

U

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
профессионального образования
«Сибирский Государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России)



УТВЕРЖДАЮ
А.В. Елисеев
» 2012 г.

ОТЧЁТ

По результатам клинических исследований:
«Оценка эффективности и безвредности препарата «Реаферон-ЕС-липинт, 500000»
при экстренной профилактике клещевого энцефалита»

Спонсор исследования: ЗАО «Вектор-Медика», г. Новосибирск
Протокол: версия 3
Фаза исследования: III

Дата начала исследования: 05.2012 г.
Дата окончания исследования: 09.2012 г.

Клиническое исследование выполнено в соответствии с правилами надлежащей
клинической практики ГОСТ 52379-2005

Дата отчёта: 18.10.2012 г.

ФИО главного исследователя / ФИО координатора спонсора

Чуйкова Кира Игоревна – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой
инфекционных болезней ФПК и ППС ГБОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития
России
Усова Светлана Владимировна – к.м.н., заместитель директора по качеству ЗАО
«Вектор-Медика»

ТОМСК, 2012

Резюме

На базе кафедры инфекционных болезней СибГМУ проведено открытое, рандомизированное, сравнительное клиническое исследование препарата «Реаферон-ЕС-Липинт» у 100 добровольцев, с целью оценки профилактической эффективности в отношении клещевого энцефалита. Пациенты рандомизированы в 2 группы исследования. Первая группа (наблюдения) в количестве 50 человек получала препарат Реаферон-ЕС-Липинт, в течение 5 дней и противоклещевой иммуноглобулин, вторая группа (контрольная) в количестве 50 человек – традиционную профилактику противоклещевым иммуноглобулином. Период наблюдения составил 30 дней.

По результатам исследования установлено, что схема с включением препарата «Реаферон-ЕС-Липинт» в сравнении с традиционным введением иммуноглобулина способствует снижению уровня заболеваемости клещевым энцефалитом на 8 %. В группе наблюдения регистрировали 2(4%) случая, а в группе контроля 6 случаев (12%) заболевания клещевым энцефалитом в стертой форме. Развитие заболевания у заболевших добровольцев обеих групп протекало в стертой форме, осложненных форм инфекции не регистрировали.

Установлено, что частота и продолжительность клинических симптомов инфекции была более продолжительна в группе контроля получавших только специфический иммуноглобулин. В 1 группе наблюдения, получавших Реаферон-ЕС-Липинт, стертая форма заболевания проявлялась только характерным изменением серологических параметров при отсутствии клинических симптомов инфекции.

У заболевших добровольцев обеих групп регистрировали нарастание титров специфических иммуноглобулинов (IgM), при этом более высокие значения титров выявлялись в группе контроля, таким образом, профилактическое назначение иммуноглобулина против клещевого энцефалита служило эффективной, но недостаточной мерой для полной защиты пациентов.

Включение иммуномодулятора «Реаферон-ЕС-Липинт» приводило к изменениям иммунологических параметров, проявляющееся в достоверном повышении уровня сывороточного интерферона в 2,4-1,8 раза, относительно начального уровня, на 5-14 день наблюдения, и показателя клеточного ответа CD4+ на 30 день наблюдения, что может свидетельствовать о повышении неспецифической резистентности организма к вирусной инфекции и индуцирующем эффекте на систему эндогенного интерферона.

Применение препарата Реаферон-ЕС-Липинт характеризовалось хорошей переносимостью. Ни в одном случае побочных явлений зарегистрировано не было.

Содержание:

	Перечень сокращений и определение терминов	4
	Этические вопросы	5
	Список исполнителей	6
1.	Введение	7
2.	Цель и задачи исследования	9
3.	План исследования	9
4.	Результаты и обсуждения	13
4.1.	Характеристика добровольцев	13
4.2.	Результаты исследования клещей на наличие вируса клещевого энцефалита	15
4.3.	Оценка эффективности	15
4.4.	Оценка безопасности	22
5.	Заключение	25
6.	Выводы	26

Перечень сокращений и определение терминов

КЭ - клещевой энцефалит;

ИКБ - клещевой боррелиоз, Лайм-Боррелиоз, болезнь Лайма;

ПЦР - полимеразная цепная реакция;

ИФА - иммуноферментный анализ;

ЛПУ - лечебно- профилактическое учреждение.

Этические вопросы

Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, принятой 17-й сессией ВОЗ (1964 г.) и пересмотренной на сессии ВОЗ в 2008 г., и Международного руководства по этике при проведении биомедицинских исследований с участием человека.

Исследователи берут на себя обязанность неразглашения личных и медицинских данных об участниках. Анонимность пациента будет сохраняться в тайне и может быть раскрыта только в пределах, установленных соответствующими законами и подзаконными актами.

Подписывая Информационный листок, пациент дает свое разрешение на использование информации о состоянии своего здоровья для публикации результатов исследования в научных отчетах, статьях, при этом анонимность будет сохранена.

Список исполнителей

Главный исследователь:

Чуйкова Кира Игоревна-д.м.н, профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней
ФПК ПП СибГМУ

Соисследователь:

Петрова Е.И.- к.м.н., ассистент кафедры инфекционных болезней ФПК ПП СибГМУ

Ковалева Т.А.- к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней ФПК ПП СибГМУ

Климанова Е.М. - к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней ФПК ПП СибГМУ

Якимов В.Л. - к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней ФПК ПП СибГМУ

1. ВВЕДЕНИЕ

Клещевой вирусный энцефалит (КЭ) остается одной из самых значимых и опасных региональных природно-очаговых болезней.

По сообщению Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в 2011 г. в эпидемический сезон в лечебно-профилактические учреждения обратились более 570 тысяч пострадавших от укусов клещами, из них 120 тысяч детей, что по сравнению с аналогичным периодом 2010 г. больше на 26%. Показатель заболеваемости КЭ составил 2,45 на 100 тыс. населения — на 13,8% выше, чем в 2010г. В 2011 году зарегистрировано 34 смертельных исхода от КЭ, из них 1 — у ребенка 17 лет (2010 г. — 34). Эти данные свидетельствуют о сохранении неблагоприятной эпидемиологической ситуации по клещевому энцефалиту в Российской Федерации.

