

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель Министра

_____ Р.А. Часнойть
27 июля 2007 г.
Регистрационный № 204-1203

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ НОВОРОЖДЕННЫХ
С ВНУТРИУТРОБНЫМ ИНФИЦИРОВАНИЕМ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «Республиканский научно-практический
центр «Мать и дитя»

АВТОР: канд. мед. наук, доц. Т.В. Гнедько

Минск 2007

Инструкция разработана для внедрения метода диагностики врожденных инфекций с использованием комплексного клинико-лабораторного обследования новорожденных при наличии у них риска реализации внутриутробного инфицирования (ВУИ) в работу специализированных неонатальных отделений перинатальных центров I-IV уровней, акушерских и педиатрических стационаров. Предназначена для врачей-неонатологов, педиатров, детских анестезиологов-реаниматологов.

Ранняя диагностика врожденных инфекций у младенцев с риском реализации внутриутробного инфицирования необходима для подтверждения факта и уточнения фазы инфекционного процесса в организме новорожденного, определения этиологии заболевания, оценки функционального состояния отдельных органов и физиологических систем организма ребенка, а также для проведения адекватной терапии.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, ПРЕПАРАТОВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

Для лабораторного обследования и контроля показателей общего и биохимического анализа крови необходимо оборудование, определенное табелем оснащения клинико-диагностической лаборатории: гемо- и биохимический анализаторы с набором реактивов. Определение цитокинов в сыворотке крови проводится методом иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов (интерлейкин-1 α . (ИЛ-1 α), интерлейкин-8 (ИЛ-8)).

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Наличие у новорожденного факторов риска по реализации внутриутробного инфицирования.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

1 этап. Подтверждение наличия внутриутробного инфицирования и уточнение фазы инфекционного процесса

Объем первичного лабораторного обследования при рождении:

- бактериологическое исследование отделяемого носоглотки, носа, содержимого желудка, элементов сыпи на флору и определение чувствительности выделенного штамма микроорганизмов к антибиотикам;
- исследование пуповинной крови на биохимические (общий белок, общий билирубин, мочевины, глюкоза), иммунологические показатели (иммуноглобулины А, G, М, ИЛ-1 α , ИЛ-8) и С-реактивный белок;
- анализ гематологических показателей периферической крови (количество эритроцитов, содержание гемоглобина, число тромбоцитов и лейкоцитов, относительное и абсолютное количество лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов) в первые сутки жизни унифицированным методом с подсчетом интегральных гематологических индексов;
- морфологическое и гистологическое исследование плаценты.

II этап. Оценка функционального состояния отдельных органов и физиологических систем организма

Объем лабораторно-инструментального обследования в первые 48 ч жизни:

- биохимический мониторинг (определение общего белка и его фракций, билирубина, креатинина, мочевины, глюкозы, электролитов крови, уровня трансаминаз);
- показатели газового состава и КОС артериальной крови (по показаниям);
- нейросонографическое и эхокардиографическое обследование, УЗИ органов брюшной полости;
- R-логическое обследование (по показаниям).

III этап. Определение этиологических факторов инфицирования у детей с наличием или появлением патологических симптомов

Объем лабораторного обследования в первые 72 ч жизни:

- определение инфекционного антигена (вируса или микроорганизма) в биологических средах организма ребенка (кровь, моча, ликвор) методом полимеразной цепной реакции для выявления ДНК/РНК возбудителя;
- определение иммуноферментным методом специфических IgG и IgM, позволяющие зарегистрировать специфический иммунный ответ ребенка на вирус или микроорганизм;
- бактериологический мониторинг (посев содержимого элементов сыпи, эндотрахеального аспирата, отделяемого пупочной ранки или пупочного катетера, крови, ликвора на флору и определение чувствительности выделенного штамма микроорганизмов к антибиотикам).

Проведение комплексной лабораторно-инструментальной диагностики позволит документировать факт внутриутробного инфицирования, установить форму и характер течения инфекционного заболевания, а лабораторное определение его этиологии должно основываться на сочетанном применении методов обследования.

IV этап. Диагностическая оценка результатов исследования общего анализа крови

В диагностике ВУИ значимыми являются показатели абсолютного числа лейкоцитарных клеток.

