

Современные тесты в экспресс диагностике заболеваний ЖКТ

Петрозаводск, июнь 2014



Направления диагностики заболеваний ЖКТ

- Воспалительные заболевания
- Онкологические заболевания
- Инфекционные заболевания

Воспалительные заболевания кишечника

Хронические ремиттирующие заболевания

- непредсказуемое течение
- переменный ответ на терапию
- влияние болезни на физическое развитие ребенка

Характеризуются

- Разнообразной, часто стёртой клинической картиной поражения кишечника
- Широким спектром возможных внекишечных проявлений, что крайне затрудняет первичную диагностику

Диагностика этих заболеваний основана на

- Клинической картине
- Данных радиологических, эндоскопических и гистологических исследований

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

Синдром раздражённого кишечника (СРК)

Функциональные заболевания ЖКТ – группа заболеваний, при которых не выявляется каких-либо лежащих в их основе структурных или биохимических нарушений. (Thompson et al, 1999).

- СРК - заболевание «западного» мира
- СРК страдают 20% общей популяции
- Хроническое, рецидивирующее

Симптомы:

- Неспецифические
- значительно различаются от пациента к пациенту

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.

Клиническая проблема:

Дифференциальный диагноз между органическими ВЗК и функциональным СРК: очень похожие симптомы

Римские критерии СРК II (1999)

Абдоминальные боль и/или дискомфорт продолжительностью не менее 12 недель (не обязательно 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

СРК: 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**)

Дифференциальный диагноз

Воспалительные заболевания кишечника протекают с нейтрофильной инфильтрацией просвета кишки.

Для дифференциальной диагностики ВЗК и функциональных заболеваний кишечника используют определение **специфических белков нейтрофилов в кале**:

- лактоферрин
- эластаза полиморфонуклеарных лейкоцитов (ПМНЛ)
- кальпротектин

Дифференциальный диагноз

- 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
 - 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 – маркер интестинального воспаления

- Другие названия – белок MRP8/14, белок S100A8/A9
- Экспрессируется в нейтрофилах и макрофагах.
- **Кальпротектин составляет 60% всех цитозольных белков нейтрофилов.**
- Кальпротектин высвобождается из этих клеток во время их активации или гибели
- **Кальпротектин вовлечён в активный воспалительный процесс**
- Уровень кальпротектина в кале (ФК) отражает миграцию лейкоцитов через стенку кишечника у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника

Фекальный кальпротектин

Мета-анализ данных: для пациентов с предполагаемым ВЗК

- чувствительность 93%
- специфичность 96%

van Rheenen PF, Van de Vijver E, Fidler V: Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. BMJ 2010, 341:c3369.

- Уровень ФК выше 200 мкг/г кала ассоциируется с высоким числом положительных находок эндоскопии (ППЗ 80%)
- У пациентов с уровнем ФК 50-100 мкг/г, несмотря на симптомы, предполагающие ВЗК, результаты эндоскопии отрицательные (ОПЗ 75%)

Scand J Gastroenterol. 2011

аФекальный кальпротектин


Медиана ФК у пациентов с абдоминальным дискомфортом

- 97 мкг/г со значительными находками при эндоскопическом исследовании
- 10 мкг/г у пациентов без находок

*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>*

Отрицательная колоноскопия:

При концентрации ФК > 50 мкг/г повторная гастродуоденоскопия или колоноскопия (через 10 дней) в 57% дала положительный результат.

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

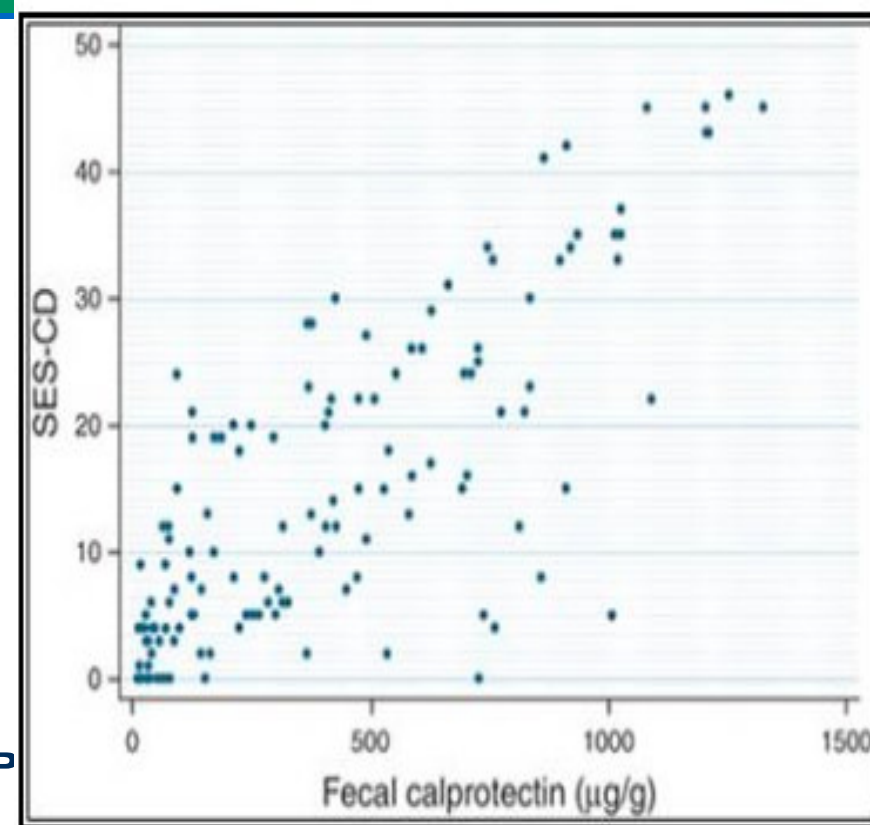
ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

