Протокол диагностики и формуляр иммунотерапии сепсиса у новорожденных детей.

М.В. Дегтярёва

Кафедра неонатологии ФУВ РГМУ, г.Москва.

I Всероссийская школа по клинической иммунологии «ИММУНОЛОГИЯ ДЛЯ ВРАЧЕЙ».

Пушкиногорье, 05 февраля 2010 года.

Цель:

- Инициировать и вынести на широкое обсуждение членов РАСПМ протокол диагностики неонатального сепсиса.

Пересмотр подходов к постановке диагноза «Неонатальный сепсис» основан на 2 компонентах

- **Лечебно-диагностическая** (научно-практическая) - отражает суть состояния ребенка

- **Организационная** (пересмотр стандартов, обновление инструкций, нормативно-правовой базы, перераспределение финансирования, регулирование взаимоотношений ЛПУ и СЭС)

Неонатальный сепсис -

- Это генерализованное инфекционное заболевание с ациклическим течением, вызванное условно-патогенной бактериальной микрофлорой, в основе которого лежит дисфункция иммунной системы организма с развитием очага (очагов) гнойного воспаления и/или бактериемии, системной воспалительной реакции и полиорганной недостаточности у детей первого месяца жизни.

Экспертная группа РАСПМ, 2003.

Критерии неонатального сепсиса

- Один или более очагов инфекции
  (пневмония, менингит, НЭК, омфалит, остеомиелит, абсцессы, флегмоны, пиелонефрит и др.)
- Полиорганная недостаточность.
- Системный воспалительный ответ.
- Результаты микробиологического исследования (бактериемия и/или положительный посев ликвора).

Классификация сепсиса

- **Ранний неонатальный сепсис –** манифестация симптомов в первые трое суток жизни ребенка; инфицирование происходит антенатально или интранатально. Значима микрофлора родовых путей. Чаще **септицемия**.
- **Поздний неонатальный сепсис –** манифестация с 4-7 суток жизни; инфицирование происходит постнатально. Значима микрофлора окружающей среды. **Септицемия** или **септикопиемия**.

Коллектив авторов посвящает настоящий труд выдающимся Российским Врачам, Педагогам, Учёным Вячеславу Александровичу Таболину и Владимиру Ивановичу Кулакову

Под редакцией академика РАМН Н. Н. Володина

В руководстве освещены:

- Современное состояние и пути развития неонатологической службы Российской Федерации;
- Современные подходы к питанию новорождённых;
- Диагностика и лечение болезней новорождённых;
- Техника основных медицинских манипуляций в неонатологии;
- Выхаживание детей с экстремально низкой массой тела;
- Особенности фармакотерапии у новорождённых.

Развитие инфекции у новорожденных (Haque K., 2005).

- Тахипноэ (>60 в мин) или гипервентиляция
- Колебания температуры тела (<36 °C или >37.9 °C)
- Время наполнения капилляров >3 сек
- Лейкоциты (<4000*10^9/л или >34000*10^9/л)
- СРБ>10мг/дл
- ИЛ-6 или ИЛ-8 >70 пг/мл
- Положительный 16 S rRNA ген при ПЦР

→ **Системный воспалительный ответ**

↓

Наличие очага инфекции и одного или более признаков синдрома системного воспалительного ответа

→ **Сепсис**

↓

Сепсис, сочетающийся с органной дисфункцией, гипотензией, нарушениями тканевой перфузии

→ **Тяжелый сепсис**

↓

Тяжелый сепсис с признаками тканевой и органной гипоперфузии, и артериальной гипотонией, не устраняющейся с помощью инфузионной терапии и требующей назначения катехоламинов

→ **Септический шок**

↓

Синдром полиорганной недостаточности

↓

Смерть

Неонатальный сепсис:

- Сепсис *(очаг + СВО + ПОН)*
- Септический шок

Алгоритм диагностики неонатального сепсиса.

1. Оценка факторов риска **(±)**.
2. Диагностика очагов инфекции **(+)**.
3. Недостаточность 2 и более органов и систем **(+)**.
4. Положительные результаты посева крови и/или ликвора **(±)**.
5. Диагностика системного воспалительного ответа **(+!!!)**.

I. Оценка факторов риска

- Длительный безводный промежуток (более 12 часов)
- Лихорадка у матери в родах
- Острые инфекции и/или обострение хронических инфекций у матери во время данной беременности
- Хорионамнионит
- Эндометрит

- **→ Назначение антибактериальной терапии матери в родах и раннем послеродовом периоде.**

- **Оценка факторов риска обязательна. Наличие факторов риска реализации неонатальной инфекции часто свидетельствует о необходимости назначения антибиотиков ребенку в раннем неонатальном периоде, но не равнозначно диагнозу «Неонатальный сепсис».**

II. Диагностика очагов бактериальной инфекции

- Проводится по общепринятым алгоритмам клинико-лабораторной и инструментальной диагностики локализованных инфекций.

- Желательно проведение микробиологической верификации возбудителя в каждом локусе и сопоставление их.

Частота сочетаний очагов инфекции различной локализации у новорожденных детей с ранним неонатальным сепсисом.

Очаги инфекции	Количество детей
Пневмония	29 (35,4%)
Пневмония + энтероколит	28 (35,4%)
Пневмония + инфекция мочевыводящих путей	2 (2,5%)
Пневмония + конъюнктивит	4 (5,1%)
Пневмония + кандидоз кожи	4 (5,1%)
Пневмония + кандидоз мочевыводящих путей	1 (1,3%)
Пневмония + энтероколит + конъюнктивит	3 (3,8%)
Пневмония +энтероколит + инфекция мочевыводящих путей	2 (2,5%)
Пневмония + энтероколит + кандидоз кожи	4 (5,1%)
Пневмония + кандидоз кожи + кандидоз мочевыводящих путей	1 (1,3%)
Пневмония + энтероколит + инфекция мочевыводящих путей + конъюнктивит	1 (1,3%)

III. Диагностика полиорганной недостаточности.

- Проводится по общепринятым критериям недостаточности всех основных органов.

III. Диагностика полиорганной недостаточности.

Системы органов	Клинические признаки	Лабораторные критерии
Дыхательная недостаточность	Тахипноэ или реже брадипноэ. Цианоз пероральный, общий. Аускультативно - ослабленное дыхание, возможна крепитация. Необходимость в ИВЛ или PEEP.	$PaO_2 < 70$ мм рт. ст. $SaO_2 < 90$ % $PaO_2/FiO_2 < 300$ Респираторный или смешанный ацидоз
Сердечно-сосудистая недостаточность	Тахи- или брадикардия. Расширение границ сердца. Нарушения ритма. Артериальная гипотензия. Увеличение печени и селезенки, отеки. Необходимость гемодинамической поддержки.	Снижение фракции выброса. Снижение сердечного выброса. Изменения на ЭКГ метаболического характера.

III. Диагностика полиорганной недостаточности.

Системы органов	Клинические признаки	Лабораторные критерии
Почечная недостаточность	Олигурия. Анурия. Отеки.	Увеличение в крови уровней креатинина (более 130 мкмоль/л) и/или мочевины (более 16,7 ммоль/л). Гиперкалиемия (более 6,0 ммоль/л). Протеинурия>0,033г/л.
Печеночная недостаточность	Увеличение печени. Желтуха.	Повышение уровня АСТ, АЛТ. Нарушение синтетической функции печени (уровень альбумина в сыворотке крови ниже 30 г/л одновременно со снижением уровня фибриногена менее 2 г/л и/или снижением ПТИ≤60); Нарушение конъюгации билирубина и/или синдром холестаза (повышение уровня прямого билирубина более 20% от общего, увеличение уровня γ-ГТ выше 257 Ед/л). Удлинение ПВ, АЧТВ.