Развитие врожденной инфекции у зрелых младенцев сопровождается лейкоцитозом за счет увеличения лимфоцитов и абсолютного числа нейтрофилов.

Оценка результатов исследования общего анализа крови у новорожденных детей в первые сутки жизни проводится в соответствии с разработанными показателями и в зависимости от гестационной зрелости младенцев и наличия ВУИ (табл. 1).

Таблица 1

Показатели периферической крови в первые сутки жизни у неинфицированных новорожденных и с реализацией ВУИ ($X \pm Sx$)

Показатели	Неинфицированные дети		Дети с ВУИ	
	Доношенные (n=32)	Недоношенные (n=30)	Доношенные (n=26)	Недоношенные (n=42)
	1	2	3	4
Гемоглобин, г/л	207,06±3,95	204,08±5,25	207,15±4,15	199,51±4,08
Эритроциты x10 ¹² /л	5,85±0,10	5,77±0,09	5,75±0,13	5,62±0,10
ЦП	1,03±0,01	1,05	1,03±0,02	1,08±0,07
Тромбоциты x 10 ⁹ /л	256,91±14,82	269,68±13,59	285,62±17,07	265,31±14,72
Лейкоциты, x10 ⁹ /л	15,16±1,16	18,45±1,17	20,8±1,80 p ₁₋₃ <0,05	15,28±1,32 p ₂₋₄ <0,001
Эозинофилы, %	2,55±0,30	2,24±0,27	2,67±0,80	2,41±0,30
Эозинофилы, абс. x 10 ⁹ /л	0,36±0,06	0,40±0,05	0,47±0,10	0,38±0,07
Нейтрофилы, %	64,29±2,49	61,96±2,12	63,81±2,30	52,15±3,24 p ₃₋₄ <0,01
Нейтрофилы, абс. x10 ⁹ /л	9,86±0,83	11,47±0,81	13,70±1,52 p ₁₋₃ <0,001	8,45±1,03 p ₃₋₄ <0,001
Палочкоядерные, %	11,63±1,54	13,85±1,01	17,04±1,84	11,38±1,10 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,01
Палочкоядерные, абс. x 10 ⁹ /л	1,68±0,20	2,62±0,26 p ₁₋₂ <0,05	3,61±0,61	1,89±0,27 p ₂₋₄ <0,001
Сегментоядерные %	52,45±2,68	47,46±1,91	46,52±2,91	42,43±2,69 p ₂₋₄ <0,05
Сегментоядерные абс. x10 ⁹ /л	8,15±0,77	8,72±0,62	10,04±1,14	6,66±0,73 p ₂₋₄ <0,01
Лимфоциты, %	25,41±1,88	29,42±1,94 p ₁₋₂ <0,01	27,70±1,99	36,41±2,65
Лимфоциты, абс. x10 ⁹ /л	3,93±0,49	5,32±0,45 p ₁₋₂ <0,05	5,37±0,48 p ₁₋₃ <0,01	5,06±0,42
Моноциты %	5,97±0,61	6,38±0,76	5,96±0,74	5,97±0,62
Моноциты, абс. x10 ⁹ /л	0,81±0,10	1,27±0,19 p ₁₋₂ <0,05	1,22±0,18	0,94±0,12

При оценке результатов общего анализа крови у новорожденных с факторами риска реализации ВУИ необходимо проведение расчета абсолютного числа лейкоцитарных клеток.

Развитие врожденной инфекции у зрелых доношенных младенцев в первые сутки жизни чаще сопровождается лейкоцитозом за счет увеличения абсолютного числа лимфоцитов и нейтрофилов.

У недоношенных детей реализация ВУИ в первые сутки жизни чаще отмечается на фоне лейкопении, обусловленной нейтропенией.

V этап. Расчет интегральных гематологических индексов

Интегральные гематологические индексы по соотношению отдельных клеточных популяций характеризуют состояние иммунологической реактивности, активность воспалительного процесса в организме, в т. ч. и пропорции между клетками-продуцентами цитокинов. Использование

математических интегральных показателей, часть которых изменяется уже в преднозологическом периоде или на самых ранних стадиях заболевания, позволяет, не прибегая к специальным методам исследования, оценить в динамике состояние различных звеньев иммунной системы.

Исходя из этого, в первые сутки жизни необходимо проводить анализ диагностической и прогностической ценности показателей гемограммы и расчет интегральных гематологических индексов у новорожденных с внутриутробным инфицированием:

1. Нейтрофильный индекс (НИ) определяется как отношение молодых форм нейтрофилов (сумма миелоцитов, юных, палочкоядерных) к их общему количеству и в норме не превышает 0,2.

2. Лейкоцитарный индекс (ЛИ) отражает взаимоотношения гуморального и клеточного звеньев иммунной системы и вычисляется как отношение лимфоцитов к сегментоядерным нейтрофилам.

3. Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ) позволяет дифференцировать аутоинтоксикацию и инфекционную интоксикацию и рассчитывается по соотношению лимфоцитов в десятикратном увеличении к сумме миелоцитов, метамиелоцитов, сегментоядерных, палочкоядерных нейтрофилов, эозинофилов, базофилов.

4. Индекс сдвига лейкоцитов (ИСЛ) вычисляется по формуле соотношения суммы эозинофилов, базофилов, сегментоядерных, палочкоядерных, миелоцитов, метамиелоцитов к сумме лимфоцитов и моноцитов, а его повышение свидетельствует об активном воспалительном процессе и нарушении иммунологической реактивности.

Оценка интегральных гематологических индексов проводится в соответствии с разработанными показателями у новорожденных детей с учетом их гестационной зрелости и наличия ВУИ (табл. 2).

Таблица 2

Основные интегральные гематологические показатели в первые сутки жизни у неинфицированных новорожденных и с реализацией ВУИ ($X \pm Sx$)

Показатели	Неинфицированные дети		Дети с ВУИ	
	Доношенные (n=32)	Недоношенные (n=30)	Доношенные (n=26)	Недоношенные (n=42)
НИ	0,19±0,02	0,21±0,02	0,28±0,03 p ₁₋₃ <0,001	0,24±0,03
ЛИ	0,73±0,23	0,68 ± 0,07	0,84±0,19	1,35±0,29 p ₂₋₄ <0,05
ИЛГ	4,47±0,62	5,01±0,50	4,76±0,66	8,17±1,22 p ₃₋₄ <0,05 p ₂₋₄ <0,05
ИСЛ	2,99±0,58	2,04±0,21	2,37±0,26	1,65±0,17 p ₃₋₄ <0,05 p ₂₋₃ <0,05

При реализации внутриутробной инфекции у новорожденных детей в первые сутки жизни отмечаются изменения нейтрофильного индекса, а у

недоношенных – ЛИ, ИЛГ, ИСЛ. Превышение значений нейтрофильного индекса более 0,2 у новорожденных детей свидетельствует о наличии у них инфекционного процесса.

У недоношенных детей в 1-е сутки жизни при реализации ВУИ отмечается повышение ЛИ более 0,95 и ИЛГ более 6,34, а также снижение ИСЛ менее 1,4.

VI этап. Диагностическая оценка результатов исследования интерлейкина-1 α и интерлейкина-8

Цитокины имеют высокую биологическую активность и специфичность при развитии патологических состояний воспалительного генеза в младенческом организме в зависимости от стадии реализации перинатальной инфекции.

Обнаружение в пуповинной крови у преждевременно рожденных детей повышенных уровней интерлейкина-1 α более 4,2 пг/мл служит дополнительным подтверждением наличия воспалительного процесса.

Снижение значений интерлейкина-8 в пуповинной крови менее 24,2 пг/мл у новорожденных на фоне различной стадии перинатального инфицирования дополнительно подтверждает его наличие и может быть связано с низким количеством клеток-продуцентов данного хемокина. Определение низких уровней интерлейкина-8 свидетельствует о сниженной способности к локализации инфекционного процесса и склонности к его генерализации у детей с ВУИ и может иметь прогностическое значение в развитии заболевания.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Нет.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

При соблюдении правил, требований и инструкций по выполнению забора биологического материала и его лабораторного анализа осложнений не возникает.