
Современные тесты в экспресс диагностике заболеваний ЖКТ

Рытикова Н.С.

Направления диагностики заболеваний ЖКТ

- Воспалительные заболевания
 - Онкологические заболевания
 - Инфекционные заболевания
-

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК)

Актуальность
ВЗК - системные заболевания

- крайне разнообразная клиническая картина поражения кишечника
- в детском возрасте - стертая клиника заболевания, влияние болезни на физическое и половое развитие ребенка
- неуклонный рост заболеваемости ВЗК среди детей и взрослых, «омоложение» болезни
- большой спектр возможных внекишечных проявлений, что крайне затрудняет первичную диагностику

Воспалительные заболевания кишечника

Это хронические ремиттирующие заболевания,

- с непредсказуемым течением и
- вариабельным ответом на терапию

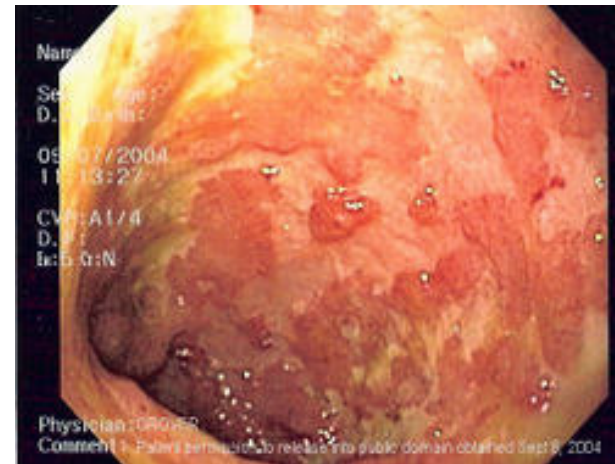
Диагностика этих заболеваний основана на

- клинических, радиологических,
- эндоскопических и гистологических исследованиях

Принято считать, что влияние различных факторов - иммунологических, инфекционных, генетических, а также влияние окружающей среды увеличивает риск развития

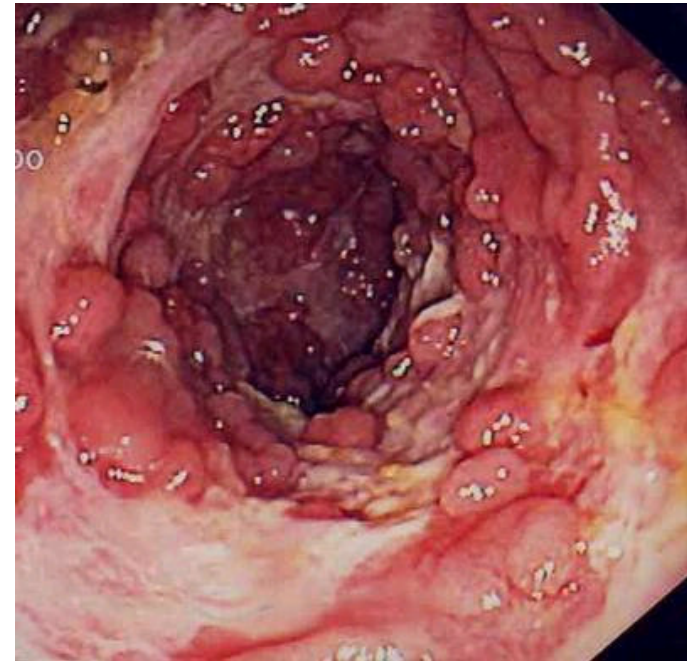
Язвенный колит (ЯК)

- Поражаются ободочная и прямая кишки
- Длительное воспаление
- Язвы



Болезнь Крона (БК)

- Может вовлекать все отделы кишечника
- Прерывистый характер воспаления кишки
- Внутрибрюшинные абсцессы, свищи, стриктуры



Симптомы ВЗК

- Абдоминальные боли
- Диарея
- Лихорадка
- Потеря веса

Внекишечные проявления ВЗК

- полиартрит — поражаются крупные суставы
- спондилоартрит и сакроилеит
- поражение кожи — узловатая эритема, пустулезные и уртикарные высыпания, гангренозная пиодермия
- поражения глаз — развитие иридоциклита, увеита, ирита, эписклерита, кератита
- поражение печени и желчных путей — от жировой дистрофии до прогрессирующего гепатита с развитием цирроза печени
-
- поражение внепеченочных желчных путей - склерозирующий холангит;
- поражение слизистой оболочки полости рта - характеризуется развитием афтозного стоматита, глоссита, гингивита
- анемический синдром (чаще железодефицитная анемия различной степени выраженности)

Время до постановки диагноза ВЗК

Латентный период до постановки диагноза играет большую роль для дальнейшего прогноза

- при ЯК колеблется от 2 недель до 2 лет (6—7 мес. в среднем);
- при БК он значительно дольше и составляет от 1 мес. до 7 лет (9—22 мес. в среднем)
- У детей – медиана 5 месяцев от проявления симптомов до постановки диагноза
- 25% детей – только через 1 год

