

HIV infection in newborns – laboratory diagnosis

Infecția HIV la nou-născut și sugar – diagnostic de laborator

**Miorița Toader¹, Olivia Ștefan¹, Andreea Șerbănică¹, Daniela Neacșu²,
Mircea Drăghici³, Corneliu Toader⁴**

¹Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Grigore Alexandrescu”, București, România

²Institutul Național de Geriatrie „Ana Aslan”, București, România

³Dentirad Hospital Ploiești, România

⁴INNBCV București, România

ABSTRACT

AIDS was reported in the pediatric population for the first time in 1982 in the USA by pediatricians who hardly managed to convince those responsible for childcare, because it can also occur in this population segment. Thanks to efforts for disease recognition in the pediatric population, scientists have been able to provide support and children infected with human immunodeficiency virus (HIV) receive the same treatment protocol as adults.

Early detection of HIV infection in pregnant women leads to the possibility for starting a treatment to prevent HIV transmission from mother to child.

The ELISA test has a high sensitivity and is indicated for HIV screening and Western Blot test has highly specificity and confirming the HIV infection.

Keywords: HIV, diagnosis, newborn, infant

REZUMAT

SIDA la populația pediatrică a fost raportată pentru prima oară în anul 1982 în SUA de către medici pediatri care cu greu au reușit să îi convingă pe cei responsabili de îngrijirea copiilor că ea poate să apară și la acest segment de populație. Datorită eforturilor de recunoaștere a bolii în cadrul populației pediatrice, specialiștii au putut să ofere un sprijin, iar copiii să beneficieze de același protocol terapeutic ca și al adulților infectați cu HIV.

Detectarea precoce a infecției cu HIV la femeile gravide duce la posibilitatea începerii unui tratament pentru a preveni transmiterea HIV de la mamă la copil. Testul ELISA are o mare sensibilitate și este indicat în screeningul infecției HIV, iar testul Western Blot este înalt specific și este cel care confirmă infecția HIV.

Cuvinte cheie: infecție HIV, diagnostic, nou-născut, sugar

INTRODUCERE

Infecția cu virusul imunodeficienței umane (HIV) este o infecție ireversibilă, cronică, ce se caracterizează prin depășirea progresivă a mecanismelor de apărare ale organismului gazdă.

SIDA este stadiul ultim în evoluția infecției cronice cu HIV și se caracterizează prin afecta-

rea mai multor organe și sisteme, inclusiv a sistemului nervos central, infecții cu germeni oportuniști și/sau neoplazii, precum și prăbușirea sistemului imun. (1)

Diagnosticul precoce al unei infecții cu HIV la copii are multe avantaje, printre care amintim: furnizarea terapiei antiretrovirale (TARV), capacitatea furnizării tratamentului antibiotic și a

Corresponding author:

Dr. Mircea Drăghici

E-mail: drmircea@gmail.com

Article History:

Received: 12 February 2016

Accepted: 27 February 2016

vaccinurilor. Această terapie este furnizată unui organism al cărui sistem imun nu este încă afectat, beneficiile tratamentului putând fi foarte mari. (1)

Date din literatură ne arată că un procent cuprins între 25-45% din populația pediatrică expusă la HIV poate dezvolta infecția, în condițiile în care nici un fel de intervenție nu este aplicată în vederea transmiterii materno-fetale a acesteia. (1,2)

Atunci când sunt prezente, o serie de argumente pot sugera prezența infecției cu HIV. Există însă și alte afecțiuni cu imunodeficiență ce prezintă manifestări similare: hipergamaglobulinemia, limfopenia, leucopenia, scăderea valorii limfocitelor CD4. (1,2)

Diagnosticarea serologică a infecției HIV la copilul mic, sub vârsta de 18 luni, este complicată de transferul pasiv al anticorpilor materni prin placentă. Diferențierea Ac-HIV ce provin de la mamă față de cei proprii nu este posibilă, motiv pentru care la nou-născut trebuie luate în considerare testele pentru detectarea virusului sau pentru detectarea antigenelor virale. (2)

La copilul mai mare de 18 luni, cu mamă seropozitivă pentru HIV sau la copiii de orice vârstă infectați cu HIV prin orice altă cale în afară de calea verticală, diagnosticarea este facilă și poate să fie confirmată prin două teste serologice pozitive (două teste ELISA pozitive din două probe diferite de sânge) și un test WESTERN BLOT pozitiv. (3)

TESTUL ELISA (ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY) SAU EIA (ENZYME IMMUNOASSAY)

Acest test este eficient ca test de screening datorită sensibilității sale înalte, a costului redus și a tehnicii simple de executare. Prin acest test se evidențiază prezența anticorpilor anti-HIV, dar este necesară confirmarea printr-un test specific suplimentar. Acesta este un test indirect și poartă numele de testul Western Blot. (4)

Testul ELISA se realizează prin punerea în contact a serului pacientului cu antigene virale produse în laborator. Dacă pacientul testat are anticorpi anti-HIV, apare o reacție antigen-anticorp, iar rezultatul iese pozitiv. Rezultate fals pozitive apar dacă pacientul este în așa-numita fereastră imunologică, adică în intervalul în care nu au apărut încă anticorpii anti-HIV; de aceea, este recomandat a se retesta cu o tehnică diferită. (3,4)

Dacă rezultatul este negativ, se consideră că pacientul este seronegativ HIV. Dacă există două teste ELISA pozitive, este recomandată efectuarea testului Western Blot.