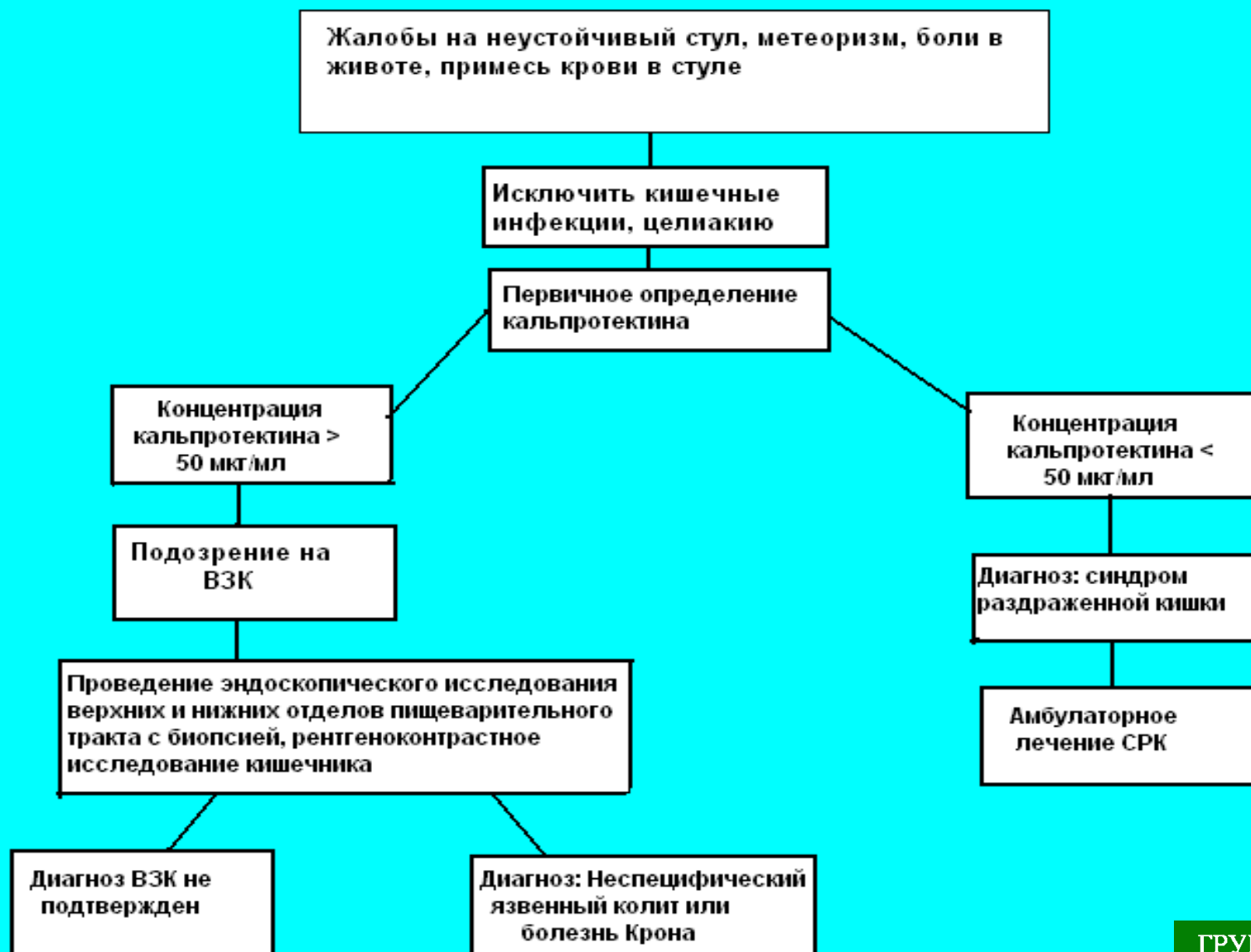
аФекальный кальпротектин

- **Уровень ФК коррелирует с активностью болезни** при язвенном колите, подтвержденной эндоскопически и гистологически
- **Риск обострения значительно повышен** ($> \times 13$) у больных с концентрацией > 50 мг/л (при норме 30 мг/л)
- **Чувствительность и специфичность** метода для прогноза следующего обострения при ЯК и БК и составили 83% и 90% соответственно.



Schoepfer M, AmJGastrEnt, 2010

Алгоритм диагностики и лечения неспецифического ЯК и БК у детей

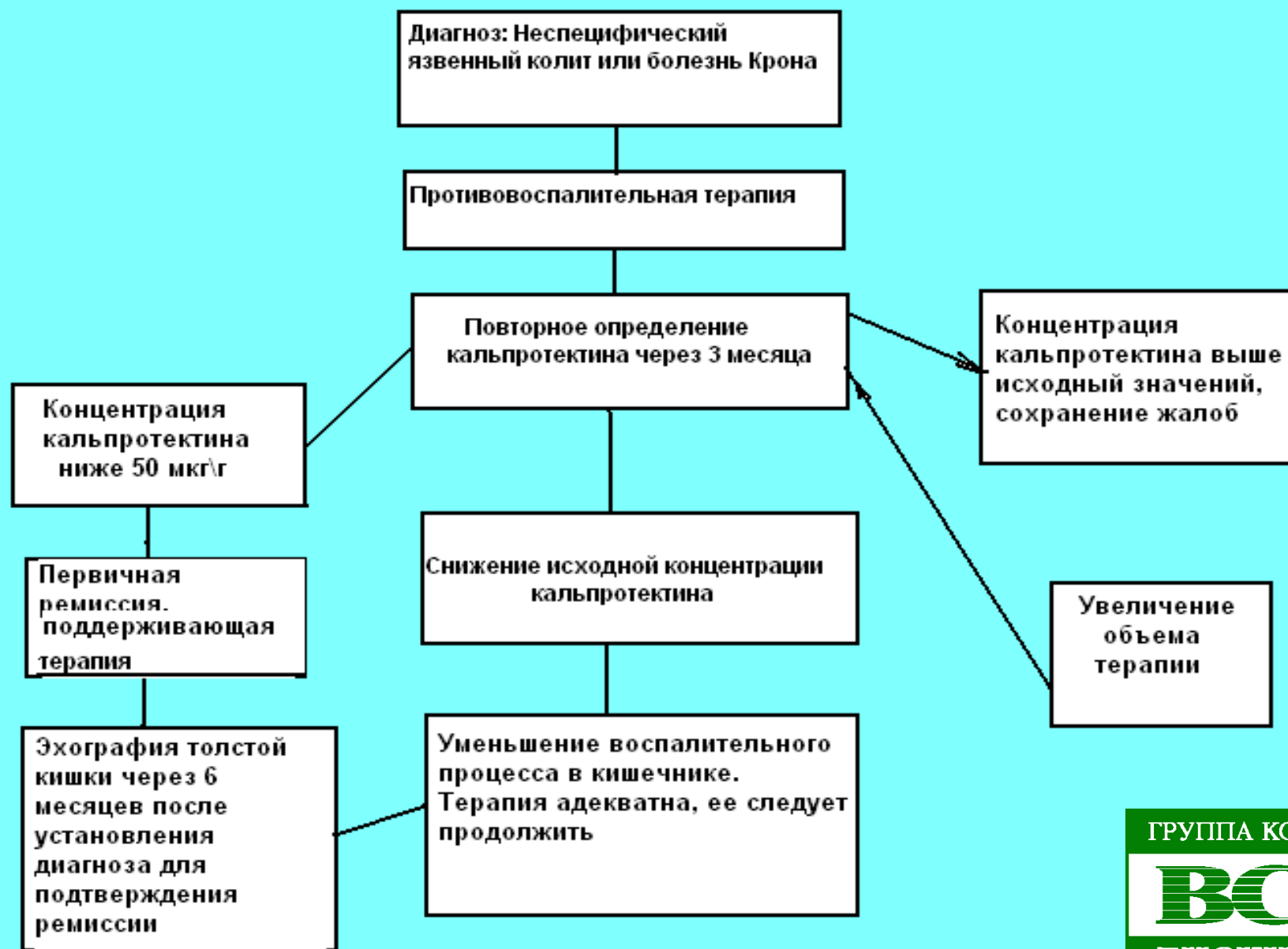


ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Алгоритм оценки эффективности лечения и мониторинга ЯК и БК у детей



ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

ФК – клинические приложения

- Определение ФК дает возможность выделить группу, которой необходимо эндоскопическое исследование.
- Уменьшает число инвазивных исследований, в том числе у детей.
- ФК отличается высокой стабильностью в кале – в течение нескольких дней.
- Дифференцирует органическое поражение кишечника у пациентов с абдоминальной болью и диареей
- Отражает активность заболевания скорее, чем объем поражения кишечника, оцениваемый эндоскопически.
- ФК - сильнейший прогностический маркер клинического рецидива для БК и ЯК у пациентов с бессимптомной стадией
- Тест является неинвазивным инструментом динамического контроля (состояния ремиссия/рецидив) и оптимизации лечения/подбора терапии

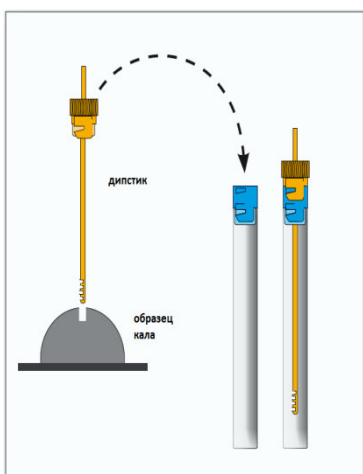
ФК – клинические приложения

- 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 (чувствительность и специфичность 83% и 77% соответственно).
- ФК – новый маркер реакции «трансплантант против хозяина» с вовлечением кишечника

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

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Интерпретация результатов анализа ФК

Образцы ниже 50 мкг/г (нормальные значения):

- Отсутствие ВЗК
- Нет необходимости в дальнейших инвазивных процедурах

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

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

до 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 нельзя использовать для дифференциальной диагностики БК и ЯК, 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.

Колоректальный рак

- Риск развития колоректального рака зависит как от наследственных, так и от факторов окружающей среды, образа жизни.
- К наследственным формам относятся:
 - семейный аденоматозный полипоз (САП, FAP)
 - неполипозный КРР (HNPCC, синдром Линча).
- Суммарно эти патологии составляют примерно 5-10% всех случаев КРР
- Возраст развития КРР:
 - в общей популяции – около 60 лет
 - HNPCC – около 45 лет
 - FAP – уже в 10-12 лет

Скрининг КРР

- Американское онкологическое общество рекомендует начинать скрининг КРР у людей в возрасте 50 лет и старше, до 75 лет.
- В группах высокого риска КРР проведение скрининга необходимо начинать раньше.
- В настоящее время доступны несколько алгоритмов скрининга КРР, включающих проведение теста на скрытую кровь в образцах кала (FOBT/iFOBT), гибкую сигмоидоскопию, колоноскопию и ирригоскопию с двойным контрастированием.
- Частота выполнения исследований может различаться. Чаще всего FOBT/iFOBT рекомендуют выполнять 1-2 раза в год, сигмоидоскопию – 1 раз в 3-5 лет, колоноскопию – 1 раз в 5-10 лет.

Скрининг КРР

- Эффективность скрининга КРР с помощью FOBТ/iFOBТ доказана во многих больших международных рандомизированных исследованиях
- Выполнено более 50 исследований и во всех показано снижение смертности от КРР на 15 - 33% при проведении скрининга КРР с использованием FOBТ/iFOBТ.
- Исследование в Миннесоте – самое длительное:
 - > 30 лет наблюдений
 - > 46 тысяч обследованных в возрасте 50 - 80 лет
 - снижение смертности от КРР в скрининговой группе в среднем на 32%
 - сохранение эффективности скрининга КРР протяжении как минимум 30 лет.

FOBТ

- Присутствие крови в кале является маркером различных заболеваний (*язвы, полипы, колиты, дивертикулиты, колоректальный рак и т.д.*)
- На начальной стадии КРР редко сопровождаются выраженными симптомами – за исключением присутствия следовых количеств крови в кале.
- Тест на скрытую кровь (FOBТ) с гваяковой смолой, или более поздняя его вариация бензидиновая проба (с использованием бензидина вместо гваяковой смолы и пероксида бария вместо перекиси водорода) - основаны на псевдопероксидазной активности молекулы гемоглобина (Hb) в образце кала.
- Аналитическая чувствительность метода достаточно низкая (26 - 40%)
- Необходимо строгое соблюдение пациентом диеты перед проведением теста (*Многие вещества, содержащиеся в продуктах питания, из-за присутствия животного гемоглобина, миоглобина, псевдопероксидазной активности различных продуктов, употребляемых в пищу, и лекарственные препараты, могут привести к ложноположительным результатам, а антиоксиданты (например, витамин С) могут служить причиной ложноотрицательных результатов*).

iFOBT

- Иммунохимический тест на выявление скрытой крови (гемоглобина) – **большая аналитическая чувствительность и специфичность**

(позволяет выявлять значительно более низкие концентрации человеческого гемоглобина в образцах кала, чем псевдопероксидазный тест, и не дает перекрестных реакций с гемоглобином других видов)