Причина:
неспецифические симптомы

Клиническая проблема

Дифференциальный диагноз между органическими ВЗК и функциональным синдромом раздраженного кишечника (СРК) – знакомая врачам проблема из-за очень похожих симптомов

СРК является заболеванием «западного» мира (более распространено в урбанистических областях, чем в областях с сельским укладом жизни)

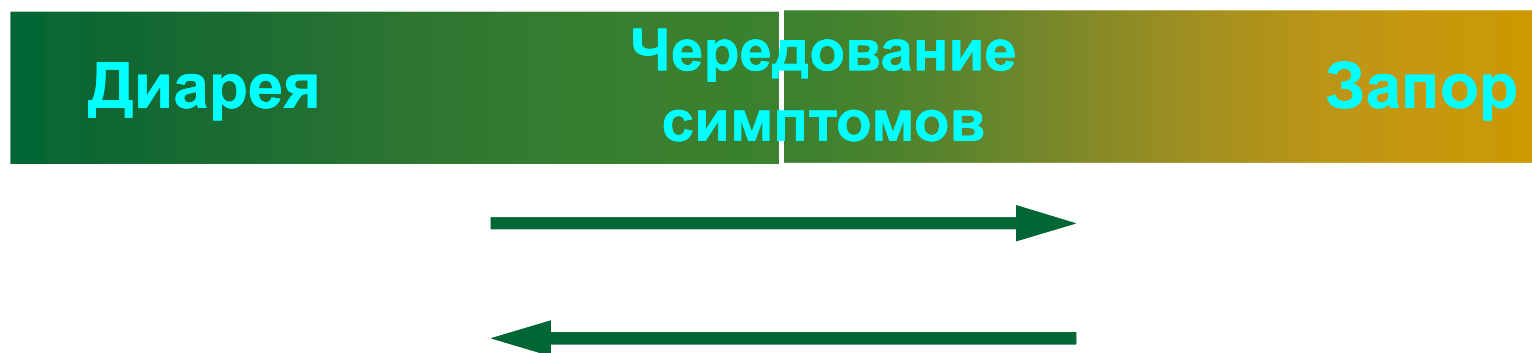
СРК страдают 20% общей популяции!

Функциональные заболевания ЖКТ



Спектр СРК

- Пациенты могут иметь различные симптомы в течение длительного времени
- Колебание тяжести состояния от среднего до тяжелого/трудно корректируемого



Римские критерии СРК II (1999)

Абдоминальные боль и/или дискомфорт продолжительностью не менее 12 недель (необязательно последовательно) на протяжении последних 12 месяцев, которые проходят или ослабевают после дефекации, и которые характеризуются 2-3 симптомами из ниже перечисленных:

- Изменение частоты стула и консистенции кала
- Изменение акта дефекации (чувство неполного опорожнения, тенезмы)
- Выделение слизи с калом
- Метеоризм

Gut. 1999.

Диагностические затруднения

Виды ошибочного диагноза при СРК:

гинекологи - «хроническая тазовая боль, нарушения менструального цикла»

хирурги - «дивертикулит или хронический аппендицит»,

терапевты – «хронический спастический колит, дисбактериоз кишечника» и др.

- Лабораторные тесты?
- Оценка состава кала?
- Эндоскопия?

Дифференциальный диагноз опирается на:

- | | |
|--|--|
| •С-реактивный белок | - Неспецифичный метод |
| •Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) | - Неспецифичный метод |
| •Регистрация экскреции с фекалиями меченых изотопом ^{111}In нейтрофилов в течение 4 дней | - Высоко специфичен, хорошая дифференциация, но очень высокая стоимость исследования |
| •Интестинальная эндоскопия с биопсией | - Инвазивный метод |

Фекальный кальпротектин (ФК) дает возможность получить первые результаты без радиологического и/или эндоскопического исследования

Фекальный кальпротектин

По данным мета-анализа скрининга пациентов с предполагаемым воспалительным заболеванием кишечника

- чувствительность 93%
- специфичность 96%

Фекальный кальпротектин

- Медиана ФК у пациентов с абдоминальным дискомфортом
- 97 мкг/г со значительными находками при эндоскопическом исследовании

Против

- 10 мкг/г у пациентов без находок

Интересный факт:

- Если результаты ФК были выше 50 мкг/г и колоноскопия была отрицательной, то при повторной гастродуоденоскопии или колоноскопии в течение 10 дней находки составили 57%

Value of fecal calprotectin in the evaluation of patients with abdominal discomfort: an observational study

Manz et al. BMC Gastroenterology 2012, 12:5 <http://www.biomedcentral.com/1471-230X/12/5>

~~Ruling out IBD: Estimation of the possible economic effects of pre-endoscopic 2 screening with F-~~