Томская область остается активным природным очагом клещевого энцефалита с высоким эпидемиологическим потенциалом по заболеваемости, показатели в 10 раз и более превышают показатели других регионов. В Томской области эпидсезон 2011 года продлился 190 дней, что на 19 дней больше по сравнению с 2010 годом. За это время в пункты серопротекции обратились более 22,1 тысячи человек, из них почти 3,5 тысячи - дети. Диагноз "клещевой энцефалит" в 2011 году был поставлен 184 больным (в 2010 году - 218), зарегистрировано три смертельных случая, тогда как в 2010 году от клещевого энцефалита скончалось два человека.

При оценке уровня инфекции в области за 60 лет прослеживается ее неуклонный рост. Клещевой энцефалит приобретает новые эпидемиологические черты: наметилась тенденция к «омоложению» заболевания, одновременно в 2,5 раза возросла доля лиц 60 лет и старше. Чаще болеют мужчины (58-69,4%). Ежегодно на пункты серопротекции Томской области обращается до 16-29 тыс. жителей.

Профилактических мер, включающих проведение специфической вакцинации, оказывается недостаточно для предотвращения массовых вспышек инфекции в эпидемический период. Из числа обратившихся в ЛПУ по поводу укусов клещами привитыми оказались 9,2% (в 2010 году 8,7%), из них 20% дети (в 2010 году 23%). Общепринятым способом экстренной профилактики КЭ в России является применение противоклещевого иммуноглобулина, хотя эффективность его практического использования неоднозначна [Одинак М.М., 1997; Надеждина М.В., 2001; Команденко Н.И., 2001; Воробьева М.С., 2002]. С одной стороны, признаётся, что применение специфических антител в больших титрах нейтрализует вирус, что предупреждает заболевание и положительно сказывается на течении патологического процесса в

дальнейшем [Иерусалимский А.П., 2001]. С другой стороны, предполагается, что введение на ранних сроках заболевания специфического иммуноглобулина, оказывает супрессивное действие на собственный гуморальный иммунный ответ организма и может способствовать формированию хронического течения [McMinn P.C., 1997; Oschmann P., 1999; Аммосов А.Д. 2002; Борисевич В.Б., 2002].

Несмотря на успехи в профилактике клещевого энцефалита, достигнутые внедрением в практику здравоохранения противоклещевого иммуноглобулина, позволившей снизить заболеваемость данной инфекцией в 8-9 раз, его применение имеет ряд противопоказаний. В первую очередь это пациенты, которым препарат противопоказан по состоянию здоровья (туберкулез, аллергии, хронические заболевания печени, почек, сердечно-сосудистой системы, эндокринная патология, злокачественные новообразования, болезни крови, прогрессирующие и дегенеративные нарушения нервной системы). Также существует риск передачи гемоконтактных инфекций через введение донорского противоклещевого иммуноглобулина. Ограничивает его применение и высокая стоимость, нехватка сырья и, как следствие, недостаток противоклещевого иммуноглобулина в лечебных учреждениях.

Также существенным недостатком профилактики клещевого энцефалита с помощью специфического иммуноглобулина является нецелесообразность его введения через 4 дня после укуса клеща [10].

Поэтому в качестве одного из перспективных направлений профилактики КЭ следует рассматривать более широкое применение препаратов этиотропного действия, нарушающих жизненный цикл вируса КЭ и блокирующих его размножение на этапе инфицирования. Многочисленные исследования показали, что одним из самых современных и перспективных методов профилактики КЭ можно считать применение препаратов интерферона.

Для экстренной профилактики КЭ предложен препарат Реаферон-ЕС-Липинт[®], который оказывает иммуномодулирующее влияние, способствует улучшению иммунологических показателей клеточного звена иммунитета: повышению количества Т-лимфоцитов, иммунорегуляторного индекса, интерферона альфа, активации хелперного звена. Клинические исследования по применению препарата в комплексной терапии лихорадочной и менингеальной форм клещевого энцефалита установили положительное терапевтическое действие, препарат способствовал более быстрой выработке иммунитета к вирусу-возбудителю. Результаты проведенных клинических исследований позволили рекомендовать применение препарата Реаферон-ЕС-Липинт в составе комплексной

терапии для лечения лихорадочной и менингеальной форм клещевого энцефалита (внесены дополнения в Инструкцию по применению).

Теоретические предпосылки, лабораторные исследования и ограниченные клинические испытания позволяют считать, что препарат Реаферон-ЕС-Липинт может быть эффективен для экстренной профилактики клещевого энцефалита.

2. ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель исследования

Оценить клиническую эффективность и безопасность препарата «Реаферон-ЕС-Липинт» при использовании его для профилактики клещевого энцефалита.

Задачи исследования

1. Изучить переносимость, частоту и характер нежелательных явлений при пероральном применении препарата «Реаферон-ЕС-Липинт»;

2. С помощью клинических и лабораторных методов изучить эффективность профилактического применения специфического иммуноглобулина и препарата «Реаферон-ЕС-Липинт» в сравнении с назначением только противоклещевого иммуноглобулина;

3. Изучить особенности клеточного, гуморального иммунитета и интерферонового статуса при использовании препарата «Реаферон-ЕС-Липинт»;

4. Обосновать необходимость применения препарата «Реаферон-ЕС-Липинт» для профилактики клещевого энцефалита.

3. ПЛАН ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Общий план (дизайн) и план-описание исследования, в том числе выбор контрольных групп

Дизайн исследования - открытое, сравнительное исследование в параллельных группах.

В исследовании приняли участие 100 добровольцев, которые были рандомизированы в 2 группы. Первая группа (наблюдения) в количестве 50 человек получала в качестве экстренной профилактики Реаферон-ЕС-Липинт и противоклещевой иммуноглобулин, вторая группа (контрольная) в количестве 50 человек – традиционную профилактику противоклещевым иммуноглобулином.

3.2. Выбор популяции

Группа добровольцев сформирована из людей, обратившихся в пункты экстренной профилактики с жалобами на присасывание клеща. Исследование клеща на наличие антигена вируса КЭ проводили в первые 4-6 часов от момента обращения. При положительном результате тестирования, подтверждающем наличие вируса,

пострадавшим производили профилактическое введение противоклещевого иммуноглобулина. Добровольцев направляли для дальнейшего наблюдения на кафедру инфекционных болезней СибГМУ, где предлагали принять участие в клиническом исследовании препарата «Реаферон-ЕС-Липинт». Максимальный срок включения пациентов в исследование после присасывания клеща до 4 дня.

По результатам обследования добровольцы признаны практически здоровыми и соответствовали критериям включения/невключения в исследование.