III. Диагностика полиорганной недостаточности.

Системы органов	Клинические признаки	Лабораторные критерии
Недостаточность системы гемостаза	Склонность к спонтанной кровоточивости, кровоточивости из мест инъекций, реже – тромбозы	Увеличение ПВ или АЧТВ. Удлинение тромбинового времени, удлинение АКТ, положительный этаноловый тест. Депрессия фибринолиза. Снижение уровня протеина С. Тромбоцитопения. Анемия.
Недостаточность системы органов пищеварения	Срыгивания, рвота. Застой в желудке, неусвоение энтерального питания. Диарея. Парез кишечника. ЖК - кровотечения. Патологические примеси в стуле (слизь, зелень, кровь и т.д.) Ишемия или инфаркт тонкой кишки.	Рентгенологические признаки пареза кишечника или некротизирующего энтероколита. Дисбактериоз.

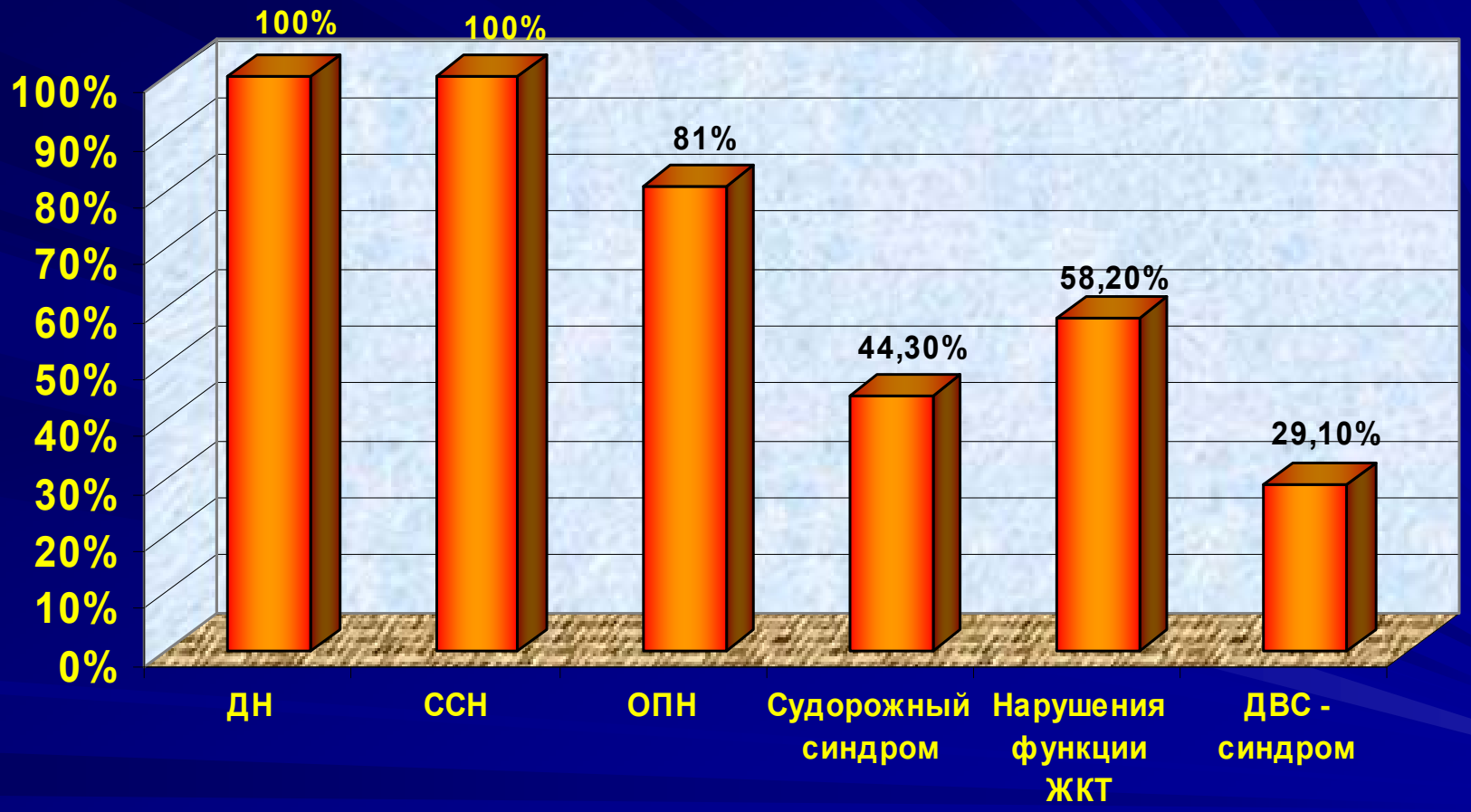
III. Диагностика полиорганной недостаточности.

Системы органов	Клинические признаки	Лабораторные критерии
Нарушения функций нервной системы	Синдром угнетения безусловно-рефлекторной деятельности. Синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости. Неонатальные судороги. Кома.	Признаки отека мозга на НСГ. Признаки гипертензионно-гидроцефального синдрома на НСГ. Нарушения биоэлектрической активности коры головного мозга. Небольшое повышение уровня белка при нормальном или повышенном цитозе ликвора.
Недостаточность желез внутренней секреции	Потеря массы тела. Признаки надпочечниковой недостаточности. Отечный синдром. Синдром транзиторной недостаточности гормонов щитовидной железы.	Гипогликемия, но в начале - гипергликемия Транзиторное снижение уровня кортизола, при шоке – гиперкортизолемия (?!). Снижение уровня Т3, Т4, особенно при шоке Нормальный или (реже) повышенный уровень ТТГ, при шоке – снижение уровня ТТГ. Снижение уровня СТГ, особенно при шоке

III. Диагностика полиорганной недостаточности.

Системы органов	Клинические признаки	Лабораторные критерии
Нарушения функции иммунной системы	**Полиморфизм клинических проявлений.**	**Лейкопения** (≤ 5×10^9/л). **Нейтропения** (≤ $1{,}5\times10^9$/л). **Лимфопения** (≤ 2×10^9/л). **Гипогаммаглобулинемия** (менее 4 г/л). **Дефекты фагоцитоза.**

Структура полиорганной недостаточности при раннем неонатальном сепсисе.