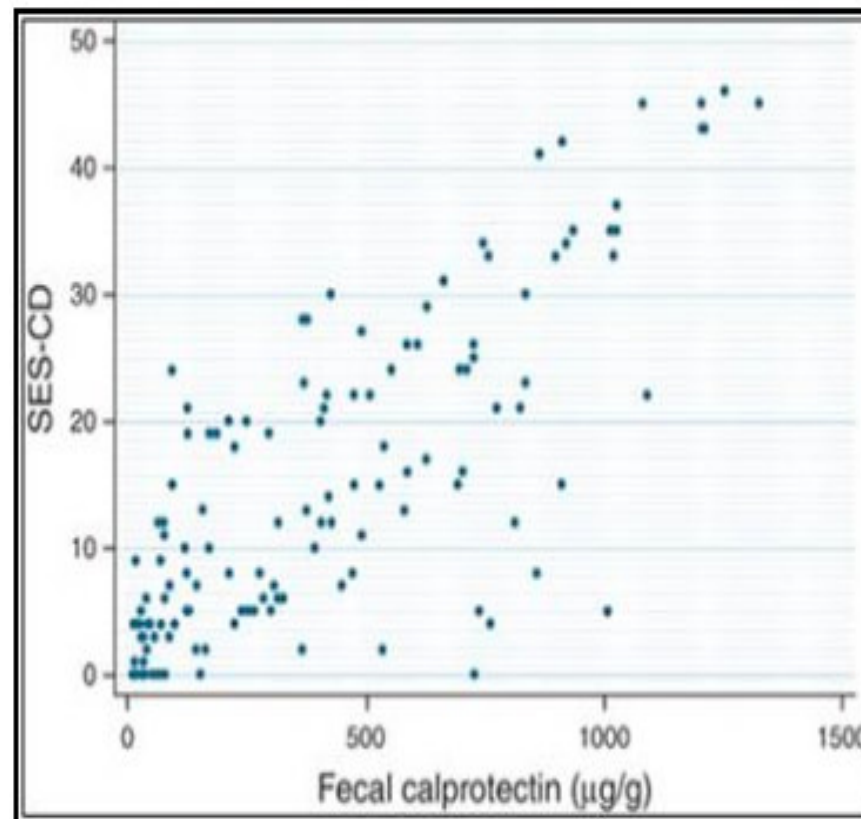
calprotectin Q13 Mirja Mindemark □, Anders Larsson Department of Medical Sciences, Section of Clinical Chemistry, Akademiska sjukhuset, Uppsala, Sweden CLB-07836; No. of pages: 4; 4C: Clinical Biochemistry 2011

Фекальный кальпротектин

- Уровень ФК выше 200 мкг/г кала ассоциируется с высоким числом положительных находок в видеокапсульной эндоскопии (65%)
 - Пациенты с уровнем ФК 50-100 мкг/г, несмотря на симптомы, предполагающие ВЗК, имели отрицательные результаты в КЭ
 - Scand J Gastroenterol. 2011
-

ФК – маркер эндоскопической и гистологической активности

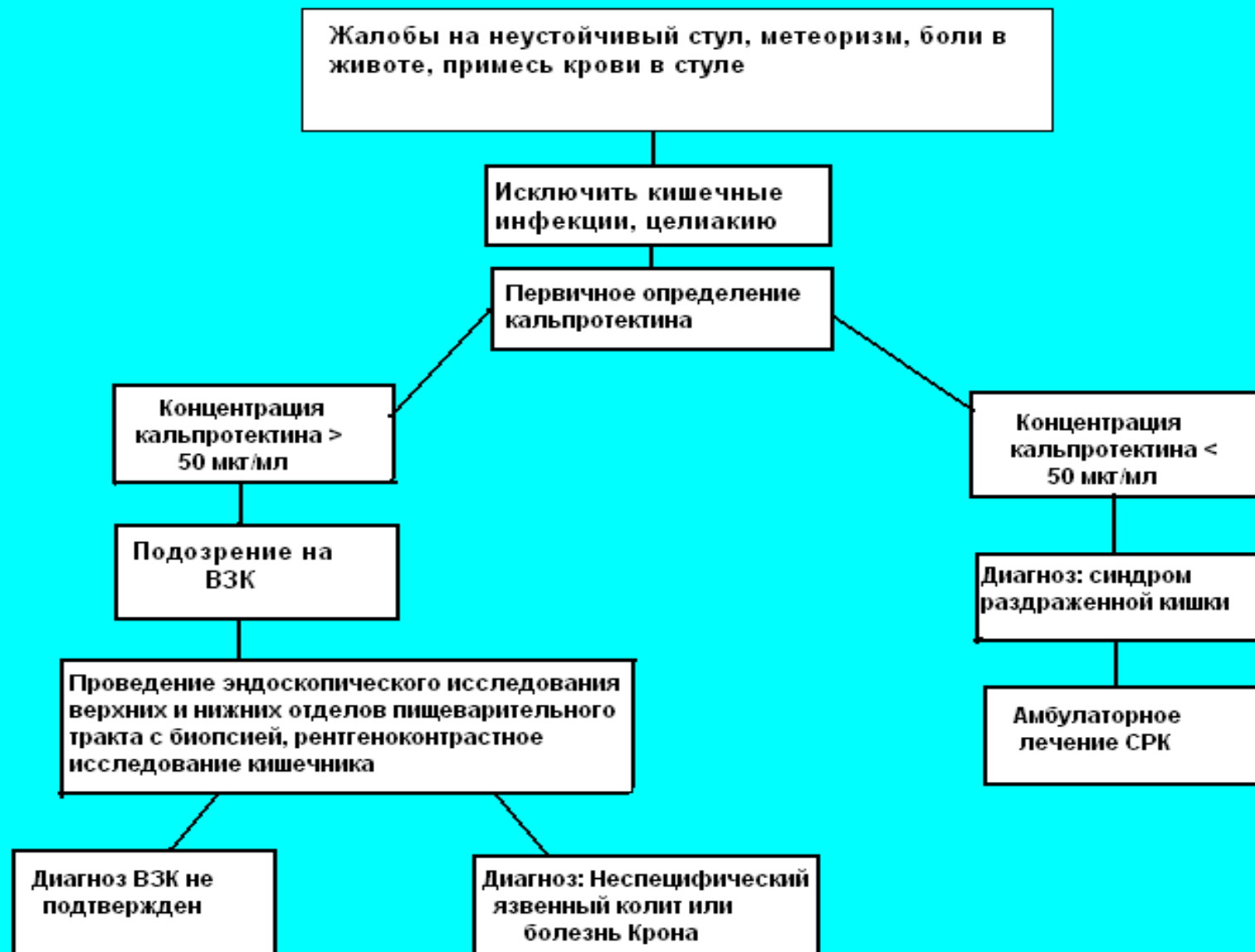
- Уровень ФК коррелирует с активностью болезни при язвенном колите, подтвержденной эндоскопически и гистологически (Schoepfer M, AmJGastrEnt, 2010).