Критерии включения

- возраст – 18-65 лет;
- присасывание клеща в анамнезе (до 4 дня после присасывания). Выявляется анамнестически при опросе пациента, обратившегося на пункт серопротекции;
- лица, не вакцинированные против клещевого энцефалита;
- лица, не переболевшие клещевым энцефалитом;
- лица, не имеющие в крови антитела к вирусу КЭ, которые определяются с помощью иммуноферментного метода с использованием диагностических тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест»;
- лабораторно подтвержденная вирусность клеща;
- информированное согласие.

Критериями, не позволяющими принять участие в исследованиях, являются:

- гиперчувствительность к препаратам интерферона;
- тяжелые аллергические реакции;
- беременность или кормящие матери;
- существующие в настоящем или прошлом психические заболевания, настоящая алкогольная или наркотическая зависимость;
- наличие аутоиммунных заболеваний;
- наличие тяжелых соматических заболеваний (хронические заболевания сердечно-сосудистой системы, нейроэндокринной системы, печени, почек);
- женщины в предменопаузный период (последняя менструация ≤ 1 года до подписания информированного согласия), которые не являются хирургически стерильными;
- женщины, которые обладают репродуктивным потенциалом и не пользуются доступными средствами контроля рождаемости или не планируют пользоваться таковыми на протяжении всего исследования (к доступным средствам контроля рождаемости относятся внутриматочные устройства, пероральные, имплантированные

или инъекционные контрацептивы) и не согласны на проведение теста мочи на беременность во время участия в исследовании.

3.3. Принятые меры по экстренной профилактике КЭ

3.3.1. Назначения

Первый прием препарата добровольцы начинали сразу после включения в одну из исследуемых групп по итогам рандомизации. При этом соблюдались следующие схемы профилактического приема:

Наименование препарата	Группы наблюдаемых / схема и дозировка препарата	
	1 группа	2 группа
Реаферон-ЕС-Липинт	ежедневно по 500000 МЕ два раза в сутки в течение 5 дней	
Иммуноглобулин против клещевого энцефалита	0,1мл/1кг веса внутримышечно однократно	0,1мл/1кг веса внутримышечно однократно

Обоснованием данной дозировки и схемы применения препарата «Реаферон-ЕС-Липинт» служат данные проведенных ранее ограниченных клинических исследований, свидетельствующих об его эффективности.

Пациенты получали препарат согласно группе рандомизации в объеме необходимом для проведения полного курса лечения вместе с инструкцией по приготовлению суспензии с указанием времени приема препарата.

3.3.2. Идентификация лекарственного средства

Данное клиническое исследование является открытым. Препарат «Реаферон-ЕС-Липинт», лиофилизат предоставлен спонсором в заводской упаковке фирмы-производителя с инструкцией по надлежащему применению и хранению. Контроль качества серий препарата, используемых в клиническом исследовании, осуществлен в отделе контроля качества ЗАО «Вектор-Медика», в лечебное учреждение препарат предоставлен с паспортом качества на указанные серии.

3.3.3. Метод рандомизации

Использован метод простой рандомизации. После подписания добровольцами формы информированного согласия, каждому участнику исследования присвоен код пациента, согласно листа рандомизации, определяющего принадлежность к группе исследования.

3.3.4. Предшествующая и сопутствующая терапия

В период проведения клинического исследования по изучению профилактического действия препарата Реаферон–ЕС-Липинт в группе, принимавших исследуемый препарат регистрировали 2(4%) случая развития заболевания клещевым энцефалитом. В группе добровольцев, получавших для экстренной профилактики противоклещевой

иммуноглобулин, выявлено 6(12%) случаев клещевого энцефалита. Так как заболевание протекало в стертой форме, то проведения специфической терапии клещевого энцефалита не требовалось.

3.3.5.Соблюдение режима лечения

Выполнение пациентами предписаний контролировалось ответственными исследователями.

Клиническое обследование:

Клиническое обследование включало клинические и лабораторно-инструментальные методы:

- общий осмотр пациента, выяснение жалоб с внесением данных в ИРК (наличие температуры тела, головной боли, слабости, нарушения сна, головокружения, снижения аппетита, тошноты, рвоты, болей в мышцах, наличия парестезий, инъекций склер, гиперемии слизистой ротоглотки). Регистрация параметров проводится на каждом визите;
- по показаниям – осмотр невропатолога;
- физикальное обследование, измерение основных физиологических показателей (ЧСС, АД, температура тела, окраска кожи) с внесением данных в ИРК на каждом визите; общий анализ крови; биохимическое исследование; общий анализ мочи; исследование иммунологического статуса; исследование крови на наличие вируса КЭ методом ПЦР, определение титров антител к вирусу клещевого энцефалита.

При проведении исследования общего анализа крови, мочи, биохимических анализов использовали стандартные унифицированные методы. Определение антигена вируса КЭ в клеще проводили иммуноферментным методом с помощью диагностических тест-систем производства ЗАО«Вектор-Бест» (п.Кольцово Новосибирской области). Содержание специфических иммуноглобулинов IgG и IgM определяли с помощью иммуноферментных тест-систем производства «Новгородские системы» (г.Новгород)

Сроки выполнения обследований и регистрации основных показателей регламентированы протоколом исследования.

Эффективность профилактики клещевого энцефалита оценивалась по следующим параметрам: количество заболевших клещевым энцефалитом; длительность инкубационного периода; форма и тяжесть течения заболевания; продолжительность заболевания; осложнения во время болезни; наличие остаточных явлений; определение титра антител к вирусу клещевого энцефалита; положительная динамика в иммунологической картине крови, повышение выработки интерферона.

В случае развития заболевания доброволец обращался к врачу-исследователю, независимо от даты последующего визита. Наблюдение за заболевшими проводили в течение всего времени заболевания.

1.1. Данные относительно гарантии качества

Контроль и обеспечение качества осуществлялось на протяжении всего исследования путем мониторинга с участием представителя спонсора.

1.2. Статистические методы

Проведена статистическая обработка полученных данных с использованием методов описательной статистики с определением числовых характеристик переменных – средней арифметической (М), средней ошибки выборки (м). Достоверность различий между группами (р) в независимых и репрезентативных выборках оценивалась по t-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

1.3. Изменения запланированного проведения исследования или анализа

Изменений в план исследования в ходе его проведения не вносили.

4. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. Характеристика добровольцев

В клиническом исследовании приняли участие 100 добровольцев, которые были рандомизированы в 2 равнозначные по возрасту и полу группы:

1. первая группа (наблюдения) в количестве 50 человек получала для профилактики иммуномодулирующий препарат «Реаферон-ЕС-Липинт» в течение 5 дней ежедневно по 500000 МЕ два раза в сутки, и иммуноглобулин против клещевого энцефалита однократно, в дозе из расчета 0,1 мл/кг.

2. вторая группа (контроля) в количестве 50 человек в качестве профилактики получала иммуноглобулин против клещевого энцефалита человеческий в дозе из расчета 0,1 мл/кг массы тела однократно в день обращения.

В исследования входили лица обоих полов в возрасте от 18 до 65 лет.

Распределение добровольцев в группах исследования по полу и возрасту представлено в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика пациентов по полу и возрасту

Группы пациентов	Пол		Средний возраст (лет)
	Мужчин	Женщин	
Группа 1 (n=50)	26	24	42,7
Группа 2 (n=50)	31	19	44,9

Средний возраст всех добровольцев был равен 43,8 лет, из них мужчин – 57 человек, средний возраст – 44,5 лет; женщины- 43 человек, средний возраст- 43,1 г.

При анализе эпидемиологической картины установлено, что присасывание клеща происходило: на отдыхе на природе – 24%, при посещении дачных участков – 20%; на охоте, рыбалке, при сборе грибов/ягод – 2,0%. 54% добровольцев затруднялись ответить, когда произошло присасывание клеща. Практически все добровольцы (99%) отмечают факт присасывания клеща, только в одном - лишь напознание клещей.

В первые сутки после обнаружения клеща в пункты серопрофилактики ЛПУ обратилось всего 8% участников исследования. Большинство добровольцев (67%) обратилось за медицинской помощью на 2-3 сутки после присасывания или обнаружения клеща, и 25% на 4 сутки.

Состояние здоровья исследуемых добровольцев на этапе проведения скрининга было удовлетворительным, отвечало основным критериям включения/невключения в исследование. Все добровольцы определены к группе практически здоровых, однако, в анамнезе жизни имелись указания на хронические соматические заболевания вне стадии обострения, что не являлось противопоказанием для включения в исследование (таблица 2).

Таблица 2

Характеристика сопутствующей соматической патологии в группах наблюдения

Заболевания	Группа 1 (наблюдения) n=50	Группа 2 (контроля) n=50
Гипертоническая болезнь	25	32
Стенокардия	2	1
Гастрит, дуоденит	7	4
ЖКБ, холецистит	5	4
Гепатит	1	0
Хламидиоз	2	1
Цистит, пиелонефрит, гидронефроз	5	7
Миома, эндометриоз	2	1
Сахарный диабет	3	2
Остеохондроз	5	7
Хронический тонзиллит, ангины	2	1
Хронический бронхит	2	
Тиреоидит		2
Дерматит, псориаз	1	1
Всего добровольцев, имеющих сопутствующую патологию	41	38

Женщины, принявшие участие в исследовании, перед включением в настоящее исследование были проверены на наличие беременности с помощью одноразовых тестов «Министрип (ГравитестХГЧ)» (Канада). Результаты исследования – отрицательные.

4.2. Результаты исследования клещей на наличие вируса клещевого энцефалита

Исследование клещей при их присасывании на людях с целью определения их возможной инфицированности является важным моментом для проведения своевременной и целенаправленной пассивной иммунизации. Обязательным условием включения лиц в данное исследование было лабораторное выявление антигена вируса клещевого энцефалита в клеще.

Результаты проведенного исследования клещей свидетельствуют о наличии вируса КЭ в клещах.

4.3. Оценка эффективности

4.3.1. Эпидемическая ситуация по клещевому энцефалиту в г.Томске и Томской области в сезон 2011-2012гг.

На протяжении ряда лет на территории Томской области сохраняется неблагоприятная эпидемическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту, характеризующаяся высокой численностью клещей переносчиков и высокой зараженностью их вирусом (около 5%).

В 2012 году на территории Томской области активность клещей выявлялась с первой декады апреля. Первый случай укуса зафиксирован 7.04.12. Пик численности клещей регистрировали в третьей декаде мая – первой декаде июня. На момент составления отчета эпидсезон 2012 г по клещевому энцефалиту в г. Томске не завершен. На 12.09.2012 в пункты серопрофилактики г. Томска и области в связи с укусом клеща обратились 14263 человека, среди них с подозрением на клещевой энцефалит и ИКБ -474 человек. Окончательный диагноз «Клещевой энцефалит» был установлен у 74 пациентов, в том числе у 8 детей. В 2012 году не было зарегистрировано ни одного летального случая клещевого энцефалита.

Оказание помощи лицам, пострадавшим от клещей, проводилось в пунктах экстренной профилактики. Анализ клещей или крови на наличие зараженности клещевыми инфекциями осуществлялся лабораторией вирусологических исследований ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Томской области» в первые 4-6 ч с момента доставки материала, что обеспечивает возможность раннего начала профилактических

мер. После получения положительного результата исследования (наличие вируса КЭ в клеще) укушенным вводили противоклещевой иммуноглобулин.

4.3.2. Результаты оценки профилактической эффективности

Эффективность экстренной профилактики клещевого энцефалита оценивали на основании данных о количестве заболевших за период наблюдения, о продолжительности заболевания, о возникновении осложнений во время болезни.

По всем этим параметрам проводили сравнительную оценку в двух параллельных группах - среди получавших с целью профилактики Реаферон-ЕС-Липинт и противоклещевой иммуноглобулин и общепринятую профилактику одним иммуноглобулином.

Анализ заболеваемости клещевым энцефалитом за весь период профилактики с апреля по сентябрь 2012 г. показал, что в 1 группе лиц, принимавших препарат Реаферон–ЕС-Липинт, в период наблюдения у 3 добровольцев (6,7%) отмечалось развитие различных симптомов недомогания: головной боли, головокружения, повышения давления, слабости, мышечных болей (таблица 3). За аналогичный период среди получавших противоклещевой иммуноглобулин появление астено-невротических симптомов в виде слабости, головокружения, головной боли, миалгий было зарегистрировано у 9 (18%) добровольцев.

Таблица 3

Характеристика симптомов заболеваний, появившихся в период наблюдения у добровольцев.

