

Н. В. Котова, О. О. Старець

ДІАГНОСТИЧНА ЦІННІСТЬ ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ ВІЛ МЕТОДОМ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ У ДІТЕЙ, НАРОДЖЕНИХ ВІЛ-ІНФІКОВАНИМИ ЖІНКАМИ

Одеський державний медичний університет

Темпи розвитку епідемії ВІЛ-інфекції в Україні залишаються високими. За станом на квітень 2006 р. загальна кількість дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, становила більше 14 000 [1]. Уточнити ВІЛ-статус дитини, народженої ВІЛ-інфікованою жінкою, дуже важливо з медичної, соціальної, економічної, психоемоційної точки зору.

Складність діагностики і виключення діагнозу ВІЛ-інфекції у дітей, народжених ВІЛ-інфікованими матерями, зумовлена тим, що в сироватці крові дітей, у тому числі не інфікованих ВІЛ, протягом тривалого часу циркулюють материнські антитіла (імунoglobуліни класу G) до ВІЛ, передані дитині у внутрішньоутробний період. За допомогою серологічних методів діагностики ВІЛ-інфекції у дітей, народжених ВІЛ-позитивними матерями, здійснюється на підставі 1 позитивного результату дослідження антитіл до ВІЛ методом ІФА у віці 18 міс і старше, підтвердженого імунним блотом або іншою підтверджуючою діагностичною системою. Зняття дітей з диспансерного обліку як не інфікованих ВІЛ здійснюється або на підставі двох негативних результатів ІФА у віці молодше 18 міс, або одного негативного результату ІФА у віці 18 міс і старше [2]. Більш рання діагностика ВІЛ-інфекції у дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, може здійснюватися шляхом визначення генетичного матеріалу ВІЛ

(провірочної ДНК або РНК) методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [3]. За даними літератури, в економічно розвинених країнах, де цей метод використовують вже близько 10 років, відома діагностична цінність тест-систем до циркулюючих у цих країнах штамів ВІЛ. Позитивний результат ПЛР у віці 48 год спостерігається у 38 % ВІЛ-інфікованих новонароджених. На другому тижні життя чутливість методу зростає і в 14 днів досягає 93 %. У віці 28 днів чутливість ПЛР сягає 96 % (специфічність — 99 %), а у віці 3–5 міс — 99–100 %. Однак, як показують дослідження, у зв'язку з високою варіабельністю ВІЛ діагностичні тест-системи у різних країнах можуть демонструвати різну ефективність з урахуванням домінуючих типів вірусу [3–7]. Проведення ПЛР — складний технічний процес. При порушенні правил взяття крові, контамінації зразків крові чи обладнання можливе отримання хибнопозитивних результатів. Хибнонегативні результати можуть спостерігатися при низькому вірусному навантаженні, нечутливості тест-системи до циркулюючих субтипів ВІЛ, порушенні правил транспортування чи зберігання зразків крові [3; 8]. В Україні методики визначення генетичного матеріалу ВІЛ тільки починають запроваджуватися. На цьому етапі більша імовірність помилок, обумовлених технічними погрешностями і «людським фактором».

Мета даного дослідження — вивчити і порівняти чутливість і специфічність якісного визначення в крові дітей раннього віку генетичного матеріалу ВІЛ двома методами ПЛР (визначення РНК і провірочної ДНК) з використанням різних тест-систем.

Матеріали та методи дослідження

Проведено ретроспективний аналіз результатів дослідження РНК ВІЛ і провірочної ДНК методом ПЛР у 486 дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, з уточненим ВІЛ-статусом, які знаходилися під наглядом в Одеському обласному центрі профілактики і боротьби зі СНІДом в 2000–2005 рр. На момент взяття крові для дослідження методами ПЛР всі діти були з неуточненим ВІЛ-статусом. Остаточне уточнення діагнозу ВІЛ-інфекції здійснювалося на підставі дослідження в сироватці крові антитіл до ВІЛ методом ІФА діагностичною системою DIAPROF. Позитивні результати ІФА підтверджували імунним блотом або повторними дослідженнями порції крові діагностичною системою ABBOTT та іншими діагностичними системами, рекомендованими МОЗ України. Діагноз ВІЛ-інфекції встановлювався дітям, якщо антитіла до ВІЛ зберігалися у віці старше 18 міс. Зняття дітей з диспансерного обліку як не інфікованих ВІЛ здійснювалося на підставі двох негативних результатів ІФА у віці молодше 18 міс або одного негатив-



ного результату ІФА у віці 18 міс і старше з урахуванням клінічних даних і виду вигодування.

