

Иммунохимические методы в экспресс-диагностике острых кишечных инфекций

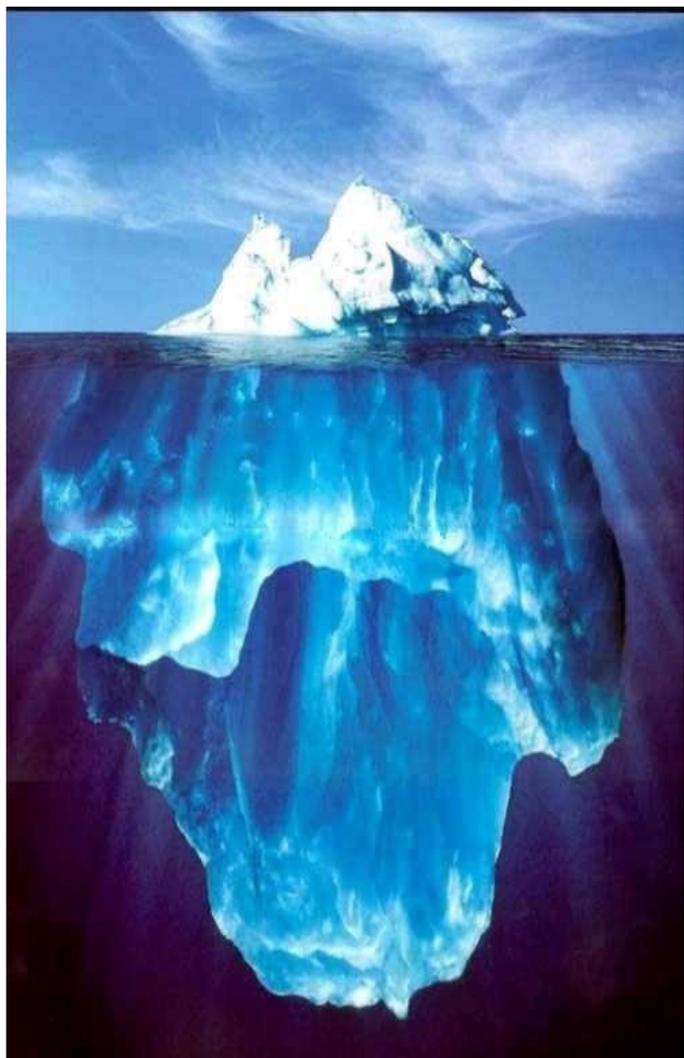
Заболееаемость острыми кишечными инфекциями в Российской Федерации (2015 г.)

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года

Заболевания	Показатель на 100 тыс. населения
Брюшной тиф	0,03
Сальмонеллезы	25,8
Бактериальная дизентерия (шигеллез)	6,9
ОКИ другой установленной этиологии	168,1
ОКИ неустановленной этиологии	361,1 (2014 год)

Почему 60 % случаев ОКИ имеют «неустановленный возбудитель»?

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года



- Исследования по-прежнему ограничиваются набором «традиционных» инфекций
- Недостаточная чувствительность применяемых бактериологических методов исследования
- Проблемы (несоблюдение условий) транспортировки образцов в централизованную лабораторию
- Недоступность, или неинформированность о наличии, надежных диагностических тест-систем (особенно на вирусные ОКИ)
- Недооценка важности точной диагностики

Этиологическая структура ОКИ

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года



Этиологическая структура ОКИ в РФ (современные методы диагностики)

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года

(на примере Липецкой области, 2004 г.)

Лабораторно установленный возбудитель		Частота выявления, %	
		всего	у детей до 1 года
Вирусы		>60	>75
в т.ч.	норовирус (ИФА)	32,6	43,3
	ротавирус (ИФА)	24,5	28,9
	астровирус (ИФА)	?	
	аденовирус (ИФА)	?	
Бактерии		7,1 (19,9)	
в т.ч.	шигеллы	1,6	
	сальмонеллы	3,3	
	кампилобактер (ИФА)	13,9	
	(бактериология)	1,1	
	энтеропатогенные <i>E. coli</i>	1,1	
Простейшие		?	

Мищук В.И. и др. *Клин. лаб. диагностика*, 2005, 9, 54

Этиологическая диагностика ОКИ?

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года



Диагностика: чем раньше - тем меньше ущерб

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года



Этиологическая диагностика ОКИ!

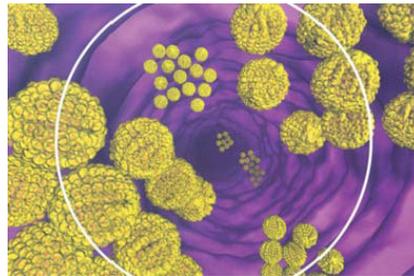
АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года

Цель:

- Исключение необоснованного применения антибиотиков и антибактериальных препаратов
- Исключение непоказанных диагностических и других медицинских процедур
- Своевременное назначение водо- и электролитозамещающей терапии (ротавирус!)
- Выявление этиологического фактора и источника заражения при вспышках инфекции
- Проведение эффективных профилактических и противоэпидемических мероприятий
- Снижение финансовых потерь!