Симптомы	Группа 1 наблюдения (n=46)		Группа 2 контроля (n=50)	
	Количество добровольцев	Средняя продолжительность, дни	Количество добровольцев	Средняя продолжительность, дни
Повышение температуры тела до 37,5 °С	0	0	1	1
Головная боль	2	9,5	9	11,5
Головокружение	1	15	2	14,5
Повышение давления	1	20	1	16
Общая слабость, повышенная утомляемость	1	4	8	10,8
Снижение работоспособности	0	0	6	10,1
Катаральные явления	0	0	2	10
Мышечные и корешковые боли	1	9		

Для уточнения диагноза были проведены консультации невролога и терапевта, в результате чего установлено, что предъявляемые 3 добровольцами первой группы жалобы не связаны с развитием заболевания КЭ. Выявлено обострение имеющихся заболеваний: «остеохондроз шейного и поясничного отделов» и «гипертоническая болезнь». При комплексном лабораторном обследовании у данных пациентов не выявлено наличия специфического иммуноглобулина IgM к вирусу КЭ в сыворотке крови. Таким образом, диагноз клещевого энцефалита не подтвердился.

Также не подтвердился диагноз клещевого энцефалита у 4 добровольцев второй группы контроля. Жалобы, предъявляемые данными пациентами, были расценены как проявления обострений сопутствующих заболеваний: хронический тонзиллит, остеохондроз, гипертоническая болезнь. Кроме того, не установлено наличия специфического иммуноглобулина IgM к вирусу КЭ в сыворотке крови данных добровольцев, что позволяет исключить диагноз «Клещевой энцефалит».

У 4 добровольцев группы контроля подтвердился диагноз «Клещевой энцефалит», (стертая форма). Больные предъявляли жалобы на головную боль, слабость, головокружение. В клинической картине преобладали явления инфекционного токсикоза: головная боль, головокружение, потливость, слабость. Неврологические симптомы (нарушение координации движений, симптомы Кернига и, Будзинского) отсутствовали. Диагноз был подтвержден данными серологического обследования по характерному выявлению диагностических титров иммуноглобулина IgM к вирусу КЭ (таблица 4,5). У данных пациентов наблюдали легкую форму инфекции не требующую проведения специфической терапии,

Кроме того, у 1 пациента второй группы контроля появление клинической симптоматики сопровождалось появлением кольцевидной эритемы в месте укуса. Данному больному был установлен диагноз «Клещевой боррелиоз». Диагноз был подтвержден результатами лабораторного обследования.

Известно, что маркером острой инфекции является выработка специфических IgM против клещевого энцефалита, а по данным разных авторов [А.Д.Аммосов, В.И.Злобин] отношение субклинических и клинически выраженных форм клещевого энцефалита составляет от 57:1 до 820:1, в связи с чем, для выявления бессимптомных форм КЭ и для подтверждения диагноза проводили серологическое обследование для выявления специфических IgM и РНК вируса в крови методом ПЦР (таблица 4).

Таблица 4

Результаты серологического обследования и ПЦР у добровольцев.

Наблюдаемые группы	Количество пациентов (%) с положительным значением титра специфических JgM					Количество пациентов (%), у которых регистрировали наличие РНК вируса в крови				
	1 виз/скр	3 виз/5 день	5 виз/14 день	6 виз/21 день	7 виз/30 день	1 виз/скр	3 виз/5 день	5 виз/14 день	6 виз/21 день	7 виз/30 день
1 группа (n=50)	0	2 (4%)	2 (4%)	2 (4%)	1 (2%)	0	0	0	0	0
2 группа (n=50)	0	6(12%)	6(12%)	6(12%)	4(8%)		1(2%)			

При обследовании сыворотки крови у двух добровольцев 1 группы были выявлены специфические JgM, что позволило установить бессимптомную форму КЭ. При этом данные добровольцы не предъявляли никаких жалоб. В группе контроля специфические JgM были определены у 6 добровольцев, двое из которых не предъявляли жалоб, характерных для развития клещевого энцефалита. Появление специфических JgM было установлено на 5 день наблюдения, в дальнейшем отмечается нарастание значений JgM, а к окончанию исследования их значения уменьшаются (таблица 5).

Таблица 5

Динамика изменения титров иммуноглобулина IgM к вирусу клещевого энцефалита у пациентов группы контроля, с иннапарантной формой клещевого энцефалита

Код пациента	Визит 3	Визит 5	Визит 6	Визит 7
группа 1(Л003КСР)	1,3	3,1	3,9	3,1
Группа 1(Л007КВВ)	1,7	3,27	4,2	3,7
Группа2(К051АЛВ)	0,96	3,4	4,2	7,1
Группа2(К054АЕВ)	0,9	1,6	2,4	не обнаружен
Группа2(К079ЗЛК)	2,5	6,5	4,4	2,2
Группа2(К056НЛА)	1,3	2,1	5,8	4,3
Группа2(К058ЧНН)	6,2	6,8	5,1	4,6
Группа2(К085МГС)	0,8	2,2	3,4	не обнаружен

Кроме того, у 1 добровольца из 2 группы контроля на 5 день наблюдения в крови методом ПЦР установлено наличие РНК вируса в крови.

Не установлено статистически значимого нарастания титров специфических IgG у добровольцев, участвующих в данном исследовании. У ряда добровольцев из обеих групп (10% из первой и 8% из второй) были выявлены IgG на этапе скрининга, при этом значения титров ни в одном случае не превышали 1/200, что позволило включить этих добровольцев в исследование. Выявление специфических IgG вероятно связано с проведение иммунизации донорским иммуноглобулином против клещевого энцефалита, и

не противоречит данным о том, что некоторый процент общей популяции здоровых людей может иметь циркулирующие IgG антитела к вирусу клещевого энцефалита вследствие контакта с вирусом в прошлом, не имевшего существенных клинических проявлений.

Таким образом, диагноз «Клещевой энцефалит, стертая форма» был установлен на основании данных серологического исследования, жалоб и эпиданамнеза (присасывание вирусоформного клеща) у 4 добровольцев второй группы контроля. Лечение данных пациентов производилось амбулаторно, симптоматическими средствами.

У 2 пациентов первой группы наблюдения и 2 из второй группы контроля диагноз «Клещевой энцефалит, стертая форма» поставлен на основании данных эпиданамнеза (присасывание вирусоформного клеща) и наличия диагностических титров IgM, при этом клинических проявлений заболевания отсутствовали. Состояние больных не страдало и проведения специфического лечения не требовалось.

Также, в данном исследовании, установлен 1 случай заболевания Клещевым боррелиозом у добровольца 2 группы контроля. На 21 день от начала профилактики у добровольца отметили ухудшение самочувствия, появление головной боли, слабости, появление кольцевидной эритемы в месте укуса. По клиническим данным и результатам лабораторного исследования (ИФА IgM ИКБ 1:400) у данного пациента установлен диагноз Клещевой боррелиоз, острое течение, безэритемная форма, серопозитивный вариант. Лечение пациента производилось в стационаре с использованием антибактериальной терапии.

Таким образом, среди добровольцев 1 группы наблюдения зарегистрировано 2(4%) случая клещевого энцефалита, во 2 группе контроля 6(12%) случаев клещевого энцефалита и 1(2%) случай клещевого боррелиоза (таблица 6).

Оценить продолжительность инфекции у заболевших не представляется возможным, так как заболевание клещевым энцефалитом протекало в стертой форме. Осложненных форм инфекции не регистрировали ни у одного добровольца групп исследования.

Таблица 6

Характеристика заболеваемости клещевыми нейроинфекциями у добровольцев 1,2 групп наблюдения

Характеристика добровольцев	Группа I (наблюдения) N=50	Группа II (контроля) N=50
1. Общее количество заболевших	2	7
2. Клещевой энцефалит		

-стертая форма	2	6
-лихорадочная форма	0	0
-менингеальная форма	0	0
3. Клещевой боррелиоз	0	1

Таким образом, установлено, что профилактическое применение препарата Реаферон-ЕС-Липинт способствовало снижению уровня заболеваемости клещевым энцефалитом на 8%.

Известно, что на развитие инфекционного процесса влияет исходное состояние иммунной системы человека. Согласно современным представлениям, ключевое значение в защите организма на ранней стадии инфекции клещевого энцефалита, имеет клеточный иммунитет. Поэтому прогностически значимым для развития инфекции является Т-дефицит и длительная циркуляция антител класса IgM, что может указывать также на нарушение функций эффекторов клеточного иммунитета.

Установлено, что значения показателей клеточного и гуморального иммунитета у добровольцев до исследования соответствовали физиологической норме, в процессе изучения влияния препарата Реаферон-ЕС-Липинт значительных сдвигов этих параметров не наблюдали.

При изучении иммунологических показателей в 1 группе добровольцев выявлено достоверное повышение показателя CD4+ на 7 визите (30 день наблюдения) на фоне применения препарата Реаферон-ЕС-Липинт ($p < 0,05$)(таблица 6).

Таблица 6

Исследование показателей иммунного статуса добровольцев

Показатель	Норма	Группа 1 (наблюдения)			Группа 2 (контроля)		
		Визит 1	Визит 6	Визит 7	Визит 1	Визит 6	Визит 7
CD4+ лимфоциты %	34-43%	36,11±1,21	42,1±1,09	44,3*±1,11	42,1±1,20	39,6±1,2	41,4±1,20
CD8+ лимфоциты %	18-28%	24,3±1,11	24,1±0,21	23,2±1,08	25,5±0,21	25,3±1,05	23,4±1,11
CD16+ лимфоциты %	14-20%	14,7±0,1	14,6±0,14	14,08±0,21	16,4±0,1	14,8±1,22	15,0±1,11
CD20 лимфоциты %	16-23%	16,7±0,1	17,3±0,21	18,2±0,21	16,4±0,22	15,4±0,23	18,6±0,21
ИРИ (CD4/CD8)	1,5	1,56±0,12	1,7±0,12	1,9±0,14	1,62±0,12	1,56±1,12	1,7±0,11

* - $< 0,05$ по сравнению с показателями до проведения профилактики

Таким образом, назначение иммуномодулятора Реаферон-ЕС-Липинт, влияет на показатели Т-клеточного звена, что является благоприятным прогностическим признаком.

При изучении динамики накопления интерферона–альфа 2 в сыворотках крови добровольцев (таблица 7), вошедших в первую группу, было установлено повышение уровня интерферона на 5 и 14 день наблюдения ($p < 0,05$). Содержание интерферона альфа в сыворотке на 5 день исследования повысилось в 2,4 раза ($p < 0,05$), а на 14 день наблюдения регистрировали повышение уровня сывороточного интерферона в 1,8 раз, относительно начального уровня ($p < 0,05$).

В группе, принимавших для специфической профилактики противоклещевой иммуноглобулин, достоверных изменений уровня сывороточного интерферона не регистрировали, отмечалась тенденция к повышению уровня интерферона на 5-14 день наблюдения, средние значения показателя сывороточного интерферона при обследовании на 21 и 30 день наблюдения были ниже физиологической нормы (2-8 МЕ/мл), что свидетельствует о постинфекционном дефиците и может рассматриваться как показание к интерферон-стимулирующей терапии.

Таблица 7.

Содержание сывороточного интерферона альфа в динамике

Показатель	Интерферон-альфа (МЕ/мл)				
	1 визит (до начала профилактики)	3 визит (5 день)	5 визит (14 день)	6 визит (21 день)	7 визит (30 день)
1 группа	2,06±0,71	4,90*±1,17	3,7*±0,72	2,1±0,82	1,98±0,69
2 группа	2,2±0,89	3,2±0,73	2,3±0,6	1,9±1,14	1,5±0,95

* - $< 0,05$ по сравнению с показателями до проведения профилактики

Установлено, что Реаферон-ЕС-Липинт оказывает продолжительный иммуностимулирующий эффект за счет повышения уровня экзогенного интерферона и стимуляции интерферогенеза, то есть повышения выработки эндогенного интерферона. На рисунке 1 показано нарастание значений сывороточного интерферона в разных группах.