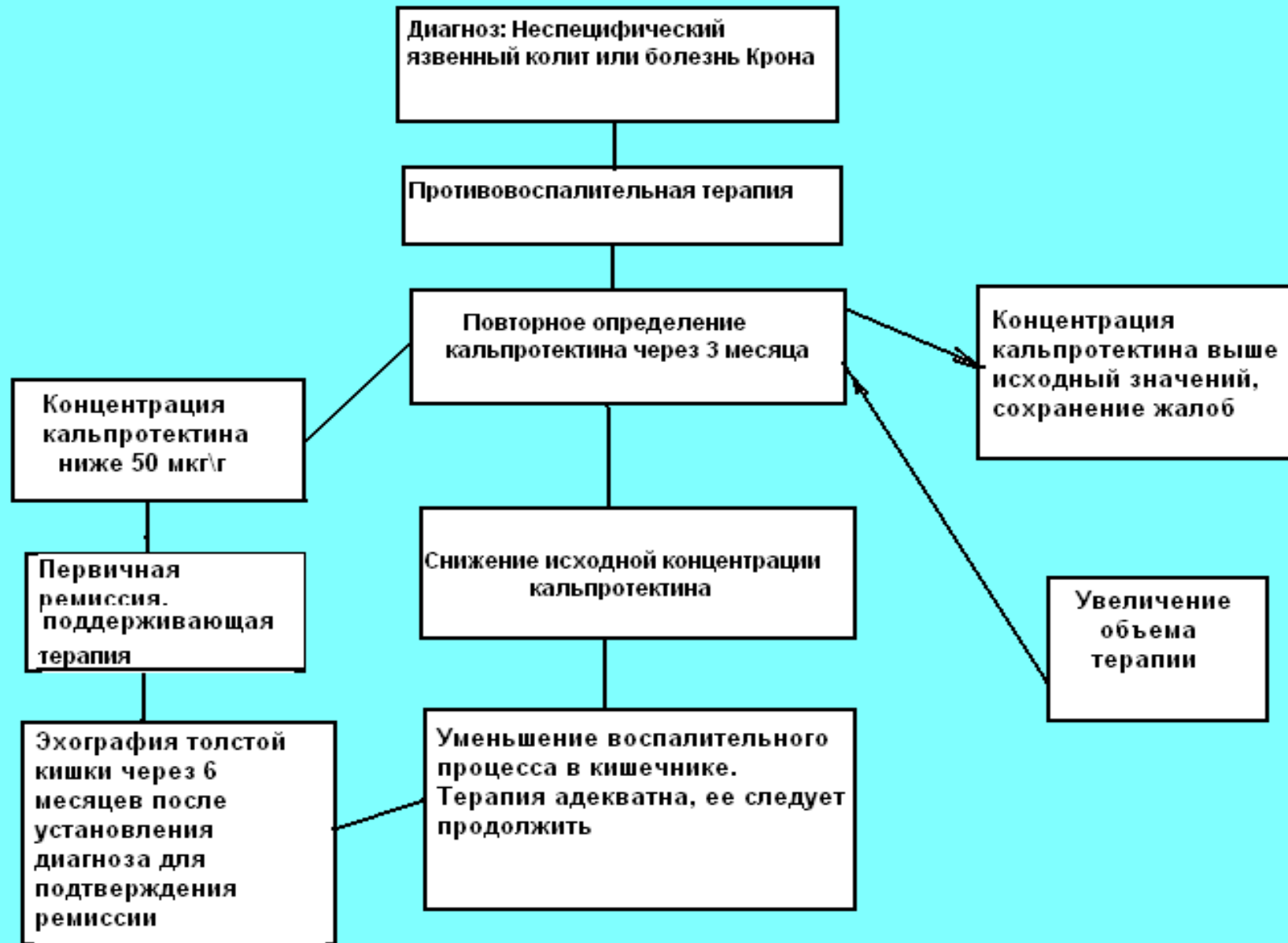
ФК – предиктор обострения ЯК и БК

- пациенты с уровнем ФК больше 50 мг/л (норма 30 мг/л) имели 13-кратный риск обострения.
- чувствительность и специфичность метода для прогноза следующего обострения при ЯК и БК и составили 83% и 90% соответственно.

Алгоритм диагностики и лечения неспецифического ЯК и БК у детей



Алгоритм диагностики и лечения ЯК и БК у детей



- Оценка побочного действия лекарств, повреждающих слизистую кишечника

- ФК может быть использован для подбора НПВС, не вызывающих рецидива скрытых форм ВЗК и хорошо переносимых пациентами

- Дифференциальная диагностика ВЗК и конститутивной патологии энтероцитов при тяжелой диарее у младенцев

- **ФК - маркер отторжения трансплантата кишечника** со значениями чувствительности и специфичности 83% и 77% соответственно.

- ФК – новый маркер реакции «трансплантант против хозяина» с вовлечением кишечника

синдром раздраженного кишечника: глобальная перспектива
(Irritable bowel syndrome: a global perspective. April 20, 2009, p. 8-9)

Диагностический каскад СРК

Уровень 1

- Анамнез, клинический осмотр, исключение симптомов «тревоги», рассмотрение психологических факторов
 - Общий анализ крови, СОЭ, или С-реактивный белок, исследование кала (микроскопия: лейкоциты, паразиты, яйца гельминтов, скрытая кровь)
 - Функция щитовидной железы, антитела к тканевой трансглутаминазе
 - Колоноскопия и биопсия