Бактерии

Сальмонеллы
Шигеллы
Кампилобактер
Клостридии
Патогенные штаммы
кишечной палочки
Йерсинии

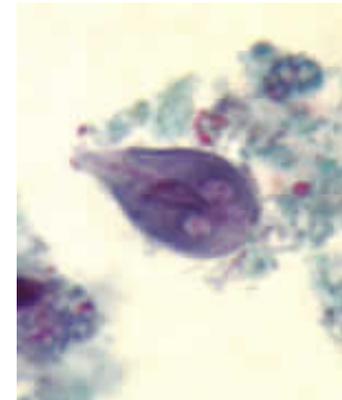


Вирусы

Ротавирус
Норовирус
Аденовирус
Астровирус

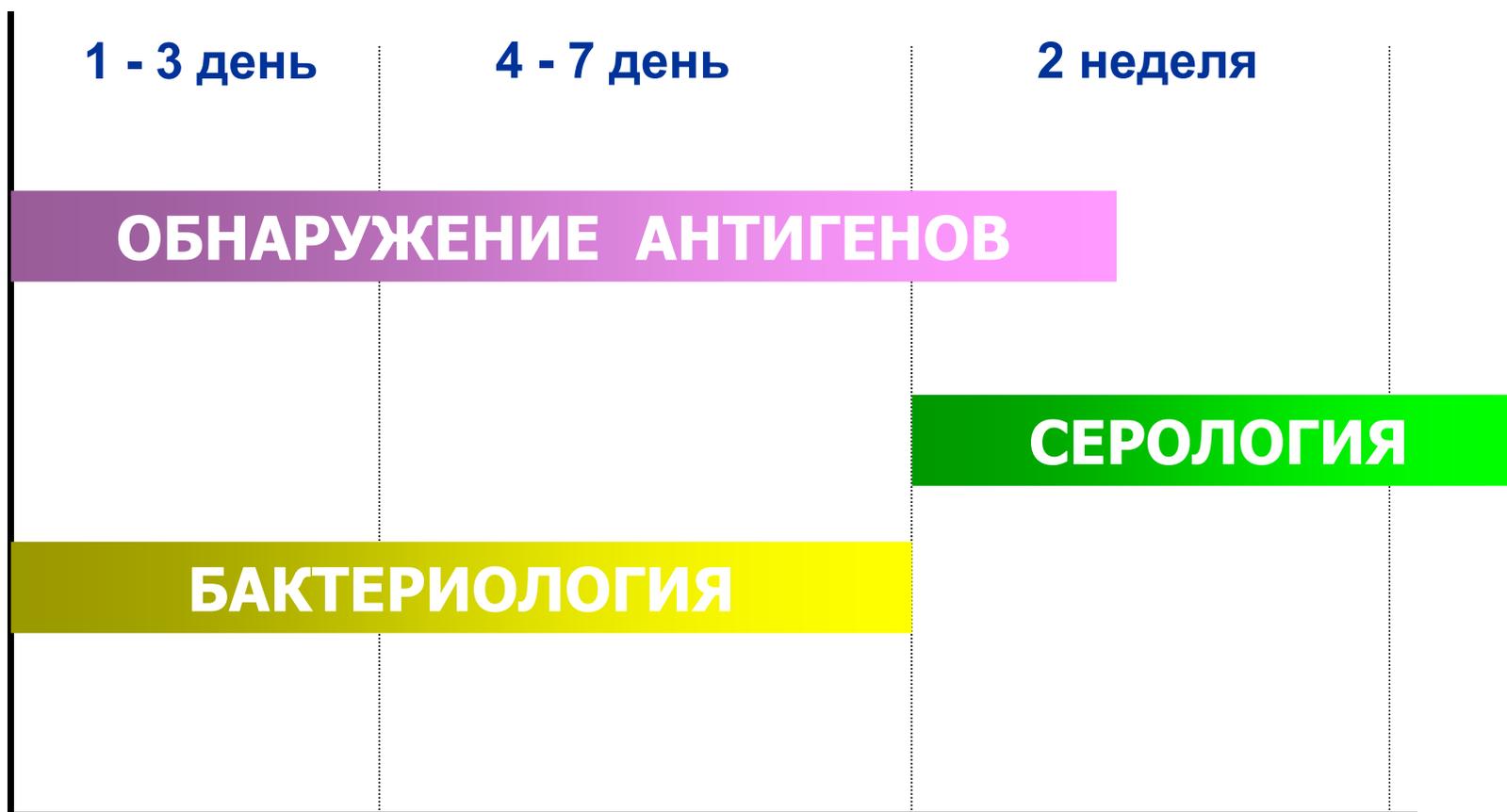
Простейшие

Энтамёба гистолитика
Лямблии
Криптоспоридии



Особенности специфической диагностики ОКИ

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года



Иммунохимические методы выявления антигенов возбудителей ОКИ

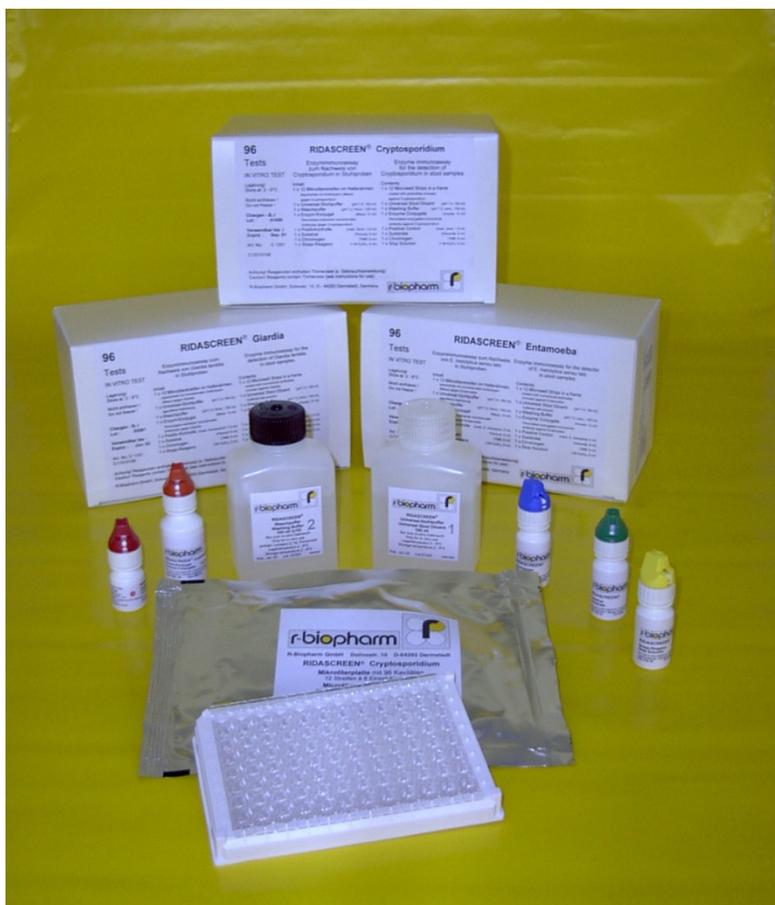
АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года

ИФА тест-системы:

- Высокая чувствительность и специфичность (около 100%), **не нужны интактные клетки возбудителей инфекций**
- Простота в работе
- Возможность комбинирования тестов (особенно удобно при большом потоке исследований)
- Возможность автоматизации
- Экономичность
- Подходят для рутинной диагностики в любой лаборатории

ИФА наборы RIDASCREEN® для выявления возбудителей ОКИ

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года



Достоинства наборов RIDASCREEN®:

- Широкий спектр тест-систем на основные возбудители ОКИ
- Простая и универсальная методика
- Возможность одновременной постановки на одном микропланшете стрипов из разных наборов RIDASCREEN®
- Готовые к применению реагенты во флаконах-капельницах
- Цветовая кодировка реагентов и флаконов
