunologic, mijloace utilizate pentru prevenirea TMF a infecției HIV.
2. *La copil:* sex, greutatea la naștere, vârsta sarcinii în momentul nașterii, mijloace utilizate pentru prevenirea TMF a infecției HIV, statutul HIV al copiilor expuși.

Prelucrarea datelor a fost efectuată cu ajutorul aplicațiilor de calcul statistic, prin testele de stabilire a corelației între două variabile numerice chi-pătrat și Fisher exact test și analiza Mann Whitney, urmărindu-se rata de transmitere a infecției HIV în funcție de mijloacele de prevenire utilizate și de prezența sau absența factorilor de risc implicați în transmiterea verticală.

În ceea ce privește infecția HIV, s-au folosit teste ELISA HIV1+2, Western blot HIV-1, PCR ARN-HIV-1, număr de limfocite CD4 și CD8, raport CD4/CD8.

REZULTATE

Vârsta medie a celor 30 de paciente a fost 23 de ani, cu limite între 17 și 36 de ani. Calea de transmitere a infecției HIV a fost predominant sexuală, pentru 24 dintre femei, reprezentând 80% din lot, și orizontală pentru 6 dintre femei, reprezentând 20%. Diagnosticul de infecție HIV a fost stabilit înaintea sarcinii pentru 10 dintre mame (34%), în timpul sarcinii pentru 7 dintre ele (23%), la naștere pentru 3 paciente (9%) și după naștere la 10 dintre ele (33%).

Cel mai important factor de risc pentru infecția HIV în rândul mamelor a fost existența partenerilor multipli în 11 cazuri (36,6%). Alții factori de risc implicați au fost reprezentați de: începerea vieții sexuale precoce în 7 (23,3%) cazuri, contacte sexuale neprotejate în 6 (20%) cazuri, tratamente intravenoase în 4 cazuri (13,3%) și transfuzii sanguine și accidente profesionale în câte 1 caz respectiv (3,3%).

După intervalul de 18 luni, în studiul nostru 73,5% au fost declarați neinfecțați (25 de cazuri), iar 26,5% (9 cazuri) dintre ei au avut teste virusologice pozitive, și-au menținut seropozitivitatea și au fost diagnosticați cu infecție HIV.

Cei mai mulți dintre pacienții noștri (13-44%) au fost evaluați în intervalul de vârstă între 3 luni și 1 an, dar a existat și un număr important de copii (7-24%) pentru care diagnosticul a fost stabilit în prima săptămână de viață sau în intervalul de vârstă cuprins între 1 lună și 3 luni (8-27%).

Dintre copiii incluși în studiu, 18 au fost de sex masculin (54% din lot) și 12 de sex feminin (46% din lot) și nu am putut identifica o relație semnificativă statistic între sexul nou-născutului și prezența infecției HIV ($p=ns$).

Majoritatea copiilor (26) au fost născuți la termen, reprezentând 78%, și doar 8 (22%) dintre ei au fost născuți prematur.

Dintre cei 26 de copii născuți la termen, 3 au fost infectați HIV, iar dintre cei 8 copii născuți la

mai puțin de 37 de săptămâni, doar 2 au fost declarați neinfecțați. Analiza acestor valori a condus la concluzia că prematuritatea s-a asociat semnificativ statistic cu statusul de infectat HIV al copilului ($p < 0,01$). Mai mult, riscul relativ al unui copil prematur de a fi declarat infectat a fost de 6,50 ori mai mare (cu limite între 2 și 20,26) decât acela al unui copil născut la termen.

În ceea ce privește greutatea la naștere a nou-născuților, cei mai mulți dintre aceștia (20) au fost normoponderali și au avut între 2.800 și 3.800 grame, 6 dintre ei au fost subponderali cu o greutate între 2.500-2.800 grame, iar cei 8 copii prematuri au avut greutate mică la naștere (sub 2.500 grame).

Grupul copiilor subponderali a inclus 4 pacienți infectați și 2 neinfecțați, iar cel al normoponderalilor a inclus 4 pacienți infectați și 16 neinfecțați. Analizând asocierea statistică dintre subponderalitate și statutul de infectat HIV al copiilor născuți la termen, am găsit o relație semnificativă ($p < 0,05$) care demonstrează că în lotul nostru riscul relativ al unui copil subponderal născut la termen de a fi infectat HIV este de 3,33 de ori mai mare (cu limite între 1,17 și 9,46) decât riscul unui copil normoponderal născut la termen, sugerând implicarea infecției HIV intrauterine.

În studiul nostru, rata generală de transmitere a infecției HIV la nou-născut a fost de 26,4% (9/34).

Au existat 11 cupluri mamă-copil care au primit profilaxie completă (cu sau fără cezariană programată). Terapia ARV s-a inițiat astfel: la una dintre ele la mai mult de 36 de săptămâni vârstă a sarcinii, la 4 dintre ele între 28 și 36 de săptămâni, la 3 la mai puțin de 28 de săptămâni, iar 3 paciente au primit tratament înainte de sarcină.