 - Маркер воспаления кишечника (**кальпротектин**)
-

Исследование кала при ВЗК

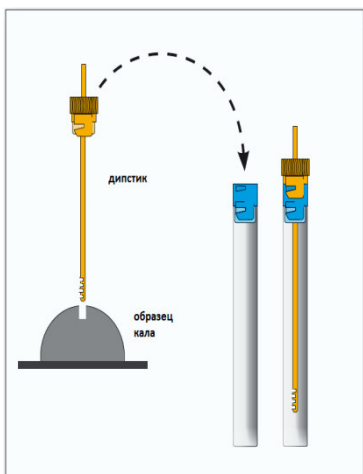
- копрологическое исследование;
- исследование фекального кальпротектина;
- исследование на наличие токсина *Clostridium difficile* (для выявления инфекции в 90% случаев требуется минимум 4 образца кала), шигеллы, сальмонеллы, иерсинии, дизентерийной амебы, гельминтов, паразитов;
- исследование на цитомегаловирус показано в случае тяжелого или резистентного течения заболевания;
- у лиц, которые путешествовали за границей, возможно проведение дополнительных тестов.

■ Консенсус ЕССО ЯК, 2012

Рефлектометр для количественного экспресс определения ФК

**общая продолжительность
анализа:**

**экстракция - 5 минут
анализ - 12 минут**



Quantum Blue® Reader



Два варианта наборов с разным диапазоном измерения:

1. Для скрининга: 30 – 300 мкг/г кала
2. Для мониторинга (высокий диапазон): 100 – 1800 мкг/г кала

Интерпретация результатов анализа ФК

Образцы ниже 50 мкг/г (нормальные значения):

- Отсутствие ВЗК
- Нет необходимости в дальнейших инвазивных процедурах

Серая зона 30 - 70 мкг/г (соответствует 2,5-97,5 перцентильям в интервале cut-off 50 мкг/г):

- **Рекомендуется повторно тестировать образцы при первичном анализе**

50 - 200 мкг/г:

- Возможно органическое заболевание, вызванное
НПВС, дивертикулитом и ВЗК в фазе ремиссии
- Рекомендуется провести повторные исследования.