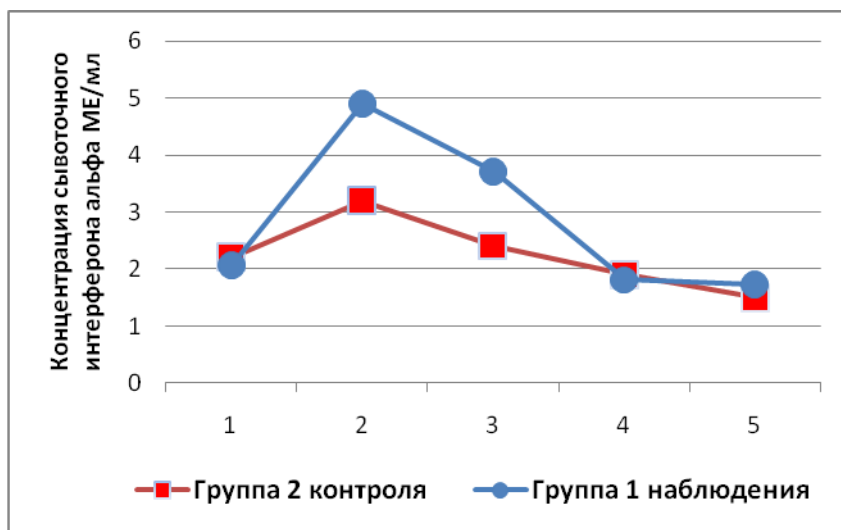


Рис.1. Динамика изменений уровня интерферона у добровольцев.

Таким образом, предложенная комплексная схема экстренной профилактики клещевого энцефалита с применением специфического иммуноглобулина и препарата Реаферон-ЕС-Липинт является более эффективной по сравнению с профилактическим введением только иммуноглобулина. Применение препарата Реаферон-ЕС-Липинт способствует снижению заболеваемости КЭ на 8 %. Клиническая симптоматика клещевого энцефалита у заболевших в группе наблюдения отсутствовала, диагноз определен по совокупности эпидемиологических и лабораторных данных у 2 пациентов. В группе контроля у 4 пациентов регистрировали клинические симптомы стертой формы клещевого энцефалита. У 2 пациентов диагноз установлен лабораторно. В группе наблюдения регистрировали 2(4%) случая КЭ, а в группе контроля 6 случаев (12%) заболевания клещевым энцефалитом в стертой форме.

Включение в схему препарата Реаферон-ЕС-Липинт вызывало повышение выработки эндогенного интерферона, усиление клеточного ответа, что определяет противовирусный эффект препарат.

4.4.ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ

Препарат «Реоферон-ЕС-Липинт, лиофилизат для приготовления суспензии для приема внутрь, 250000 ME, 500000 ME, 1000000 ME» разрешен к медицинскому применению с 2001 года на территории Российской Федерации (регистрационное удостоверение № ЛСР-000011 от 20.03.2007). Зарегистрирован в Республике Беларусь (регистрационное удостоверение № 8993/09 от 30.06.2009 г.), в Украине (регистрационное удостоверение №UA/5368/01/01 от 13.11.2006 г.), в республике Казахстан (РК-ЛС-5-№016103 от 21.05.2010 г.; РК-ЛС-5-№016104 от 21.05.2010 г.; РК-ЛС-5-№016105 от

21.05.2010 г.) и в Азербайджанской Республике (DV № 09-00175 от 24.06.2009 г.). Необходимо отметить, что наш клинический опыт применения препарата при различной инфекционной патологии (грипп и другие ОРВИ, клещевой энцефалит и др.) не выявил развития нежелательных эффектов ни в одном случае.

Оценка безопасности осуществлялась на основании объективных (клиническое наблюдение, показатели лабораторных тестов) и субъективных критериев. Каждому больному был выдан Дневник наблюдения, в котором он отображал свое самочувствие при приеме препарата.

До настоящего исследования пациенты не получали препарат Реаферон-ЕС-Липинт. За весь период наблюдения (в течение месяца), при активном клиническом осмотре наблюдаемых лиц ответственным врачом, не было выявлено каких - либо побочных реакции со стороны различных органов и систем ни у одного добровольца. Субъективных данных о непереносимости препарата, о побочных негативных, аллергических или каких-либо других нежелательных явлений, как во время профилактического курса, так и по окончании приема в дневниках наблюдения зафиксировано не было.

Одним из показателей реактивности организма человека являются гематологические изменения, происходящие в организме в результате различных воздействий. Установлено, что применение препарата не вызывало достоверных изменений количества гемоглобина, лейкоцитов и эритроцитов в период наблюдения (таблица 8). Лабораторные данные подтверждают отсутствие выраженных изменений показателей гемограммы у добровольцев. Колебания исследуемых показателей носили функциональный характер и не выходили за пределы физиологической нормы.

Таблица 8

Показатели гемограммы у добровольцев

Исследуемые показатели	Норма	Группа I (наблюдения)		Группа II (контроля)	
		Скрининг (М±м)	Визит 7 (30 день наблюдения) (М±м)	Скрининг (М±м)	Визит 7 (30 день наблюдения) (М±м)
Эритроциты	4,0 – 5,5*10 ¹² /л	4,55±0,1	4,95±0,1	4,75±0,1	4,39±0,2
Гемоглобин	130-170 г/л	138±3,6	148,6±4,2	139,9±6,8	126,3±6,5
Лейкоциты	4,0–9,0*10 ⁹ /л	6,1±0,42	5,7±0,39	6,5±0,36	5,31±0,38
Сегментоядерные нейтрофилы	42-72%	54,3±1,7	52,5±2,4	60,6±2,0	50,8±2,8
Лимфоциты	25-40%	38,2±1,6	39,96±1,8	33,3±2,1	40±2,05
Моноциты	1-8%	7,18±0,4	6±0,6	5,86±0,47	8,62±1,36
Тромбоциты	180-320*10 ⁹ /л	259,6±13,2	229,7±13,6	313,2±13,5	183,7±14
СОЭ	1-10 мм/ч	5,4±0,7	7,3±0,82	7,3±0,76	6±0,9

Для выявления возможного повреждающего действия препарата Реаферон-ЕС-Липинт на печень исследовали активность ферментов аминотрансфераз и уровень общего билирубина сыворотки крови больных.

Как показали проведенные исследования, применение препарата не вызывало существенных изменений уровня общего билирубина и активности указанных ферментов во все сроки наблюдения. Колебания исследуемых показателей носило функциональный характер и не выходило за интервалы физиологической нормы (таблица 9).

Таблица 9

Показатели биохимического анализа крови у добровольцев

Исследуемые показатели	Норма	Группа I (наблюдения)		Группа II (контроля)	
		Скрининг (М±м)	Визит 7 (30 день наблюдения) (М±м)	Скрининг (М±м)	Визит 7 (30 день наблюдения) (М±м)
Общий билирубин	8,5-20,5 мкмоль/л	10,9±1,7	13,1±2,6	14,7±1,3	14,5±2,2
АСТ	0-40 Е/л	30,2±2,8	18,2±1,1	33,6±4,1	25,7±2,4
АЛТ	0-40 Е/л	30,1±4,4	27,7±3,5	27,9±2,8	20,3±2,9

Для выявления влияния препарата на выделительную функцию почек проводили общий анализ мочи (удельный вес, содержание белка, сахара, лейкоцитов, эритроцитов, клеток

эпителия). В течение всего периода наблюдения не было выявлено патологических изменений в моче ни у одного добровольца. Изменение удельного веса мочи представлено в таблице 10.