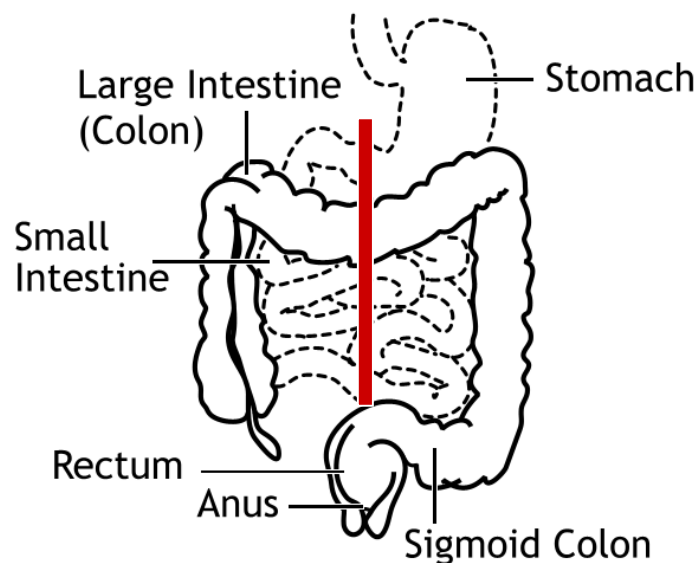
- Тесты для определения Hb, TF или комплекса Hb/Hp в образцах кала основаны на использовании уникальных комбинаций специфических антител для точного выявления, с высокой чувствительностью, человеческого Hb, TF или комплекса Hb/Hp (iFOBT)
- На результаты тестов не влияют вещества, присутствующие в пище, или состояние пациента в момент сбора образца. Пациентам не требуется соблюдать какую-либо диету, или отказываться от используемых лекарственных препаратов перед сдачей анализа.
- В результате нормальных физиологических процессов ежедневно приблизительно 2 мл крови попадает кишечник. Чтобы избежать обусловленных этим ложноположительных результатов, чувствительность ИХ теста специальным образом подобрана так, чтобы выявлять только количества гемоглобина, превышающие физиологические.

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Гемоглобин/Гаптоглобин комплекс (HbHp)



- HbHp значительно стабильнее в желудочном соке и в экстрактах кала, чем свободный Hb
- Наилучшее диагностическое определение HbHp в комбинации с Hb

- Гаптоглобин – белок, синтезируемый печенью
- Присутствует в высокой концентрации в плазме.
- Специфически связывается со свободным гемоглобином, высвобождающимся из эритроцитов и, таким образом, ингибирует его окислительную активность, предотвращает потерю железа и повреждение почек.
- HbHp стабильнее во время пассажа по кишечнику по сравнению со свободным гемоглобином. Таким образом, определение HbHp значительно повышает чувствительность исследований для выявления кровотечения верхнего отдела кишечника.

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Трансферрин

Трансферрин – плазменный белок переносчик железа

- Гликопротеин с высокой устойчивостью к бактериальной и энзиматической деградации
- Оценка уровня трансферрина в крови:
 - С целью выявления причин анемии
 - С целью оценки метаболизма железа, и др...
- Трансферрин также очень устойчив к микробному или энзиматическому протеолизу в пищеварительном тракте
 - Hb разрушается в кишечнике
 - Определение Tf в образцах кала более информативно для диагностики заболеваний верхнего отдела ЖКТ чем определение Hb.

Трансферрин	Гемоглобин	Интерпретация результата
+	+	Верхний / нижний отдел
+	—	Верхний отдел (желудок и кишечник)
—	+	Нижний отдел (толстая кишка)
—	—	Нет кровотечения в ЖКТ

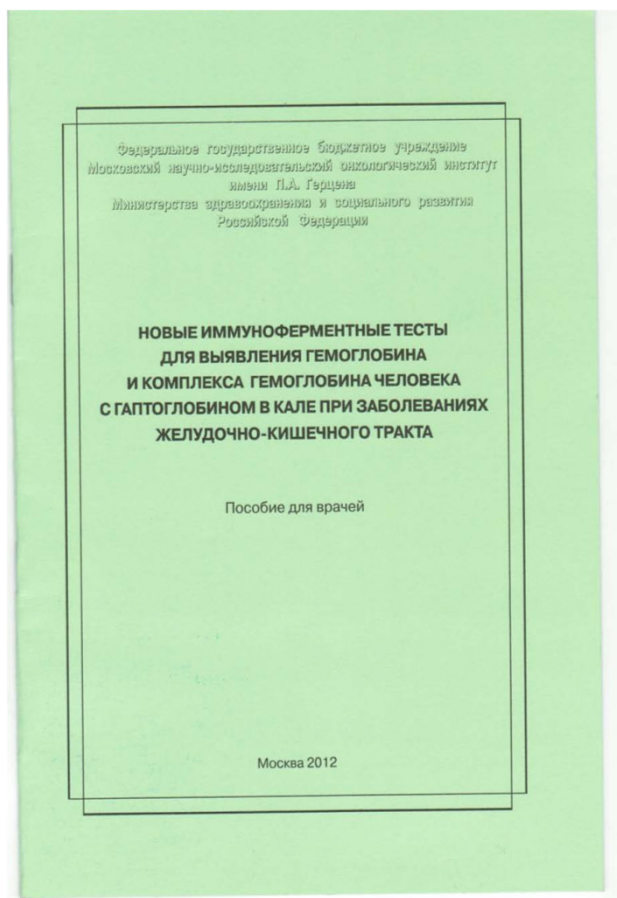
ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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....»***

Скрининг КРР

НИИ Онкологии им. П.А. Герцена:

«...Таким образом, появилась реальная возможность активного выявления лиц для дообследования и включения в группу риска наличия КРР, рака желудка или рака пищевода, а также язвенного колита, полипов толстой кишки с помощью относительно простых неинвазивных лабораторных методов, лишенных основных недостатков бензидинового метода...».

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

Вступил в силу с 1 января 2013 года.

«12.1. Первый этап диспансеризации (скрининг) проводится с целью выявления у граждан признаков хронических неинфекционных заболеваний, факторов риска их развития... ..и включает в себя:

...

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

...»



Гемоглобин, Трансферрин, комплекс Гемоглобин/Гаптоглобин

- **Показания:**
 - активное выявление группы риска наличия злокачественных новообразований и предраковых состояний ЖКТ.
- **Дополнительная информация (сочетанное определение Hb, и/или hHb/Hr и/или Tf :**
 - дифференциальная диагностика: кровотечения верхнего/нижнего отдела ЖКТ
 - увеличение чувствительности анализа для выявления кровотечения
- **Противопоказания:**
 - нецелесообразно применять при наличии видимой крови в кале;
 - ближайшие 14 дней после исследования ЖКТ инвазивными методами (например, ФКС, ЭГДС).