Dacă un copil și la vârsta de 12 luni este pozitiv la testele serologice, trebuie repetată testarea la vârsta de 16-18 luni. (5)

Două sau mai multe teste ELISA-IgG negative, care au fost făcute la interval de cel puțin o lună peste vârsta de 6 luni, pot să crească siguranța în a exclude posibilitatea unei infecții HIV la copii născuți din mame infectate, numai dacă testele au fost negative și dacă nu au semne clinice ale bolii.

După 12 luni de viață, testul ELISA se poate face pentru a stabili dacă anticorpii de la mamă transferați copilului în viața intrauterină au dispărut și numai dacă acest lucru nu a putu fi anterior stabilit. (3)

Testul ELISA este un test cu o sensibilitate foarte mare, în vederea screening-ului infecției HIV, iar testul Western Blot este un test înalt specific și confirmă infecția HIV. (5)

TESTUL WESTERN BLOT

Prin acest test se confirmă prezența anticorpilor împotriva anumitor proteine specifice HIV, ce sunt separate în funcție de greutatea lor moleculară, într-un gel de electroforeză în care este plasat serul care trebuie testat, formând benzi și transferate pe o membrană de nitroceluloză. (6)

Rezultatul testării este pozitiv dacă există anticorpi împotriva a cel puțin două antigene virale, dintre care unul trebuie să fie de suprafață.

Dacă există minimum 2 anticorpi împotriva antigenelor HIV, testul este reactiv, pacientul este HIV seropozitiv; dacă există o reacție, dar insuficientă, pentru îndeplinirea criteriilor de rezultat pozitiv, testul este nedeterminat, iar dacă nu există niciun anticorp prezent, testul este nereactiv, iar pacientul testat este HIV negativ. (6,7)

Un rezultat nedeterminat presupune să se aștepte 3-6 luni și apoi să se repete testarea ELISA și Western Blot. Dacă și de această dată rezultatul este tot nedeterminat, se consideră că pacientul este HIV negativ sau este recomandat efectuarea unui PCR pentru ARN-HIV. (7) Și acest test este un test indirect, de evidențiere a anticorpilor anti-HIV.

În prezent infecția HIV poate fi diagnosticată la majoritatea nou-născuților prin teste virusologice.

TESTE VIRUSOLOGICE

Testele virusologice care pot să stabilească diagnosticul de infecție HIV la nou-născut și sugar sunt:

1. Culturile virale
2. ADN-PCR
3. ARN-PCR
4. Ag p24 (7,8)

Testele care evidențiază anticorpii anti-HIV, indiferent cât de performante ar fi, nu pot să stabilească diagnosticul de infecție la nou-născut și sugar din cauza transferului de anticorpi de la mamă.

1. Culturile virale

Aceste teste trebuie efectuate în dinamică, având în acest mod certitudinea că sunt cât mai corect interpretate. Pentru testarea virusologică, prima probă de sânge se recoltează sub vârsta de 48 de ore, ulterior se recoltează la 1-2 luni și apoi între 3-6 luni. Recoltarea unei probe de sânge la vârsta de 14 zile contribuie la stabilirea cât mai rapidă a unui diagnostic de certitudine. (8)

2. ADN-PCR HIV

La vârsta de o lună acest test are o sensibilitate de 96% și o specificitate de 99% în identificarea ADN-ului proviral HIV în sângele periferic, respectiv în mononucleare.

Sensibilitatea testului nu se modifică în prima săptămână de viață. În săptămâna a doua se îmbunătățește semnificativ și ajunge de la 38% în primele două zile de viață, la 93% la vârsta de două săptămâni. (9)

Testele ADN pentru diferite subtipuri de HIV, altul decât subtipul B, pot fi frecvent negative. Acest lucru este important deoarece în România este frecvent subtipul F. Este preferată efectuarea PCR pentru ADN-ul viral. (8)

3. ARN-PCR HIV

În primele săptămâni sensibilitatea acestui test este de aproximativ 25-40%; ulterior, crește la 90-100% la vârsta de 2-3 luni.

În diagnosticul precoce al infecției cu HIV la nou-născut sau la sugarul expus riscului de transmitere verticală, testele de evidențiere a ARN viral în ser sunt, se pare, la fel de sensibile ca cele care pun în evidență ADN-ul viral. (8,9)

ARN-PCR detectează virusul liber în ser, cuantificând viremia, fiind util în monitorizarea tratamentului ARV, alături de CD4.

Cultura virală are aceeași sensibilitate ca testele ADN, ARN, fiind mult mai scumpă și mult mai laborioasă, iar rezultatele sunt date după 2-4 săptămâni. Testele ADN pozitive pot fi confirmate prin testarea ARN. (10) Cert este că o singură testare nu poate tranșa diagnosticul de infecție cu HIV.