Таблица 10

Показатели общего анализа мочи у добровольцев

Исследуемый показатель	Норма	Группа I (наблюдения)		Группа II (контроля)	
		Скрининг (M±m)	Визит 7 (30 день наблюдения) (M±m)	Скрининг (M±m)	Визит 7 (30 день наблюдения) (M±m)
Удельный вес	1,010-1,030	1,014±0,001	1,016±0,002	1,015±0,002	1,014±0,002

* - P < 0,05 различия достоверны

Таким образом, результаты исследования безопасности применения препарата Реаферон-ЕС-Липинт для экстренной профилактики клещевого энцефалита в комбинации с иммуноглобулином свидетельствуют об его хорошей переносимости и безопасности.

5.ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование профилактической эффективности препарата Реаферон-ЕС-Липинт в комбинации со специфическим иммуноглобулином показало, что применение его с профилактической целью при укусе клещей, содержащих антиген вируса КЭ, способствовало уменьшению количества заболевших клещевым энцефалитом на 8 %.

При применении стандартной схемы экстренной профилактики (введение специфического иммуноглобулина в расчете 0,1мл/кг) было выявлено 6 случаев заболевания КЭ в стертой форме. Заболевание у 4 пациентов протекало с выраженной астеноневротической симптоматикой и диагноз был подтвержден выявлением в крови добровольцев специфических иммуноглобулинов класса М.

При применении комбинированной схемы профилактики, с включением препарата Реаферон-ЕС-Липинт, выявлено 2 заболевших клещевым энцефалитом, стертая форма, у данных пациентов не имелось клинических симптомов инфекции, диагноз установлен лабораторно.

Осложненных форм клещевого энцефалита в исследовании не зарегистрировано.

Включение в схему препарата Реаферон-ЕС-Липинт вызывало усиление клеточного ответа, достоверное повышение показателя СД4+ регистрировали на 7 визите (30 день наблюдения). В группе контроля достоверных изменений иммунограммы не наблюдалось.

Применение препарата Реаферон-ЕС-Липинт в комбинации с иммуноглобулином вызывало повышение уровня интерферона на 5 и 14 день наблюдения ($p<0,05$). Содержание интерферона альфа в сыворотке на 5 день исследования повысилось в 2,4 раза ($p<0,05$), а на 14 день наблюдения регистрировали повышение уровня сывороточного интерферона в 1,8 раз, относительно начального уровня ($p<0,05$). В группе контроля повышение уровня интерферона не наблюдалось.

Применение препарата Реаферон-ЕС-Липинт не вызывало изменений показателей периферической крови, биохимических анализов. Не установлено нежелательного действия препарата на функциональное состояние почек. Все добровольцы отмечают хорошие органолептические свойства препарата и удобства применения данной лекарственной формы. Ни в одном случае не выявлено аллергических реакций.

Таким образом, клиническое исследование, проведенное в период эпидемического сезона по клещевому энцефалиту 2012 г., в г. Томск на базе кафедры инфекционных болезней СибГМУ, среди взрослых добровольцев, контактировавших с вирусофорным клещем, позволяет считать, что оригинальный отечественный препарат Реаферон-ЕС-Липинт, обладающий противовирусным и иммуномодулирующим действием, является эффективным средством защиты от клещевого энцефалита и может быть использован в составе комплексных мер для экстренной профилактики клещевого энцефалита.

6. ВЫВОДЫ

- 1) Установлена профилактическая эффективность использования препарата «Реоферон-ЕС-Липинт» в составе комплексных мер по экстренной профилактике клещевого энцефалита.
- 2) Применение комплексных мер по профилактике с включением препарата «Реоферон-ЕС-Липинт» в сравнении традиционным введением иммуноглобулина способствовало снижению уровня заболеваемости клещевым энцефалитом на 8 %. В группе наблюдения регистрировали 2(4%) случая КЭ, а в группе контроля 6 случаев (12%) заболевания клещевым энцефалитом в стертой форме.
- 3) Установлено, что развитие заболевания у пациентов обеих групп проходило в стертой форме. Клинические симптомы инфекции регистрировали у 4 пациентов контрольной группы, преобладали явления инфекционного токсикоза: головная боль, головокружение, потливость, слабость. У заболевших, получавших Реаферон-ЕС-Липинт, стертая форма заболевания проявлялась только характерным изменением серологических параметров

при отсутствии клинических симптомов инфекции, что свидетельствует об облегчении клинической симптоматики заболевания.

4) Включение в схему препарата Реаферон-ЕС-Липинт вызывало усиление клеточного ответа, характеризующееся достоверным повышением показателя СД4+ на 30 день наблюдения, что является благоприятным прогностическим признаком. В группе контроля достоверных изменений иммунограммы не наблюдалось.

4) Установлено, что включение иммуномодулятора «Реаферон-ЕС-Липинт» приводит к достоверному повышению уровня сывороточного интерферона на 5-14 день наблюдения в 2,4-1,8 раза, относительно начального уровня, свидетельствующее об индуцирующем эффекте на эндогенный интерферон и повышении неспецифической резистентности организма к вирусной инфекции.

5) Применение препарата Реаферон-ЕС-Липинт характеризовалось хорошей переносимостью. Ни в одном случае побочных явлений зарегистрировано не было.

Главный исследователь:

Заведующая кафедрой инфекционных
болезней ФПК ПП СибГМУ
д.м.н, профессор



Чуйкова К.И.

Соисследователь:

Ассистент кафедры инфекционных
болезней ФПК ПП СибГМУ, к.м.н.



Петрова Е.И.

Доцент кафедры инфекционных
болезней ФПК ПП СибГМУ, к.м.н.



Ковалева Т.А.

Доцент кафедры инфекционных
болезней ФПК ПП СибГМУ, к.м.н.



Климанова Е.М.

Доцент кафедры инфекционных
болезней ФПК ПП СибГМУ, к.м.н.



Якимов В.Л.