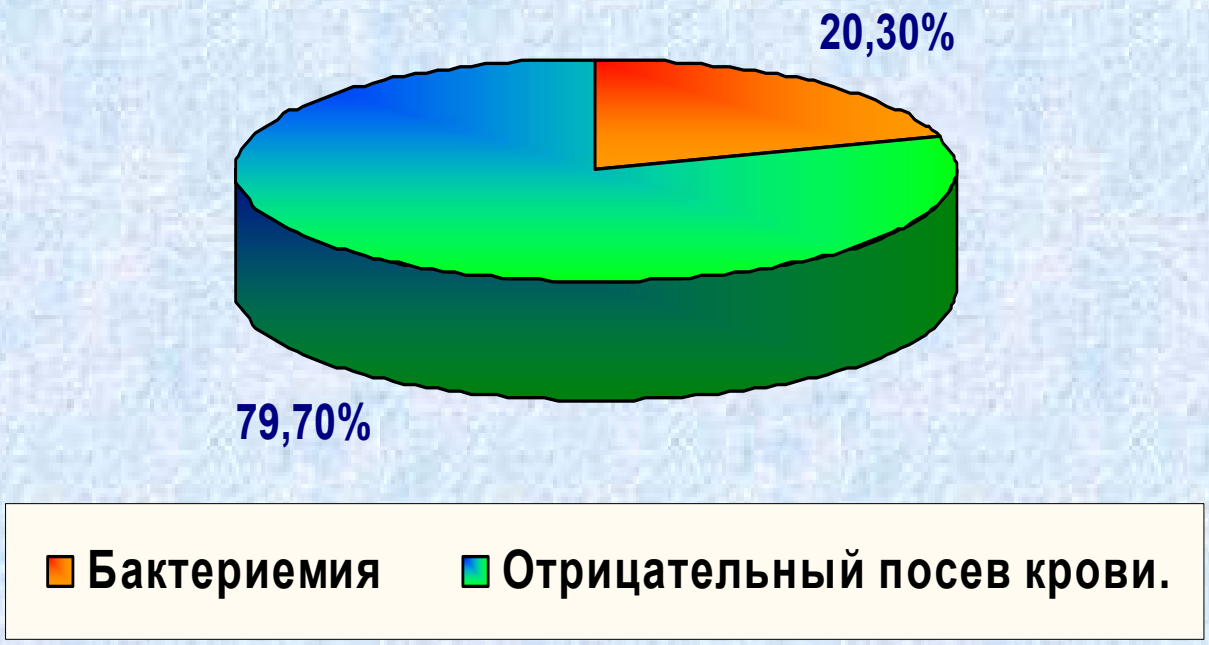
IV. Микробиологическая диагностика

- **Положительные результаты посева крови и/или ликвора** –

не носят обязательного характера.

Отрицательный результат посева крови не исключает наличия сепсиса.

Частота выявления бактериемии на 3-4 сутки жизни детей с ранним неонатальным сепсисом.



V. Анализ показателей системного воспалительного ответа у новорожденных детей.

А. Клинический эквивалент СВО:

- Лихорадка.

Все другие симптомы (тахипноэ, тахикардия, метаболический ацидоз) патогенетически относятся к недостаточности того или иного органа или системы или к нарушению метаболизма, часто вторичным по отношению к СВО.

При включении лабораторных показателей СВО в алгоритм диагностики неонатального сепсиса следует учитывать

- уровни доказательности информативности теста у новорожденных детей (ДЧ, ДС, ППЗ, НПЗ, ДЭ);
- быстроту исполнения;
- экономичность по объему крови;
- экономичность по материальным затратам на оборудование и реактивы.

Б. Общий анализ крови

1. Количество лейкоцитов (лейкоцитоз, лейкопения ≤ 5×10^9/л).
2. Абсолютное количество нейтрофилов (нейтрофилез, нейтропения ≤ $1,5\times10^9$/л).
3. Сдвиг лейкоцитарной формулы до юных форм нейтрофилов:

   а) % юных форм нейтрофилов ≥ 6%;

   б) количество юных нейтрофилов ≥ $1,5\times10^9$/л;

   в) отношение числа юных нейтрофилов к общему количеству нейтрофилов (I/T) ≥ 0,2.
4. Абсолютная лимфопения ≤ 2×10^9/л.
5. Ускорение СОЭ.

В. Уровни белков острой фазы воспаления в сыворотке крови

- С – реактивный белок
- Прокальцитонин

Контрольные диапазоны концентраций ПКТ и интерпретация уровня ПКТ в сыворотке крови высокочувствительным методом.

Нормальное значение ПКТ <0,05 нг/мл Здоровый ребенок (возраст ≥3 дней жизни)	Нормальный уровень ПКТ.
ПКТ<0,5 нг/мл Измеряемая, но незначительная концентрация ПКТ	Незначительная или недостоверная системная реакция. Локальное воспаление или инфекция возможны
ПКТ 0,5 - <2 нг/мл Системная воспалительная реакция достоверна, но в умеренной степени. Инфекция возможна, но известно большое число состояний, также индуцирующих ПКТ (тяжелая травма, обширная операция, кардиогенный шок).	При доказанной инфекции – диагноз сепсиса положительный Рекомендуется дальнейшее определение уровня ПКТ (6-24 часа)
ПКТ > 2, но < 10 нг/мл Тяжелая воспалительная системная реакция, вероятнее всего, вследствие инфекции (сепсис), если не известны никакие другие причины	Высокий риск развития полиорганной недостаточности. При продолжительном повышенном значении (более 3-4 дней) провести оценку проводимой терапии. Неблагоприятное течение. Рекомендуется ежедневное измерение уровня ПКТ
ПКТ > 10 нг/мл Выраженная системная воспалительная реакция, вследствие бактериального сепсиса или септического шока	Данный уровень ПКТ часто связан с полиорганной недостаточностью. Большой риск летального исхода. Рекомендуется ежедневное измерение уровня ПКТ

В. Уровни провоспалительных цитокинов в сыворотке крови

- Интерлейкин - 8

Показатели системного воспалительного ответа у детей различного гестационного возраста с неонатальным сепсисом, не получавших стероидную терапию, на 3-4 сутки жизни.

	Дети 25-29 недель гестации (n = 18)	Дети 30-33 недель гестации (n = 14)	Дети 34-36 недель гестации (n = 7)	Дети 37-40 недель гестации (n = 5)
ПКТ (мкг/л)	20,4 ± 7,6 (0,38-115,67)	12,1 ± 7,4 (0,49 – 91,61)	5,6 ± 2,3 (0,28 – 15,67)	28,4 ± 12,8 (1,89 - 70,48)
ИЛ – 8 (нг/л)	729,18 ± 386,44 (44 - 5932)	244,36 ± 105,78 (52 - 1206)	840,67 ± 700,05 (0 – 4016)	423,5 ± 244,46 (74 - 972)
СРБ (мг/л)	12,13 ± 3,95 (1,2 - 60)	16,82 ± 11,33 (1,7 - 145,6)	15,9 ± 7,48 (2,2 – 53,1)	34,98 ±26,77 (4,2 – 129,8)

Влияние терапии кортикостероидами на показатели системного воспаления и их диагностическую чувствительность при сепсисе на 3-4 сутки жизни.

	Дети, получившие кортикостероиды (n=35).	Дети, не получавшие кортикостероиды (n=44).	Достовер-ность результатов.
ПКТ (мкг/л) (M±m)	4,0 ± 0,8	16,3 ± 4,1	P<0,05
ДЧ при **ПКТ≥2 мкг/л**	33,3	81,8	
ИЛ-8 (нг/л) (M±m)	391 ± 125	574±199	-
ДЧ при **ИЛ-8≥70 нг/л**	87,5	78,4	
СРБ (мг/л) (M±m)	8,5 ± 1,3	16,8 ± 4,7	P<0,05
ДЧ при **СРБ≥6 мг/л**	57,6	44	
Лейкоциты ($x10^9$/л) (M±m)	22,7 ± 2,9	19,8 ± 1,9	-
ДЧ при лейкоцитозе > **15×10^9/л**	63	50	

Признаки СВО присутствуют, если

- Есть 2 или более признака воспаления по общему анализу крови

+ 1 (или более) маркер воспаления в сыворотке крови (↑ ↑ ↑ СРБ, ПКТ, ИЛ-8).

- При невозможности тестировать сыворотку крови – 3 или более признака воспаления в гемограмме.

Тесты для диагностики СВО позволяют:

- Поставить диагноз.
- Принять обоснованное решение о необходимости назначения антибактериальной и иммунозаместительной терапии.
- Контролировать тяжесть состояния ребенка и эффективность проводимой терапии в динамике.

Тесты для диагностики СВО:

- В идеале в ОРИТ должны контролироваться **ежедневно** до достижения стойкой положительной динамики в состоянии больного ребенка.

