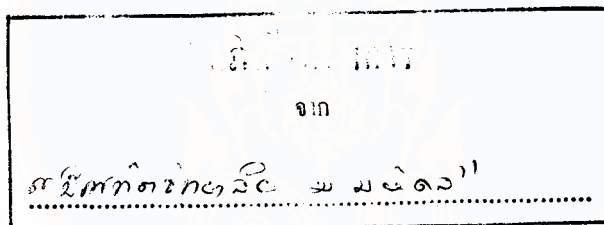




29 JUL 1995

**DIAGNOSIS OF HIV INFECTION IN INFANTS BORN TO  
HIV SEROPOSITIVE MOTHERS**

**SIRIRAT LIKANONSAKUL**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE (MICROBIOLOGY)**

**IN**

**FACULTY OF GRADUATE STUDIES**

**MAHIDOL UNIVERSITY**

**1994**

TH  
ST19 di  
1994

Copyright by Mahidol University

32713

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| ชื่อวิทยานิพนธ์             | การวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสเอชไอวีในเด็กที่เกิดจากมารดาติดเชื้อ   |
| ผู้วิจัย                    | ศิริรัตน์ ลิกานนท์สกุล  |
| ปริญญา                      | วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)   |
| คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ | จันทพงษ์ ะสี, พ.บ.<br>เสนห์ เจียสกุล, พ.บ.<br>รวงผึ้ง สุทเธนทร์, พ.บ. Ph.D.<br>สุดา ลุยศิริโรจนกุล, วท.ม. |
| วันที่สำเร็จการศึกษา        | ๒๖ เมษายน พ.ศ. ๒๕๓๘   |

### บทคัดย่อ

การวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสเอชไอวีในเด็กที่เกิดจากมารดาติดเชื้อ โดยการตรวจหา anti-HIV เช่นเดียวกับผู้ใหญ่ นั้น ไม่สามารถวินิจฉัยการติดเชื้อในเด็กเหล่านี้ได้ เนื่องจากการตรวจแอนติบอดีด้วยน้ำยาสำเร็จรูปที่ใช้ในปัจจุบันเป็นการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG ซึ่งเป็นแอนติบอดีชนิดที่ทารกได้รับถ่ายทอดจากมารดาผ่านทางรกและอาจตรวจพบได้เป็นเวลานาน 6 ถึง 15 เดือน วิธีการตรวจใหม่ๆที่สามารถใช้ในการวินิจฉัยให้ได้ผลรวดเร็ว แม่นยำ และถูกต้อง ได้แก่ การตรวจสารพันธุกรรมของไวรัสด้วยวิธี PCR และ nested PCR, การตรวจหาแอนติเจนชนิด p24 และการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgA ซึ่งไม่สามารถผ่านรกได้ งานศึกษาวิจัยนี้ได้นำวิธีการตรวจทั้ง 3 วิธีมาทดสอบและประเมินผล ร่วมกับการตรวจนับค่า T lymphocyte subsets เพื่อใช้วินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสเอชไอวีในเด็กที่เกิดจากมารดาติดเชื้อ

ได้ทำการศึกษาในเด็กจำนวน 135 ราย ที่เกิดจากมารดาติดเชื้อเอดส์ซึ่งมารับการตรวจที่คลินิกพิเศษของโรงพยาบาลศิริราชในระหว่างเดือนเมษายน 2535 ถึง เมษายน 2537 เด็กจำนวน 135 รายนี้ ประกอบด้วยเด็ก 3 กลุ่ม คือ (1) กลุ่มที่ตรวจไม่พบแอนติบอดีแล้ว จำนวน 21 ราย (2) กลุ่มที่ตรวจพบแอนติบอดีและมีอาการเอดส์ จำนวน 25 ราย (3) กลุ่มที่ตรวจพบแอนติบอดีและไม่สามารถวินิจฉัยว่าติดเชื้อหรือไม่ จำนวน 89 ราย สำหรับเด็กกลุ่มสุดท้ายได้ติดตาม และตรวจแอนติบอดีจนอายุ 18 เดือน ในจำนวนเด็ก 89 รายนี้ 19 ราย ตรวจพบแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสเอชไอวีจนกระทั่งอายุ 18 เดือน และมีเพียง 9 รายที่ปรากฏอาการเอดส์ในช่วงอายุ 1-2 ปี

การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ ทำโดยการตรวจเลือดเด็กที่มารับการตรวจรักษาในครั้งแรก และติดตามตรวจเป็นระยะด้วยวิธีการตรวจหา anti-HIV, nested PCR, p24

antigen, anti-HIV IgA และ T-lymphocyte subsets รวมตัวอย่างตรวจทั้งหมด 408 ตัวอย่าง ศึกษาเปรียบเทียบความไวและความจำเพาะโดยดูผล anti-HIV หลังอายุ 6-15 เดือนเป็นมาตรฐาน

วิธี nested PCR ที่นำมาตรวจวินิจฉัย ได้เลือก primers จากบริเวณ gag คือ SK380/SK390 และ SK38/SK39 การศึกษาครั้งนี้พบว่าวิธี nested PCR เป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะสูงสุด (ร้อยละ 100) โดยสามารถให้ผลการตรวจได้ถูกต้องแม่นยำ ทั้งกลุ่มที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ อีกทั้งยังสามารถวินิจฉัยได้รวดเร็ว โดยในกลุ่มที่ติดเชื้อให้การวินิจฉัยได้เมื่อเด็กอายุเพียง 1 เดือน ในขณะที่ยังไม่ปรากฏอาการเอดส์