Дана робота — аналіз дослідження генетичного матеріалу ВІЛ двома методами ПЛР в крові дітей раннього віку в Одеській області: якісного виявлення РНК ВІЛ за допомогою тесту PrimGene Assay (чутливість 500 копій/мл, специфічність 100 % відносно ВІЛ і субтипів М, N, O) і якісного виявлення провірусної ДНК за допомогою тест-системи «Амплісенс ДНК ВІЛ» російського виробництва.

Для досягнення поставленої мети 225 результатів якісного визначення РНК ВІЛ (I діагностичний метод) у 212 дітей і 713 результатів дослідження провірусної ДНК (II діагностичний метод) у 386 дітей (у 113 дітей використовувалися обидва методи) трактувалися як позитивні, хибнопозитивні, хибнонегативні та негативні, потім проводилася оцінка точності кожного методу шляхом розрахунку ряду показників. Діагностична чутливість (ДЧ) — це відношення кількості позитивних результатів до суми позитивних і хибнонегативних результатів. Цей показник характеризує імовірність позитивного результату за наявності інфекції. Діагностична специфічність (ДС) — відношення кількості негативних результатів до суми негативних і хибнонегативних результатів. Цей показник характеризує імовірність негативного результату за відсутності інфекції. Крім того, нами розраховувалася прогностична цінність позитивного результату (ПЦПР) — відношення кількості позитивних результатів до суми позитивних і хибнопозитивних результатів. Цей показник характеризує імовірність наявності інфекції при позитивному результаті тесту. Прогностична цінність негативного результату (ПЦНР) — відношення кількості негативних ре-

зультатів до суми негативних і хибнонегативних результатів, що характеризує імовірність відсутності інфекції при негативному результаті тесту. Відношення правдоподібності при позитивному результаті (ВППР) показує, у скільки разів імовірність позитивного результату тесту вища у пацієнта з ВІЛ-інфекцією порівняно з пацієнтом, у якого захворювання відсутнє. Відношення правдоподібності при негативному результаті (ВПНР) свідчить про те, у скільки разів імовірність негативного результату вища у пацієнта з ВІЛ-інфекцією порівняно з пацієнтом, у якого немає даного захворювання. Для кожного методу аналогічно розраховувалася діагностична ефективність (ДЕ) — середнє між ДЧ і ДС. Для показників розраховувався 95%-й довірчий інтервал (ДІ).

Статистичні розрахунки й оцінка одержаних даних проводилися за допомогою пакета програм STATISTICA 5, 5a на персональному комп'ютері.

Результати дослідження та їх обговорення

Методом ПЛР обстежено 486 дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками: 262 хлопчики і 224 дівчинки віком від 2 днів до 18 міс; у 80 з них встановлено діагноз ВІЛ-інфекції, 406 — не інфіковані ВІЛ.

Розподіл результатів дослідження I діагностичним методом за віком, в якому воно проводилося: від 1 до 7 днів — 0 випадків, від 8 днів до 2 міс

— 41 (18,5 %), від 3 до 6 міс — 126 (57 %), після 6 міс — 54 (24,4 %) випадки. Розподіл результатів дослідження II діагностичним методом за віком, в якому воно проводилося: від 1 до 7 днів — 165 (23,1 %) випадків, від 8 днів до 2 міс — 131 (18,4 %), від 3 до 6 міс — 276 (38,7 %), після 6 міс — 140 (19,6 %) випадків.

Для аналізу точності I діагностичного методу всі його результати внесені в табл. 1.

При обстеженні дітей I діагностичним тестом не було виявлено жодного хибнопозитивного чи хибнонегативного результату. Діагностична чутливість I діагностичного методу дорівнює 1 (ДІ 1–1), тобто імовірність позитивного результату за наявності ВІЛ-інфекції становить 100 %. Діагностична специфічність I діагностичного методу дорівнює 1 (ДІ 1–1), тобто імовірність негативного результату за відсутності ВІЛ-інфекції становить так само 100 %. Прогностична цінність позитивного результату дорівнює 1, тобто при позитивному результаті тесту імовірність ВІЛ-інфекції становить 100 %. Прогностична цінність негативного результату дорівнює 1, тобто при негативному результаті тесту імовірність відсутності ВІЛ-інфекції так само становить 100 %. Для I діагностичного методу ДЕ дорівнює 1; ВППР і ВПНР дорівнюють 1 (ДІ 0–∞).