Необходима отработка нормативов тестов для раннего неонатального периода:

Показатель	Возраст ребенка	Значение, при котором правомочно использовать соответствующий показатель ($\times 10^9$л)
Лейкоцитоз	1-2 дня	> 30
	3-7 дней	>20
	> 7 дней	>15
Лейкопения		<5
Нейтрофилез	1-2 дня	>20
	3-7 дней	>10
	> 7 дней	>7
Нейтропения	1-2 дня	<3
	3-7 дней	<2
	> 7 дней	<1,5
Увеличение количества юных форм нейтрофилов		>1,5
		>6%
Нейтрофильный индекс (отношение абсолютного количества юных форм к общему количеству нейтрофилов)	≥ 0,2	
Лимфопения	1-7 дней	<3
	> 7 дней	<2

Контрольные диапазоны уровней ПКТ для новорожденных детей в возрасте от 0 до 48 часов жизни

Возраст в часах	Уровень ПКТ (нг/мл)
0 – 6	2
6 - 12	8
12 – 18	15
18 – 30	21
30 - 36	15
36 – 42	8
42 - 48	2

Тесты для диагностики СВО позволяют обеспечить экономию финансовых ресурсов за счет :

- Неназначения антибиотиков и иммунозаместительной терапии при нормальных результатах тестов;
- Раннего и обоснованного назначения антибактериальной и иммунозаместительной терапии и оптимизации лечения и исхода.

Общие принципы лечения неонатального сепсиса -

- Антибактериальная терапия.
- Инфузионная терапия.
- Посиндромная терапия.
- Энтеральное или парентеральное питание.
- **ИММУНОТЕРАПИЯ**

Основы формуляра по иммунотерапии неонатального сепсиса

ИММУНОТЕРАПИЯ проводится <u>только</u> на фоне <u>адекватной базисной терапии.</u>

ИММУНОТЕРАПИЯ при неонатальном сепсисе

- - это ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ терапия, то есть один из видов посиндромной терапии;
- - НЕ ЗАВИСИТ от этиологии сепсиса;
- - направлена на КОРРЕКЦИЮ возникающих нарушений иммунитета.

Приложение

к приказу Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 13 марта 2006 г. № 148

СТАНДАРТ ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ БОЛЬНЫМ ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОМ СЕПСИСЕ НОВОРОЖДЕННОГО

- **1. Модель пациента:**
- **Категория возрастная:** новорожденные
- **Нозологическая форма:** Бактериальный сепсис новорожденного
- **Код по МКБ-10:** Р36
- **Фаза:** любая
- **Стадия:** любая
- **Осложнение**: вне зависимости от осложнений
- **Условие оказания**: стационарная помощь

2.1. ЛЕЧЕНИЕ ИЗ РАСЧЕТА 60 ДНЕЙ

Средства для профилактики и лечения инфекций

- *Антибактериальные средства*
- *Противомалярийные и противопротозойные средства*
- *Противогрибковые средства*
- *Прочие средства для профилактики и лечения инфекций*
- *Противовирусные средства*

2.1.ЛЕЧЕНИЕ ИЗ РАСЧЕТА 60 ДНЕЙ

Иммуноглобулины

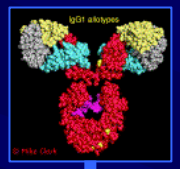
- Иммуноглобулин человека нормальный
- Иммуноглобулин против цитомегаловируса
- Иммуноглобулин человека нормальный [IgG + IgM + IgA]
- Иммуноглобулин против гепатита В человека

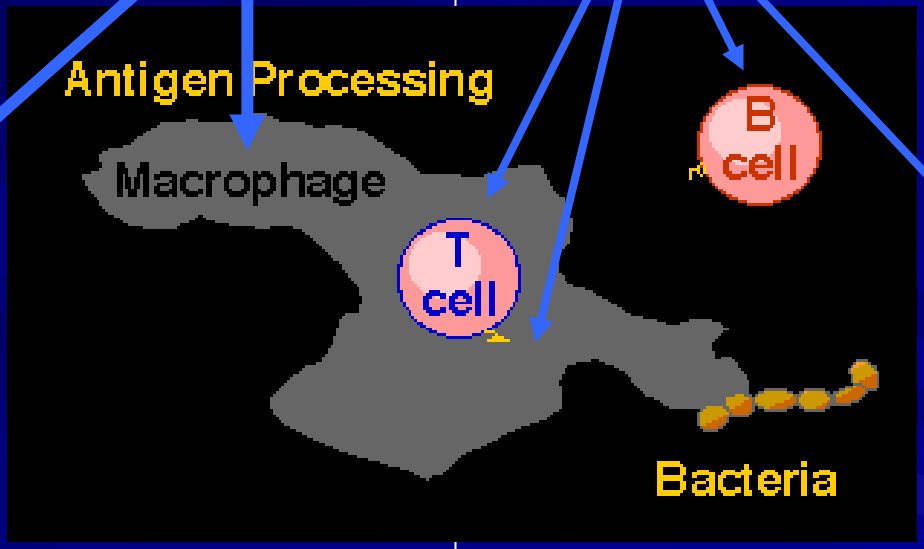
Консервированная кровь человека и ее компоненты

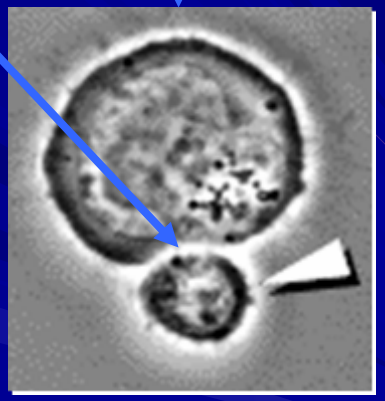
- Плазма свежезамороженная
- Эритроцитная взвесь с физиологическим раствором
- ????? Лейкоцитный концентрат
- Тромбоцитный концентрат

Современные подходы
к направленной иммунокоррекции в неонатологии

пентаглобин ликопид ронколейкин виферон







Нарушения фагоцитоза, дефицит антител

Нарушения функций макрофагов

Нарушения функций Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов

Нарушения цитотоксичности лимфоцитов

АЛГОРИТМ ИММУНОТЕРАПИИ НЕОНАТАЛЬНОГО СЕПСИСА

Нормализация гуморального иммунитета – всегда!!!

- **Пентаглобин** (при его отсутствии – поливалентные препараты иммуноглобулинов для внутривенного введения;

  при сочетании с ЦМВ - Неоцитотект).

Коррекция клеточного иммунитета - по показаниям

- **Ронколейкин** – при абсолютной лимфопении;
- **Ликопид** – при нейтропении и/или гипоэргическом течении сепсиса;
- **Виферон** – всегда!, особенно при сочетании с вирусной инфекцией или при инфекциях, вызванных внутриклеточными патогенами.

Иммунотерапия при неонатальном сепсисе

I. **Гипогаммаглобулинемия** (уровень IgG в сыворотке крови менее 4 г/л)

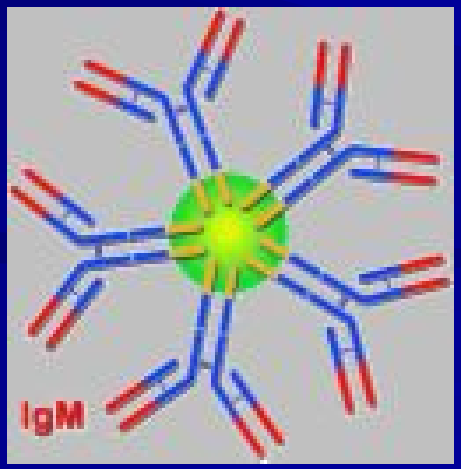
→ **коррекция препаратами иммуноглобулинов для внутривенного введения.**

Уровни IgG (г/л) в сыворотке крови детей с ранним неонатальным сепсисом на 3-4 сутки жизни в зависимости от гестационного возраста.

