

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НИЖЕГОРОДСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
КОЖНО-ВЕНЕРОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

УТВЕРЖДАЮ

Председатель Секции №14 УС МЗ РФ



академик РАМН, профессор

Ю. К. Скрипкин

протокол № 2

" 09 ноября " 2001 г.

ВЫБОР КРИТЕРИЕВ ДЛЯ НАЗНАЧЕНИЯ
ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ
В ЛЕЧЕНИИ ОСЛОЖНЕННЫХ
ФОРМ ГОНОРЕИ

Пособие для врачей

Н.Новгород - 2001 г.

В пособии для врачей представлен метод, позволяющий оптимизировать терапию гонореи. Определение активности фагоцитоза нейтрофилов периферической крови с помощью индуцированной гонококками хемилюминесценции позволяет установить степень вторичного иммунодефицита, нередко возникающего у больных гонореей, особенно при ее осложненных и длительно текущих формах. Оценка резервов фагоцитоза облегчает решение вопроса о потребности больных гонореей в иммунотерапии, определение ее эффективности и может быть использована в целях прогноза. Метод определения активности фагоцитоза с использованием хемилюминесценции, индуцированной гонококком, прост в исполнении и доступен учреждениям практического здравоохранения.

Пособие для врачей составлено зав. отд. ИПП ГУ ННИКВИ, д. м. н. Л.Д.Кунцевич, к. м. н. ГУ ННИКВИ В.Р. Мишановым, зав. иммуномикробиологической лабораторией ГУ ННИКВИ, к. м. н. Г.И.Жуковой.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на высокую эффективность современных методов терапии и систему противоэпидемических мероприятий, уровень заболеваемости гонококковой инфекцией в нашей стране достаточно высок. У многих женщин после элиминации гонококков остаются стойкие изменения в полости малого таза, нередко приводящие к нарушению детородной функции (вторичное, чаще трубное, бесплодие, внематочная беременность, нарушения в течении беременности и родов). Гинекологические осложнения, вызываемые *N. gonorrhoeae*, по-прежнему, играют большую роль в развитии воспалительных заболеваний органов малого таза.

В связи с этим одной из задач современных методов терапии гонореи является не только достижение этиотропного, но и клинического излечения, позволяющего уменьшить негативное воздействие перенесенного заболевания на организм женщины, в частности, на состояние ее репродуктивных органов.

Известно, что современное течение гонореи у женщин характеризуется преобладанием субъективно бессимптомных вялотекущих форм. В связи с выделениями из половых путей, болями внизу живота, дискомфортом при мочеиспускании за медицинской помощью обращаются лишь 18 - 50 % женщин. По современным данным (2001) вялотекущие торпидные формы гонококковой инфекции наблюдаются у 32 - 50 % женщин (число таких форм нарастает при удлинении продолжительности заболевания).

Установлено, что рациональное применение комплексного лечения с использованием средств иммуностимулирующей терапии при вяло и длительно текущих формах гонореи, в значительной степени определяет результаты терапии. В частности, у женщин, получавших моноантибиотикотерапию, в 3,6 - 8 раз чаще, чем после комплексного лечения возникают рецидивы гонореи, а применение комплексной терапии с гоновакциной и пироген-

налом у девушек - подростков в 1,5 раза чаще приводит к полному клиническому выздоровлению, чем монотерапия антибиотиками.

Известно, что длительное течение гонококковой инфекции способствует развитию вторичного иммунодефицита, преимущественно выражающегося в снижении напряженности клеточного звена иммунитета, в частности, снижении активности фагоцитоза.

Фагоцитоз при гонорее имеет незавершенный характер, что является одной из причин персистенции возбудителя в организме больных. В настоящее время новым и перспективным методом в оценке иммунного статуса больных ИППП признается изучение спонтанной и стимулированной люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ) нейтрофилов периферической крови.

Исследованиями, в частности, установлена корреляция между бицидностью фагоцитов и их реактивной ХЛ, что позволяет применять метод ХЛ для изучения антимикробных (бактерицидных) свойств фагоцитов.