Значения выше 200 мкг/г:

- Свидетельство активно развивающегося органического заболевания с воспалением ЖКТ
 - Необходимы дальнейшие исследования и лечение, назначаемые специалистом
-

Ограничения теста

- 1. ФК не может различить БК и ЯЗ, или отличить их от инфекционной или ишемической формы колита.
 - 2. ФК может быть повышен при колоректальном раке
 - 3. Умеренно повышенные значения кальпротектина отмечаются при поражении слизистой (целиакии, лактазной недостаточности, аутоиммунного гастрита)
 - 4. На результаты анализа могут влиять препараты богатые кальцием, цинком, магнием.
-

Таким образом,
ФК - простой маркер дифференциальной диагностики ВЗК и
функциональных гастроинтестинальных расстройств,

результаты которого:

- - легко интерпретируются
- - хорошо воспринимаются клиницистами
- - потенциально высоко востребованы

Исследование ФК в сочетании с реакцией стула на скрытую кровь и специфическими жалобами позволяет отобрать пациентов для проведения колоноскопии

Колоректальный рак (КРР)

- Наследственные формы составляют примерно 5-10% всех случаев КРР

В России:

Приказ 1006 от 03.12.2012 **«Об утверждении порядка проведения диспансеризации определенных групп взрослого населения»**

...исследование кала на скрытую кровь (для граждан в возрасте 45 лет и старше)

исследование кала на скрытую кровь = FOBТ или iFOBТ

FOBT vs iFOBT

FOBT: основан на псевдопероксидазной активности гемоглобина:

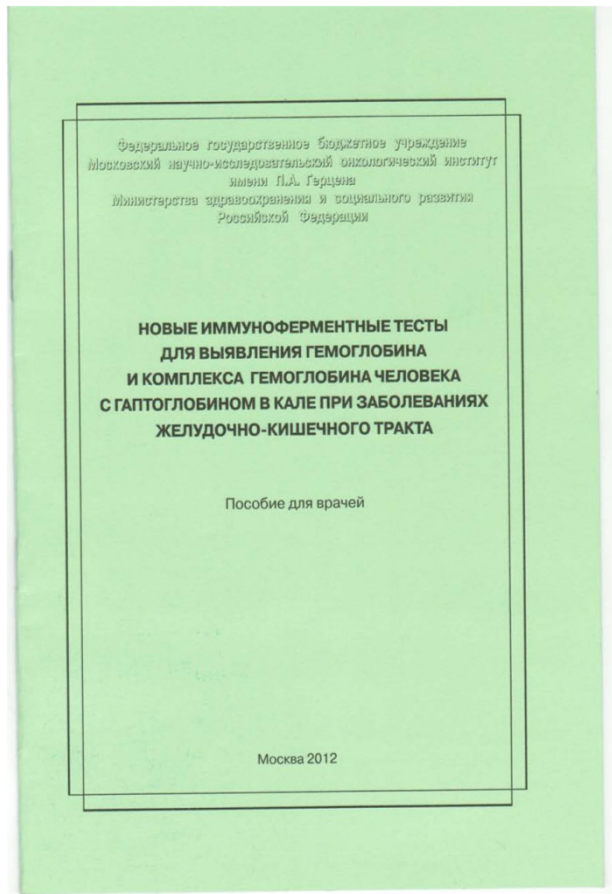
- с гваяковой смолой, или более поздняя его вариация бензидиновая проба
- Аналитическая чувствительность метода достаточно низкая (26 - 40%)
- Не работает при кровотечении верхнего отдела ЖКТ
- Необходимо строгое соблюдение пациентом диеты перед проведением теста
- Необходимость исключения некоторых лекарств

iFOBT: основан на использовании уникальных комбинаций специфических антител

- большая аналитическая чувствительность и специфичность
- не требуется соблюдать какую-либо диету
- не требуется отказываться от используемых лекарственных препаратов
- разнообразие возможных аналитов (**гемоглобин, комплекс гемоглобин/гаптоглобин, трансферрин**)
- выявляет кровотечение верхнего отдела ЖКТ
- возможность дифференцировать область кровотечения

Методические рекомендации НИИ им. Герцена

- ФГУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена» Минздравсоцразвития России при участии ФГУ «ГНЦ Колопроктологии Росмедтехнологий» и кафедры гистологии Российского государственного медицинского университета:

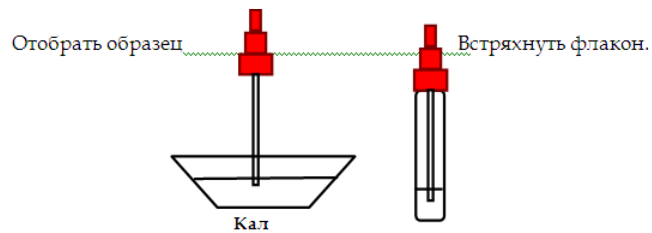


- «.....Пособие посвящено новым иммуноферментным методам **определения гемоглобина человека (hHb) и комплекса гемоглобина человека с гаптоглобином (hHb/Hp) в кале.** ... Проведена оценка диагностической чувствительности новых копрологических тестов в отношении колоректального рака, рака желудка, пищевода и ряда неспецифических заболеваний толстой кишки (язвенный колит, полипы и др.).
- **Полученные данные позволяют рекомендовать использовать новые иммуноферментные копрологические тесты в диагностике различных заболеваний толстой кишки, а также при профилактических осмотрах для выявления лиц с целью включения их в группу риска КРР.....»**