	M±m (minimum-maximum)
25-29 недель гестации (n=30)	2,93 ± 0,17 (1,7 – 5,32)
30-33 недели гестации (n=29)	3,57 ± 0,17 (2,42 – 5,8)
34-40 недель гестации (n=16)	4,18 ± 0,42 (2,45 – 8,55)

Показания – **сепсис, септический шок.**

Способ введения Пентаглобина - внутривенно капельно в дозе 5 мл/кг массы тела в сутки со скоростью ≤ 1,7 мл/кг массы тела в час с помощью инфузионного насоса ежедневно в течение 3-х дней.



Уровень летальности новорожденных детей при септическом шоке

- **14** детей получали Пентаглобин на 3-11 сутки жизни.
- Из **14** детей, развивших септический шок и получавших Пентаглобин, умер **1** ребенок.
- **Уровень летальности при шоке у детей, пролеченных Пентаглобином = 6,7%**

95% ДИ [0,17; 32] (p< 0,05) (критерий Клоппера-Пирсона).

(по данным литературы = **40-60**%).

Уровень летальности при раннем неонатальном сепсисе

- Из **26** детей с сепсисом, получавших базисную терапию, умерло **2** детей **(7,7%)**

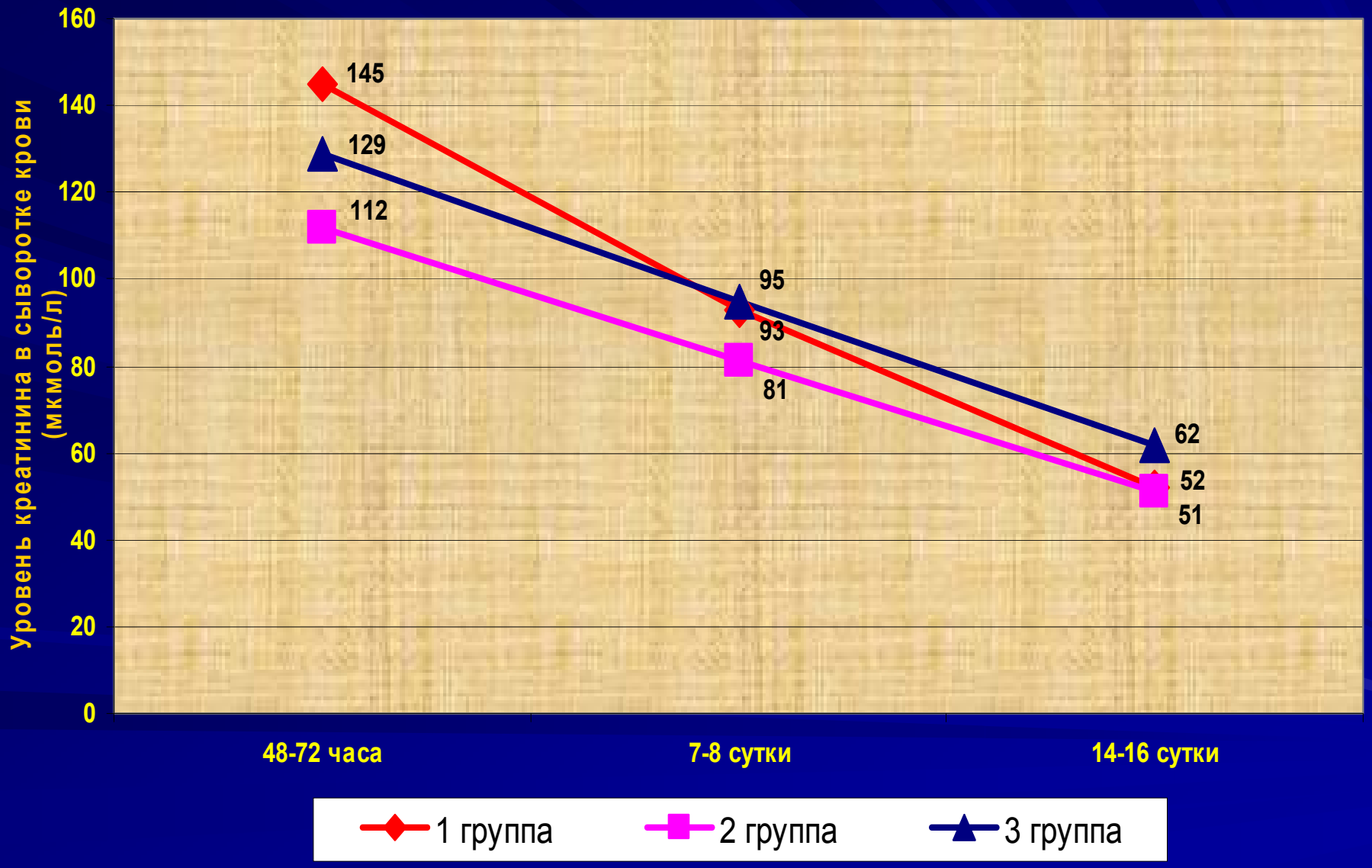
- Из **38** детей с сепсисом, получавших базисную и иммунозаместительную терапию Пентаглобином,

  умер **1** ребенок **(2,6%).**

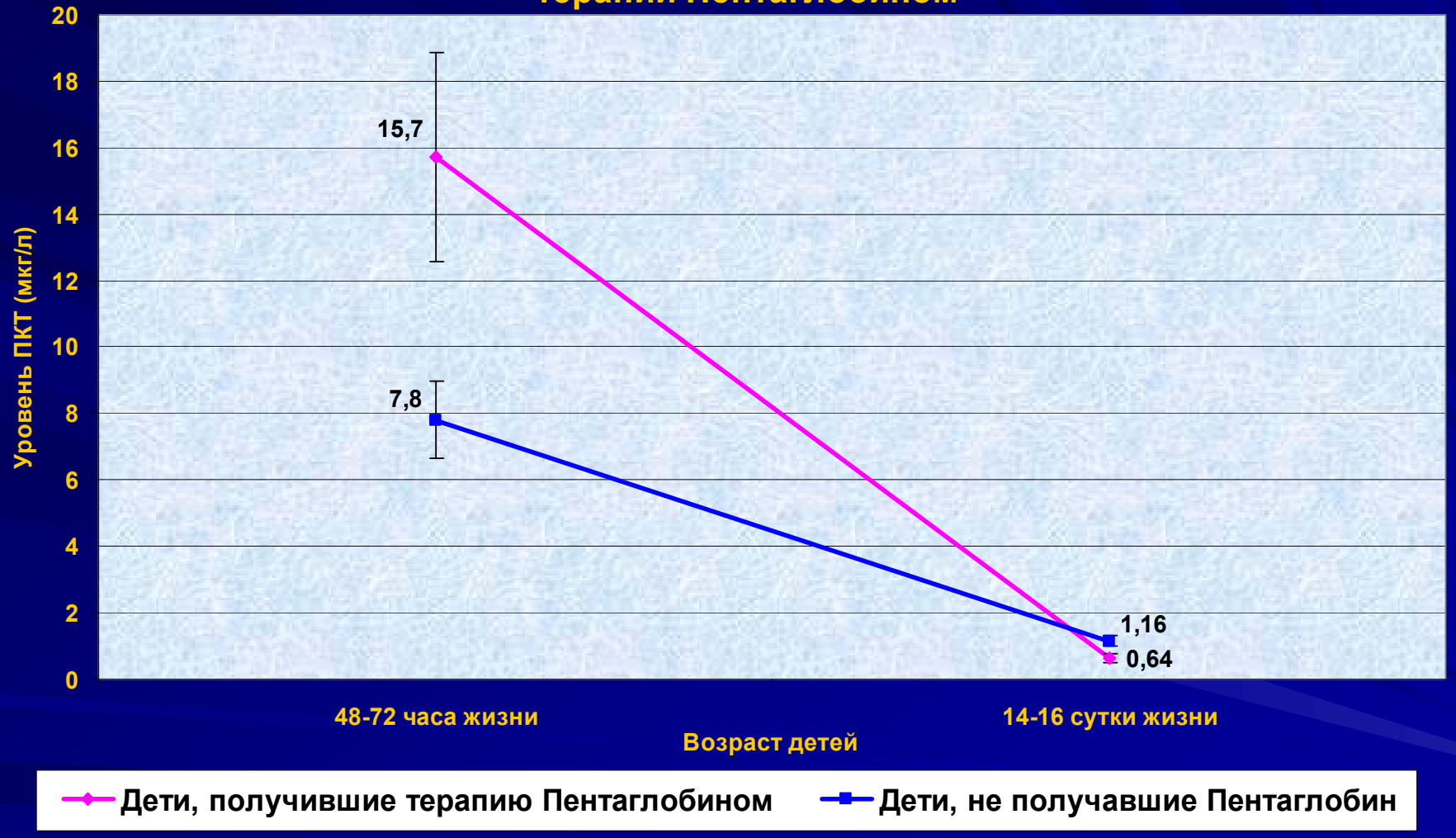
Отношение шансов (OR) = 3,1

95% ДИ [0,15; 186,7] (p=0,7).

Динамика уровня креатинина в сыворотке крови у детей, получавших и не получавших иммунозаместительную терапию Пентаглобином при раннем неонатальном сепсисе



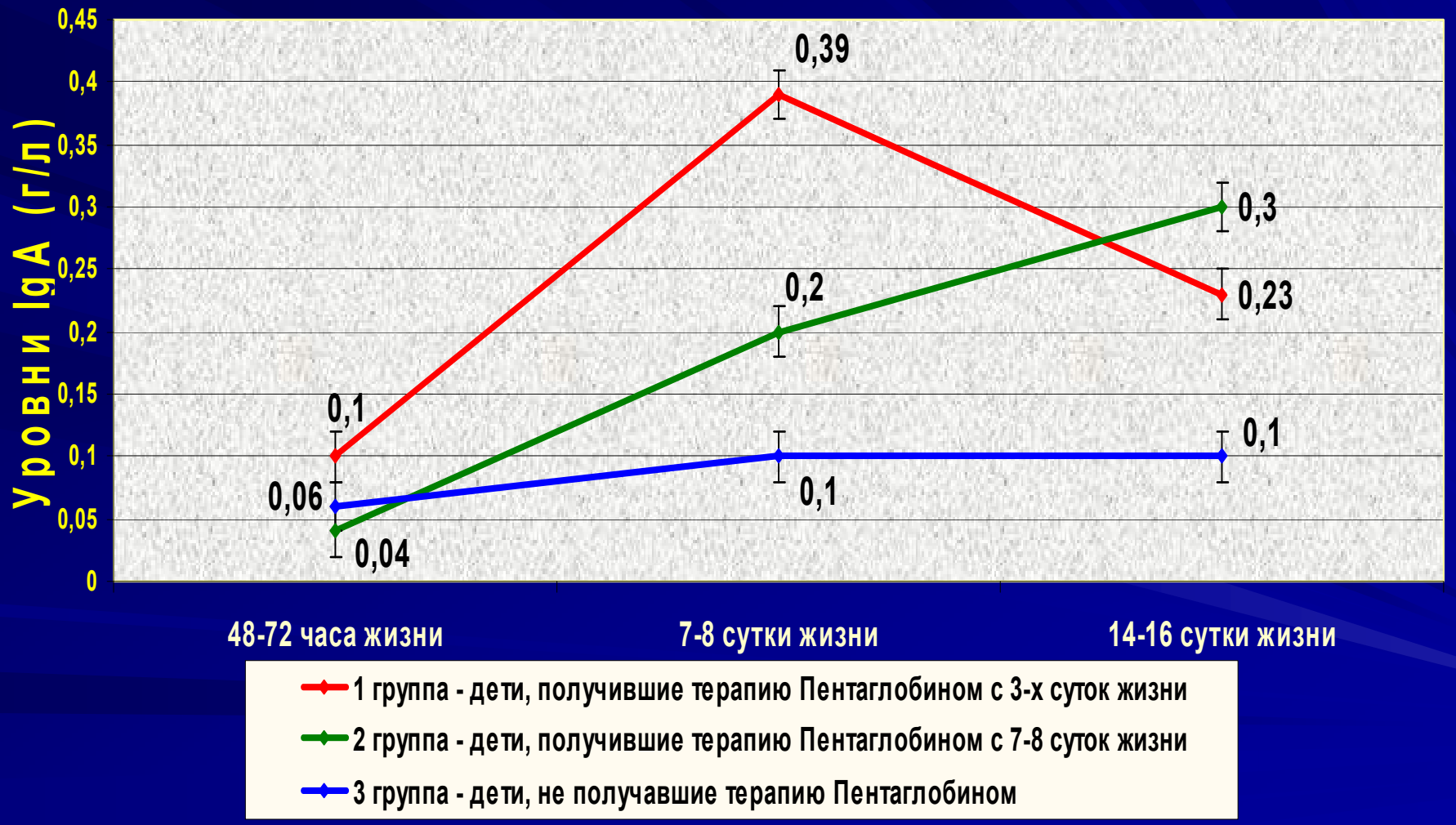
Уровень ПКТ в сыворотке крови детей с ранним неонатальным сепсисом в зависимости от проведения иммунозаместительной терапии Пентаглобином



Динамика уровней IgG у детей с ранним неонатальным сепсисом, получавших и не получавших иммунозаместительную терапию Пентаглобином.

Динамика уровней IgM у детей с ранним неонатальным сепсисом, получавших и не получавших иммунозаместительную терапию Пентаглобином.

Динамика уровней IgA у детей с ранним неонатальным сепсисом, получавших и не получавших иммунозаместительную терапию Пентаглобином.



Иммунотерапия при неонатальном сепсисе

II. Коррекция клеточного звена иммунитета.

1. Абсолютная лимфопения по общему анализу крови или дефицит функциональных субпопуляций лимфоцитов при фенотипировании.

Распространенность лимфопении у больных новорожденных детей.

- Из **279** новорожденных детей, лечившихся в ДКБ №13 имени Н.Ф.Филатова в 2003-2005 годах, лимфопения отмечалась у **168** **(60,2%).**
- В 2003-2005 годах из **20** детей с неонатальным **сепсисом** абсолютная лимфопения имела место у **17** детей **(85%).**

Сравнение частот абсолютной лимфопении и абсолютной нейтропении при раннем неонатальном сепсисе.

	Абсолютная лимфопения ($\leq 2\times10^9$/л).	Абсолютная нейтропения ($\leq 1,8\times10^9$/л).	P (точный 2-сторонний критерий Фишера)
Частота цитопении	13 из 79 (16,5%)	3 из 79 (3,8%)	0,015

Уровни летальности в группах новорожденных детей с гнойно-септической патологией с однократной и стойкой абсолютной лимфопенией.

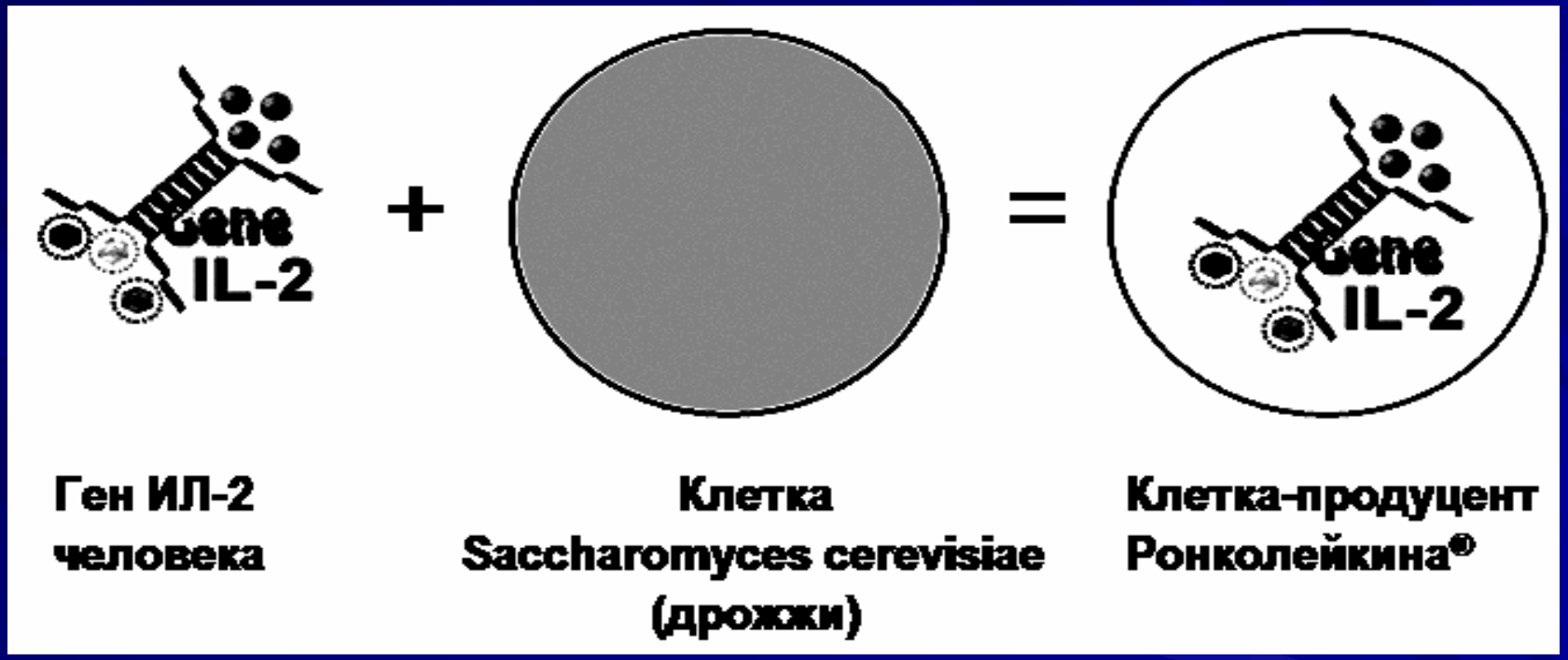
	При **однократной** лимфопении	При **стойкой** лимфопении	P (точный 2-сторонний критерий Фишера)
Количество умерших детей	6 из 64 (9,4%)	12 из 41 (29,3%)	0,02

Ронколейкин® -

рекомбинантный интерлейкин-2 человека;

структурный и функциональный аналог аутокринного фактора роста лимфоцитов – **интерлейкина-2.**

Схема получения продуцента rIL-2 на основе штамма непатогенных дрожжей-сахаромицетов.



Ронколейкин получают методами генной инженерии из клеток-продуцентов рекомбинантного штамма непатогенных пекарских дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae*, в генетический аппарат которого встроен ген человеческого ИЛ-2. Активная субстанция Ронколейкина – рекомбинантный дрожжевой ИЛ-2 человека – является полипептидом, состоящим из 133 аминокислот с молекулярной массой около 15,4 кДа.

Ронколейкин® - отечественный рекомбинантный интерлейкин-2 человека

В 1989 был создан в лаборатории биохимической генетики Санкт-Петербургского Государственного Университета .

В 1995 был зарегистрирован в России.

С февраля 2008 разрешен к применению в педиатрии и неонатологии в Российской Федерации.

«БИОТЕХ» ООО, Лаборатория биохимической генетики Санкт-Петербургского Государственного Университета

- **полный (структурный и функциональный) аналог эндогенного ИЛ-2;**
- **продуцируется апатогенным штаммом дрожжей Saccharomyces cerevisiae;**
- **минимальное количество побочных эффектов в отличие от зарубежных аналогов Proleukin®, Aldesleukin®** Cetus, Chiron (Emeryville, CA, США), EuroCetus (Амстердам, Нидерланды); **Teceleukin®** (F.Hoffman-LaRoche ltd. (Франция)
- **сфера применения намного шире, чем у зарубежных аналогов.**

Иммунологические эффекты интерлейкина-2

Патогенетическое обоснование назначения препарата Ронколейкин® в комплексной терапии неонатального сепсиса.

- усиливает активацию, пролиферацию и дифференцировку и выполнение эффекторных функций различными субпопуляциями лимфоцитов;
- способствует становлению адаптивного иммунного ответа на антигены возбудителей заболевания;
- регулирует баланс про- и противовоспалительных цитокинов в ходе иммунного ответа.

Показания к назначению Ронколейкина®:

Неонатальный сепсис и тяжелые локализованные инфекции, в том числе гнойно-септические осложнения послеоперационного периода.

Лабораторным критерием к включению Ронколейкина в комплексную терапию являлось наличие у детей

абсолютной лимфопении

(менее 2×10^9 лимфоцитов в 1 л).

Схема применения Ронколейкина®

Ронколейкин вводится в дозе 50000 - 100000 МЕ препарата на 1 кг массы тела в сутки в физиологическом растворе хлорида натрия (5-10 мл/кг в сутки);

- внутривенно капельно со скоростью не более 6 мл/час, общая длительность инфузии – **не менее 2 часов**;

- **двухкратно** с интервалом в 72 часа.

Уровни летальности в группах детей с лимфопенией в зависимости от получения ими иммуномодулирующей терапии Ронколейкином®.

	Дети, получавшие Ронколейкин (n = 85)	Дети без иммунокоррекции (n = 60)	P (точный 2-сторонний критерий Фишера)
Дети с сепсисом, не имевшие показаний к хирургическому лечению	1 из 60 (1,7%)	7 из 50 (14%)	0,02

Отношение шансов (Odds Ratio) = 9,6 (1,1 - 218,9)

Относительный риск (Relative Risk) = 8,4 (1,1 - 184,3)

Уровни летальности в группах детей с лимфопенией в зависимости от получения ими иммуномодулирующей терапии Ронколейкином®.

	Дети, получавшие Ронколейкин (n = 85)	Дети без иммунокоррекции (n = 60)	P (точный 2-сторонний критерий Фишера)
Дети в после-операционном периоде	6 из 25 (24%)	5 из 10 (50%)	0,22
Дети, не имевшие показаний к хирургическому лечению	1 из 60 (1,7%)	7 из 50 (14%)	0,02
Всего	7 из 85 (8,2%)	12 из 60 (20%)	0,047

Сравнение клинических показателей у детей, получивших и не получивших Ронколейкин, во второй точке исследования

Показатель клинического состояния	С Ронколейкином		Без Ронколейкина		Р (ТКФ)
	N	%	N	%	
Пневмония	31	37,3	47	79,7	<0,001
ИВЛ	29	34,9	38	64,4	<0,001
Полное парентеральное питание	12	14,4	18	30,5	0,03
Полное энтеральное питание	12	14,4	2	3,4	0,04

Доля детей, имевших положительный посев крови в группах новорожденных, получавших и не получавших Ронколейкин®.