**Положительные результаты требуют
дальнейших диагностических процедур**



Лабораторная диагностика острых гастроинтестинальных заболеваний



Методы лабораторной диагностики инфекций

- Культуральные методы (выделение культуры вируса и т.д.)
- Микроскопия
- Выявление антигенов иммунологическими методами (ИФА, ИХ)
- Определение РНК/ДНК (молекулярные методы)
- Серологические методы (выявление роста титра специфических антител)

Сравнение прямых методов

	ELISA	IC	DIF-CIF
встроенный контроль процедуры	нет	да	нет
анализ	двухшаговый	одношаговый	несколько шагов
Уровень сложности	умеренный	низкий	высокий
Время проведения теста	60-120 мин	10-20 мин	15-30 мин (несколько дней для CIF)
Оборудование для учета результатов	фотометр	нет	Флуоресцентный микроскоп
Сложность интерпретации	легко	легко	Нужна высокая квалификация
Возможность архивирования результата	да	да	нет

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

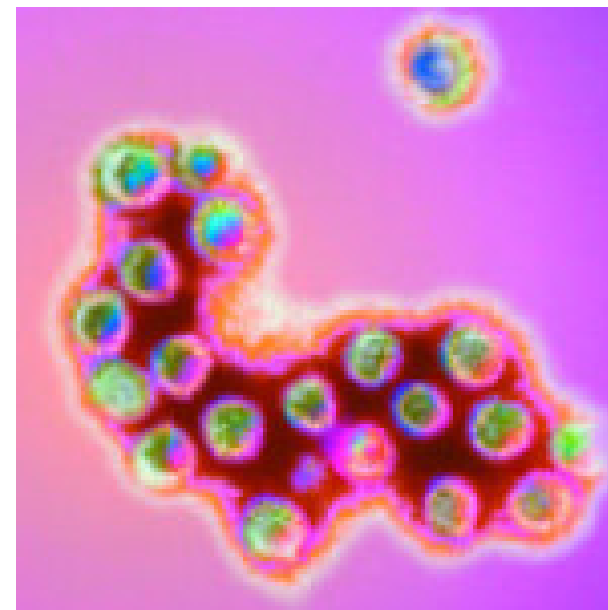
БИОХИММАК

Наиболее часто встречающиеся в развитых странах возбудители острых гастроинтестинальных заболеваний взрослых и детей.

Бактерии	<i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Campylobacter</i> <i>Escherichia coli</i> O157:H7 и подобные серовары <i>Clostridium difficile</i>
Вирусы	Калицивирусы (Норволк-подобный вирус и пр.) Ротавирусы* Аденовирусы, тип 40 и 41 Астровирусы
Простейшие	<i>Giardia</i> <i>Cryptosporidium</i> <i>Entamoeba histolytica</i>

Ротавирус

- Является одной из основных причин детских гастроэнтеритов и диареи.
- Вызывает более 50% требующих госпитализации случаев диарей у новорожденных и маленьких детей.
- Обезвоживание организма - причина смертности новорожденных (до 4% в год).
- Экскретируются в огромных количествах ($10^9 - 10^{11}$ вирусных частиц на г кала). Это одна из причин достаточно широкого распространения внутрибольничных инфекций, особенно в детских палатах и в детских больницах.
- Могут быть причиной «диареи путешественника» у взрослых и выявляются в образцах кала у бессимптомных носителей.



ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Методы лабораторной диагностики

Диагностика ротавирусных гастроэнтеритов основана на выявлении ротавирусных частиц в кале:

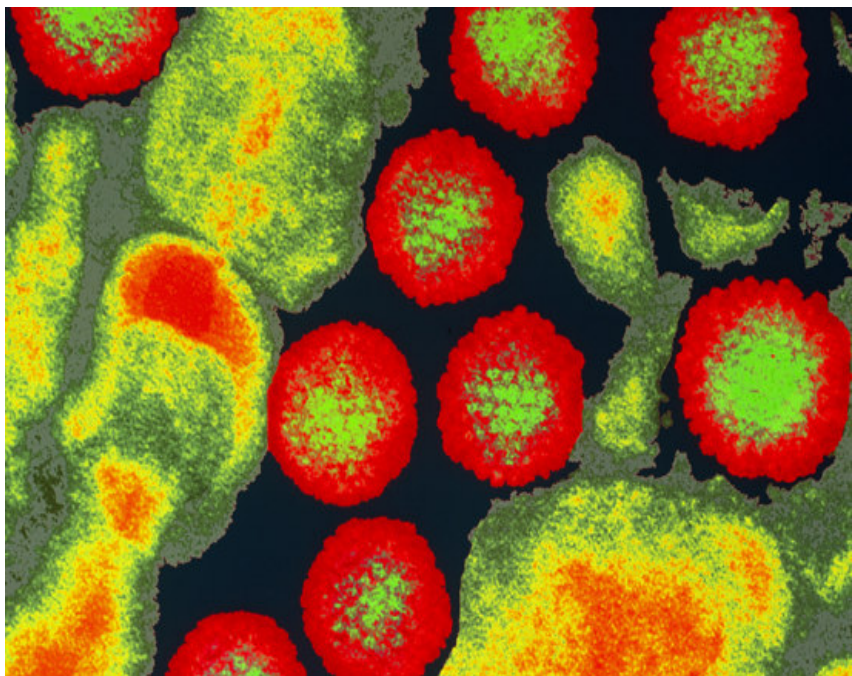
- Культивирование вируса в первичных клетках почки обезьяны или линиях клеток является очень трудоемким и длительным процессом, и поэтому этот метод не распространен.
- «Золотым стандартом» является прямое выявление вируса с помощью электронной микроскопии.
- Методы детекции, основанные на иммунологических методах:
 - реакция агглютинации
 - иммунохроматография
 - иммуноферментный анализс использованием поликлональных или моноклональных антител к специфическим антигенам.

Иммунохроматография – характеристики метода

Результат против	Savyon ELISA	DAKO ELISA
Чувствительность	97.3%	92.7%
Специфичность	97.4%	100%
Предсказательная ценность		
Положительного	98.7%	93.2%
Отрицательного	94.9%	100%
Общая согласованность	97.3%	

- Минимальная определяемая концентрация вируса 1×10^6 частиц/мл. (концентрация в активной фазе заболевания (10^7 - 10^{11} частиц/мл)).
- Отсутствие эффекта прозоны (тест с культуры клеток со 100% цитопатическим эффектом).

Аденовирус



- Аденовирусы являются причиной целого ряда заболеваний, поражая преимущественно респираторный тракт (РТ), глаза и ЖКТ
- Аденовирусной инфекцией обусловлены:
 - 2-8 % всех инфекций РТ
 - 7-17 % диарейных заболеваний у детей
 - 30% вирусных диарей у пациентов с ослабленным иммунитетом

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Диагностика

- Диагноз аденовирусной инфекции преимущественно ставится прямым выявлением в образцах кала или смывах:
 - **Выявление вируса методом электронной микроскопии** - сложности культивирования аденовируса в образцах ткани или клеточных культур.
 - **Иммунологические методы выявления антигенов**, такие как иммунохроматография или ИФА.