La naștere, mediana CD4 în acest grup a fost 420 limfocite/mm³, iar mediana ARN-HIV de 302 copii/ml.

Schemele antiretrovirale utilizate la aceste grupe au constat din ZDV+3TC în 2 cazuri, 2 INRT+1 INNRT într-un caz, 2 INRT+ NFV în 4 cazuri și 2 INRT+ un inhibitor de protează boostat cu RTV în 4 cazuri (2 cu SQV și 2 cu LPV).

Rata de transmitere a infecției HIV la acest grup a fost nulă, în timp ce rata de transmitere la gravidele cu profilaxie incompletă a fost de 39,2% (9/23). În grupul gravidelor cu profilaxie incompletă am inclus femeile cu aderență scăzută la tratament sau la măsurile de profilaxie postpartum și pe acelea doar cu profilaxie postpartum și alimentație artificială. Putem deci afirma că instituirea unui regim de profilaxie complet a condus la o reducere a ratei de transmitere materno-fetală de la 39,2% la 0%.

Rata de transmitere a infecției HIV a fost de aproximativ 33,3% (9/27) la gravidele care au născut pe cale vaginală și prin cezariană de urgență, în timp ce nici una dintre mamele care au născut prin cezariană programată (și care au beneficiat de profilaxie completă) nu a avut un copil infectat; asocierea nu a fost însă semnificativă statistic ($p > 0,05$). De asemenea, doar o gravidă din 10 cu profilaxie ARV și naștere pe cale vaginală a avut un copil infectat, în timp ce dintre cele 16 gravide cu profilaxie incompletă și cu naștere pe cale vaginală, 8 au avut copii infectați; ceea ce conduce la concluzia că rata mare de transmitere materno-fetală (34,5%) în grupul cu naștere pe cale vaginală se datorează de fapt lipsei profilaxiei ARV. Mai exact, riscul relativ mediu al unei mame cu naștere pe cale vaginală și fără profilaxie ARV de a naște un copil infectat a fost de 5 ori mai mare decât al uneia cu profilaxie ARV și același tip de naștere ($p < 0,04$).

În ceea ce privește nașterea prin cezariană de necesitate, a existat doar o gravidă în lotul nostru care a născut în acest mod, dând naștere unui copil neinfestat. Ea a asociat și complicații obstetricale, respectiv hematoma retroplacentar.

Analizând datele cu privire la alimentația nou-născuților, am putut stabili că cei mai mulți dintre copiii infectați au provenit din rândul celor alimentați la sân (7 din 12, reprezentând 59%), și că majoritatea celor neinfestați au provenit din copiii alimentați cu formulă de lapte (20 din 22, reprezentând 90%). Dintre cei 12 nou-născuți alimentați la sân, 7 au fost infectați cu HIV, reprezentând 58%, și doar 5, reprezentând 42% au fost neinfestați. Riscul relativ al unui copil alimentat la sân de a fi infectat HIV, în studiul nostru, a fost în medie de 6,42 ori mai mare decât riscul corespunzător unui copil alimentat cu formulă de lapte ($p < 0,01$).

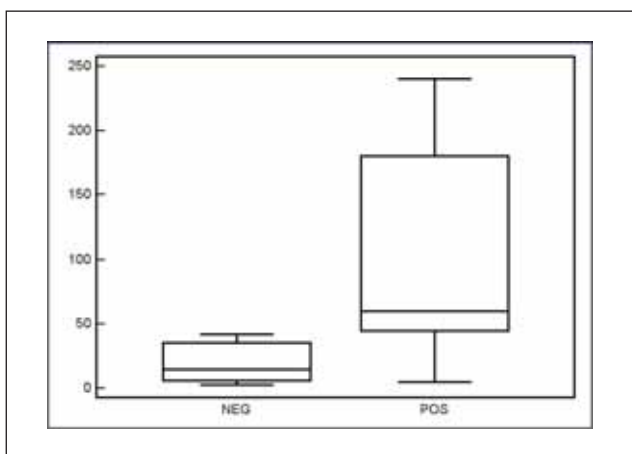


FIGURA 1. Comparație între lotul de copii negativi și cel de copii pozitivi în ceea ce privește numărul de zile de alăptare la sân ($p < 0,01$)

Mediana numărului de zile de alăptare la sân în grupul celor infectați a fost de 60, iar în cadrul grupului celor neinfestați a fost de 15 zile. Comparând cele două grupuri din acest punct de vedere am obținut graficul de mai jos (FIGURA 1), în care se poate observa că numărul de zile de alăptare la sân a fost semnificativ statistic mai mare în cazul copiilor infectați ($p < 0,01$).

În lotul de gravide, numărul de paciente care au avut ruptură prematură de membrane a fost de 5; 4 dintre ele au dat naștere unor copii infectați și una unui copil neinfestat. Asocierea dintre prezența rupturii premature a membranelor și statutul de infectat HIV al copilului născut a fost semnificativă statistic ($p < 0,01$), iar riscul relativ al unui copil născut unei mame cu ruptură prematură a membranelor de a fi infectat HIV a fost de 4,64 ori mai mare decât acela al unui copil provenit dintr-o naștere fără acest factor de risc.

De asemenea, administrarea de zidovudină intrapartum (per os) s-a dovedit protectoare împotriva nașterii unui copil infectat. Astfel, dintre cele 10 mame care au primit zidovudină intrapartum, nici una nu a născut un copil infectat HIV, asociere semnificativă statistic ($p < 0,05$).

Administrarea încă de la naștere a tratamentului ARV la nou-născut a fost și ea semnificativ statistic asociată cu un risc mai mic de infecție. Astfel, 19 dintre pacienți au primit tratament ARV încă de la naștere, dintre care un pacient a fost infectat și 9 au fost neinfestați. Dintre cei 15 pacienți fără tratament ARV de la naștere, 8 pacienți au fost infectați și 7 neinfestați. Astfel, riscul relativ al unui nou-născut care nu a primit tratament ARV încă de la naștere de a fi infectat HIV a fost de 10 ori mai mare decât cel al unui nou-născut care a fost tratat precoce ($p < 0,01$).

Determinarea valorilor încărcăturii virale a gravidelor în ultima lună de sarcină a fost disponibilă pentru 12 dintre copiii care au fost neinfestați și pentru 5 dintre cei care au fost infectați. Mediana ARN HIV plasmatic la mamele care au dat naștere unor copii infectați a fost de 170.296 copii/mmc cu limite între 58.000 copii/ml și 2.460.000 copii/ml, iar cea corespunzătoare celor care au născut copii neinfestați a fost de 800 copii/mmc cu limite între 294 copii/ml și 142.000 copii/ml. Conform acestor date, putem afirma că încărcătura virală a gravidelor în ultima lună de sarcină a fost semnificativ statistic mai mare în cazul celor care au născut copii infectați decât în cazul celor care au născut copii negativi ($p < 0,01$) (FIGURA 2).

În ceea ce privește numărul de limfocite CD4 al gravidelor în ultima lună de sarcină, în grupul celor care au dat naștere unor copii neinfestați, am obținut

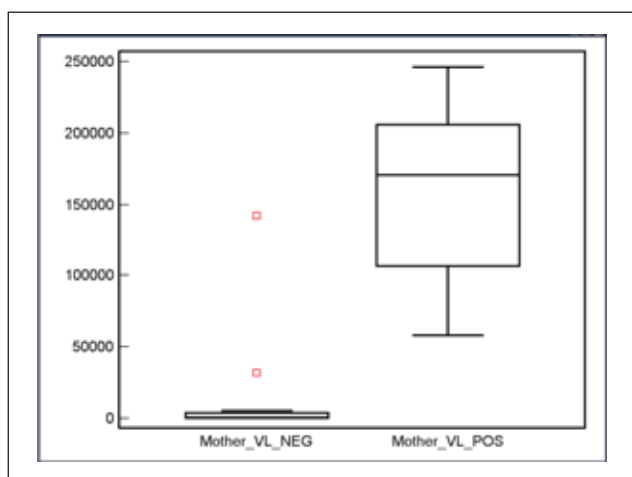


FIGURA 2. Comparație între lotul de copii infectați și cel de copii neinfecțați în ceea ce privește încărcătura virală a mamelor în ultima lună de sarcină ($p < 0,01$)

o valoare mediană de 404 celule/mmc, cu limite între 53 celule/mmc și 624 celule/mmc, iar în grupul celor care au născut copii infectați am obținut o valoare mediană de 325 celule/mmc, cu limite între 100 celule/mmc și 909 celule/mmc. Nu am observat o diferență semnificativă statistic între valorile CD4 înregistrate în aceste două grupuri ($p = ns$) (FIGURA 3).

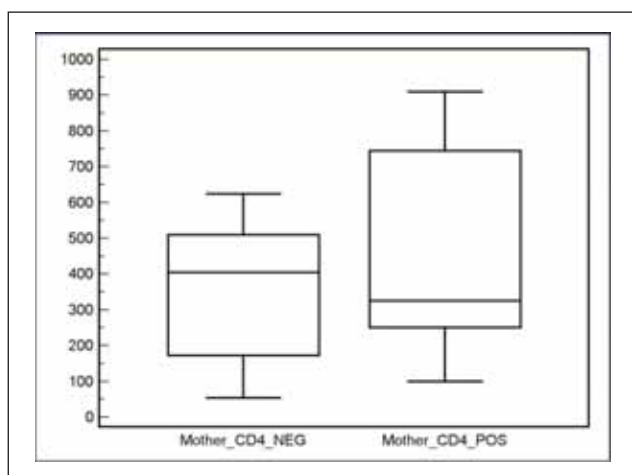


FIGURA 3. Comparație între lotul de copii infectați și cel de copii neinfecțați în ceea ce privește numărul limfocitelor CD4 ale mamelor în ultima luna de sarcină ($p = ns$)

Din cauza lipsei datelor pentru cei mai mulți dintre copii din primele luni de viață, nu am putut stabili valorile CD4 pentru aceste intervale de vârstă, astfel că am luat în considerație pentru comparație valorile CD4 plasmatic la vârsta de 3 luni. În grupul copiilor neinfecțați, valorile CD4 la 3 luni după naștere au fost disponibile pentru 20 dintre cazuri, iar în grupul celor infectați, în toate cele 9 cazuri. Mediana CD4 în primul grup a fost de 2.627 celule/mmc, cu limite între 1.678 celule/mmc și

6.500 celule/mmc, iar în cel de-al doilea grup de 1.236 celule/mmc, cu limite între 452 celule/mmc și 1.689 celule/mmc. Se poate observa că valorile CD4 înregistrate la copiii neinfecțați au fost mai ridicate decât cele ale copiilor infectați, diferență semnificativă statistic ($p < 0,02$) (FIGURA 4).

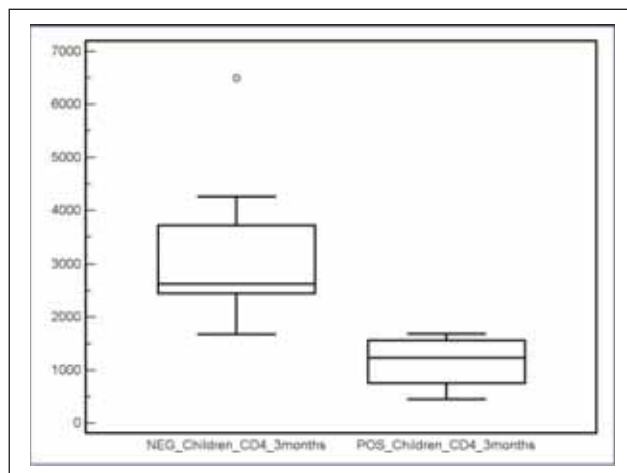


FIGURA 4. Comparație între lotul de copii infectați și cel de copii neinfecțați în ceea ce privește valorile limfocitelor CD4 plasmatic la vârsta de 3 luni ($p < 0,02$)

Diagnosticul de copil neinfecțat HIV-1 a fost stabilit printr-o a doua determinare ARN HIV-1 negativă, efectuată la vârsta de 3-4 luni, precum și prin testare ELISA negativă la vârsta de 18 luni.

În grupul celor infectați a fost de 23.300 copii/ml, cu limite între 12.500 copii/ml și 190.000 copii/ml.

În ceea ce privește tratamentul antiretroviral profilactic al copiilor, acesta a avut o durată medie de 42 de zile, și a constat din monoterapie cu ZDV în 6 cazuri, biterapie cu ZDV și 3TC în 10 cazuri și triplă terapie cu ZDV, 3TC și NVP în 4 cazuri. Reacția adversă cel mai frecvent constatată la pacienții tratați a fost anemia, care a survenit în 9 din cele 20 de cazuri, reprezentând aproximativ 45% dintre copii.

DISCUȚII ȘI CONCLUZII

În studiul de față, rata generală de transmitere a infecției HIV la nou-născut a fost de 26,4%. În grupul gravidelor care nu au primit profilaxie sau aceasta a fost incompletă, rata de transmitere a fost înaltă (39,2%), în timp ce în grupul gravidelor care au primit profilaxie completă a fost nulă.

Prematuritatea, greutatea mai mică la naștere în grupul celor născuți la termen, nașterea pe cale vaginală sau prin operație cezariană de necesitate, ruptura prematură de membrane, alăptarea la sân, încărcătura virală de HIV cu valori înalte în ultima

lună de sarcină s-au asociat cu un risc mai mare al copiilor de a fi infectați HIV. Deși a existat o predominanță a sexului masculin în lotul de copii, nu a existat o corelație între sexul nou-născuților și statutul de infectat al acestora. De asemenea, nu am găsit o corelație între numărul limfocitelor CD4 în ultima lună de sarcină la gravidă și infecția HIV a copiilor.

Administrarea de zidovudină intrapartum și inițierea terapiei încă de la naștere au constituit factori protectori ai transmiterii infecției HIV la copii.

În lotul pacienților cu infecție HIV, valorile numărului de limfocite CD4 la vârsta de 3 luni au fost mai scăzute față de lotul pacienților expuși perinatal, dar neinfecțați.

Cei mai importanți factori de risc pentru infecția HIV în rândul gravidelor din studiul de față au fost contactele sexuale cu parteneri multipli (36,6%), începerea precoce a vieții sexuale (23,3%) și contactele sexuale neprotejate (20%).