Показатели гемограммы у детей с гнойно-септической патологией после лечения Ронколейкином® и в контрольной группе.

Параметр	N	Me [LQ; UQ]	N	Me [LQ; UQ]	P
	С Ронколейкином		Без Ронколейкина		
Нейтрофилы (%)	83	50 [41; 67]	59	59 [50; 70]	0,004
Сегментоядерные гранулоциты (%)	83	46 [39; 59]	59	55 [45; 64]	0,007
Лимфоциты (%)	83	37 [25; 44]	59	25 [16; 32]	<0,001
Лимфоциты (абс.)	83	3,69 [2,62; 5,49]	59	3,12 [1,77; 4,6]	0,011

Уровни ИЛ-8 в сыворотке крови детей с гнойно-септической патологией и лимфопенией после применения Ронколейкина® и в контрольной группе.

Параметр	N	Me [LQ; UQ]	N	Me [LQ; UQ]	P
	С Ронколейкином		Без Ронколейкина		
ИЛ-8 (пг/мл)	27	34,8 [18,9; 94,8]	39	114 [42; 300]	0,002

Показатели иммунограммы у детей с гнойно-септической патологией после лечения Ронколейкином® и в контрольной группе.

Параметр	N	Me [LQ; UQ]	N	Me [LQ; UQ]	P
	С Ронколейкином		Без Ронколейкина		
CD3 %	13	63 [61; 70]	29	54 [46; 61]	0,006
CD8 %	18	22 [16; 28]	29	15 [10; 18]	0,002
CD16 + CD56 %	18	12 [5; 17]	29	4 [3; 6]	<0,001
CD16 + CD56 абс.	18	0,31 [0,18; 0,81]	29	0,16 [0,08; 0,32]	<0,001

Количество детей, выписанных домой в удовлетворительном состоянии до 29 суток от момента регистрации абсолютной лимфопении.

	Дети, получавшие Ронколейкин®	Дети, получавшие базисную терапию	Р
Количество детей	41 из 85 (49,4%)	10 из 60 (16,7%)	0,024

Иммунотерапия при неонатальном сепсисе

II. Коррекция клеточного звена иммунитета.

2. Абсолютная нейтропения по общему анализу крови или дефекты фагоцитоза

→ **Ликопид**.

Гипоэргическое течение сепсиса, развитие нейтропении

- Патогенетически целесообразно

усилить функцию макрофагов, увеличить количество и функциональную активность нейтрофилов

Ликопид -

- Глюкозаминил-мурамил-дипептид.
- Минимальный биологически активный фрагмент клеточной стенки большинства бактерий.
- Действует на клетки моноцитарно-макрофагальной природы через внутриклеточные NOD2 – рецепторы, запуская трансдукцию сигнала внутрь клетки.

МДП –составной компонент пептидогликана клеточной стенки бактерий обладает таким же иммуностимулирующим и адъювантным действием, как и целые клетки микобактерий

(Lederer E.,1974)

Схема применения препарата Ликопид у новорожденных детей.

- **доза 0,5 мг (1/2 таблетки) 2 раза в день в течение 7-10 дней**.
- **ЛИКОПИД** растворяют в 5-10 мл теплой кипяченой воды и дают внутрь с ложки, через соску или зонд за 20-30 минут до кормления.

Patient

Иммунотерапия при неонатальном сепсисе

II. Коррекция клеточного звена иммунитета.

3. Снижение количества цитотоксических лимфоцитов при фенотипировании или дефекты цитотоксичности

→ Виферон (рекомбинантный ИФН-α2b человека).

Особенности иммунотерапии препаратами рекомбинантных цитокинов

- Является разновидностью посиндромной терапии тяжелых инфекций, направленной на коррекцию нарушений клеточного звена иммунитета, и не зависит от этиологии инфекции.
- Усиливает антибактериальный и противовирусный иммунитет посредством активации функций различных субпопуляций лимфоцитов, в том числе цитотоксических лимфоцитов, и эффективного удаления из организма клеток, зараженных внутриклеточными возбудителями.
- Действует через рецепторы к цитокинам на клетках иммунной системы, импульсно запускает трансдукцию сигнала внутрь клетки и активацию лимфоцитов.
- Не требует поддержания постоянной концентрации цитокинов в сыворотке крови.

Особенности противовирусного иммунитета у новорожденных детей.

- Малая клеточная продукция и низкая концентрация ИФН-α и ИФН-γ в сыворотке крови.
- Дальнейшее угнетение синтеза эндогенного ИФН при бактериальных и вирусных инфекциях и при перинатальной гипоксии.
- Быстрое развитие абсолютной лимфопении при тяжелых неонатальных инфекциях, снижение количества $CD4^+$ и $CD8^+$ лимфоцитов.
- Достоверное усиление цитотоксичности лимфоцитов и макрофагов под действием экзогенных ИФН и/или ИЛ-2 (Montagna N., 1988).

Авторское свидетельство №1309984, рег. в 1987 году.

- **Долецкий С.Я., Соловьев В.Д. и соавт.**
- Применение рекомбинантного человеческого интерферона-α (Виферона) снижало летальность при неонатальном сепсисе в **2,9** раза.
- При этом внутрибольничное инфицирование снижалось в **2,5** раза.

СОСТАВ ВИФЕРОНА

Рекомбинантный α2b-интерферон

α токоферола ацетат (витамин Е)

Аскорбиновая кислота

Товарный знак виферон (VIFERON). Запатентован (патент №2024253),

Схема назначения препарата Виферон новорожденным детям.

Доношенным и недоношенным новорожденным детям назначают ВИФЕРОН (150 000 ЕД) .

- Доношенным и недоношенным новорожденным с ГВ более 34 недель препарат вводят по 1 свече 2 раза в сутки через 12 часов.
- Курс лечения составляет 5-7 дней.
- Недоношенным новорождённым детям с гестационным возрастом менее 34 недель показан курс ВИФЕРОНА по 1 свече 3 раза в сутки через 8 часов.
- Курс лечения составляет не менее 5 дней

Показатели летальности при внутриутробной инфекции смешанной этиологии после терапии Виферoном.

	Базисная терапия + Виферон	Базисная терапия.	P (2-сторонний точный критерий Фишера)
Внутриутробная инфекция	4/81 4,9%	7/38 18,4%	0.036

OR = 0,23 95% CI (0,05 - 0,96)
RR = 0,27 95% CI (0,07 - 0,96)

Показатели летальности при некротизирующем энтероколите после терапии Виферoном.

	Базисная терапия + Виферон	Базисная терапия.	P (2-сторонний точный критерий Фишера)
Энтероколит	2/45 **4,4%**	6/20 **30%**	**0.008**
OR = 0,109 95% CI (0,013 - 0,706) RR = 0,148 95% CI (0,021 - 0,739)			

Результаты повторного исследования биологических сред у детей с маркерами инфекционно активного ВПГ в крови

	Виферон N=6	Базисная терапия N=11	P (ТКФ)
Элиминация вирусов	4/6 66,7%	3/11 27,3%	0,16
Снижение количества ВПГ	1/6 16,7%	0/11 0%	
Увеличение количества ВПГ и ЦМВ	0/6 0%	6/11 54,5%	0,042
Элиминация ВПГ с появлением ЦМВ	1/6 16,7%	2/11 18,2%	
Положительная динамика	5/6 83,3%	3/11 27,3%	0,049

Dräger
Photo-Therapy 4000
Dräger

При сочетании нарушений гуморального и клеточного звеньев иммунитета

- целесообразно комбинирование методов иммунотерапии, направленных на коррекцию всех выявленных нарушений.

Большое спасибо!

Спасибо за внимание!!!