- Уникальные аналитические характеристики

ИФА наборы RIDASCREEN® для выявления возбудителей ОКИ

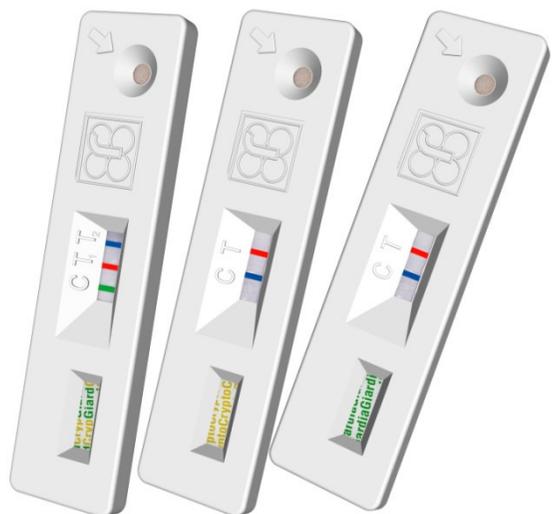
АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года



- Ротавирус C0901
- Аденовирус C1001
- Астровирус C1301
- Норовирус C1401
- *Clostridium difficile* токсин A/B C0801
- *Clostridium perfringens* энтеротоксин C0601
- Криптоспоридии C1201
- Энтамёбы C1701
- Лямблии C1101
- Веротоксин C2201
веротоксины 1 и 2 *E.coli* (SLT I/II)
- Кампилобактер C2401
Campylobacter jejuni и *Campylobacter coli*

Экспресс-тесты RIDA® Quick для выявления возбудителей ОКИ

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года



- Чувствительность и специфичность, как у ИФА
- Более быстрая (около 5 мин) и более простая, чем в ИФА, методика
- Не требуют оборудования и квалифицированного персонала
- Удобный кассетный формат
- **Идеальное решение для небольшого потока исследований и неотложных ситуаций**

Экспресс-тесты RIDA® Quick для выявления возбудителей ОКИ

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года



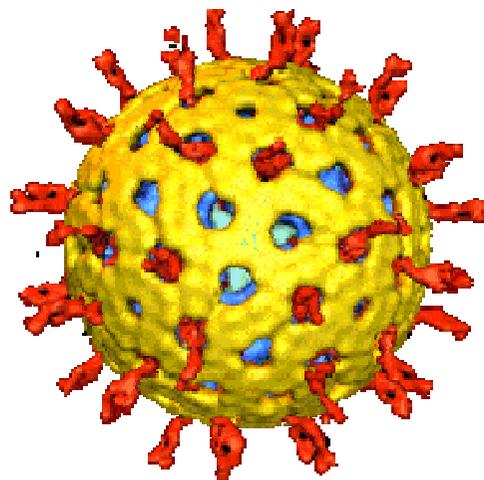
- Ротавирус N0903
- Ротавирус/Аденовирус - **Комби** N1003
- Норовирус N1403
- Лямблии N1103
- Криптоспоридии N1203
- Энтамёбы N1703
- Лямблии/Криптоспоридии - **Комби** N1123
- Лямблии/Криптоспоридии/Энтамёбы – **Комби** N1723
- Веротоксин/ *E.coli* O157- **Комби** N2203