Экспресс диагностика ЖКТ

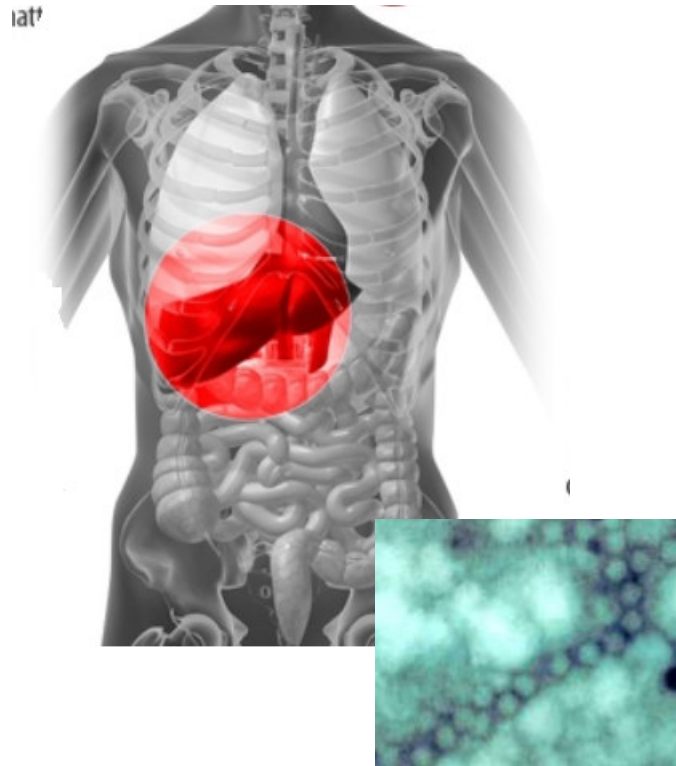


Savyon	Аденовирус (антиген в кале)
Savyon	Ротавирус (антиген в кале)
Savyon	Аденовирус - Ротавирус (антиген в кале)
Vegal	Аденовирус (антиген в кале)
Vegal	Ротавирус (антиген в кале)
Vegal	Аденовирус - Ротавирус (антиген в кале)
Vegal	Астровирус (антиген в кале)
Vegal	Cryptosporidium (антиген в кале)
Vegal	Giardia lamblia (антиген в кале)
Vegal	Cryptosporidium - Giardia lamblia (антиген в кале)
Vegal	E. coli O157:H7 (антиген в кале)
Vegal	Вирус гепатита А (HAV) (антиген в кале)
Vegal	Helicobacter pylori (антиген в кале)
Vegal	Лактоферрин в кале

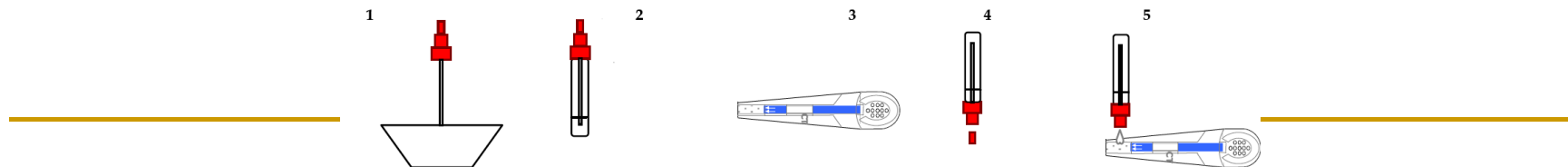


Иммунохроматографический экспресс-тест для выявления антигена HAV в кале

По сообщению пресс-службы Роспотребнадзора неблагоприятная тенденция к росту заболеваемости населения острым гепатитом А наметилась в Иркутске. За 11 месяцев 2013 года **заболеваемость возросла на 37,4%** в сравнении с аналогичным периодом прошлого года. Заболеванию подвергаются как взрослые, так и дети.



- Простая процедура анализа (5-10 минут).
- Высокая специфичность (моноклональные мышинные антитела).
- Возможность начала своевременной терапии уже в первые две недели перед появлением желтухи
- HAV остается одной из наиболее часто регистрируемых инфекций в мире, несмотря на наличие вакцин с 1995
- Способ распространения инфекции



Антиген *H. Pylori*

Рекомендации по диагностике и лечению инфекции *H. Pylori* (Маастрихт IV (2010 г.):

Утверждено несколько неинвазивных методов:

- Уреазный дыхательный тест (с мочевиной, меченной ^{13}C)
- Новые модификации фекального антигенного теста (ФАТ) с использованием моноклональных антител вместо поликлональных:
 - ✓ 1) лабораторные тесты (ELISA)
 - ✓ 2) экспресс-тесты с использованием иммунохроматографического анализа
- **Проблема серологического анализа:**

Антитела *H. pylori* в крови циркулируют месяцы (!) после лечения, следовательно, тест не может быть использован для контроля терапии

Антиген H. Pylori

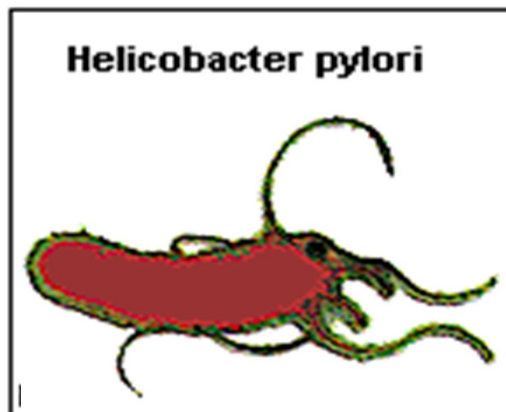
Рекомендации по диагностике и лечению инфекции H.Pylori (Маастрихт IV (2010 г.):

Положение 1. Диагностическая точность фекального антигенного теста (валидированного лабораторного теста с моноклональными антителами) эквивалентна точности уреазного дыхательного теста

Уровень доказательности 1a

Степень обоснованности рекомендаций A

Vegal (Испания) - фекальный антигенный иммунохроматографический тест на основе моноклональных антител



Giardia lamblia



- Встречаемость лямблиоза: 2-7 % в центральной Европе и свыше 50 % в тропических странах.
- В Российской Федерации ежегодно регистрируется более 100 тысяч больных, из них до 90 тысяч детей.

Клинические симптомы лямблиоза:

- 1) **синдром интоксикации и вегетативных нарушений** (утомляемость, недомогание, пониженное настроение, раздражительность, плаксивость, головные боли, головокружение, боли в области сердца, субфебрилитет);
- 2) **симптомы поражения желудочно–кишечного тракта** (эпизодически – частый жидкий стул, метеоризм, боли в животе различной интенсивности, появление налета на языке, снижение аппетита, тошнота, рвота, нередко – умеренная гепатомегалия);
- 3) **рецидивирующие проявления дерматита**, сопровождающиеся в ряде случаев выраженным кожным зудом, упорный блефарит, приступы бронхиальной астмы, при клиническом анализе крови нередко выявляется эозинофилия;
- 4) **нарушение питания**, как следствие мальдигестии и мальабсорбции. Чаще всего встречается бессимптомное и латентное течение лямблиоза, что при неспецифичности симптомов создает трудности в клинической диагностике.

**МУ 3.2.1882-04. от 3 марта 2004 г ПРОФИЛАКТИКА
ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ. ПРОФИЛАКТИКА
ЛЯМБЛИОЗА.**

Показанием к обследованию на лямблиоз являются:

- диарея неустановленной этиологии;
- хронические заболевания желудочно-кишечного тракта;
- дисбиоз кишечника;
- гипотрофия, отставание в физическом развитии;
- дерматиты, крапивницы, экземы, нейродерматиты;
- иммунодефицитные состояния;
- обструктивные бронхиты, бронхиальная астма;
- аллергии неустановленной этиологии;
- контактные с больным (паразитоносителем) лямблиозом.

**МУ 3.2.1882-04. от 3 марта 2004 г ПРОФИЛАКТИКА
ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ. ПРОФИЛАКТИКА
ЛЯМБЛИОЗА.**

«Серологические исследования при лямблиозе используют в т.ч. и для эпидемиологических целей, т.к. специфические антитела выявляются при манифестной и бессимптомной инфекции у лиц в разгаре болезни или перенесших болезнь в недавнем прошлом. Эти же обстоятельства затрудняют интерпретацию серологической реакции в каждом конкретном случае и ограничивают диагностическую ценность циркулирующих антител. Значительно более высоким диагностическим потенциалом обладают методы обнаружения антигенов лямблий в фекалиях и биоптатах.»

Cryptosporidium

- Эти паразиты поражают в основном 2-5 % детей (особенно от 1 до 5 лет).
- У здоровых людей они вызывают самокупирующуюся диарею, продолжающуюся в среднем 1-2 недели.
- Криптоспоридиоз также является причиной персистирующей диареи у детей и тяжелой длительной диареи у пациентов со СПИД (10-15%).
- Особую группу риска составляют пациенты, получающие иммуносупрессивную терапию (онкологические больные, пациенты после трансплантаций и т.п.).

Лабораторная диагностика *Cryptosporidium*

Клинические признаки заболевания неспецифичны, поэтому решающую роль в установлении диагноза играет лабораторная диагностика.

- Обычно диагноз устанавливают на основании результатов исследования кала или дуоденальной жидкости, интестинальной биопсии. Микроскопическое исследование кала процесс очень трудоемкий. Кроме того, для микроскопии требуется высококвалифицированный персонал, обладающий большим опытом подобных исследований.
- В качестве альтернативы для обнаружения возбудителя используются метод прямой иммунофлуоресценции, иммуноферментный анализ и быстрые иммунохроматографические тесты. Последние характеризуются не только высокой чувствительностью и специфичностью, но и простотой в использовании и быстротой получения результата.
- Для точного установления вида обнаруженного *Cryptosporidium* используют ПЦР.

Спасибо за внимание!