Pe măsura lărgirii orizontului de cunoștințe despre mecanismele care stau la baza transmiterii HIV-1 de la mamă la copil, se acordă tot mai multă atenție studierii metodelor de intervenție în scopul prevenirii sau diminuării riscului de transmitere. Utilizarea cu succes a terapiei antiretrovirale și alimentarea alternativă în țările dezvoltate face posibilă scăderea transmiterii perinatale până la niveluri sub 2% (43,44,45,46).

O sarcină importantă rămâne prevenirea noilor infecții la femeile de vârstă reproductivă (46). Ea include scăderea vulnerabilității femeii în raport cu HIV-1 prin îmbunătățirea statutului femeii în societate, răspândirii informației despre infecția HIV și profilaxia ei, popularizării sexului protejat, inclusiv utilizarea metodei de barieră, de asemenea tratarea adecvată a infecțiilor cu transmitere sexuală (39).

Femeile infectate cu HIV trebuie să aibă acces la metodele corespunzătoare de contracepție și la informație, care le-ar permite să decidă în privința fertilității viitoare.

Unicele metode de intervenție adresate scăderii transmiterii HIV de la mamă la copil, a căror eficacitate este confirmată în prezent, sunt administrarea de antiretrovirale (o cură lungă pe toată perioada sarcinii, a nașterii și în primele 6 săptămâni ale nou-născutului sau administrarea unei cure scurte), operația cezariană programată și lipsa alimentării la sân (47,48,49,50). Continuă studierea unui șir întreg de metode, în care atenția de bază se acordă intervenției active în perioada nașterii, când are loc transmiterea cu frecvență înaltă.

Beneficiul terapeutic al operației cezariene este încă neclar la gravidele care au primit HAART pe parcursul sarcinii și au avut încărcătură virală nedetectabilă la naștere. Studiul European Collaborative Study desfășurat pe 4.525 de femei a raportat că rata de transmitere a fost diminuată la toate femeile în era HAART. Totuși, în subgrupul celor 560 de femei care au avut ARN HIV-1 nedetectabil, deși la analiza univariată cezariana programată a fost asociată cu scăderea ratei de transmitere a infecției, acest efect nu a mai fost demonstrat dacă s-a făcut corecția pentru terapia antiretrovirală (51).

La femeile cu risc scăzut de transmitere, cum ar fi cele cu HAART cu încărcătură virală scăzută, riscul operator matern ar putea să depășească beneficiul de reducere a transmiterii materno-fetale. În plus, complicațiile post-operatorii sunt discret mai frecvente printre femeile infectate HIV decât cele neinfectate, cu o diferență maximă printre cele cu supresie imunologică (52).

Deși riscul transmiterii HIV-1 prin laptele matern persistă pe durata alăptării, perioada precoce (primele 1-2 luni) ar putea constitui perioada de risc maxim (34). Acest lucru este demonstrat de studiul SAINT, în care toate femeile și copiii au primit profilaxie pentru transmiterea intrapartum (AZT/3TC sau nevirapine în doză unică) (53).

Studiul a inclus atât copii alăptați la sân, cât și cu formulă de lapte; în acest context, alăptarea la sân a fost cel mai important factor de risc al transmiterii materno-fetale. Până la vârsta de 8 săptămâni, alăptarea la sân a determinat creșterea riscului absolut de transmitere cu 6%; în analiza multivariată, riscul de infecție HIV-1 a fost de 2,2 ori mai înalt la pacienții alăptați la sân decât cel al celor alimentați cu formulă în primele 4 săptămâni de viață, și de 7,9 ori mai mare între vârstele de 4 și 8 săptămâni.

În plus față de durata alăptării la sân, factorii de risc ai transmiterii prin laptele matern includ încărcătura virală înaltă a mamei, atât în plasmă, cât și în lapte; numărul scăzut al limfocitelor CD4: factorii imunologici prezenți în laptele matern; afecțiunile sânelui, inclusiv mastita clinică și subclinică, sângerarea mamelonară, escoriațiile mamelonare sau abcese sânelui; și patologia nou-născutului care afectează integritatea mucoasei cum ar fi aftele (7,54).

Mai multe studii au sugerat că alăptarea la sân se asociază cu un risc mai scăzut de transmitere decât alimentația mixtă cu lapte matern și non-matern, lichide sau alte preparate (54,55).

Într-un studiu pe 2.700 de perechi de mame și copii infectați în Zimbabwe, rata de transmitere tardivă postnatală (după 6 săptămâni) a fost de 1,3%

la vârsta de 6 luni și 6,9% la 18 luni la cei alăptați exclusiv la sân comparativ cu 4,4% și respectiv 14,1% la copiii cu alimentație mixtă (55).