Изучение активности фагоцитоза нейтрофилов периферической крови, впервые проведенное с помощью показателей спонтанной и индуцированной гонококками люминолзависимой хемилюминесценции показало, что у женщин, больных гонореей, на фоне повышения спонтанной ХЛ, происходит снижение ее индуцированных показателей, свидетельствующее об истощении резервов фагоцитоза по отношению к возбудителю заболевания. Это обстоятельство может, наряду с другими, быть причиной персистенции гонококков в организме заболевших.

Особенно резкое снижение резервов фагоцитоза по отношению к гонококкам выявляется у больных при длительном (свыше 2-х месяцев) течении гонококковой инфекции и переходе воспалительного процесса на внутренние половые органы.

В соответствии с принципами лечения гонореи, применяемыми в настоящее время, для достижения наилучшего клинико - этиотропного эффекта при вяло протекающих формах заболевания продолжительностью менее 2-х месяцев и длительно текущих (свыше 2-х месяцев) процессах применяется комплексное лечение, в состав которого наряду с антибиотиками включаются иммуномодуляторы (гоновакцина, пирогенал и др.), местная медикаментозная терапия.

До настоящего времени не разработаны быстрые лабораторные методы, позволяющие определить степень выраженности вторичного иммунодефицита и, соответственно, установить целесообразность коррекции выявленных нарушений с помощью назначения иммуномодулирующих средств.

Предложенный нами метод определения фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови с помощью ХЛ, индуцированной свежей культурой гонококков, позволяющий решить вопрос о состоянии резервов фагоцитоза по отношению к возбудителю заболевания у больных гонореей, является объективным критерием, помогающим врачу в выборе тактики лечения гонококковой инфекции.

2. Показания и противопоказания к применению метода

- определение активности фагоцитоза нейтрофилов периферической крови с помощью хемилюминесценции, индуцированной гонококками, проводится у больных гонореей с целью решения вопроса о степени выраженности вторичного иммунодефицита и необходимости его коррекции;
- при определении эффективности назначенного иммуномодулятора;
- в целях контроля излеченности в комплексе с традиционными лабораторными методами (бактериоскопический, культуральный) и методами клинического обследования больных.

Противопоказания отсутствуют.

3. Материально-техническое обеспечение метода

1. Биолуминометр БХЛ-06 (ТУ 9443-001-20506233-96 ТОО НЛФ аналитического приборостроения "Люмэкс", г.С.Петербург, № гос. регистрации 97/17-161) предназначен для анализа параметров био- и хемилюминесцентных реакций, катализируемых люциферазами различного происхождения, а также индуцированной хемилюминесценции биологических образцов. Основан на методе регистрации светового излучения, возникающего в биологических образцах при ферментативных реакциях и химических процессах. Аналогами могут служить биохемилюминометры любого типа.

4. Описание метода

Метод основан на использовании данных, устанавливающих активность фагоцитоза нейтрофилов периферической крови у больных гонореей (патент РФ на изобретение №2155320 от 27.08.2000г.) с помощью спонтанной и индуцированной гонокками ХЛ, а также их индексирующего показателя - коэффициента стимуляции нейтрофилов (КСН). У женщин, заболевших гонореей, происходит снижение резервов фагоцитоза по отношению к возбудителю инфекции. При продолжительности заболевания свыше 2-х месяцев и переходе воспалительного процесса на внутренние гениталии имеет место дальнейшее угнетение активности фагоцитоза (в 2,5 раза по сравнению с ранними и в 2,2 раза - с неосложненными формами гонореи). Показатель КСН < 1,40 выбран критерием назначения больным гонореей иммуностимулирующей терапии.

Методика определения КСН

Суточные чистые культуры 2 - 3 штаммов гоноккокков смываются изотоническим раствором натрия хлорида и концентрация микробных клеток доводится до 3 млрд. микробных тел/мл по стандарту мутности.

Перед взятием крови из пальца стенки микропипетки смачивают раствором гепарина (10 ед/мл).

В пробирку с 4,95 мл раствора Хенкса (без фенолового красного) вносят 0,05 мл исследуемой крови и перемешивают плавными круговыми движениями, затем наполняют две стандартные кюветы по 1,0 мл. В каждую кювету добавляют 0,1 мл раствора люминола и помещают в термостат при температуре 37°C на 15 минут. После инкубации в одну кювету добавляют 0,1 мл раствора Хенкса (без фенолового красного) для определения спонтанной биохемилюминесценции (СБХЛ), в другую кювету вносят 0,1 мл суспензии гоноккокков в концентрации 3 млрд. микробных тел/мл для измерения индуцированной биохемилюминесценции (ИБХЛ). Исследование проводят на аппарате "Биолуминометр БХЛ-06". Импульсы регистрируются каждые 10 минут в течение 1 часа.

В целях стандартизации показателей хемилюминесцентного анализа используется не абсолютное значение ИБХЛ, а коэффициент стимуляции нейтрофилов (КСН), выражающийся отношением средней интенсивности стимулированного свечения клеток к средней интенсивности спонтанного свечения.

$$\text{КСН} = \frac{\text{Средняя интенсивность ИБХЛ}}{\text{Средняя интенсивность СБХЛ}}$$

Определенный уровень КСН сравнивается с данными контроля и при его снижении устанавливают недостаточность эффекторной функции фагоцитов.

В качестве контрольной группы проведено определение коэффициента стимуляции нейтрофилов у 60 практически здоровых женщин.

Предел отклонений ($M \pm 1\delta$) у практически здоровых составил $3,94 \pm 2,40$. Нижний уровень колебаний показателей у здоровых ($KCH < 1,40$) был выбран как критерий назначения иммуностимулирующей терапии.

5. Эффективность использования метода

Изучение активности фагоцитоза по отношению к гонококкам показало, что гонококковая инфекция у женщин уже в первые 2 месяца заболевания приводит к снижению КСН на 43 % (по сравнению с практически здоровыми). Более длительное течение болезни (свыше 2-х месяцев) сопровождается снижением КСН в 4,4 раза, что расценивается как угнетение резервов фагоцитоза.

При поражении органов малого таза у женщин, в отличие от больных, у которых процесс локализуется в нижних отделах урогенитального тракта, происходит снижение КСН в 2,2 раза. Особенно резкие изменения КСН наступают у больных при сочетании длительности заболевания свыше 2-х месяцев и распространении гонококковой инфекции на внутренние половые органы.

Полученные данные, свидетельствующие о наличии вторичного иммунодефицита у больных гонореей, позволили применять показатель КСН при выборе тактики лечения больных.

С целью изучения эффективности предлагаемого метода проведено изучение результатов терапии гонореи у 2-х групп женщин. I группа (48 больных) получала моноантибиотикотерапию, II-я (77 человек) - комплексное лечение, которое наряду с антибиотиками предусматривало применение иммуномодуляторов.

В I группу вошли преимущественно больные с ранней стадией заболевания до 2-х месяцев ($KCH = 1,88 \pm 0,20$), во II-ю группу - больные с продолжительностью гонореи свыше 2-х месяцев ($KCH = 0,96 \pm 0,11$). Установлено, что у больных II группы уже после 2-х инъекций иммуностимуляторов (еще до назначения антибиотиков) показатели КСН повышались почти в 2 раза (до $1,81 \pm 0,16$).

После окончания лечения показатели КСН у больных I группы оставались без изменений ($1,70 \pm 0,23$), у больных II-й - были выше исходной в 2,2 раза ($2,14 \pm 0,15$).

Показатели КСН у больных, получивших комплексное лечение, полностью нормализовались к концу 1,5 - 3 мес. контрольного наблюдения ($3,47 \pm 0,30$, $p > 0,2$), в то время как у больных I группы при тех же условиях они оставались на 34 % ниже нормы ($2,63 \pm 0,30$, $p < 0,01$).

Следует отметить, что у больных, получавших комплексную терапию с гоновакциной или пирогеналом, назначаемую с учетом КСН, в 1,5 раза реже возникали рецидивы заболевания (соответственно, у 5,0 % и 7,4 %) и почти в 3 раза реже наблюдались постгонорейные воспалительные процессы в области половых органов (соответственно, у 4,3 % и 12,4 %).

Наряду с нормализацией КСН у больных II группы более быстро происходила нормализация и других показателей иммунитета (Т - лимфоциты, показатели местного иммунитета).

Таким образом, применение КСН как показателя активности фагоцитоза нейтрофилов периферической крови по отношению к гонококковому антигену является объективным показателем степени выраженности вторичного иммунодефицита, помогает решить вопрос о необходимости назначения иммуностимулирующих средств и может быть критерием эффективности проведенной терапии гонореи.