4. Ag p24

Este recomandat ca testarea inițială să se efectueze la vârsta de 2 zile, pentru că la această vârstă pot fi identificați cu aproximație un procent de 40% din copiii infectați HIV. Acesta este un test direct.

Testarea nu este indicat a se face din sângele din cordonul ombilical, deoarece la acest nivel

poate exista sânge contaminat cu sângele mamei. (10,11)

Nu este de dorit să se facă acest test singur din cauza rezultatelor fals-pozitive în număr ridicat, mai ales la nou-născut.

Acest test pentru antigenul p24 sau prin complexe imune disociate este un test foarte specific, dar cu o sensibilitate mai scăzută decât a testelor anterior prezentate. Atunci când este prezent, acesta permite diagnosticul precoce de infecție HIV, dar sensibilitatea sa este scăzută la sugarii cu vârsta sub 3 luni. Modificarea testului realizată prin disocierea în mediu acid a complexelor imune care eliberează o cantitate ridicată de Ag p24 duce la creșterea sensibilității acestuia. (11)

Pozitivarea testului în primele 2 zile de la naștere sugerează o infecție HIV intrauterină cu potențial de a progresa rapid boala. Un test pozitiv după prima lună de viață sugerează o infecție HIV produsă în timpul nașterii, dacă în primele 2 zile testul a fost negativ. (12)

Efectuarea testelor ARN-HIV este recomandată astfel:

- în primele 2 zile de viață;
- în ziua 14 de viață dacă prima testare a fost negativă;

- între luna 1 și 2 de viață;
- între luna 3 și 6 de viață dacă testarea efectuată anterior a fost negativă.

Statistic nu există diferențe semnificative între testele pozitive la 2 și la 7 zile de la naștere sau chiar până la 2 luni de viață. (13)

Există posibilitatea de a exclude infecția HIV la sugarul alimentat artificial de la naștere în situația în care testele virusologice făcute la 1-2 luni și la vârsta de 3-6 luni au fost negative.

Negativarea serologică a unui copil la vârsta de 16-18 luni și care a avut testele ADN, ARN anterior negative, confirmă statutul de copil neinfectat. (14)

Un pacient în vârstă de 16-18 luni care provine dintr-o mamă infectată și care are teste serologice pozitive este considerat infectat HIV.

În situația în care gravida a primit un tratament agresiv combinat ARV sau/și nou-născutul a primit și el un tratament ARV profilactic complex, interpretarea testelor virusologice și-a pierdut din certitudine, și în acest caz este necesar a se repeta testele serologice și virusologice. (13,14)

BIBLIOGRAFIE

1. Temple M.E., Koranyi K.I., Nahata M.C. – Lipodystrophy in HIV-infected pediatric patients receiving protease inhibitors, *Ann Pharmacother*, 2003.
2. Petrea S., Chirilă O. – Ghid de consiliere în infecția HIV/SIDA. Practici și proceduri, București, 2001.
3. Petrea S. – Ghid de prevenire a transmiterii HIV în practica medicală, Ed. All, București, 2002.
4. Tovo P., de Martino M., Gagiano C., et al. – Prognostic factors and survival in children with perinatal HIV infection, *Lancet*, 1992.
5. Thuret M.G., Chambost H., et al. – Combination antiretroviral therapy including ritonavir in children with HIV, *AIDS*, 1999.
6. Zeichner S.L., Read J.S. – Handbook of Pediatric HIV Care, Lippincott, Williams&Wilkins, London, 1999.
7. Wilfert C.M., Wilson C., Luzuriaga K., Epstein L. – Pathogenesis of pediatric human immunodeficiency virus type 1 infection, *J. Infect. Dis.*, 1994.
8. Thomas S.L., Newell M.L., Pechman C.S., Ades A.E., Hall A.J. – A review of hepatitis C virus vertical transmission: risk of transmission to infants born to mothers with and without HCV viraemia or human immunodeficiency virus infection, *Int. J. Epidemiol.*, 1998.
9. Martin J.L., Brown C.E., Matthews D.N., Reardon J.E. – Effects of antiviral nucleoside analogs on human DNA polymerases and mitochondrial DNA synthesis, *Antimicrob Agents Chemother*, 1994.
10. Bulucea D., Cupșa A., Gheonea C. – Sindromul imunodeficienței dobândite (SIDA) la copil. Editura Medicală, București, 2001.
11. Benea E.O., Streinu Cercel A. – Managementul bolnavului cu infecție HIV, Institutul Național de Boli Infecțioase „Prof. Dr. Matei Balș”, București, 2001.
12. Galli L., de Martino M., Tovo P.A., et al. – Onset of clinical signs in children with HIV-1 perinatal infection, *AIDS*, 1995.
13. Giaquinto C., Rampon O., Perea S. – Childcare and Pediatrics, CME, MED-KEIK&RAA, Padova, 2001.
14. Lipschutz S.E., Easley K.A., Orav J.E. – Left ventricular structural and Function in Children Infected with HIV, *Circulation*, 1998.