วิธีตรวจหา p24 antigen ชนิด immune complex dissociation มีความไวร้อยละ 68.54 และความจำเพาะร้อยละ 100 วิธีการตรวจนี้มีประโยชน์อย่างมากในการวินิจฉัยกลุ่มที่ติดเชื้อและปรากฏอาการเอดส์ กลุ่มผู้ป่วยเด็กที่มีอายุน้อยกว่า 6 เดือนที่ศึกษาในครั้งนี้ พบว่าการตรวจ p24 antigen ภายหลังจากการทำ immune complex dissociation มีความไวใกล้เคียงกับวิธี PCR

การตรวจหา anti-HIV IgA ด้วยวิธี capture enzyme immunoassay เป็นวิธีที่ทำได้ไม่ยาก ในการศึกษาครั้งนี้เป็นวิธีที่มีความไวเพียงร้อยละ 24.78 และความจำเพาะ ร้อยละ 96.73 อย่างไรก็ตามความไวและความจำเพาะจะเพิ่มสูงขึ้น เมื่อตรวจในเด็กที่มีอายุมากกว่า 6 เดือน

การตรวจหาค่า T lymphocyte subsets ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ศึกษาจากเด็ก 5 กลุ่มที่เกิดจากมารดาติดเชื้อ โดยจำแนกตามสภาพการติดเชื้อและความรุนแรงของอาการ ในเด็กเหล่านั้นเมื่อแรกเข้าโครงการ และอาการแสดงครั้งสุดท้ายก่อนการประเมินผลข้อมูล ผลการตรวจเลือดจากเด็กที่ได้ติดตามแล้วว่าไม่ติดเชื้อ ซึ่งเกิดจากมารดาติดเชื้อเอดส์ ได้ใช้เป็นกลุ่มควบคุมสำหรับเปรียบเทียบค่าต่างๆกับเด็กที่ติดเชื้อ การประเมินผลและคำนวณค่าทางสถิติได้จำแนกตามกลุ่มอายุและสถานะภาพการติดเชื้อและอาการแสดงของโรค จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า จำนวน CD4 lymphocyte และ CD4 เป็นร้อยละ รวมทั้งอัตราส่วนของ CD4 : CD8 มีค่าลดลงตามอายุ และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อเมื่ออายุ 6 เดือน ในทางตรงกันข้ามค่าร้อยละ CD8 จะสูงขึ้นในกลุ่มที่ติดเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่ออายุ 12 เดือน

อัตราการติดเชื้อจากมารดาสู่ทารกที่พบจากการศึกษาครั้งนี้จะมีค่าเท่ากับ 21.34% ใกล้เคียงกับการศึกษาที่ติดตามเด็กในกรุงเทพมหานคร แต่ต่ำกว่าการศึกษาที่เชียงใหม่

|                              |  |
|------------------------------|--|
| Thesis Title                 | Diagnosis of HIV Infection in Infants Born to HIV Seropositive Mothers   |
| Name                         | Sirirat Likanonsakul   |
| Degree                       | Master of Science (Microbiology)   |
| Thesis Supervisory Committee | Chantapong Wasi, M.D.<br>Sanay Chearskul, M.D.<br>Ruengpung Sutthent, M.D., Ph.D.<br>Suda Louisirirotchanakul, M.Sc. |
| Date of Graduation           | 26 April B.E. 2538 (1995)  |

### Abstract

Diagnosis of HIV infection in infants born to seropositive mothers by the conventional anti-HIV testings is not reliable due to persistence of maternal IgG up to aged 6-15 months. The supplementary methods for early diagnosis of HIV infection in infants have been developed. In this study, the techniques of nested PCR, p24 antigen detection after immune complex dissociation (ICD), anti-HIV IgA (capture enzyme immunoassay) and T lymphocyte subsets have been evaluated for diagnosis of HIV infection in infants born to seropositive mothers.

During April 1992 to April 1994, the 408 subsequent blood samples were collected from 135 infants born to seropositive mothers who attended the special pediatric clinic at Siriraj hospital. At the time of initial visit, the 135 infants were consisted of 21 seroreverters, 25 pediatric AIDS cases (CDC : class P-2) and 89 indeterminate cases (CDC : class P-0). All of indeterminate infants were followed up and tested for anti-HIV antibodies until age of 18 months. Of the 89 infants, 19 cases showed anti-HIV positive until age of 18 months, 9 cases developed symptom

of AIDS (CDC : class P-2) in the first and second year of life.

The nested PCR, using *gag* region primer [SK380/SK390, SK38/SK39] were used and showed the most sensitive (100%) and specific (100%) results for early diagnosis. In this study; 19 of 89 infants were diagnosed as HIV-infected cases at the age of 1 month before clinical symptoms appeared.

The sensitivity and specificity of p24 antigen with immune complex dissociation assay in this study were 68.54% and 100%; respectively, and was more useful for diagnosis of symptomatic cases than asymptomatic ones. The efficacy of p24 antigen was as sensitive as nested PCR in symptomatic infants age less than 6 months.

Anti-HIV IgA by capture enzyme immunoassay is less sensitive than p24 antigen and nested PCR. The sensitivity and specificity were 24.78% and 96.73%, respectively. However, the sensitivity of anti-HIV IgA was increased in infants age more than 6 months.

T lymphocyte subsets were determined in 5 difference subject groups according to infection status and clinical condition at first and last time examination the result were analysed by age group and subject group. The T lymphocyte subsets in uninfected infants born to HIV seropositive mothers were analysed as control in this study. CD4<sup>+</sup> lymphocyte number and percent as well as CD4:CD8 ratio were declined by age and significant difference between uninfected and infected infants (asymptomatic and symptomatic infection) by age of 6 months. Whereas CD8 percent were increased by age in infected infants at age of 12 month. The vertical transmission rate in this study was 21.34%.