Для аналізу точності II діагностичного методу результати були внесені в табл. 2. Для II діагностичного методу ДЧ

Таблиця 1

Співвідношення між результатами визначення РНК ВІЛ методом ПЛР та справжнім ВІЛ-статусом дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками

Результат визначення РНК ВІЛ	ВІЛ-статус дитини		Сума
	Позитивний	Негативний	
Позитивний	Позитивний, n=28	Хибнопозитивний, n=0	28
Негативний	Хибнонегативний, n=0	Негативний, n=197	197
Сума	28	197	225



дорівнює 0,95 (ДІ 0,91–0,99), тобто імовірність позитивного результату за наявності ВІЛ-інфекції становить 95 %; ДС II діагностичного методу дорівнює 0,92 (ДІ 0,9–0,94), тобто імовірність негативного ре-

зультату за відсутності ВІЛ-інфекції становить 92 %; Для II діагностичного методу ПЦПР результату дорівнює 0,69, тобто при позитивному результаті тесту імовірність ВІЛ-інфекції становить 69 %; ПЦНР дорів-

нює 0,99, тобто при негативному результаті тесту імовірність відсутності ВІЛ-інфекції так само становить 99 %. Величина ДЕ II діагностичного методу — 0,84; ВППР — 11,55 (ДІ 8,8–15,16).

Таблиця 2

Співвідношення між результатами визначення провірусної ДНК методом ПЛР та справжнім ВІЛ-статусом дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками

Результат визначення РНК ВІЛ	ВІЛ-статус дитини		Сума
	Позитивний	Негативний	
Позитивний	Позитивний, n=110	Хибнопозитивний, n=49	159
Негативний	Хибнонегативний, n=6	Негативний, n=548	554
Сума	116	597	713

Таблиця 3

Співвідношення між результатами визначення провірусної ДНК методом ПЛР та справжнім ВІЛ-статусом дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, в різні вікові періоди

Результат визначення провірусної ДНК	ВІЛ-статус дитини		Сума
	Позитивний	Негативний	
Позитивний, вік від 1 до 7 днів	Позитивний, n=20	Хибнопозитивний, n=16	n=36
Негативний, вік від 1 до 7 днів	Хибнонегативний, n=3	Негативний, n=127	n=130
Позитивний, вік від 8 днів до 1 міс	Позитивний, n=4	Хибнопозитивний, n=3	n=7
Негативний, вік від 8 днів до 1 міс	Хибнонегативний, n=1	Негативний, n=33	n=34
Позитивний, вік від 1 до 2 міс	Позитивний, n=7	Хибнопозитивний, n=6	n=13
Негативний, вік від 1 до 2 міс	Хибнонегативний, n=0	Негативний, n=77	n=77
Позитивний, вік від 3 до 6 міс	Позитивний, n=53	Хибнопозитивний, n=14	n=67
Негативний, вік від 3 до 6 міс	Хибнонегативний, n=1	Негативний, n=208	n=209
Позитивний, вік старше 6 міс	Позитивний, n=26	Хибнопозитивний, n=10	n=36
Негативний, вік старше 6 міс	Хибнонегативний, n=1	Негативний, n=103	n=104
Сума	n=116	n=597	n=713

Аналіз ДІ ДЧ і ДС свідчить про існування вірогідних відмінностей у точності діагностичних методів. Проте такі відмінності можуть бути зумовлені відмінностями у віці обстеження дітей: II діагностичним методом обстежено більше дітей перших 2 міс, коли більша імовірність негативного результату ПЛР, що визначається більш низьким вірусним навантаженням у дітей, інфікованих ВІЛ у пологах. Далі було проведено аналіз точності II діагностичного методу щодо кожного вікового інтервалу (табл. 3).

Результати оцінки точності II діагностичного методу щодо кожного вікового інтервалу наведено в табл. 4.

Аналіз одержаних даних свідчить, що ДЧ II діагностичного тесту вірогідно не відрізняється від більш дорогого I діагностичного тесту, але ДС II діагностичного тесту в усі вікові періоди вірогідно нижча. Оцінка точності II діагностичного тесту за віковими інтервалами виявила у дітей віком до 1 міс більш низьку діагностичну ефективність.

Алгоритм уточнення ВІЛ-статусу за допомогою серологічних методів і методів визначення генетичного матеріалу ВІЛ у дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, потребує подальшого обговорення з

Таблиця 4

Оцінка точності визначення провірусної ДНК методом ПЛР у дітей, народжених ВІЛ-інфікованими жінками, в різні вікові періоди

Вік	ДЧ (ДІ)	ДС (ДІ)	ПЦПР	ПЦНР	ВППР	ВПНР	ДЕ
Від 1 до 7 днів	0,87 (0,73–1)	0,89 (0,84–0,94)	0,56	0,98	7,8	0,15	0,88
Від 8 днів до 1 міс	0,8 (0,3–0,99)	0,92 (0,76–0,98)	0,57	0,97	9,6	0,21	0,86
Від 1 до 2 міс	1 (0,56–0,99)	0,93 (0,84–0,97)	0,54	1	13,8	0	0,97
Від 8 днів до 2 міс	0,92 (0,76–1)	0,92 (0,87–0,97)	0,55	0,99	12,1	0,09	0,92
Від 3 до 6 міс	0,98 (0,95–1)	0,94 (0,91–0,97)	0,79	1	15,6	0,02	0,96
Старше 6 міс	0,96 (0,89–1)	0,91 (0,86–0,96)	0,72	0,99	10,9	0,04	0,94



урахуванням отриманих результатів.

Висновки

1. Визначення РНК ВІЛ методом ПЛР із використанням тесту PrimGene Assay має високу діагностичну чутливість і специфічність для діагностики ВІЛ-інфекції у дітей раннього віку в Україні.

2. Визначення провірусної ДНК методом ПЛР з використанням тест-системи «Амплісенс ДНК ВІЛ» має високу діагностичну чутливість, що дає можливість використовувати його для ранньої діагностики ВІЛ-інфекцій у дітей в Україні.

3. Специфічність визначення провірусної ДНК методом ПЛР з використанням тест-системи «Амплісенс ДНК ВІЛ» вірогідно нижча, ніж визначення РНК ВІЛ методом ПЛР з використанням тесту PrimGene Assay.

4. Прогностична цінність позитивного результату визначення провірусної ДНК мето-

дом ПЛР з використанням тест-системи «Амплісенс ДНК ВІЛ» нижча, ніж прогностична цінність негативного результату. Позитивний результат даного дослідження потребує підтвердження повторним позитивним результатом іншого зразка крові.

5. Негативний результат визначення провірусної ДНК методом ПЛР з використанням тест-системи «Амплісенс ДНК ВІЛ» з високим ступенем вірогідності дозволяє виключити діагноз ВІЛ-інфекції у дітей віком старше 1 міс.

ЛІТЕРАТУРА

1. Міжнародний Альянс з ВІЛ/СНІД в Україні. — <http://www.aidsalliance.kiev.ua>.

2. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 15.12.2000 № 344. «Про затвердження методичних рекомендацій з удосконалення організації медичної допомоги хворим на ВІЛ-інфекцію/СНІД».

3. Guidelines for Use Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection. January 20, 2004. — <http://aidsinfo.nih.gov>.

4. Simonds R. J., Brown T. M., Thea D. M. Sensitivity and specificity a qualitative RNA detection assay to diagnose HIV infection in young infants. Perinatal AIDS Collaborative Transmission Study // AIDS. — 1998. — N 12. — P. 1545-1549.

5. Cunningham C. K., Charbonneau T. T., Song D. Comparison human immunodeficiency virus 1 DNA polymerase chain reaction and qualitative and quantitative RNA polymerase chain reaction in human immunodeficiency virus 1-exposed infants // Ped. Infect. Dis. J. — 1999. — N 18. — P. 30-35.

6. Young N. L., Shaffer N., Chaowanachan T. Early diagnosis HIV-1-infected infants in Thailand using RNA and DNA PCR assays sensitive to non-B subtypes // J. Acquir. Immune. Defic. Syndr. — 2000. — N 24. — P. 401-407.

7. Nesheim S., Palumbo P., Sullivan Do. Quantitative RNA testing for diagnosis HIV-infected infants // J. Acquir. Immune Defic. Syndr. — 2003. — N 32. — P. 192-195.

8. Саркисян К. А. Шипулин М. С. Воробьева М. С. Изучение чувствительности и специфичности отечественной ПЦР тест-системы для диагностики ВИЧ-инфекции. — <http://www.pcr.ru>.

УДК 612.821.1:616.12-005.4+616.12-008.331.1

О. Л. Кулик, О. І. Серікова, М. І. Яблучанський

М-ІНДЕКСИ НЕЛІНІЙНОСТІ ВАРІАБЕЛЬНОСТІ СЕРЦЕВОГО РИТМУ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ БОЛЬОВОЮ ФОРМОЮ ХРОНІЧНОЇ ІШЕМІЧНОЇ ХВОРОБИ СЕРЦЯ ЗА НАЯВНОСТІ Й ВІДСУТНОСТІ ДЕПРЕСІЇ

Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна,
НДІ неврології, психіатрії та наркології АМН України

Вступ

За даними [1], частота депресії у кардіологічних пацієнтів становить від 18 до 32 %. З нею пов'язують підвищення ризику розвитку і більш тяжкий перебіг ішемічної хвороби сер-

ця (ІХС) [2]. У пацієнтів з ІХС і супровідною депресією відмічається зниження показників варіабельності серцевого ритму (ВСР), порівняно з показниками пацієнтів без депресії. Очікується, що використання нових методів аналізу ВСР

дозволить знайти закономірності картини ВСР у групах із наявністю і відсутністю депресії.

Робота виконана в рамках НДР «Функціональні проби і інтерпретація досліджень варіабельності серцевого рит-