În studiul MASHI desfășurat pe 1200 de gravide infectate HIV în Botswana, incidența cumulativă a deceselor copiilor alimentați artificial a fost semnificativ mai mare ($p=0,003$) decât a celor alimentați natural. Studiul din Mozambic, desfășurat pe două cohorte de gravide care au primit HAART din săptămâna 25 de sarcină, și în care un braț a alăptat la sân sub HAART pentru șase luni, iar al doilea braț a folosit formulă de lapte, suplimente nutriționale și filtre pentru apă, a raportat o rată a transmiterii HIV la șase luni de 0,8% la grupul de copii alimentați natural și 1,8% la celălalt grup. Mortalitatea infantilă a fost de 28,5 la 1.000 de persoane-ani la copiii alăptați la sân și 27 la celălalt grup, incidența hipotrofiei ponderale și a anemiei a fost similară, iar costul laptelui artificial a fost similar cu cel al HAART pentru șase luni.

De asemenea, studiul unei cohorte urbane din Coasta de Fildeș care a inclus 557 nou-născuți a raportat mortalitate și morbiditate similare la 2 ani, iar studiul AMATA desfășurat în Rwanda a demonstrat similarități între ratele de transmitere HIV, în ceea ce privește dezvoltarea psiho-motorie, mortalitatea și morbiditatea între copiii alăptați la sân și cei hrăniți artificial, la mamele care au primit HAART.

În ceea ce privește avantajele alimentației naturale la copilul infectat HIV, studiul din Zambia desfășurat pe 153 de copii infectați HIV a arătat o mortalitate mai mare la 12 luni în grupul copiilor înțărcați la 4 luni (57% vs. 29%; $p<0,01$), ca și studiul MASHI din Botswana în care mortalitatea a fost mai mare în grupul copiilor care au primit

alimentație artificială (33,3% vs. 9,4%; $p=0,004$). De asemenea, același studiu a arătat că alimentația cu formulă de lapte conduce la reducerea transmiterii verticale, dar crește mortalitatea (9,3% vs. 4,9%).

Înteruperea alăptării s-a asociat cu o incidență mai mare a diareei și mortalitate mai mare în studiul PEPI (Post Exposure Prophylaxis for Infants). Studiul KiBS din Kenya și studiul BAAN (Malawi) au raportat o rată mai mare a spitalizării după înțărcare la 6 luni, iar studiul HIVIGLOB din Uganda o rată mai mare a gastroenterocolitei după alimentația artificială.

În ceea ce privește alimentația mixtă cu lapte matern și alte lichide, studiul ZEBS a demonstrat o rată de transmitere de 4% la grupul cu alăptare exclusivă și de 10% la grupul cu alimentație mixtă, în timp ce studiul Ditrane a raportat valori de 5,9% și respectiv 31,6%.

În studiul AMATA desfășurat în Rwanda, la gravidele cu HAART rata de transmitere a infecției HIV a fost nulă și nu au existat diferențe între copiii alăptați la sân și cei alimentați artificial. De asemenea, în studiul MITRA (Tanzania) care a inclus numai gravide cu HAART, transmiterea prin alimentație naturală a fost de 0,9%.

Subliniem astfel importanța alimentației la sân în țările cu resurse limitate, în care alternativa hrănirii cu formulă de lapte este nefezabilă, cu menținerea obligativității de a asigura tripla terapie, care ar putea reprezenta soluția problemei infecției HIV în Africa.

Aplicarea acestei recomandări este însă limitată de considerente practice (dificultățile de procurare a triplei terapii, a formulelor de lapte și a posibilităților de preparare a acestora).

BIBLIOGRAFIE

1. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, et al. (1994). Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. *N Engl J Med*, 3312:1173-1180.
2. Magder LS, Mofenson L, Paul ME et al. Risk factors for in utero and intrapartum transmission of HIV. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;38:87-95
3. The international Perinatal HIV Group. The mode of delivery and the risk of vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1: a meta-analysis of 15 prospective studies. *N Engl J Med* 1999;340:977-987
4. The European Mode of Delivery Collaboration. Elective caesarean-section versus vaginal delivery in prevention of vertical HIV-1 transmission: a randomized clinical trial. *Lancet* 1999;353:1035-1039
5. The PETRA Study Team. Efficacy of three short-course regimens of idovudine and lamivudine in preventing early and late transmission of HIV-1 from mother to child in Tanzania, South Africa and Uganda (PETRA study): a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2002;359:1178-1186
6. Jackson JB, Musoke P, et al. Intrapartum and neonatal single-dose nevirapine compared with zidovudine for prevention of mother to child transmission of HIV-1 in Kampala, Uganda: 18 month follow-up of the HIVNET 012 randomised trial. *Lancet* 2003;362:859-868
7. Taha TE, Kumwenda NI, Gibbons A, et al. Short prophylaxis in newborn babies to reduce mother to child transmission of HIV-1: NVAZ randomized clinical trial. *Lancet* 2003; 362:1171-1177
8. McDonald KS et al. Mother-child class I HLA concordance increases perinatal human immunodeficiency virus type 1 transmission. *J Infect Dis*, 1998, 177(3):551-556.
9. Magder LS, Mofenson L, Paul ME, et al. Risk factors for utero and intrapartum transmission of HIV. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2005.38(1):87-95.
10. Mofenson LM. Mother-child HIV-1 transmission: timing and determinants. *Obstetr Gynecol Clin North Am*, 1997, 24(4):759-784.
11. Nijhuis M, Deeks S, Boucher C. Implications of antiretroviral resistance on viral fitness. *Curr Opin Infect Dis*, 2001. 14(1):23-8.
12. Newell M-L, Huang S, Fiore S, et al. Characteristics and management of HIV-1-infected pregnant women enrolled in a randomised trial: differences between Europe and the USA. *BMC Infect Dis*. 2007; 7:60.
13. Newell M-L, Gray G., Bryson Y. J. Prevention of mother-to-child transmission. *AIDS*, 2000, 11 (Suppl A): S165-S172.

14. **Bardeguet A, Shapiro D, Mofenson LM, et al.** Effect of cessation of zidovudine prophylaxis to reduce vertical transmission on maternal HIV disease progression and survival. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirology*, 2003. 32(2): 170-81.
15. **Capparelli EV, Mirochnick M, Dankner WM et al.** Pharmacokinetics and tolerance of zidovudine in preterm infants. *J Pediatr* 2003; 142:47-52.
16. **Chuachoowong R, Shaffer N, Siriwasin W et al.** Short-course antenatal zidovudine reduces both cervicovaginal human immunodeficiency virus type 1 RNA levels and risk of perinatal transmission. *J Infect Dis*, 2000. 181(1):99-106.
17. **Frenkel LM et al.** Analysis of the maternal components of the AIDS Clinical Trial Group 076 zidovudine regimen in the prevention of mother-to-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis*, 1997, 175:971-974.
18. **Lipshultz SE, Easley KA, Orav EJ, et al.** Absence of cardiac toxicity of zidovudine in infants. *N Engl J Med*, 2000. 343(11):759-66.
19. **Wade NA, Bearhead GS, Warren BL, et al.** Abbreviated regimens of zidovudine prophylaxis and perinatal transmission of the HIV. *N Engl J Med* 1998; 339: 1409-14.
20. **Wade NA, Zielinski MA, Butsashvile M, et al.** Decline in perinatal HIV transmission in New York State (1997-2000). *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2004. 36(5):1075-82.
21. **Wade NA, Unadkat JD, Huang S, et al.** Pharmacokinetics and safety of stavudine in HIV-infected pregnant women and their infants: Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 332. *J Infect Dis*, 2004. 190(12):2167-74.
22. **Cooper ER, Charurat M, Mofenson L et al.** Combination antiretroviral strategies for treatment of pregnant HIV-1 infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002; 29:484-94.
23. **Royce RA et al.** Sexual transmission of HIV. *N Engl J Med*, 1997, 15:1072-1078.
24. **Shaffer N, Chuachoowong PA, Mock C, et al.** Short-course zidovudine for perinatal HIV-1 transmission in Bangkok, Thailand: a randomized controlled trial. *Lancet* 1999;353:773-780.
25. **Lallemant M, Jourdain G, Le Coeur S, et al.** A trial of shortened zidovudine regimens to prevent mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med* 2000;343:982-991
26. **Dumond J, Yeh R, Corbett A, et al.** First dose and steady state genital tract pharmacokinetics of ten antiretroviral drugs in HIV-infected women: implications for pre- and post-exposure prophylaxis. Presented at the 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; February 5-8, 2006; Denver, Co.
27. **Ghys PD et al.** The associations between cervicovaginal HIV shedding, sexually transmitted diseases and immunosuppression in female sex workers in Abidjan, Cote d'Ivoire. *AIDS*, 1997, 11(12):F85-F93.
28. **John GC et al.** Genital shedding of human immunodeficiency virus type-1 DNA during pregnancy: association with immunosuppression, abnormal cervical and vaginal discharge and severe vitamin A deficiency. *J Infect Dis*, 1997, 175(1):57-62.
29. **Kluman E et al.** HIV and reproductive tract infections in a total village population in rural Kilimanjaro, Tanzania: women at increased risk. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirology*, 1997, 14:163-168.
30. **Coll O et al.** Vertical HIV-1 transmission correlated with a high maternal viral load at delivery. *J Acquir Immune Defic Hum Retrovirology*, 1997, 14:26-30.
31. **Shapiro R, Thior I, Gilbert P, et al.** Maternal single-dose nevirapine may not be needed to reduce mother to child HIV transmission in the setting of maternal and infant zidovudine and infant single-dose nevirapine: the result of a randomized clinical trial in Botswana. Abstract 74B, 12th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Boston, MA: 22-25 February 2005
32. **ANRS1201/1202 DITRAME PLUS Study Group.** Field efficacy of zidovudine, lamivudine and single-dose nevirapine to prevent peripartum HIV transmission. *AIDS* 2005; 19:309-318.
33. **Dorenbaum A, Cunningham CK, Gelbert RD et al.** Two-dose intrapartum/newborn nevirapine and standard antiretroviral therapy to reduce perinatal HIV-1 transmission: a randomized trial. *JAMA* 2002; 288:189-198
34. **Fowler MG, Newell ML.** Breast-feeding and HIV-1 transmission in resource-limited settings. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002;30:230-239
35. **The breast-feeding and HIV International Transmission Study Group.** Late postnatal transmission of HIV-1 in breast-fed children: an independent patient data meta-analysis. *J Infect Dis* 2004;189: 2154-2166
36. **Coutsoudis A, Pillay K, Kuhn L et al.** Method of feeding and transmission of HIV-1 from mothers to children by 15 months of age: prospective cohort study from Durban, South Africa. *AIDS* 2001; 15:379-87.
37. **Coutsoudis A, Goga AE, Rollins N, Coovadia HM et al.** Free formula milk for infants of HIV-infected women: blessing or curse? *Health Policy Plan*. 2002 Jun; 17 (2):154-60.
38. **Wiktor S, Ekpini E, Karon J, et al.** Short-course oral zidovudine for prevention of mother to child transmission of HIV-1 in Abidjan, Cote d'Ivoire: a randomized trial. *Lancet* 1999;353:781-785
39. **HIV and infant feeding.** Geneva, Joint United Nations Programme on HIV/AIDS, 1997:1-2.
40. **Iliff PJ, Piwoz EG, Tavengwa NV, Zunguza CD et al.** Early exclusive breastfeeding reduces the risk of postnatal HIV-1 transmission and increases HIV-free survival. *AIDS* 2005 Apr 29; 19 (7): 600-708.
41. **Kambarami RA, Kowo H.** The prevalence of nipple disease among breast feeding mothers of HIV seropositive infants. *Cent Afr J Med*, 1997, 43(1):20-22.
42. **Burger H et al.** Maternal serum vitamin A levels are not associated with mother-to-child transmission in the United States. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirology*, 1997, 14(4):321-326.
43. **Hengel RL et al.** Neutralizing antibody and perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1. New York City Perinatal HIV Transmission Collaborative Study Group. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 1998, 14(6):475-481.
44. **Kalish LA et al.** Defining the time of fetal or perinatal acquisition of human immunodeficiency virus type 1 on the basis of age at first positive culture. *J Infect Dis*, 1997, 175:712-715.
45. **Kuhn L et al.** Timing of maternal-infant HIV transmission: associations between intrapartum factors and early polymerase chain reaction results. *AIDS*, 1997, 11:429-435.
46. **Goedert JJ.** Vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1: insights from studies of multiple pregnancies. *Acta Paediatr*, 1997, Suppl 421:56-72.
47. **European Collaborative Study.** Exposure to antiretroviral therapy in utero or early life: the health of uninfected children born to HIV-infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2003. 32(4):380-7.
48. **European Collaborative Study.** Swiss Mother and Child HIV Cohort Study. Combination antiretroviral therapy and duration of pregnancy. *AIDS* 2000; 14:2913-20.
49. **Shearer WT, Kalish LA, Zimmerman PA.** CCR5 HIV-1 vertical transmission. Women and Infants Transmission Study Group. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirology*, 1998, 17(2):180-181.
50. **The Perinatal Safety Review Working Group.** Nucleoside exposure in the children of HIV-infected women receiving antiretroviral drugs: absence of clear evidence for mitochondrial disease in children who died before 5 years of age in five United Cohorts. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirology*, 2000. 25(3):261-8.
51. **European Collaborative Study.** Mother to child transmission of HIV-1 infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2005; 40:458-465
52. **Center for Disease Control and Prevention.** Recommendations for use of antiretroviral drugs in pregnant HIV-1 infected women for maternal health and interventions to reduce perinatal HIV-1 transmission in the United States. Online. Available: <http://AIDSInfo.nih.gov> (accessed 28 February 2005)
53. **Moodley D, Moodley J, Coovadia H, et al.** A multicenter randomized controlled trial of nevirapine versus a combination of zidovudine and lamivudine to reduce intrapartum and early postpartum mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis*, 2003. 187 (5): 725-35.
54. **John-Stewart G, Mbori-Ngacha D, Epkini R, et al.** Breast-feeding and transmission of HIV-1. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;35:196-202
55. **Piwoz E, Iliff P, Tavengwa N, et al.** Early introduction of non-human milk and solid foods increases the risk of postnatal HIV-1 transmission in Zimbabwe. Abstract MoPb2008. XV International AIDS Conference, Bangkok, Thailand:11-16 July 2004