Результат	ELISA (n = 61)	Латексная агглютинация (n = 55)
Относительная чувствительность	100%	100%
Относительная специфичность	88.9%	93.8%
Общая согласованность	93.4%	96.4%

Астровирус



- Вместе с ротавирусами и аденовирусами, астровирусы являются одной из наиболее частых причин гастроэнтеритов не бактериального происхождения у детей до 5 лет во всем мире.
- 80 % детей в возрасте 5 – 10 лет имеют антитела к астровирусам.
- Вызывают гастроэнтериты у взрослых
- Частая причина нозокомиальных инфекций.

Диагностика

- Выявление астровирусов может быть выполнено методами
 - электронной микроскопии
 - молекулярно-биологическими методами (ПЦР).
- Для рутинной лабораторной диагностики предпочтительны иммунологические методы
 - ИФА
 - Иммунохроматография

Результат против	ELISA
Чувствительность	>94%
Специфичность	>99%

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.

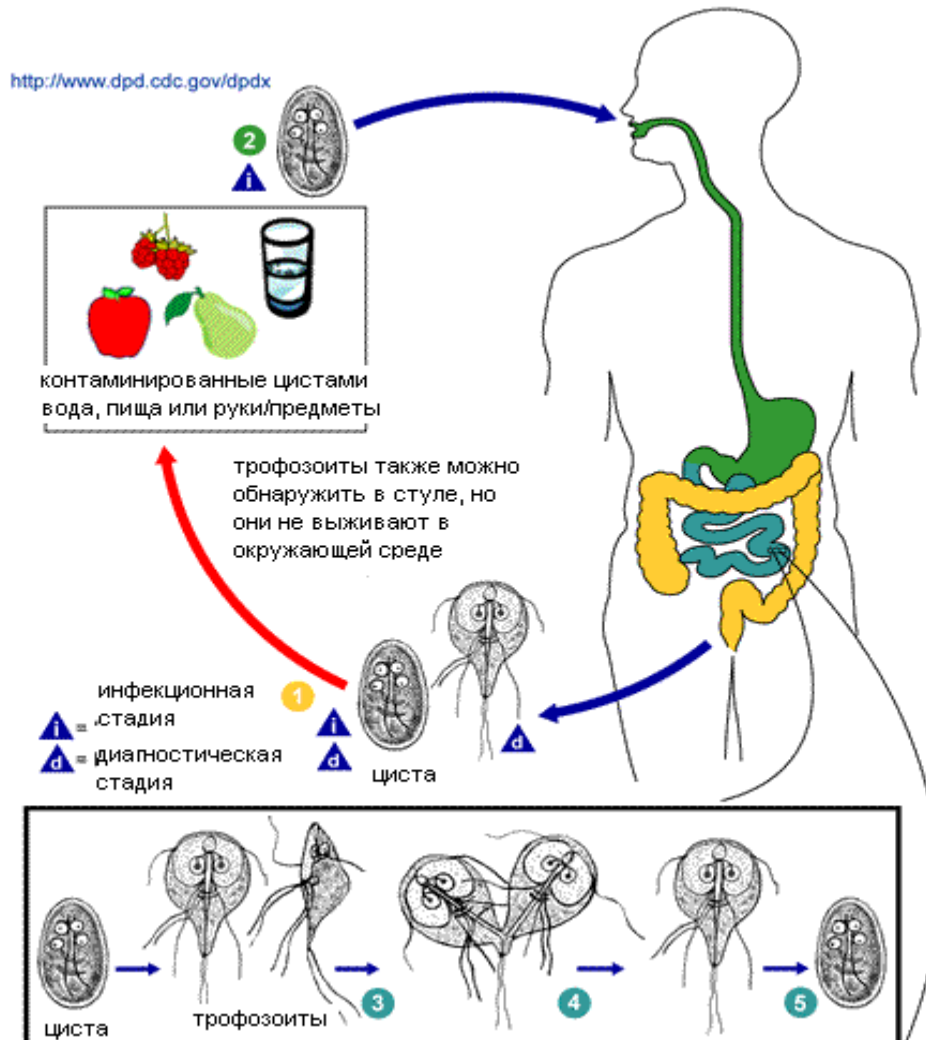
лямблиоз

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Жизненный цикл *Giardia lamblia*



лямблиоз

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Клинические симптомы лямблиоза:

- **синдром интоксикации и вегетативных нарушений** (утомляемость, недомогание, пониженное настроение, раздражительность, плаксивость, головные боли, головокружение, боли в области сердца, субфебрилитет);
- **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);
- **рецидивирующие проявления дерматита** , сопровождающиеся в ряде случаев выраженным кожным зудом, упорный блефарит, приступы бронхиальной астмы, при клиническом анализе крови нередко выявляется эозинофилия;
- **нарушение питания** , как следствие мальдигестии и мальабсорбции.

Чаще всего встречается бессимптомное и латентное течение лямблиоза, что при неспецифичности симптомов трудности в диагностике.

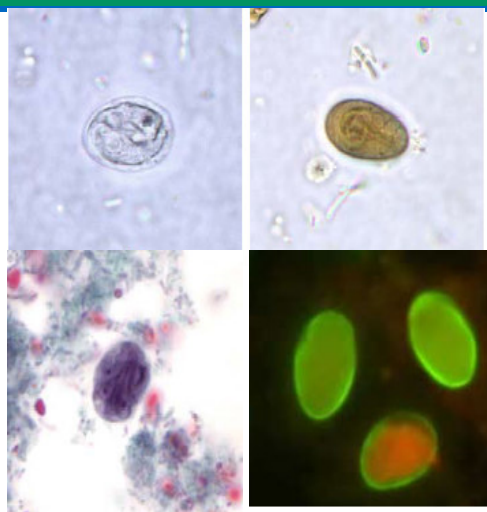


МУ 3.2.1882-04. от 3 марта 2004 г
ПРОФИЛАКТИКА ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ.
ПРОФИЛАКТИКА ЛЯМБЛИОЗА.

«...Показанием к обследованию на лямблиоз являются:

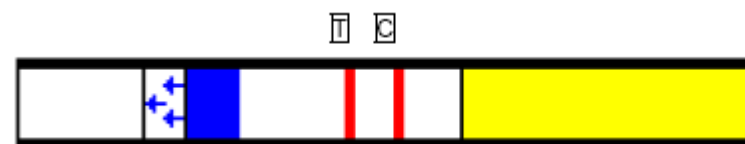
- диарея неустановленной этиологии;
- хронические заболевания желудочно-кишечного тракта;
- дисбиоз кишечника;
- гипотрофия, отставание в физическом развитии;
- дерматиты, крапивницы, экземы, нейродерматиты;
- иммунодефицитные состояния;
- обструктивные бронхиты, бронхиальная астма;
- аллергии неустановленной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

Диагностика



Микроскопический метод выявления трофозоитов и/или цист в мазках кала после рутинных методов окрашивания или с помощью прямого ИФЛА.

Иммунологические методы (ИФА и ИХ) выявления антигена *Giardia lamblia*.



Результат против	микроскопия
Чувствительность	>99%
Специфичность	>99%



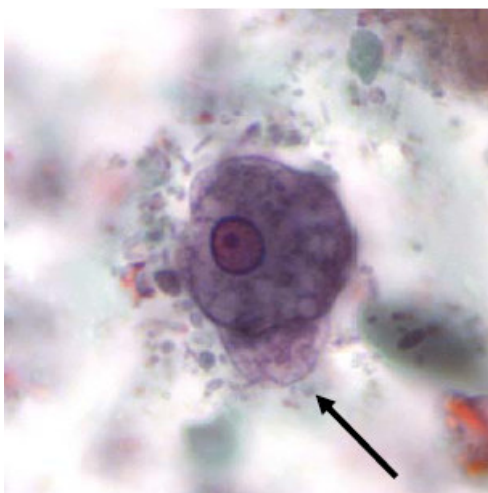
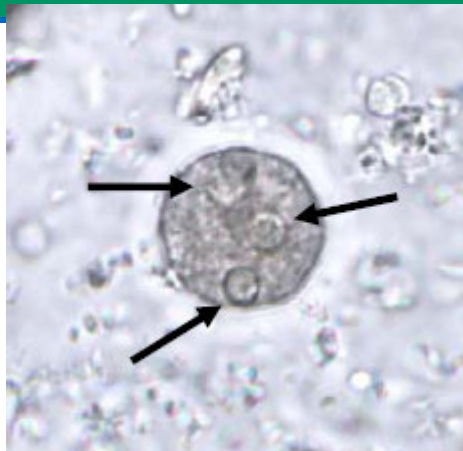
МУ 3.2.1882-04. от 3 марта 2004 г
ПРОФИЛАКТИКА ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ.
ПРОФИЛАКТИКА ЛЯМБЛИОЗА.

«...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 лямблей в фекалиях и биоптатах...»**

лямблиоз



Распространение



После малярии амебиаз занимает второе место в мире по частоте летальных исходов при паразитарных заболеваниях. Около 480 млн. людей в мире являются носителями *E.histolytica*, у 48 млн. из них развивается колит и внекишечные абсцессы и у 40 тыс. - 100 тыс. заболевших наступает летальный исход

амебиаз

Амебиаз

Для "инвазивного" амебиаза характерны:

- клинические симптомы инфекционного заболевания;
- наличие трофозоитов-гематофагов в фекалиях;
- характерные изменения в слизистой кишечника при эндоскопических исследованиях;
- наличие специфических антител, выявляемых серологическими тестами.

Наиболее частыми клиническими проявлениями инвазивного амебиаза являются амебный колит и амебный абсцесс печени, причем амебный колит встречается в 5-50 раз чаще, чем амебный абсцесс печени

амебиаз



Амебиаз

Только у незначительной части инфицированных амебами лиц разовьется инвазивный амебиаз.

В странах, где *E. histolytica* широко распространена, у 90% инфицированных лиц имеется неинвазивный амебиаз, которые таким образом являются "бессимптомными носителями" просветных форм амеб, и только у 10% инфицированных развивается инвазивный амебиаз

амебиаз



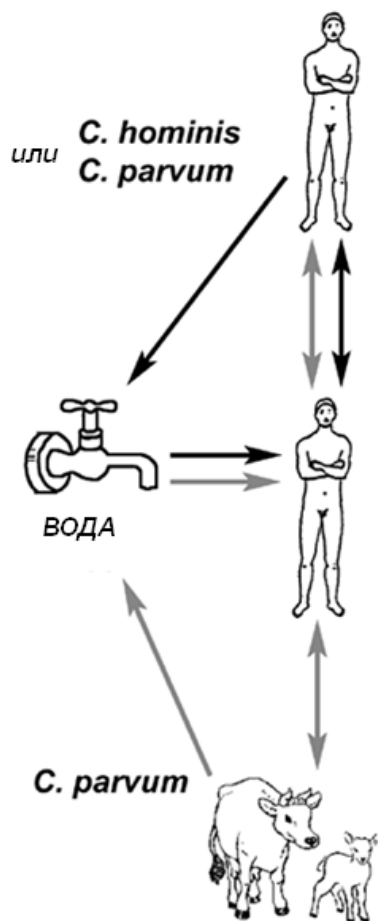
Иммунохроматография – характеристики метода

Результат против	микроскопия
Чувствительность	>99%
Специфичность	>99%

- *Giardia lamblia*;
- *Cryptosporidium parvum*.

амебиаз

Cryptosporidium



Частота встречаемости криптоспоридиоза по настоящему до конца не ясна.

- от 30% до 80% взрослого населения США серопозитивна по отношению к *Cryptosporidium*.
- в развитых странах криптоспоридии обнаруживаются приблизительно в 4% образцов кала (в развивающихся странах 13%), присылаемых на паразитологические исследования.
- в России распространенность криптоспоридиоза среди детей – 2-5%, среди взрослых – до 2,5%.
- приблизительно 10-15% пациентов со СПИД страдают криптоспоридиозом в течение жизни, причем в последнее время число таких пациентов постоянно растет.

криптоспоридиоз

Cryptosporidium

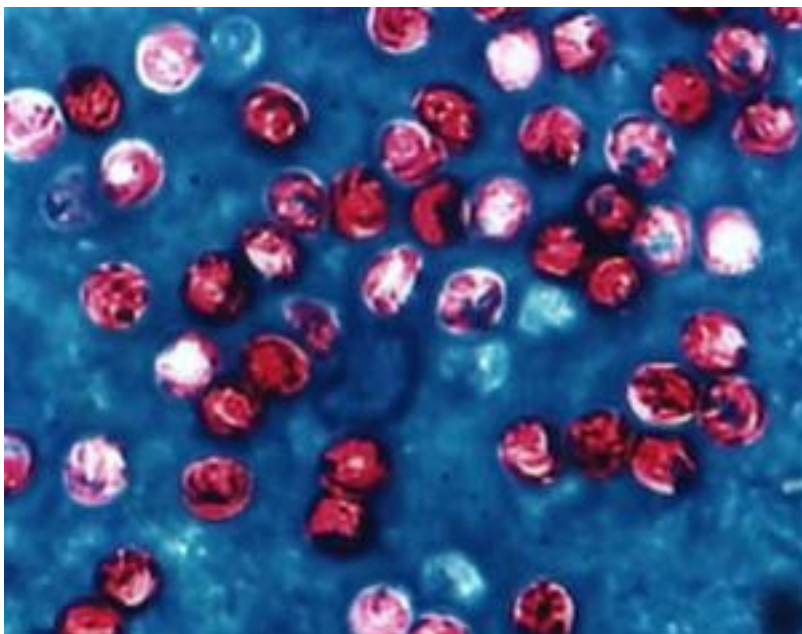
- Эти паразиты поражают в основном детей (особенно от 1 до 5 лет).
- У здоровых людей они вызывают самокупирующуюся диарею, продолжающуюся в среднем 1-2 недели.
- Криптоспоридиоз также является причиной персистирующей диареи у детей и тяжелой длительной диареи у пациентов со СПИД.
- Особую группу риска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

Лабораторная диагностика

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.

Лабораторная диагностика



Следует отметить, что количество выявленных случаев заболевания растет год от года по мере совершенствования методов лабораторной диагностики.

Тем не менее, до настоящего времени в большинстве лабораторий не выполняются рутинные тесты для выявления этого возбудителя, а в ряде лабораторий используются устаревшие тесты с низкой чувствительностью.

криптоспоридиоз

Иммунохроматография – характеристики метода

Результат против	микроскопия
Чувствительность	>99%
Специфичность	>99%

криптоспоридиоз

Антиген *H. pylori*

- *H. pylori* - спиральная Грам-отрицательная бактерия
- Присутствует в слизистой 12-перстной кишки и в эпителии желудка
- Маастрихтское соглашение, 2005 г:
 - Хронический атрофический гастрит
 - Язвенная болезнь желудка (более 90%) и 12-перстной кишки (до 80%)
 - В-клеточная лимфома желудка
 - Гастроэзофагиальная болезнь
 - Диспепсия
 - Железодефицитная анемия неясной этиологии
 - Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП)
 - Дефицит витамина B12

Антиген H. Pylori

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

В

Для повседневной клинической практике 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



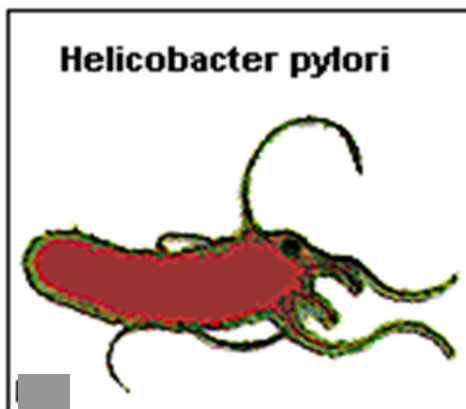
Антиген H. Pylori

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



Антиген *H. Pylori*

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

Положение 1. Стратегия «test-and-treat» считается оптимальной для необследованных пациентов с жалобами на диспепсию в регионах с высокой распространенностью *H. pylori* ($\geq 20\%$).

Положение 2. Основными неинвазивными методами, которые рекомендуются для стратегии «test-and-treat», признаны ***уреазный дыхательный тест и определение антигена *H. pylori* в кале с помощью моноклональных антител*** (фекальный антигенный тест).

Стратегия «Test-and-treat»:

- Использование неинвазивных методов выявления *H. pylori* и с последующим лечением инфекции в случае ее обнаружения.
- Позволяет избежать дополнительных расходов и неудобств, связанных с проведением эндоскопического исследования
- Может оказать большую помощь в устранении симптомов заболевания.

- **Варианты язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки**
- **В-клеточная лимфома желудка**
- **Атрофический гастрит**
- **Гастроэзофагиальная болезнь**
- **Диспепсия**
- **ИБС**
- **Иммунная тромбоцитопения**
- **Железодефицитная анемия неясной этиологии**

ИХ тест - Антиген *H. pylori*

- Надёжный метод неинвазивной диагностики инфекции *H. pylori*
- Идентичные методу ИФА чувствительность и специфичность
- Подходит для **первичной диагностики** *H. Pylori*
- Подходит для **контроля терапии**
- Экономическая эффективность по сравнению с гастроскопией, ПЦР, уреазным тестом

Экспресс методы выявления инфекционных антигенов

Стрептококки группы А	Стрептококки группы А (антиген)
RSV в назофарингеальных образцах	Адено и ротавирус (антигены в кале)
Аденовирус в назофарингеальных образцах	Аденовирус (антиген)
RSV - Аденовирус в назофарингеальных образцах	Ротавирус (антиген в кале)
Грипп А + В в назофарингеальных образцах	Респираторно-синцитиальный вирус (RSV) (антиген)
Грипп А	Chlamydia trachomatis (антиген)
Легионелла в моче	Candida, определение антигена в цервикальном секрете
Стрептококки группы S	Ротавирус в кале
Стрептококки группы В в вагинальных мазках	Аденовирус в кале
Норовирус в кале, 30	Ротавирус - Аденовирус в кале
Neisseria gonorrhoeae в моче и секретах уrogenитальной системы	Астровирус в кале
Антитела (IgG и IgM) к Treponema Pallidum (TP) в цельной крови, сыворотке или плазме	Cryptosporidium в кале
Амёбиаз E.Histolityca в кале	Лямблии Giardia lamblia в кале
Blastocystis в кале (ИФА)	Cryptosporidium - Giardia lamblia в кале
Вирус гепатита А	E.coli O157:H7 в кале
	H.pylori в кале
	Свиной грипп

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Иммунохроматографический анализ

- Точный результат
 - Высокая диагностическая чувствительность и специфичность
 - Высокая аналитическая чувствительность
 - Отсутствие перекрестной реактивности с другими возбудителями синдромной группы
- Возможность анализа единичных образцов
- Требуют меньших затрат времени и труда
 - Одношаговый быстрый тест
 - Минимальное количество манипуляций с образцом
- Не требуется специальное оборудование
- Не требует высококвалифицированного персонала
- Экономичнее

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!



Группа компаний «БиоХимМак»

119991, Москва, Ленинские горы,
МГУ им. М.В.Ломоносова

тел.: (495) 647-27-40, 932-9214,
939-2364
факс: 939-0997

e-mail: info@biochemmack.ru

www.biochemmack.ru

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК