

Современные тесты в диагностике заболеваний ЖКТ

Нижний Новгород, май 2019

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Направления диагностики заболеваний ЖКТ

- Онкологические заболевания
- Воспалительные заболевания
- Инфекционные заболевания



ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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.

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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.

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

- 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 лекарственных препараты, могут привести к ложноположительным результатам, а антиоксиданты (например, витамин С) могут служить причиной ложноотрицательных результатов*).

- 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 в кишечник. Чтобы избежать обусловленных этим ложноположительных результатов, чувствительность ИХ теста специальным образом подобрана так, чтобы выявлять только количества гемоглобина, превышающие физиологические.

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.

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

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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);

...»

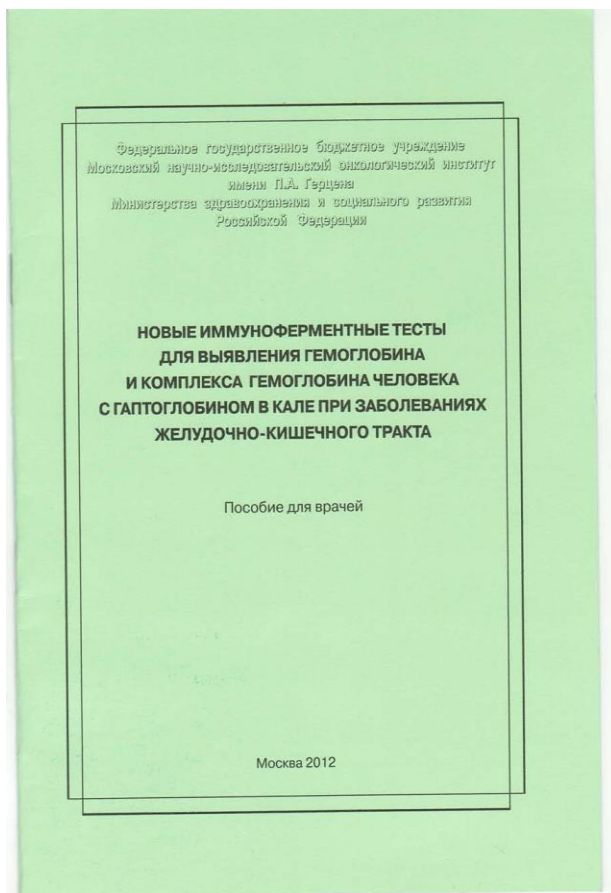
ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Методические рекомендации НИИ Онкологии 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....»***

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Гемоглобин

Содержание hHb в кале у обследованных лиц (ДУ 2,0 мкг/мл)

Группа обследованных	Число обследованных	Среднее значение $\pm m$, мкг/мл	Доля случаев повышения, %
Первичный КРР	95	105,2 \pm 32,8	88,4
ЯК (острое течение)	21	94,2 \pm 26,2	85,7
ЯК (ремиссия)	13	15,4 \pm 4,8	69,2
Полипы толстой кишки	17	5,0 \pm 2,8	23,5
Рак желудка или рак пищевода	36	7,0 \pm 1,9	44,4
Доноры	48	0,7 \pm 0,1	6,3

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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**

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Министерство здравоохранения

Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования
РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ НЕПРЕРЫВНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ

Кафедра клинической лабораторной диагностики

2-й Боткинский пр., 5, корпус 17
Тел: (495) 9458222, факс (495) 9458400

125424 Москва, а/я 32 (кафедра КЛД)
E-mail: kafedra-kdl@list.ru www.labdiag.ru

« 4 » апреля 2018 г.

№

Кому: Всем заинтересованным лицам

ИНФОРМАЦИОННОЕ ПИСЬМО

Уважаемые коллеги!

На Ваш запрос относительно метода определения скрытой крови в кале, изложенном в пункте 12 раздела 13 приложения «Порядок проведения диспансеризации определённых групп взрослого населения» к приказу № 869Н от 26 октября 2017 года «Об утверждении порядка проведения диспансеризации определённых групп взрослого населения», сообщаем следующее:

Рекомендованным методом определения скрытой крови в кале является метод иммунохимический. В настоящее время на рынке реагентов представлены наборы H&R FOB (Экспресс-тест для выявления скрытой крови в кале), производства Vegal Farmaceutica S.L., Испания, и H&R FOB-TRANSFERRIN (Экспресс-тест для выявления скрытой крови в кале), производства Vegal Farmaceutica S.L., Испания, которые предназначены для бесприборного качественного экспресс-определения гемоглобина (набор H&R FOB) и гемоглобина и трансферрина (набор H&R FOB-TRANSFERRIN) в образцах кала иммунохроматографическим методом с целью обнаружения желудочно-кишечного кровотечения. Имунохроматографические тесты относятся к иммунохимическим методам исследования, поскольку в основе теста лежит принцип высоко специфического взаимодействия антигенов и антител с образованием иммунных комплексов. Иммунохроматографический тест представляет собой иммунологическую полоску, состоящую из комбинации моноклональных антител и пористых материалов. В зоне тестовой линии на мембране закреплены специфические антитела против искомого аналита. Анализируемый образец абсорбируется поглощающим участком теста. При наличии в образце искомого антигена, он связывается с нанесенным на полоску конъюгатом моноклональных антител, связанных с цветными частицами. Образовавшийся комплекс движется по пористым материалам за счет капиллярных сил и в тестовой зоне взаимодействует с моноклональными детектирующими антителами. Таким образом, наборы H&R FOB и H&R FOB-TRANSFERRIN, производства Vegal Farmaceutica S.L., Испания, являются наборами реагентов для тестирования иммунохимическим методом.

Заведующий кафедрой
доктор мед. наук, профессор



В.В. Долгов

доцент кафедры, к.м.н.



Н.Г. Ракова

**« Рекомендованный ...
... иммунохимический
метод »**

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

KPP – опухолевые маркёры

Группы биологических веществ:

- различные ОМ (*РЭА, муцины, маркёры цитоскелета*)
- адипокины
- молекулы адгезии
- Медиаторы воспаления ...

Оценка возможности их использования для:

- прогноза ответа на терапию
- предоперационного стадирования
- мониторинга и раннего выявления рецидива

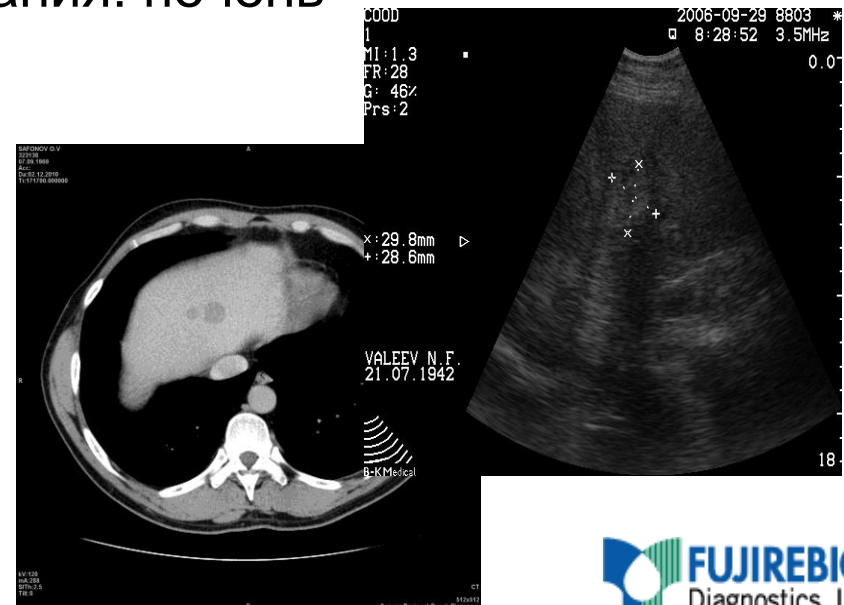
ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

- Исследование возможности использования ОМ для оценки эффективности лечения (РЧА), и выявления рецидивов у пациентов с метастатическим КРР
 - Период безрецидивной выживаемости (в среднем) после операции $15,18 \pm 6,09$ месяцев
 - Основной сайт метастазирования: печень

- СА 19-9
- СА 242
- РЭА



Процент выявления больных с прогрессией заболевания после РЧА методами КТ, УЗИ и определения сывороточных онкомаркеров в разные сроки наблюдения

	1 месяц	3 месяц	6 месяц	12 месяц
КТ	33,3% (6/18)	72,2% (13/18)	100% (18/18)	100% (18/18)
УЗИ	5,5% (1/18)	38,9% (7/18)	77,8% (14/18)	100% (18/18)
Онкомаркеры	66,7% (12/18)	88,9 (16/18)	100% (18/18)	100% (18/18)

Выводы :

- У больных с метастазами колоректального рака в печени уровни опухолевых антигенов РЭА, СА19-9, СА242 в сыворотке крови зависят от дифференцировки опухоли, количества и объема метастатических очагов
- Эффективность РЧТА подтверждается достоверным стойким снижением концентраций опухолевых антигенов с 1-го по 12-й месяц
- Прогрессию заболевания, несмотря на выполнение РЧТА, можно прогнозировать по динамике уровней онкомаркеров в первые недели и месяцы наблюдения.
- Полученные данные доказывают, что диагностическая возможность выбранных маркеров при раннем выявлении прогрессии опухолевого процесса не уступают КТ и превосходят УЗИ

КРР - опухолевые маркёры

Мета-анализ ОМ при КРР (2007 год): результаты 93 крупных исследований, 70 различных маркёров

- Показана корреляция ТМН стадии и концентрации СЕА, СА19-9, СА242, ТК, ТРС, ТРА, IGF1
- Достоверные различия концентрации при метастатическом и неметастатическом КРР показаны только для маркёров СА19-9 и СА242
- В мультивариантном анализе уровень СА242 является вторым (после стадии по Дьюку) по уровню значимости независимым прогностическим маркёром
- Сравнение СА242 и СА19-9 показало значительно более высокую специфичность СА242

Нейроэндокринные опухоли

- НЭО, могут возникать в любых органах, в которых присутствуют эндокринные клетки: **ЖКТ**, легких, тимусе, почках, яичниках, предстательной, молочной железе, щитовидной железе, коже.
- В 2000 г. ВОЗ была разработана действующая в настоящий момент классификация **НЭО ЖКТ**, учитывающая локализацию, клинические проявления (биомаркеры), степень дифференцировки, биологический потенциал и прогноз.
- Секретирующие (полипептидные гормоны и амины), что во многом определяет их клиническую картину
- Не секретирующие

Нейроэндокринные опухоли – диагностика

Трудности диагностики:

- Частота 1.2–1.5 на 100 000 населения
- Низкая настороженность
- Больные обращаются к врачам различных специальностей:
 - гастроэнтерологам и эндокринологам (гастринома, инсулинома, ВИПома, глюкагонома, карциноид)
 - невропатологам и психиатрам (инсулинома)
 - дерматологам (глюкагонома)

В первый год от начала заболевания причину болезни удается установить в 35% наблюдений (РФ)

5-летняя выживаемость:

При своевременно установленном диагнозе и радикальной операции	80–100%
При поздней диагностике и циторедуктивном вмешательстве	40–60%

Нейроэндокринные опухоли – диагностика

- Так как НЭО встречаются редко, то их скрининг неактуален, но полезно проводить исследования на наличие НЭО:
 - у пациентов, страдающих гиперемией, приливами, постоянной необъяснимой диареей, другими симптомами, схожими с симптомами НЭО;
 - у больных с хронической язвенной болезнью, в отсутствии *Helicobacter pylori*, необходимо проводить исследования на гастриному.

Нейроэндокринные опухоли – диагностика

В основе диагностического алгоритма - установление нейроэндокринного характера заболевания

Подозрение на НЭО
(клиническая картина или выявленная опухоль/метастазы)

Неспецифический маркер НЭО – Хромогранин А (СgА)
Гормональный профиль,
Функциональные пробы и т.д.

Топическая диагностика

Диагностика МЭН

Нейроэндокринные опухоли и секретируемые гормоны

Синдром	Основные Симптомы	Основной гормон	Другие гормоны	Злокачественные (%)	Локализация	Экстрапанкреатическая локализация
Инсулинома	Гипогликемия	Инсулин	Глюкагон, ПП	5-10	ПжЖ	Очень редко
Гастронома (синдром Золлингера-Эллисона)	Пептические язвы, диарея, рефлюксная болезнь	Гастрин	Инсулин, ПП, глюкагон, АКТГ, СgA соматостатин	70 -90	ПжЖ	Двенадцатиперстная кишка, желудок, брыжейка
Карциноидный синдром	Приливы, диарея, бронхиальная обструкция	Серотонин	Тахикинин, простагландин, СgA	100	Кишечник	ПЖ (редко)
ВИПома (синдром Вернера – Моррисона)	Стойкая диарея, гипокалиемия	ВИП, РН1	ПП, глюкагон, соматостатин, СgA	75–100	ПжЖ	
Глюкагонома	Некролитическая мигрирующая эритема, диабет	Глюкагон	ПП, инсулин, соматостатин, СgA	50	ПжЖ	Редко
Соматостатинома	Диабет, стеаторея, желчнокаменная болезнь	Соматостатин	ПП, инсулин, кальцитонин	50	ПжЖ	Двенадцатиперстная кишка
GHRH-ома	Акромегалия	GHRH	Соматостатин, гастрин, инсулин	100	ПжЖ	Легкие
CRF-ома, АКТГ-ома	Синдром Кушинга	CRF, АКТГ	Гастрин, ПП, СgA	>90	ПжЖ	Легкие

СgA – хромогранин А
 АКТГ – адренокортикотропный гормон;
 CRF – кортикотропин-рилизинг фактор;
 GHRH – гормон роста рилизинг гормон;
 РН1 – пептид гистидин изолейцин;
 ПП – панкреатический полипептид;
 ВИП – вазоинтестинальный пептид.

Нейроэндокринные опухоли – хромогранин А

- Хромогранин А – наиболее известный белок семейства гранинов, кислых секреторных гликопротеинов
- Экспрессируется в эндокринных и нейроэндокринных клетках.
- СgА накапливается вместе с пептидными гормонами и СgВ и СgС в гранулах нейроэндокринных и эндокринных клеток.
- Биосинтез СgА регулируется многими различными факторами, включая стероидные гормоны.

Все исследования подтверждают, что СgА является наиболее универсальным и значимым маркером, он обнаруживается как при НЭО секретирующих гормоны и амины, так и при несекретирующих НЭО.

Нейроэндокринные опухоли

СgА -использование как сывороточного ОМ:

1. Постановка диагноза
2. Мониторинг эффективности лечения /
раннее выявление прогрессии заболевания
3. Прогноз
4. Индикатор изменения активности опухоли.

НЭО ЖКТ	60–99%
МЭН-1	> 60%
НЭО ЖКТ, метастазы	> 90%
Гастронома	> 90%

D. Nehar, et al., Clinical Endocrinology (2004) 60, 644–652

Направления диагностики заболеваний ЖКТ

- Воспалительные заболевания
- Онкологические заболевания
- Инфекционные заболевания



ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

ВЗК

- Хронические ремиттирующие заболевания
 - непредсказуемое течение
 - переменный ответ на терапию
- Первичная диагностика затруднена
 - крайне разнообразная клиническая картина поражения кишечника
 - большой спектр возможных внекишечных проявлений
- В детском возрасте - стертая клиника заболевания, влияние болезни на физическое и половое развитие ребенка
- Рост заболеваемости ВЗК среди детей и взрослых, «омоложение» болезни

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Время до постановки диагноза ВЗК

- 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

Период до постановки диагноза играет большую роль для дальнейшего прогноза

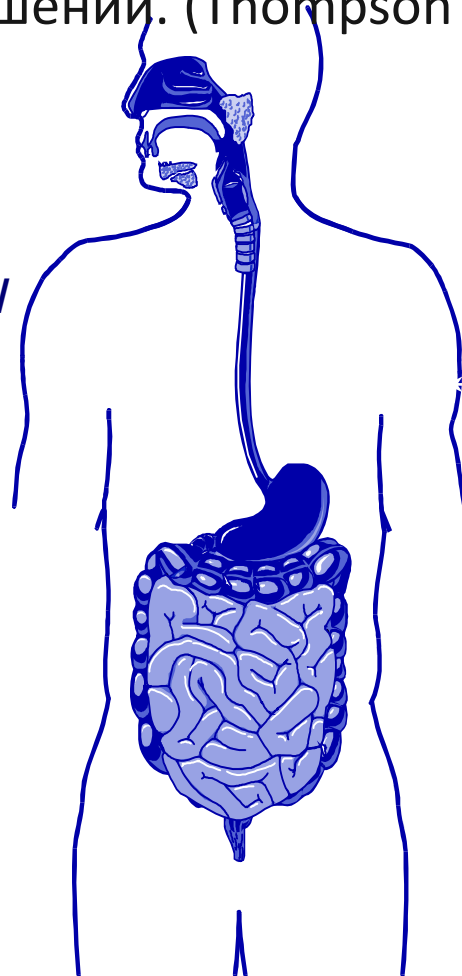
ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Функциональные заболевания ЖКТ /СРК

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



**Функциональная
абдоминальная боль/
Метеоризм**

**Синдром раздра-
женного кишечника**

**Функциональный
запор/диарея**

Дисфагия

**Загрудинная боль
некардиального
происхождения**

Изжога

Неязвенная диспепсия

**Функциональные билиарные
расстройства**

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Синдром раздражённого кишечника (СРК)

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

Симптомы:

- Неспецифические
 - значительно различаются от пациента к пациенту
-
- Пациенты могут иметь различные симптомы в течение длительного времени
 - Колебание тяжести состояния от среднего до тяжелого/трудно корректируемого

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

ВЗК - 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

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Фекальный кальпротектин – маркер интестинального воспаления

- Другие названия – белок MRP8/14, белок S100A8/A9
- Экспрессируется в нейтрофилах и макрофагах и составляет 60% всех цитозольных белков нейтрофилов.
- Воспалительный процесс в кишечнике сопровождается рекрутированием и аккумуляцией 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 ВЗК

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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, введение изотопной метки
Эндоскопия, исследование биоптатов, рентгеноконтрастные исследования	- Инвазивный метод, введение контрастных веществ, радиационная нагрузка, высокая стоимость, наличие специфического оборудования и квалифицированного персонала

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

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Фекальный кальпротектин (фК)

Предварительно выполненный тест фК с высокой вероятностью позволяет решить, следует ли направить пациента на ЭИ для диагностики ВЗК.

Мета-анализ данных: скрининг 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.

Медиана фК у пациентов с абдоминальным дискомфортом

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

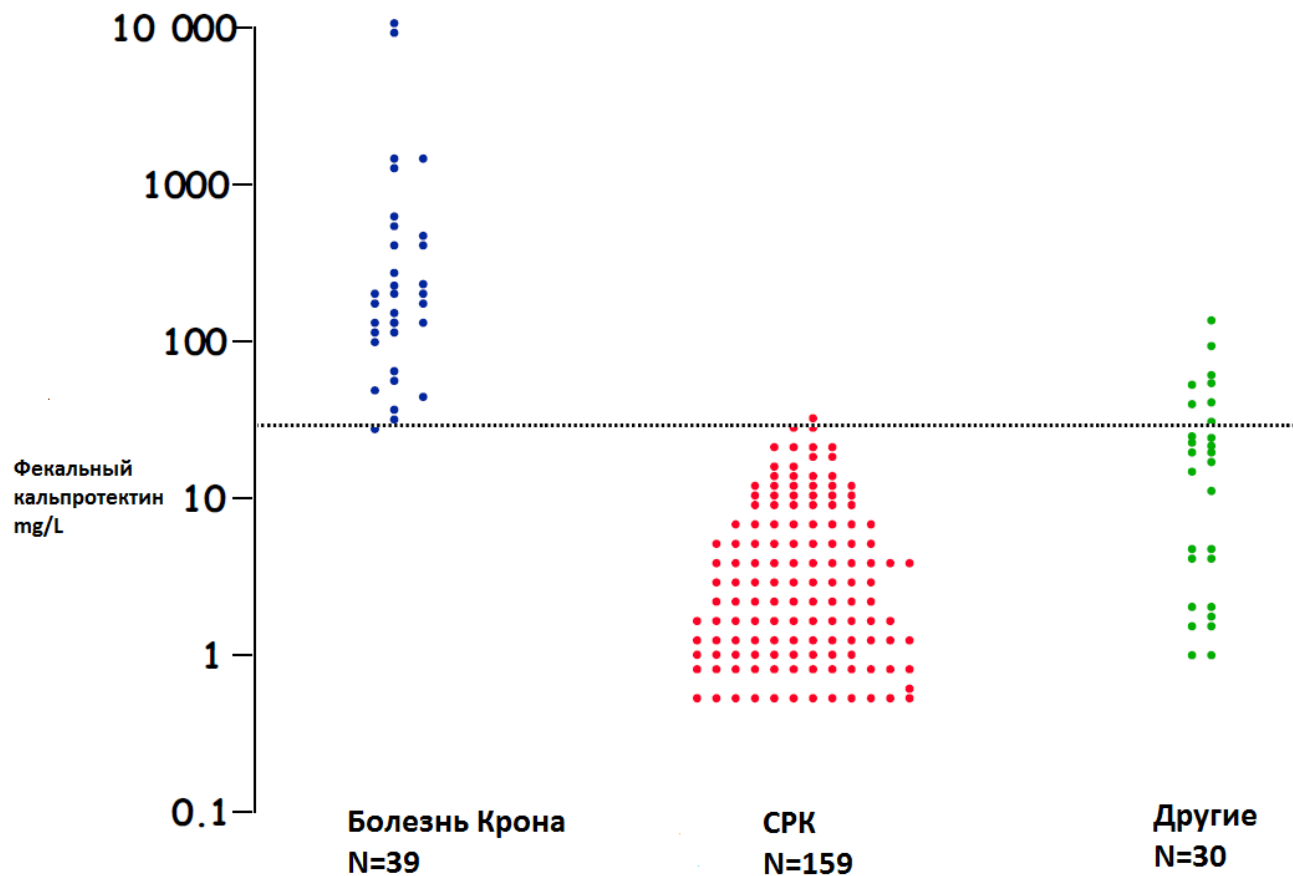
Value of fecal calprotectin in the evaluation of patients with abdominal discomfort: an observational study Manz et al. BMC Gastroenterology 2012, 12:5 h230X/12/5

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Фекальный кальпротектин при БК и ЯК



Gut 2000;47:506-513

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

ФК в диагностике ВЗК:

Определение фК рекомендовано при исследовании кала для диагностики и мониторинга ВЗК.

Полные рекомендации по обследованию (1) :

- Исследование крови:

- клинический анализ; уровень электролитов
- показатели функции печени (АЛТ, АСТ, γ-глутамилтранспептидаза, ЩФ)
- обмен железа
- содержание витамина В12 и фолиевой кислоты
- концентрация сывороточного белка и альбумина
- С-реактивный белок
- исследование рANCA, ASCA

- Исследование кала:

- копрологическое исследование
- исследование фК

Диагностика ВЗК:

Полные рекомендации по обследованию (2) :

- исследование на наличие токсина *Clostridium difficile*, шигеллы, сальмонеллы, иерсинии, дизентерийной амебы, гельминтов, паразитов
- исследование на CMV показано в случаях:
 - тяжелого или резистентного течения заболевания;
 - у пациентов, получающих иммуносупрессивную терапию
 - у лиц, которые путешествовали за границей, возможно проведение дополнительных тестов).

Корреляция уровня ФК и эндоскопической активности/повреждения слизистой оболочки кишечника при ЯК, клиника Mayo, США

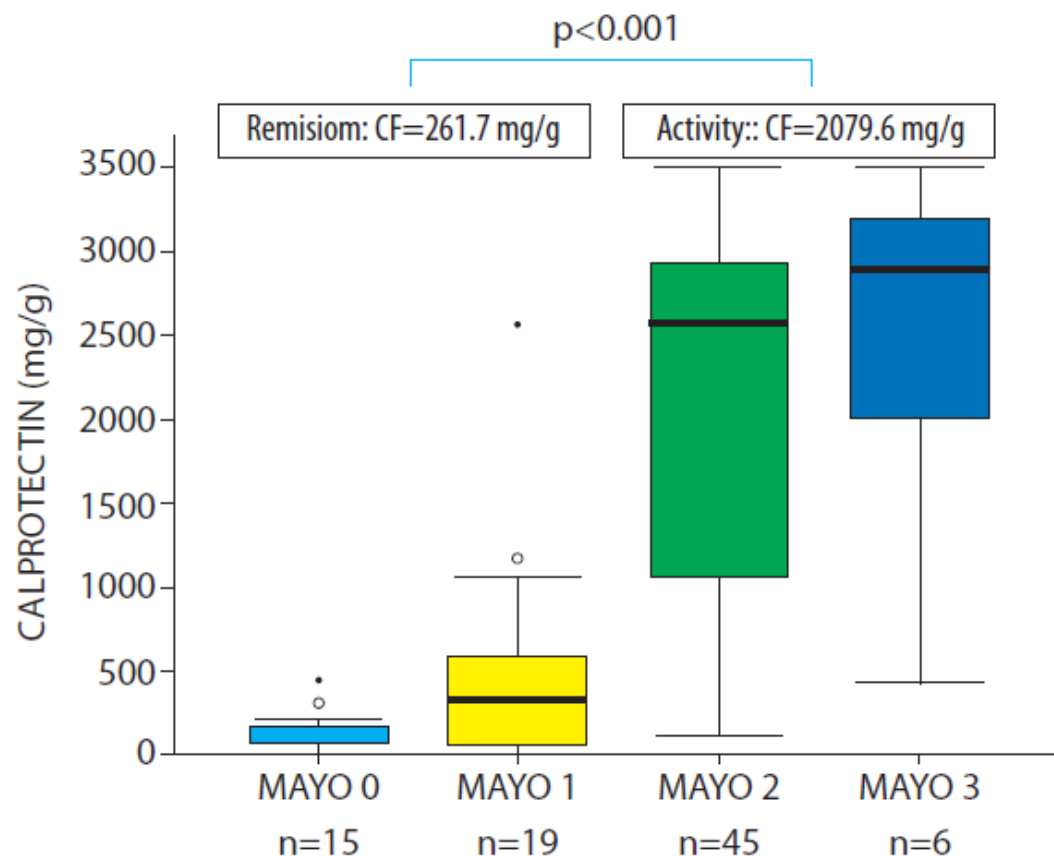
Для активного воспалительного процесса ДУ фК > 250 мкг/г кала

Чувствительность 71,0%

Специфичность 100,0%

PPV 100,0%

NPV 47,1%



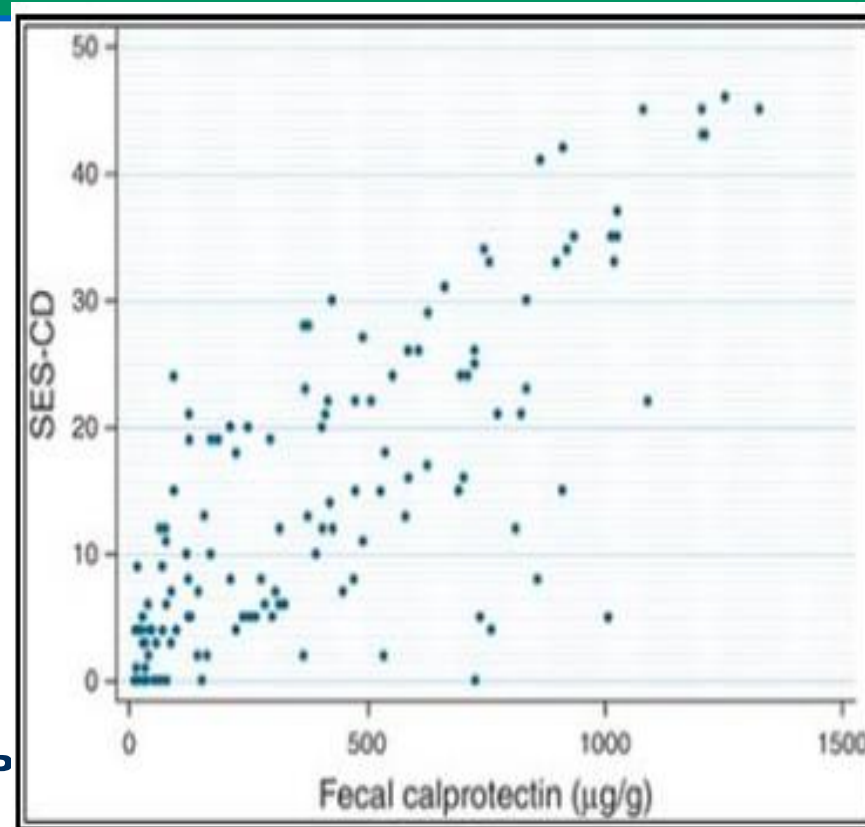
ГРУППА КОМПАНИЙ

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.



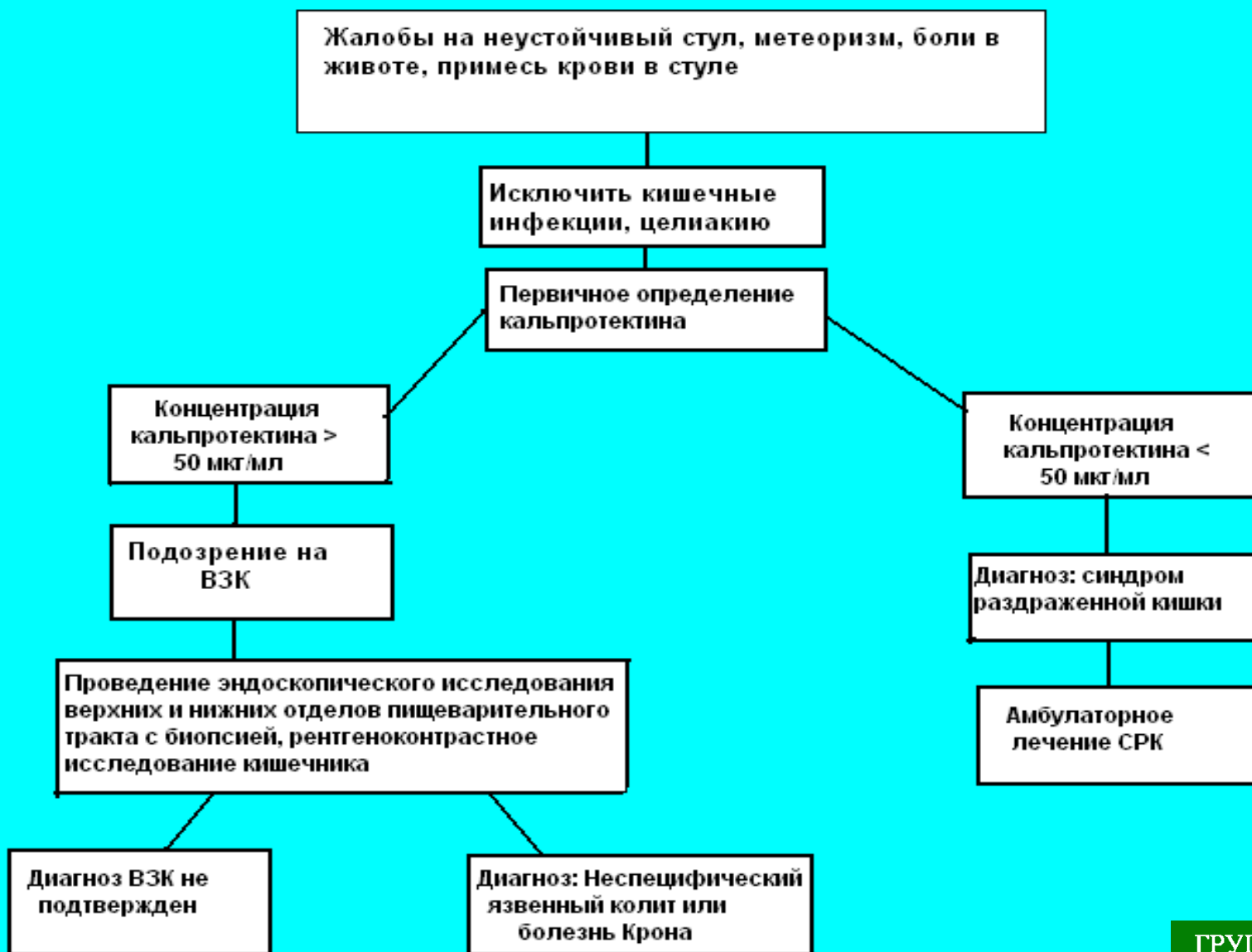
Schoepfer M, AmJGastrEnt, 2010

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Алгоритм диагностики и лечения неспецифического ЯК и БК у детей

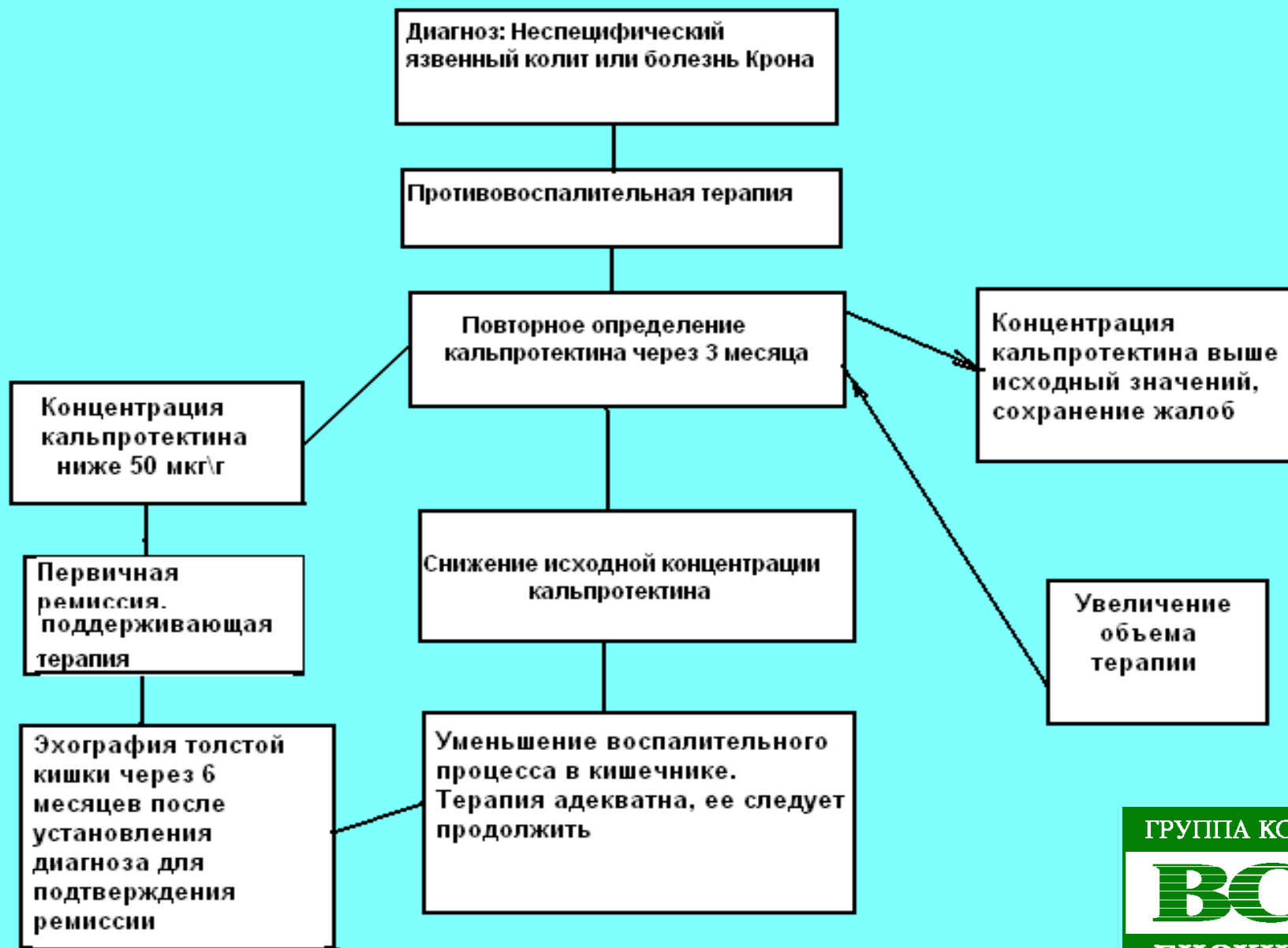


ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Алгоритм оценки эффективности лечения и мониторинга ЯК и БК у детей



ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

ФК – клинические приложения

- Дифференцирует органическое поражение кишечника у пациентов с абдоминальной болью и диареей
- Определение ФК дает возможность выделить группу, которой необходимо эндоскопическое исследование.
- Уменьшает число инвазивных исследований, в том числе у детей.
- ФК - сильнейший прогностический маркер клинического рецидива для БК и ЯК у пациентов с бессимптомной стадией
- Отражает активность заболевания ранее, чем объем поражения кишечника, оцениваемый эндоскопически.
- Тест является неинвазивным инструментом динамического контроля (состояния ремиссия/рецидив) и оптимизации лечения/подбора терапии
- ФК очень стабилен в кале – до 7 нескольких дней.

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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 могут отмечаться при поражении слизистой (целиакии, лактазной недостаточности, аутоиммунном гастрите)
- 4. На результаты анализа могут влиять препараты богатые кальцием, цинком, магнием.

ГРУППА КОМПАНИЙ

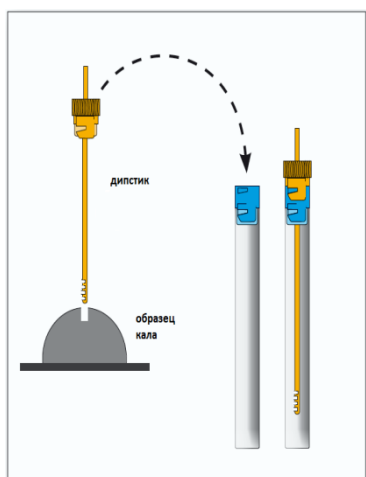
BCM

БИОХИММАК

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:

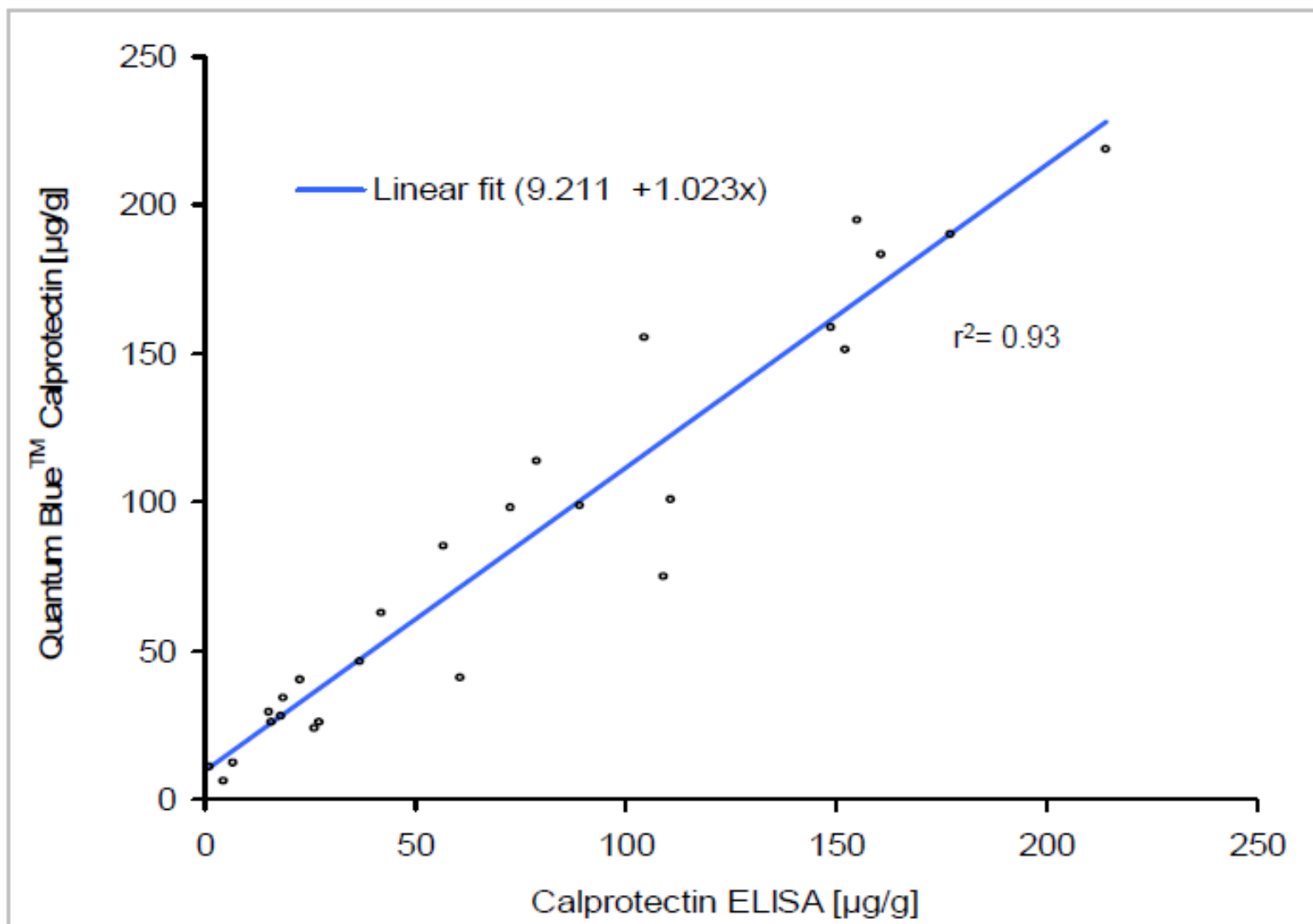
1. Для скрининга: 30 – 1000 мкг/г кала
2. Для мониторинга (высокий диапазон): 100 – 1800 мкг/г кала

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Корреляция Quantum Blue LF-CAL Rapid Test с Buhlmann f-Cal ELISA



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 перцентильям 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

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

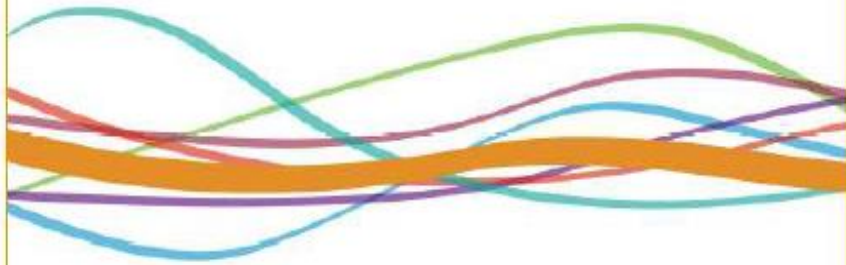
БИОХИММАК

Economic report

Value of calprotectin in screening out irritable bowel syndrome

CEP09041

February 2010



Evidence review

Value of calprotectin in screening out irritable bowel syndrome

CEP09026

January 2010



Экономические аспекты определения кальпротектина в системе здравоохранения Швейцарии

- Были исследованы пациенты с симптомами СРК и ВЗК
- Затраты (Цена теста кальпротектина для пациента – 40 CHF, эндоскопии – 450-950 CHF)
- Последние исследования Prof Beglinger показали, что из 401 пациентов с симптомами СРК / ВЗК 251 пациента (около 60%) были охарактеризованы с помощью кальпротектина как СРК
- 251 повторного визита к врачу и/или колоноскопии можно избежать!

Экономические аспекты определения кальпротектина в системе здравоохранения Великобритании

- Были обследованы 2500 пациентов
//время ожидания колоноскопии – несколько недель//
- У 60% пациентов, по клинической картине у которых может быть поставлен СРК, уровень кальпротектина в норме
- Исходя из того факта, что 60 % пациентов не нуждаются в повторном визите, стоимость которого 180 евро, или колоноскопии, **экономия бюджета больницы составила 500 000 евро в год.**

Экономические аспекты определения кальпротектина в системе здравоохранения Швеции

Предполагаемая экономия для Швеции, составила от 1.57 до 2.13 млн € (снижение числа ЭИ на 50 и 67% соответственно, в зависимости от используемого уровня cut-off для фК).

Mindemark M., Larsson A. Estimation of the possible economic effects of preendoscopic 2 screening with F-calprotectin Q13. CLB-07836; 4C Clinical Biochemistry 2011.

ФК в клинической практике

Преимущества для лаборатории > доктора > пациента:

- стоимость ниже по сравнению с эндоскопическим исследованием
- простой в исполнении
- быстрые результаты
- легко интерпретируются
- позволяет решить, необходимы ли дальнейшие инвазивные диагностические процедуры
- снижает число болезненных исследований

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Направления диагностики заболеваний ЖКТ

- Воспалительные заболевания
- Онкологические заболевания
- Инфекционные заболевания



ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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)

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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>

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Ротавирус

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.

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Иммунохроматография (Vegal, Испания) – 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).

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Аденовирус

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

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Астровирус

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

Результат (Vegal, Испания) против	ELISA
Чувствительность	>94%
Специфичность	>99%

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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

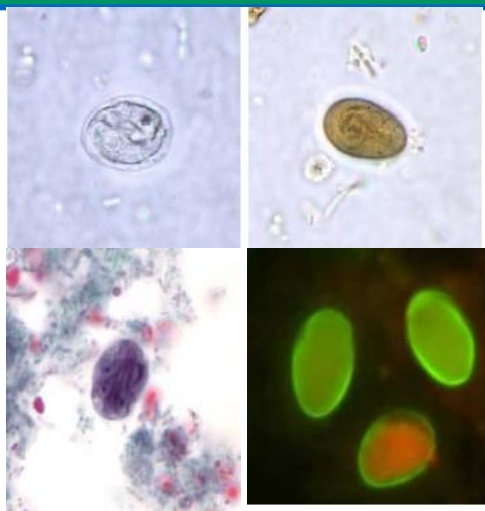
BCM

БИОХИММАК

«...Показанием к обследованию на лямблиоз являются:

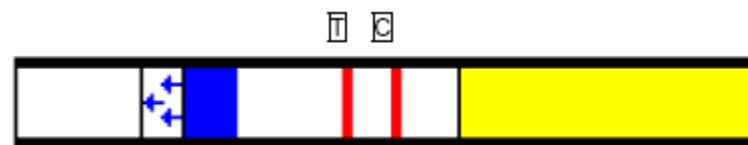
- диарея неустановленной этиологии;
- хронические заболевания желудочно-кишечного тракта;
- дисбиоз кишечника;
- гипотрофия, отставание в физическом развитии;
- дерматиты, крапивницы, экземы, нейродерматиты;
- иммунодефицитные состояния;
- обструктивные бронхиты, бронхиальная астма;
- аллергии неустановленной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

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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.
- Криптоспоририоз 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.).

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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.

Иммунохроматография – характеристики метода

Результат (Vegal, Испания) против	микроскопия
Чувствительность	>99%
Специфичность	>99%

Не обнаружены перекрестные реакции с паразитами, встречающимися в кале :

- *Giardia lamblia*;
- *Entamoeba histolytica*.

криптоспоридиоз

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

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Антиген H. Pylori

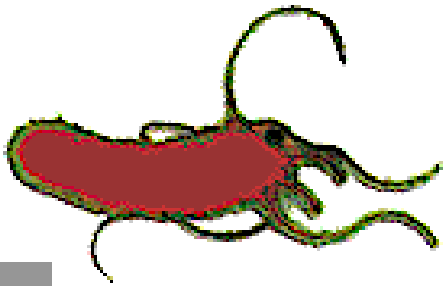
Рекомендации по диагностике и лечению инфекции H.Pylori (Маастрихт IV (2010 г.):

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

Helicobacter pylori



ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

ИХ тест (Vegal, Испания) - 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

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Экспресс методы выявления инфекционных антигенов (Vega, Испания)

Стрептококки группы A	Стрептококки группы A (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 A + B в назофарингеальных образцах	Респираторно-синцитиальный вирус (RSV) (антиген)
Грипп A	Chlamydia trachomatis (антиген)
Легионелла в моче	Candida, определение антигена в цервикальном секрете
Стрептококки группы S	Ротавирус в кале
Стрептококки группы B 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.Histolytica в кале	Лямблии Giardia lamblia в кале
Blastocystis в кале (ИФА)	Cryptosporidium - Giardia lamblia в кале
Вирус гепатита A	E.coli O157:H7 в кале
	H.pylori в кале
	Свиной грипп

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

Иммунохроматографический анализ (Vegal, Испания)

- 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
 - **Экономичность**

ГРУППА КОМПАНИЙ

BCM

БИОХИММАК

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