Экспресс-тесты RIDA® Quick для выявления возбудителей ОКИ

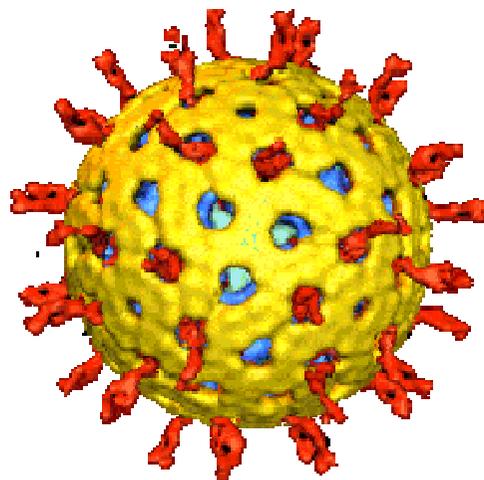
АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года



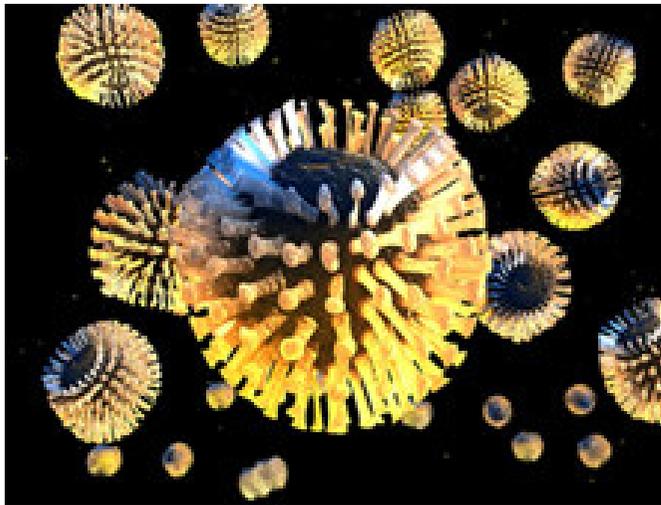
Процедура исследования



- Этиологический агент 20-25% ОКИ
- Наиболее частый вирусный параметр исследования кала
- Стандартный параметр в педиатрии (30% ОКИ и более)
- Возможна тяжелая форма у пожилых и лиц с ослабленным иммунитетом
- Около 25% случаев диареи путешественников
- Выраженная сезонность (зима)
- Надежные методы диагностики:
ИФА *RIDASCREEN® Ротавирус* и
экспресс-тест *RIDA® Quick Ротавирус*



- 95% детей в возрасте до 5 лет
- 140 миллионов заболевших ежегодно
 - Из них 93% - дети до 5 лет
- В России: примерно 100 000 случаев в год
 - 5 – 10 смертных случаев (дети)
- Частая причина внутрибольничных инфекций



Сочи-экспресс
03.08.2016

«... Острая диарея, температура, рвота – с жалобами на одни и те же симптомы в сочинскую «скорую» обращаются в день по несколько сотен человек. По данным, озвученным порталу «Сочи Экспресс» фельдшером одного из экипажей «скорой помощи», за день поступает порядка 900 обращений по одному и тому же поводу. Диагноз – ротавирусная инфекция, которой заболевает множество туристов и сочинцев, искупавшись в перегретом море...»

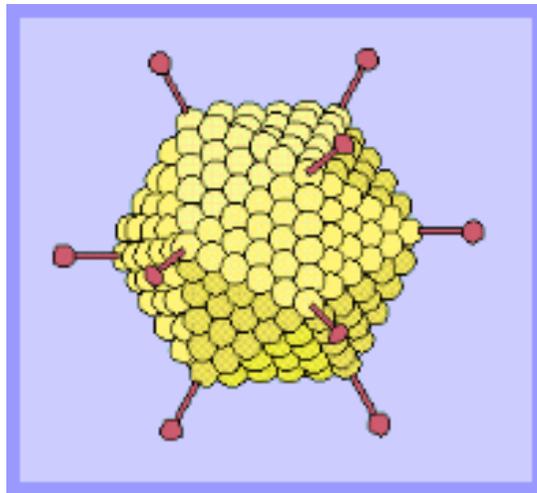
Диагностика:

МУ 3.1.1.2957-11. Эпидемиологический надзор, лабораторная диагностика и профилактика ротавирусной инфекции):

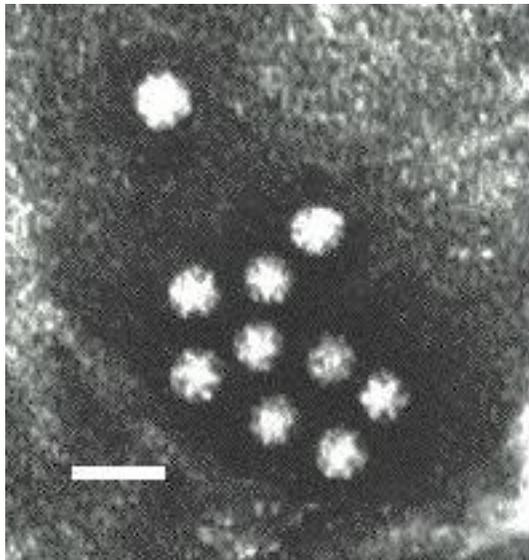
- ПЦР
- Иммуноферментный анализ
- Иммунохроматографические экспресс-тесты

Показания для проведения лабораторного исследования :

- Для детей в возрасте до 5 лет - любой случай ОКИ, протекающий с диарейным синдромом
- Для пациентов старшего возраста - случай ОКИ, протекающий с выраженными симптомами ОГЭ или ОЭ
- Обследованию контактных лиц в очагах ОКИ или при эпидемическом подъеме заболеваемости ОКИ

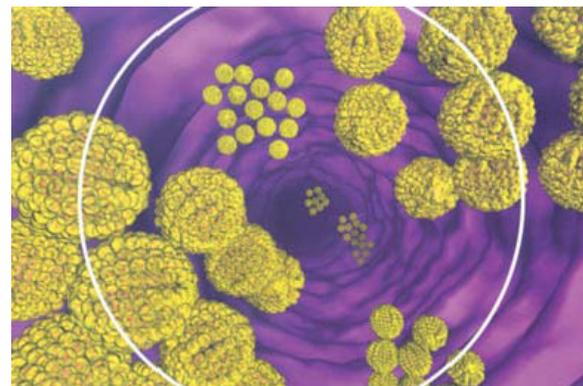


- Распространенный этиологический агент респираторных и глазных инфекций
- Менее распространенный возбудитель ОКИ, чем ротавирус (2-8% больных) – только вирусы группы F (тип 40/41)
- Определяют в кале, наряду с ротавирусом (в основном, в педиатрии)
- Те же показания, что для ротавируса
- Надежный метод диагностики:
ИФА *RIDASCREEN® Аденовирус* и экспресс-тест *RIDA® Quick Рота/Аденовирус - Комби*



- Относительно новый параметр - начал определяться, как возбудитель ОКИ, лишь недавно
- Спорадическая заболеваемость: 5-15%
- В России учет не проводится
- 8 серотипов; наиболее распространен серотип 1
- Те же показания, что для рота- и аденовируса
- Некротизирующий энтероколит, особенно у недоношенных детей
- Электронная микроскопия затруднена
- Надежный метод диагностики – ИФА *RIDASCREEN® Астровирус*

- Возбудитель 18% случаев острого гастроэнтерита по всему миру (оценка 2014 г.)
- ЕС: этиологический агент **> 85%** всех зарегистрированных эпидемий ОКИ в (1995 – 2013 гг.)
- США: **19-21 миллион** случаев и 800 смертей ежегодно
- Россия: до 2010 года не регистрировали, 2014 год - 8,9 на 100 000 чел, прирост за год - **21,4%**
- Путь распространения: пищевой, через воду
- Способ передачи: фекально-оральный, воздушно-капельный, контактный (мин. инфекционная доза <100 вирусных частиц)
- Культивирование невозможно
- Надежный метод диагностики - ИФА *RIDASCREEN® Норовирус* и экспресс-тест *RIDA®Quick Норовирус*



- Одноцепочечный РНК-вирус семейства *Caliciviridae*
- Вирусные частицы диаметром 27-35nm
- Геном: три ORF:
 - ORF1 – РНК-хеликаза, протеаза и полимераз
 - ORF2 – капсидный белок
 - ORF3 – малый структурный белок
- 5 геногрупп, GI - G5
 - Основные патогены для человека: GI, GII, GIV
 - GI – 9-14 генотипов
 - GII– 22-27 генотиповСамый опасный – GII.4

Выделение вируса со стулом: 10^5 – 10^{10} копий/ грамм -
в том числе и у бессимптомных лиц

Максимум выделения вируса – 48-64 часа после заражения

Может выделяться до 8 недель

Высокий урожай вируса + длительное время выделения –
масштабные и трудноустраняемые вспышки, часто повторные

Клиническая картина: острый гастроэнтерит

Короткий инкубационный период (24-48 часов)

Острое начало

Рвота (очень часто)

Умеренная диарея

Системные проявления: лихорадка, головная боль, миалгия

Короткая продолжительность (12-60 часов)

Поражает больных в любом возрасте

Более тяжелое течение:

- пожилые люди,
- дети меньше 1 года,
- больные с нарушениями иммунного ответа

Вспышки норовирусной инфекции

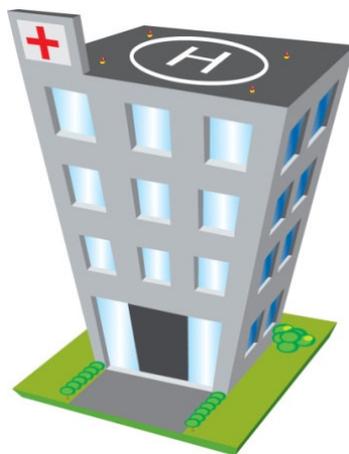
АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года

Детские сады
Школы
Университеты

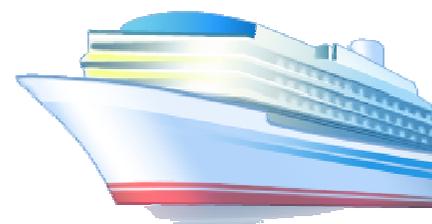


Более половины случаев:

Больницы
Интернаты
Дома престарелых



Общежития



Круизные и военные суда

Высокая устойчивость к дезинфектантам и термической обработке!



16+ АРГУМЕНТЫ
И ФАКТЫ OMSK.AIF.RU

01.07.2013 12:21

- МОСКВА, 23 июня 2015 г. — РИА Новости. Причиной вспышек кишечных инфекций в России весной и в начале лета 2015 года стала разновидность норовируса, основной способ не заразиться — максимально тщательно соблюдать правила личной гигиены и все требования санитарного режима на пищеблоках, заявила журналистам глава Роспотребнадзора Анна Попова.

Ранее информация о массовых отравлениях поступала из Свердловской

и Оренбургской областей, Хабаровского края, Ставрополья, Северной Осетии .

Диагностика:

- **Культуральный метод** - невозможен
- **Электронная микроскопия** – не пригодна для ЛПУ и малоэффективна

МУ 3.1.1.2969-11. Эпидемиологический надзор, лабораторная диагностика и профилактика норовирусной инфекции):

- **ПЦР**
- **Иммуноферментный анализ**
- **Иммунохроматографические экспресс-тесты**

RIDASCREEN® Норовирус

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года

Единственный в мире ИФА набор, одновременно определяющий I и II геногруппы вируса

Единственный ИФА набор, зарегистрированный в РФ

- Надежные результаты менее чем за 2 часа
- Простота пробоподготовки и анализа
- Готовые к применению реагенты
- Цветовая кодировка растворов

		RIDASCREEN®	
		+	-
пЦР	+	68	3
	-	0	100
Чувствительность		95,8 %	
Специфичность		100 %	

Первый в мире экспресс-тест для определения норовируса

- Надежные результаты менее чем за 15 минут
- Позволяет одновременно определять I и II геногруппы вируса
- Все необходимые для постановки материалы
- Цветовая кодировка растворов
- Чувствительность – 92%
- Специфичность – 98%



RIDA®Quick Норовирус

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года

<p>Чувствительность: 92% Специфичность: 98%</p>		RIDA®QUICK Norovirus	
		+	-
ПЦР	+	23	2
	-	1	49

Эпидемиология инфекции:

- распространена повсеместно;
- источник – птицы и млекопитающие (симбионт в кишечном тракте);
- основной возбудитель бактериальных гастроэнтеритов в США и ЕС (>50%);
- возбудитель диареи путешественников (~10%);
- обнаруживается преимущественно в теплое время года;
- чаще поражает детей младше 6 лет и взрослых от 18 до 35 лет



Диагностика:

Культуральный метод:

- только со свежими образцами кала;
- длительный (до 3 суток);
- сложная методика

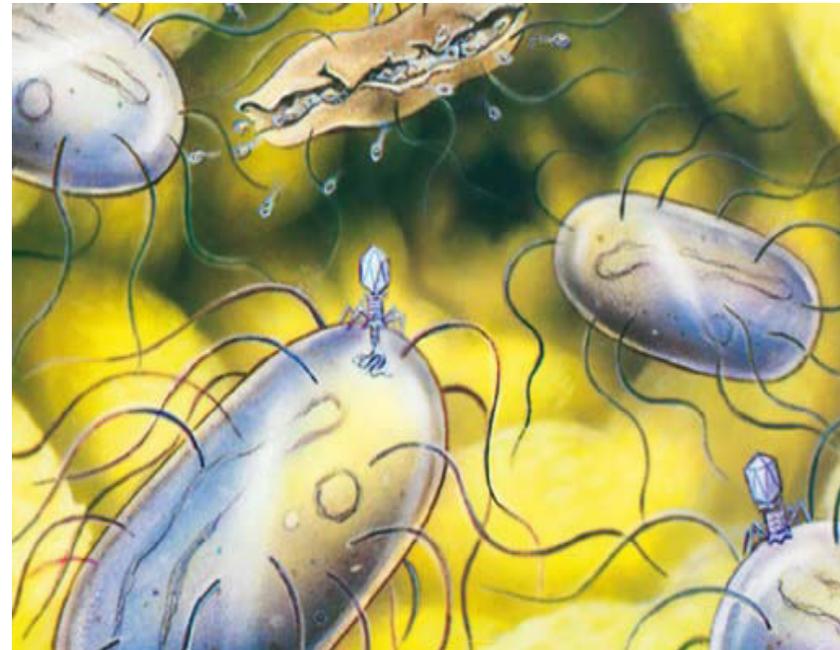
ИФА RIDASCREEN® Кампилобактер:

- быстрый, простой, надежный метод
- не требует интактных клеток
- чувствительность – близка к **100%**
- специфичность - **99,6%**

Энтерогеморрагические *E.coli*

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года

- Веротоксины 1 и 2: поражение эндотелия сосудов
- Геморрагический колит
- Гемолитический уремический синдром (ГУС) – наиболее частая причина ОПН у детей
- У взрослых: реже, но тяжелее
- Серогруппа O157: 70-90% всех энтерогеморрагических *E.coli*
- Серогруппа O104:H4 – причина эпидемии ГУЗ летом 2011 в Европе



***Быстрое определение патогена –
ключ к адекватному лечению***

Иммунохимические методы выявления энтерогеморрагических *E.coli* в кале

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года

ИФА наборы :

- **RIDASCREEN® Веротоксин**

(рекомендован МУК 4.2.992-00 от 04.11.2000 г.)

ИХ экспресс-тесты:

- **RIDA® Quick Веротоксин / *E.coli* O157 - Комби**

Экспресс-тест RIDA®Quick Веротоксин / *E.coli* O157 - Комби

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года

- Раздельное определение веротоксинов и бактерий серогруппы O157
- Рекомендуется: предварительная инкубация образца с бульоном mTSB с митомицином C

Чувствительность – **85-95%**

Специфичность – **98-99%**

Показания к применению:

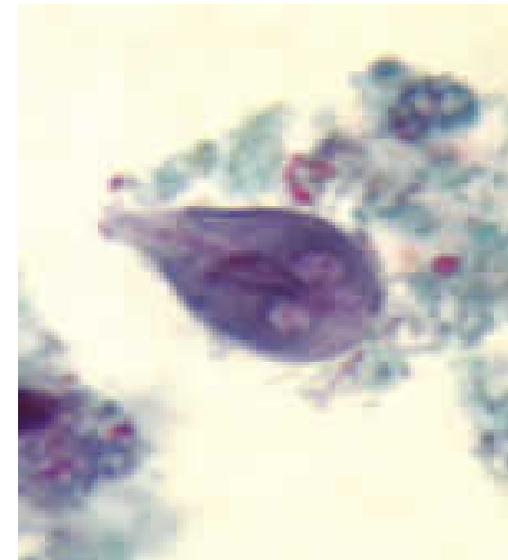
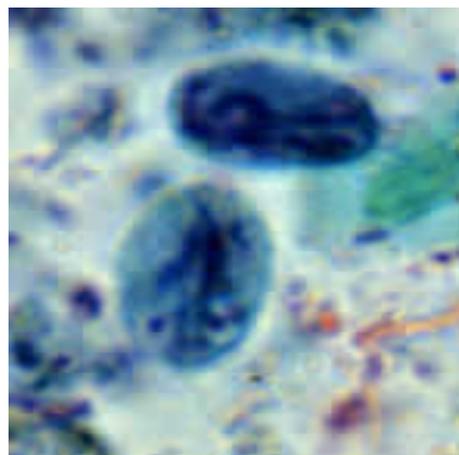
- Симптомы ГУС или тромботической тромбоцитопенической пурпуры
- Жидкий стул с кровью
- Геморрагический колит
- Некротизирующий энтероколит (новорожденные)
- Диарея у госпитализированных детей до 6 лет
- Обследование контактных лиц



Самый распространенный протозойный возбудитель ОКИ

200 миллионов случаев ежегодно
2-5% населения в развитых странах
20-30% - в развивающихся странах

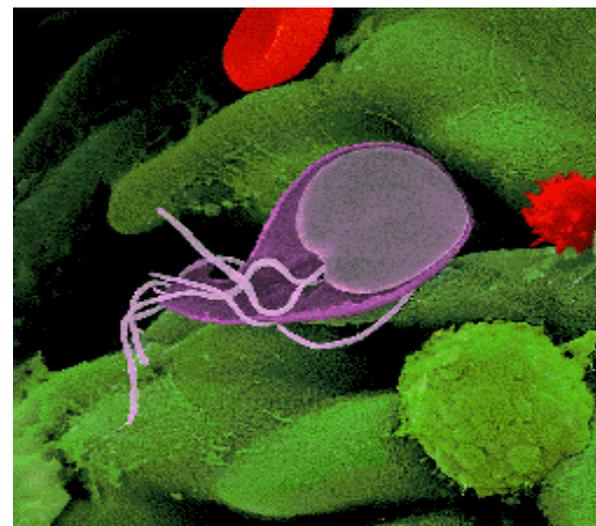
75% случаев – у детей



Трофозоиты: 12-15 мкм х 5-10 мкм
- 2 ядра, 8 жгутиков
- вентральный диск
(присоединение к клеткам)



Цисты: 7-10 мкм, 4 ядра



Лабораторная диагностика

Микроскопия

Серология

Определение антигенов

Чувствительность микроскопии (окрашенный мазок) :

1 образец - **60-80%**

2 образца - **80-90%**

3 образца - **>90%**

Низкая чувствительность и специфичность серологического определения антител (<60%!)

Надежная диагностика: ИФА **RIDASCREEN® Лямблии:**

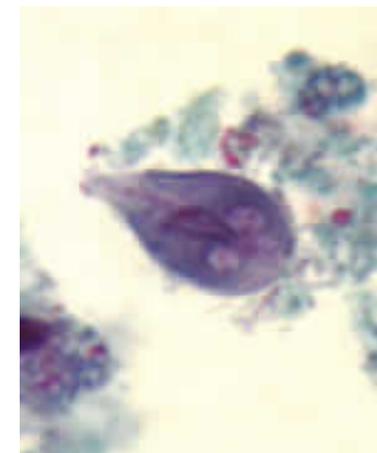
Чувствительность – **100%**

Специфичность - **99,6%**

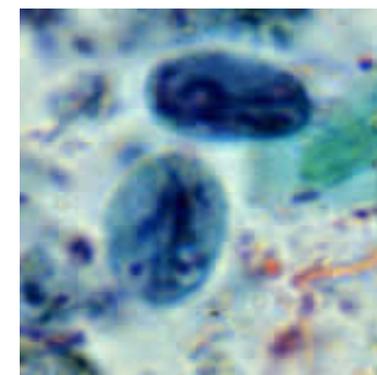
Экспресс-тест **RIDA® Quick Лямблии:**

Чувствительность – **98-100%**

Специфичность - **95-97%**



Трофозоиты



Цисты

2-й по распространенности протозойный возбудитель ОКИ

Эпидемиология:

- Распространен повсеместно (преимущественно среди лиц старше 5 лет)
- Развивающиеся страны - носительство до 40%

Клинические формы:

- Кишечный амёбиаз
- Внекишечный амёбиаз (летальность до 25%)

ИФА *RIDASCREEN® Энтамёбы:*

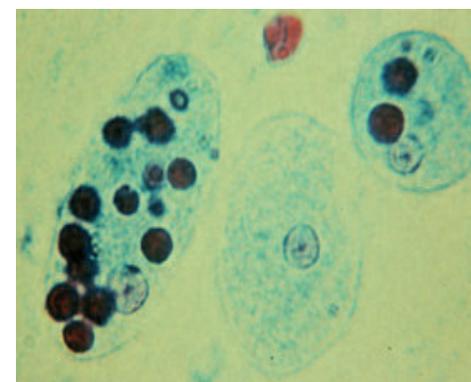
Чувствительность - **88%**

Специфичность - **99,2%**

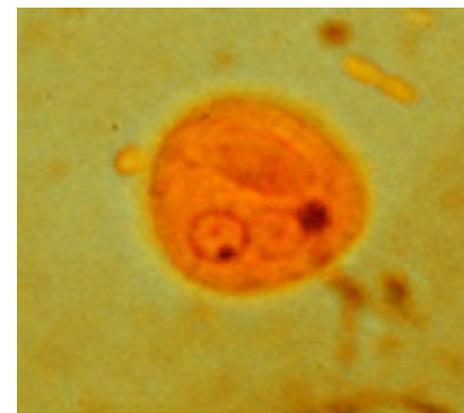
Экспресс-тест *RIDA® Quick Энтамёбы:*

Чувствительность - **85%**

Специфичность - **90%**



Трофозоиты



Цисты

Внекишечный амебиаз: серологическая диагностика

Иммуноферментный набор

RIDASCREEN® E.histolytica IgG:

- Диагностика внекишечных форм (в т.ч. при отрицательных тестах на антигены в кале)
- Полуколичественное определение: сопоставление результатов в динамике
- Чувствительность и специфичность 97-100 %

- Самый распространенный патоген, передаваемый через воду
- Особо опасен для детей и лиц с иммунодефицитами
- Источник инфекции – человек или животные
- Одна из причин «диареи путешественников»

Эпидемиология:

- В развитых странах: 2% (дети - 7%)
- В развивающихся: 6% (дети - 12%)

Диагностика:

- Низкая чувствительность микроскопии
- Надежные методы – ИФА, ИХ-тесты

ИФА RIDASCREEN® Криптоспоридии:

Чувствительность – **100%**

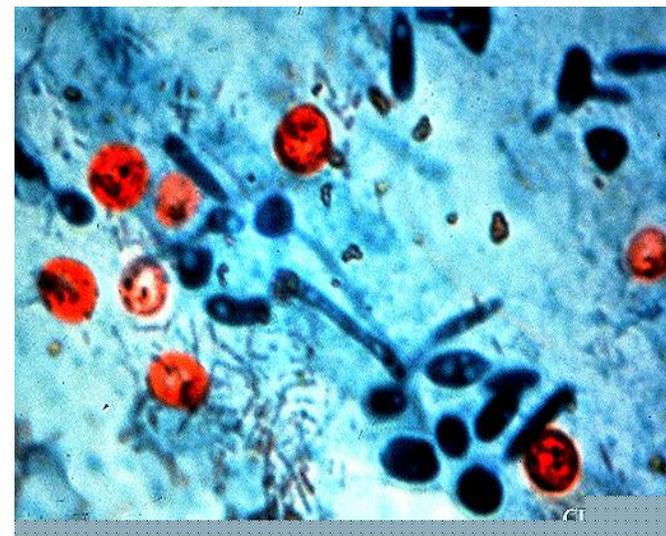
Специфичность - **97,3%**

Экспресс-тест RIDA® Quick Криптоспоридии:

Чувствительность – **94%**

Специфичность - **99-100%**

Ооцисты в кале



Диагностическое применение:

Выявление воспалительного процесса в стенке кишечника

Диагностическая ценность:

- Диагностика воспаления в кишечнике
- Дифференциация хронических воспалительных заболеваний кишечника и синдрома раздраженного кишечника (СРК- IBS)
- Мониторинг лечения

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ АНАЛИЗА СНИМАЕТ НЕОБХОДИМОСТЬ КОЛОНОСКОПИИ!

RIDASCREEN® Calprotectin ELISA

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года

- Два варианта калибровки: по 1 калибратору и по 5 стандартам
- Два положительных контроля: высокий и низкий
- Разборный планшет
- Оптимизирован для автоматических анализаторов ИФА
- Пробирки для проб: обеспечивают забор стандартного количества образца



Тест-системы фирмы R-Biopharm для иммунохимического выявления возбудителей ОКИ в кале

АНАЛИТИКА в лабораторной диагностике с 1989 года

ИФА

- Ротавирус
- Аденовирус
- Астровирус
- Норовирус
- Лямблии
- Криптоспоридии
- Энтамёбы
- Кампилобактер
- Веротоксин *EHEC*
- *C. difficile* токсины А и В
- *C. perfringens* энтеротоксин

Экспресс-тесты

- Ротавирус
- Ротавирус/Аденовирус
- Лямблии
- Криптоспоридии/Лямблии
- Криптоспоридии
- Энтамёбы
- Энтамёбы/Криптоспоридии/Лямблии
- Веротоксин/О157
- Норовирус

A photograph of a jellyfish, likely a species of moon jelly, swimming in clear blue water. The jellyfish has a translucent, bell-shaped body with two prominent, dark, circular spots on its upper surface. Its long, thin tentacles are visible trailing behind it. The background is a uniform light blue color.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ !