



Возможности этиологической расшифровки кишечных инфекций в многопрофильном стационаре

ДГКБ № 9 им Г. Н. Сперанского
Главный врач – д.м.н., профессор А.А.Корсунский
Заведующая лабораторией Е.В.Галеева

ОСТРЫЕ КИШЕЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ (ОКИ)

Группа острых инфекционных заболеваний, вызванных различными возбудителями (бактерии, вирусы, простейшие), характеризующихся клиническими симптомами поражения ЖКТ на фоне синдрома интоксикации и обезвоживания. .

МКБ-10, A00 - A09 Кишечные инфекции



Актуальность проблемы в мире

МКБ-10, A00 - A09 Кишечные инфекции



☹ Ежегодно в мире **1,7** миллиардов человек переносят острую кишечную инфекцию (**ОКИ**)

☹ По данным ВОЗ, ОКИ занимают 3-е место среди причин детской смертности

☹ Около 4 миллионов человек умирают от кишечных инфекций и их осложнений



✓ Кишечные инфекции, особенно у детей до года, отрицательно сказываются на росте и развитии ребенка

**... ежегодно
от кишечных инфекций
умирает до 4 млн.
человек,**

в том числе:

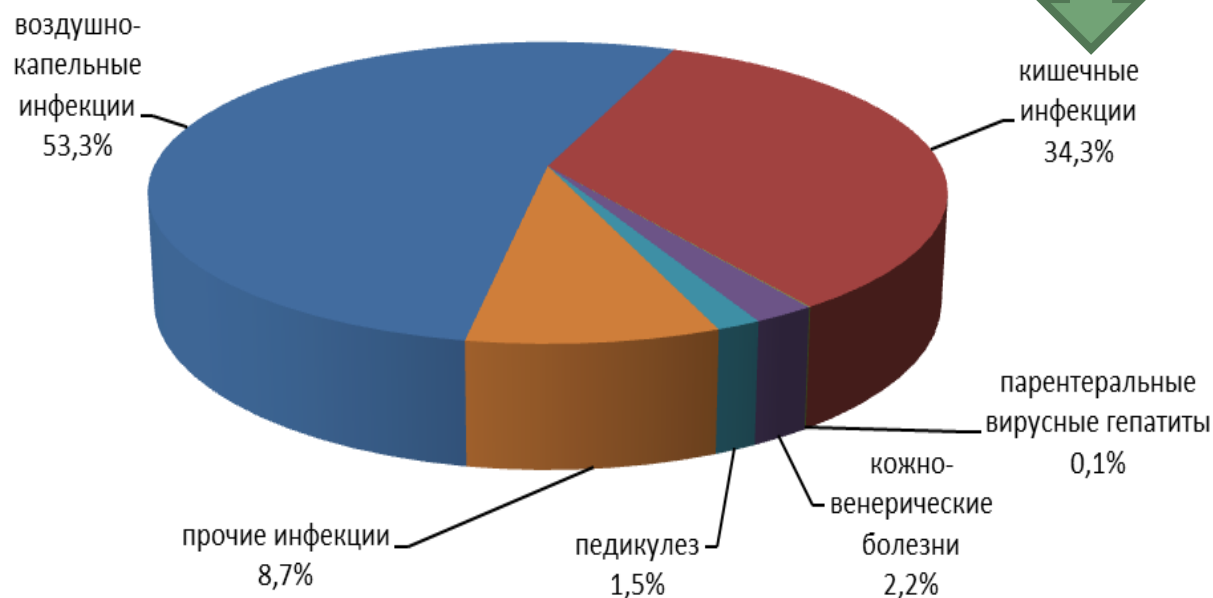
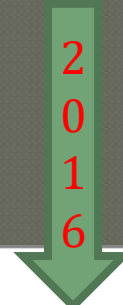
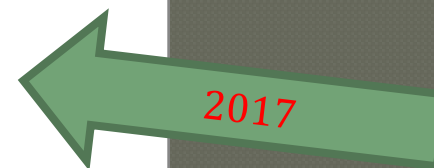
- **от шигеллезов – до 650 тыс.**
- **брюшного тифа – до 500 тыс.**
- **холеры – более 150 тысяч**
- **вирусные диареи вызывают более 125 млн.
случаев детского гастроэнтерита и,
примерно 440 тысяч смертей в год**



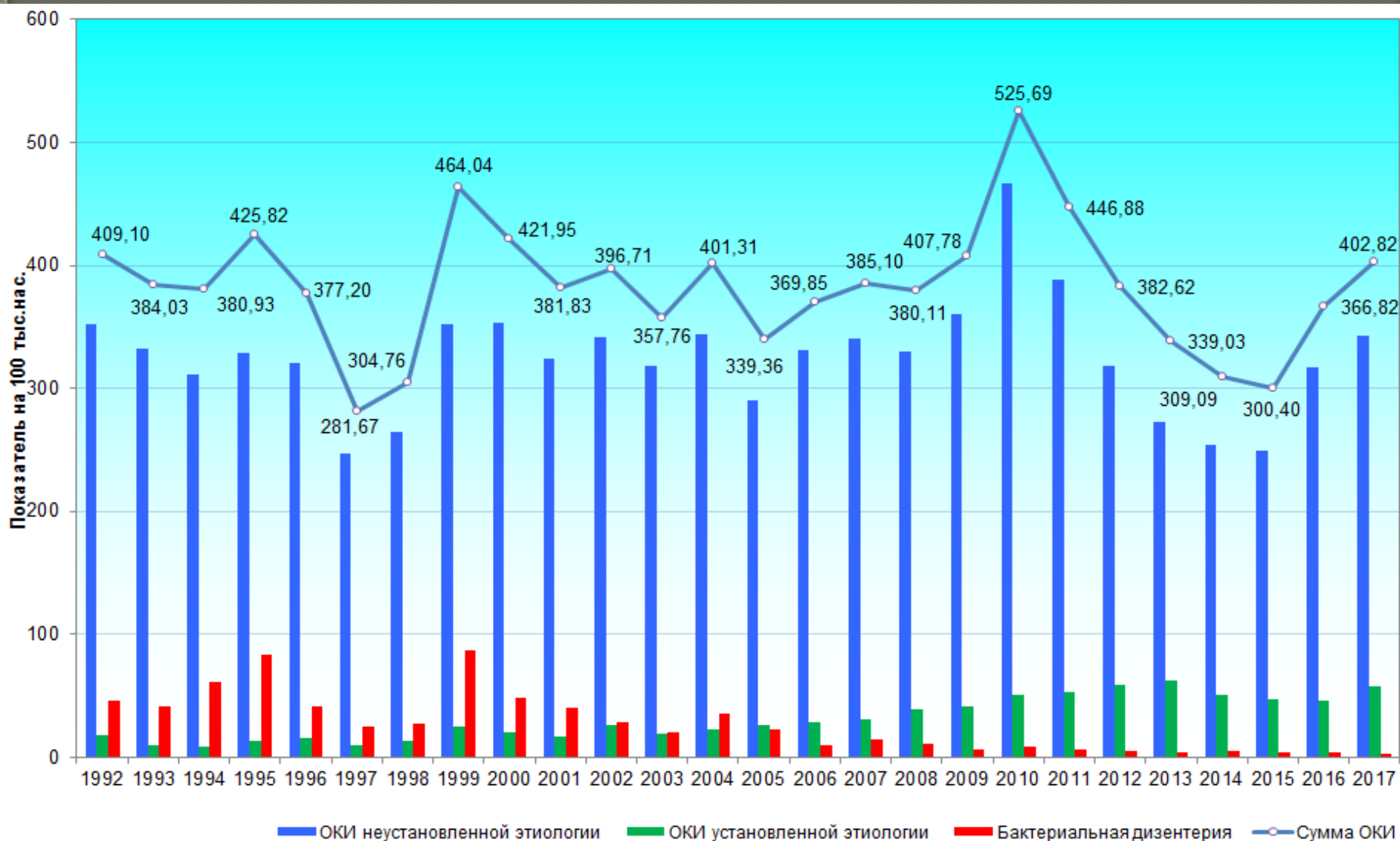
ОКИ – динамический процесс

- **Постоянная эволюция возбудителей**, приобретение новых вирулентных свойств, формированием новых клонов и их экспансией
- **Новые эпидемиологические аспекты распространения инфекций** (миграция населения, тесные экономические связи между странами, высокая плотность населения в больших городах)
- **Новые аспекты эпидемиологического процесса, обусловленные динамикой свойств возбудителей и преобладанием вирусов**, ростом антибиотикорезистентных и устойчивых к разработанным дезинфекционным средствам энтеропатогенов
- **Новые медицинские технологии**
- **Изменение здоровья человеческой популяции** с высокой частотой функциональных нарушений
- **Кардинальные изменения характера питания**

Структура инфекционной заболеваемости (без гриппа и ОРВИ) детского населения до 17 лет в Москве в 2016 -2017гг



Динамика заболеваемости ОКИ среди населения города Москвы в 1992-2017 гг. (показатель на 100 тыс.нас.)

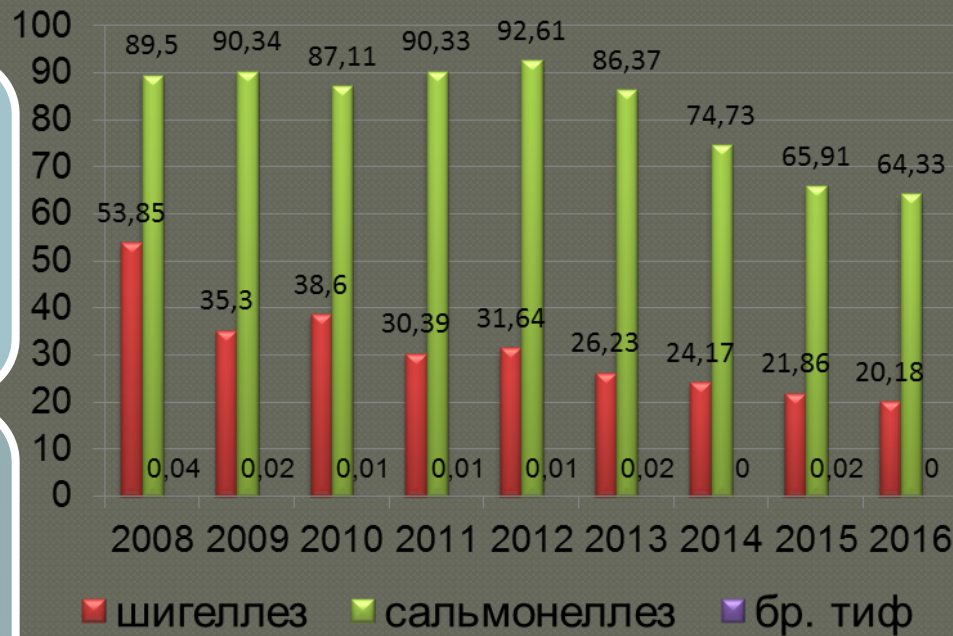


Острые кишечные инфекции по статистическим данным ЦГСЭН (у детей до 17 лет)

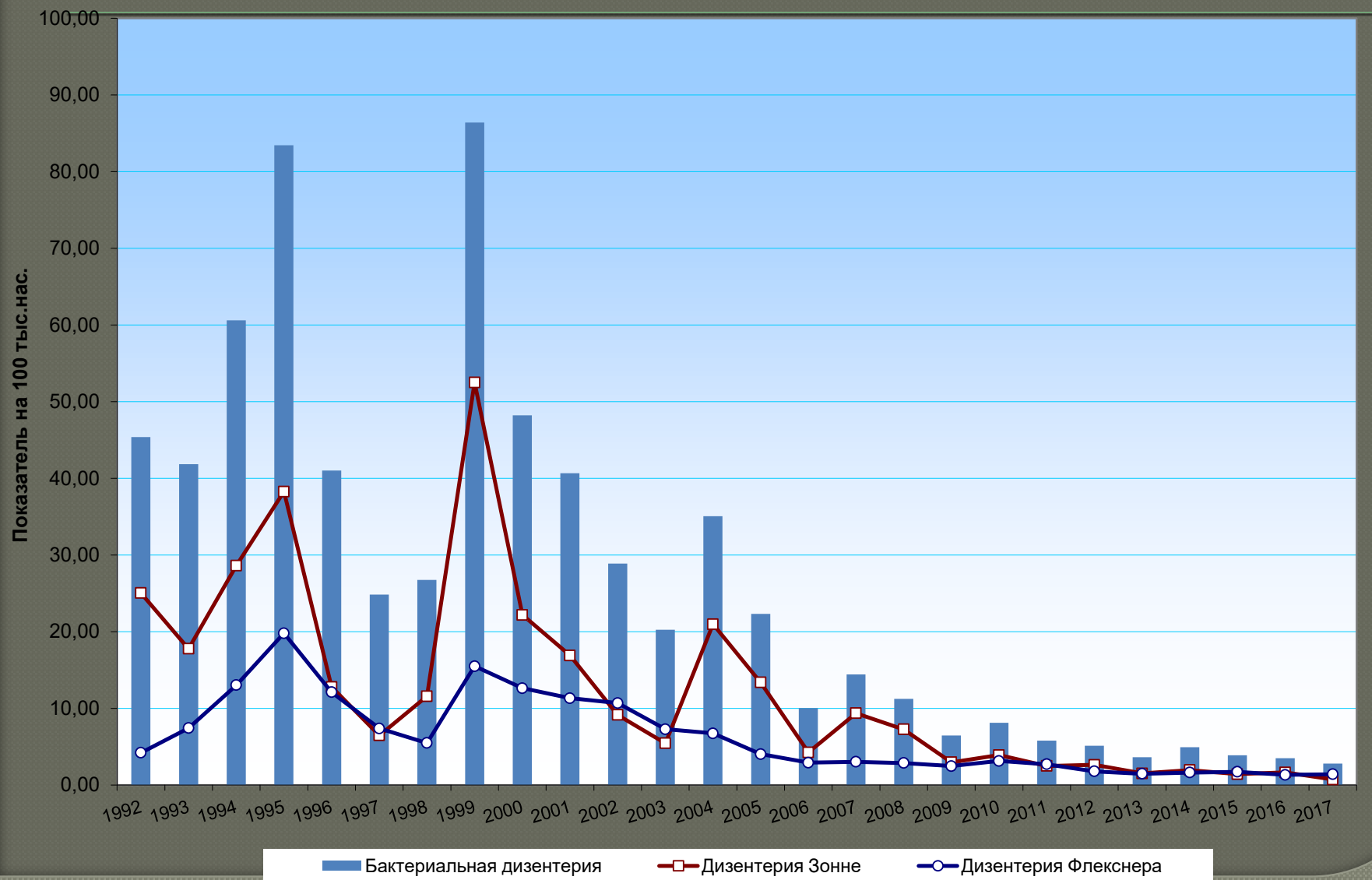
2016 г. Заболеваемость у детей до 17 лет на 100 тыс. населения Оки установленной этиологии – 725,73, ОКИ не установленной этиологии – 1190,15

2015 г. Заболеваемость ОКИ установленной этиологии у детей до 17 лет – 727,05, ОКИ не установленной этиологии – 1137,86

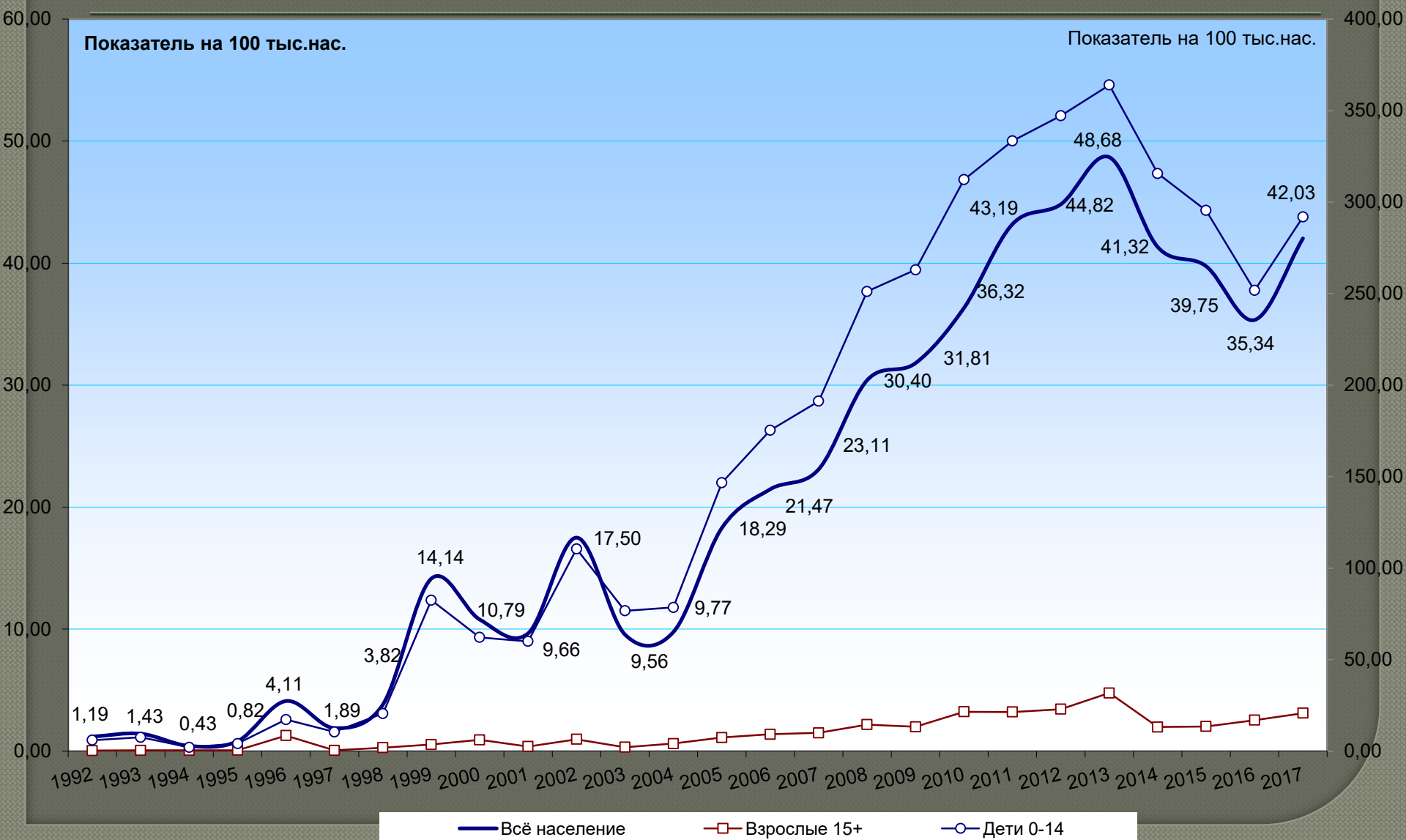
2017г. Заболеваемость ОКИ установленной этиологии у детей до 17 лет-456,18; ОКИ не установленной этиологии 1327,79



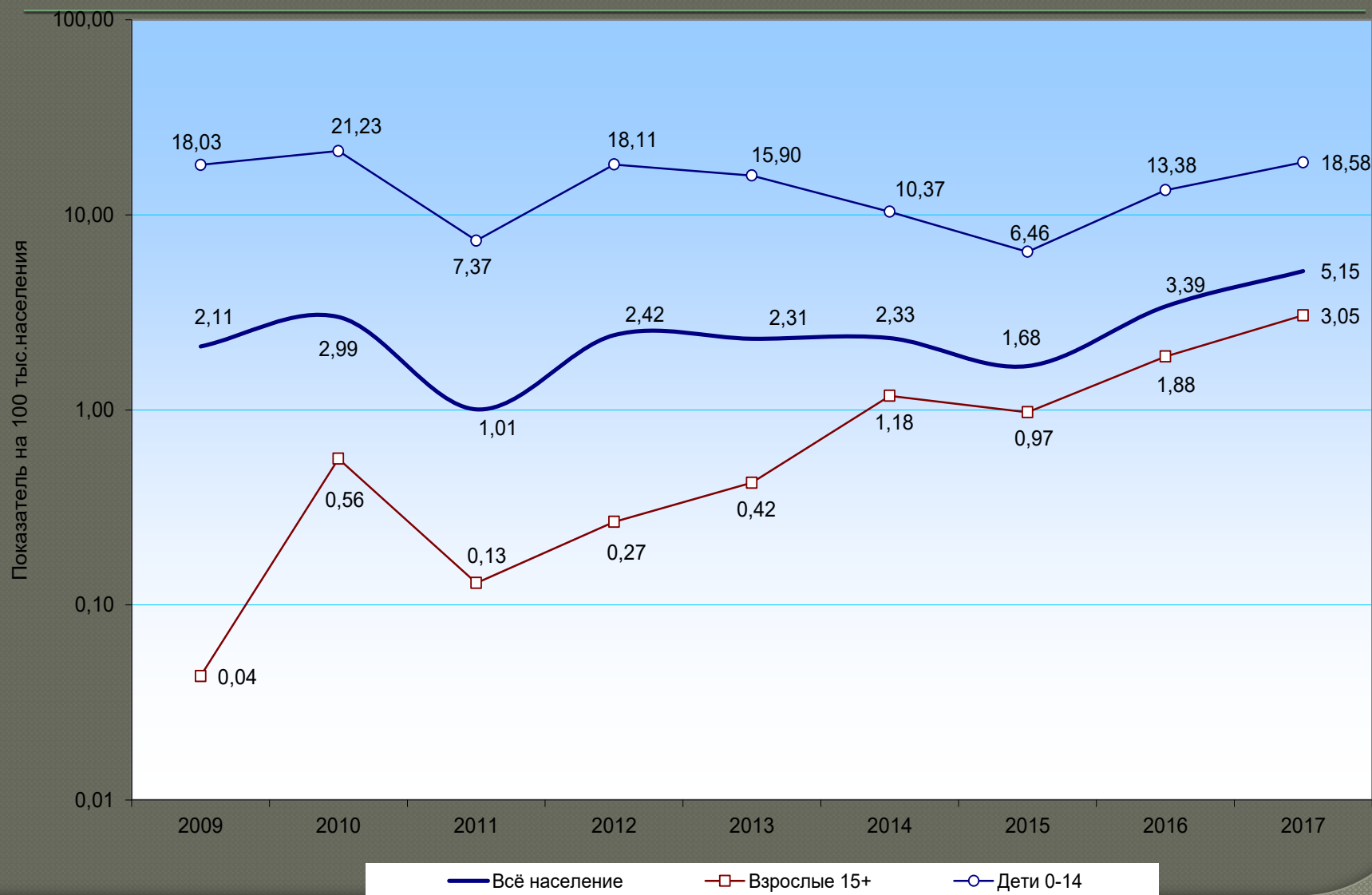
средняя заболеваемость с 1992 по 2017 гг. (показатель на 100 тыс.нас.)



Динамика заболеваемости ротавирусной инфекцией среди населения города Москвы в 1992-2017 гг. (показатель на 100 тыс.нас.), показатели группы «дети 0-14» - по дополнительной (правой) шкале.



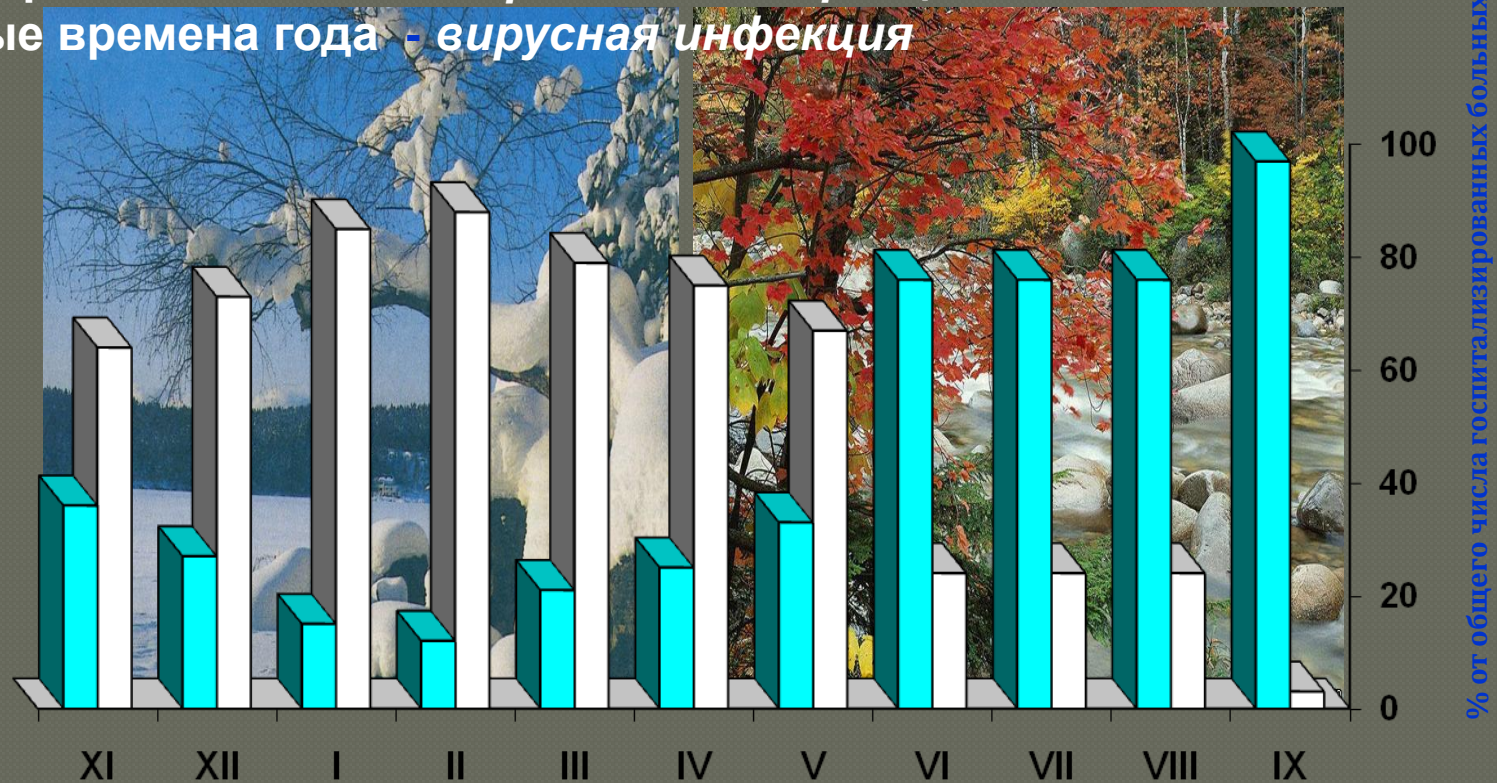
Динамика заболеваемости норовирусной инфекцией среди населения города Москвы в 2009-2017 гг. (показатель на 100 тыс.нас.)



Распределение этиологических факторов по временам года.

Теплые времена года - бактериальная инфекция

Холодные времена года - вирусная инфекция

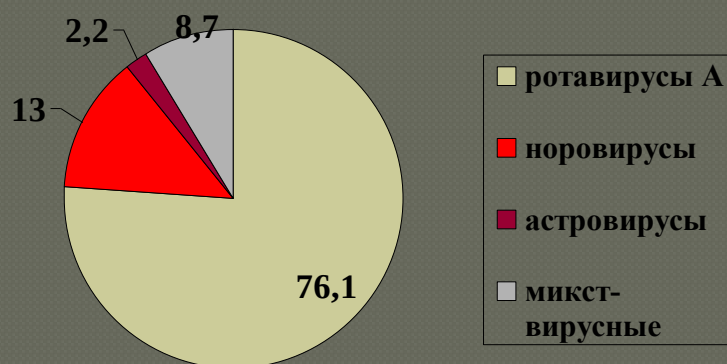


■ Бактериальные

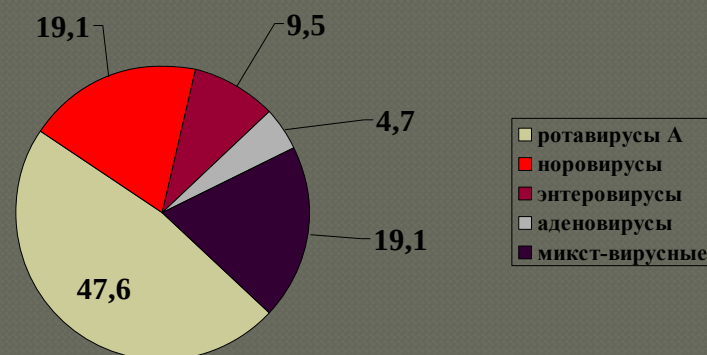
□ Вирусные диареи

Частота подтверждения (в ПЦР-РВ) вирусной этиологии ОКИ у детей

ЗИМНЕ-ВЕСЕННИЙ СЕЗОН,



ЛЕТНИЙ СЕЗОН



КЛАССИФИКАЦИЯ ОКИ

Классическая
Статистика
МКБ-10



По
нозологическому
принципу

По топике
поражения ЖКТ



Гастрит
Гастроэнтерит
Энтероколит
Энтерит и т.д.

По этиопато-
генетическому
принципу



Тип диареи

Инвазивный
Осмотический
Секреторный

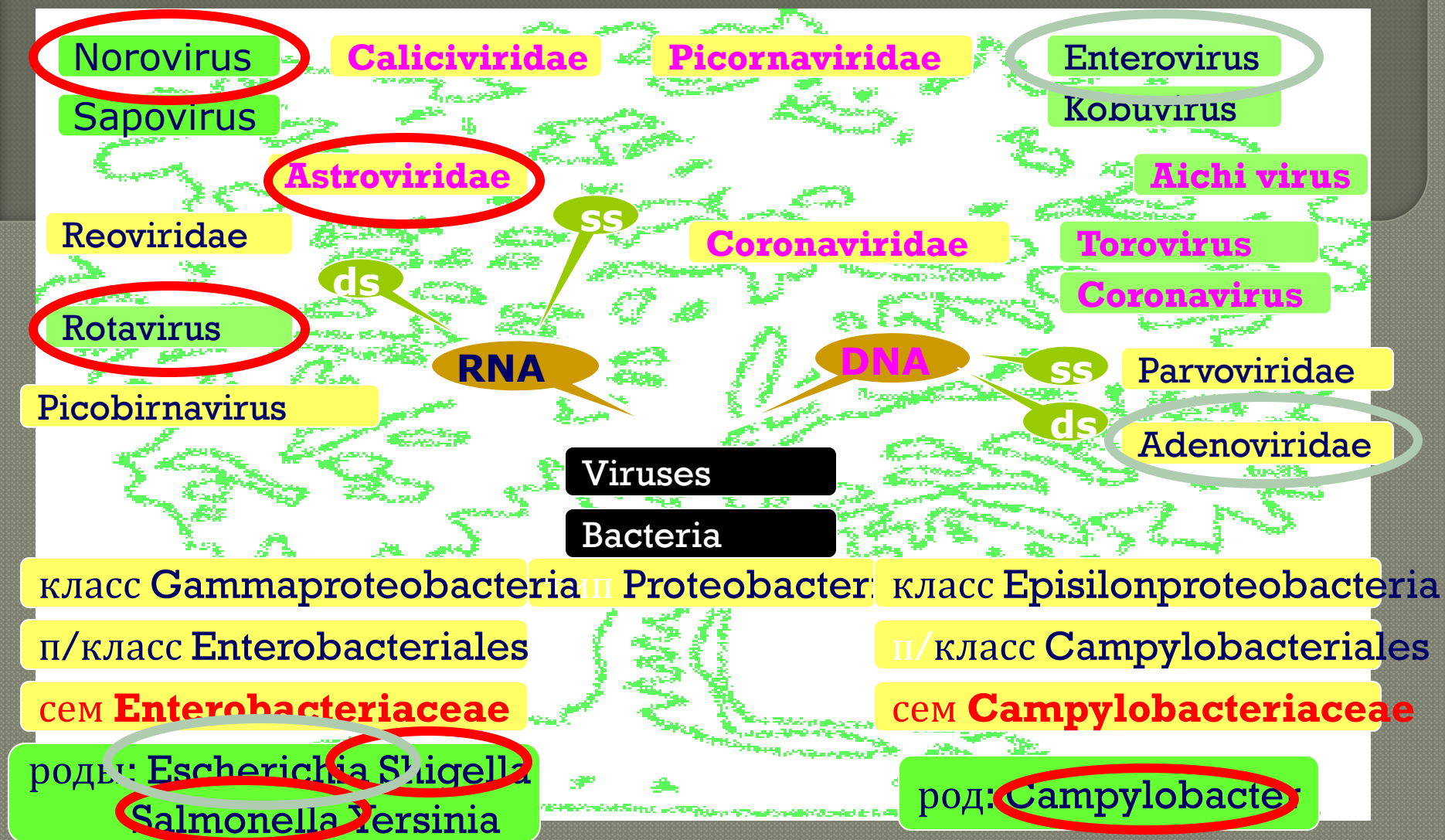
Классификация ОКИ по типу диареи

Тип диареи	Топический диагноз	Этиологический фактор	Пусковой механизм диареи	Клинические синдромы
• Инвазивный: (эксудативная диарея)	- Гастрит - Энтерит - Гастроэнтерит - Колит - Энтероколит - Гастроэнтероколит	Шигеллы Сальмонеллы Эшерихии Иерсинии Кампилобактер Клостридии Клебсиеллы Синегнойная палочка Стафилококк УПМ: энтеробактер, протей и др	Воспалительный процесс в любом отделе ЖКТ	Синдром нейротоксикоза (токсическая энцефалопатия) Синдром дегидратации (токсикоз с эксикозом) Инфекционно-токсический шок
	- Дистальный колит - «Гемоколит»	Шигеллы Сальмонеллы Энтероинвазивные эшерихии <i>Некротоксин продуцирующие штаммы:</i> клостридий, протей, синегнойной палочки, кампилобакера		Токсико-септический или токсико-дистрофический синдром
		Энтерогеморрагические эшерихии и Шига –токсин продуцирующие штаммы шигел, сальмонелл, иерсиний и др.		Гемолитико-уремический синдром (Гассера)

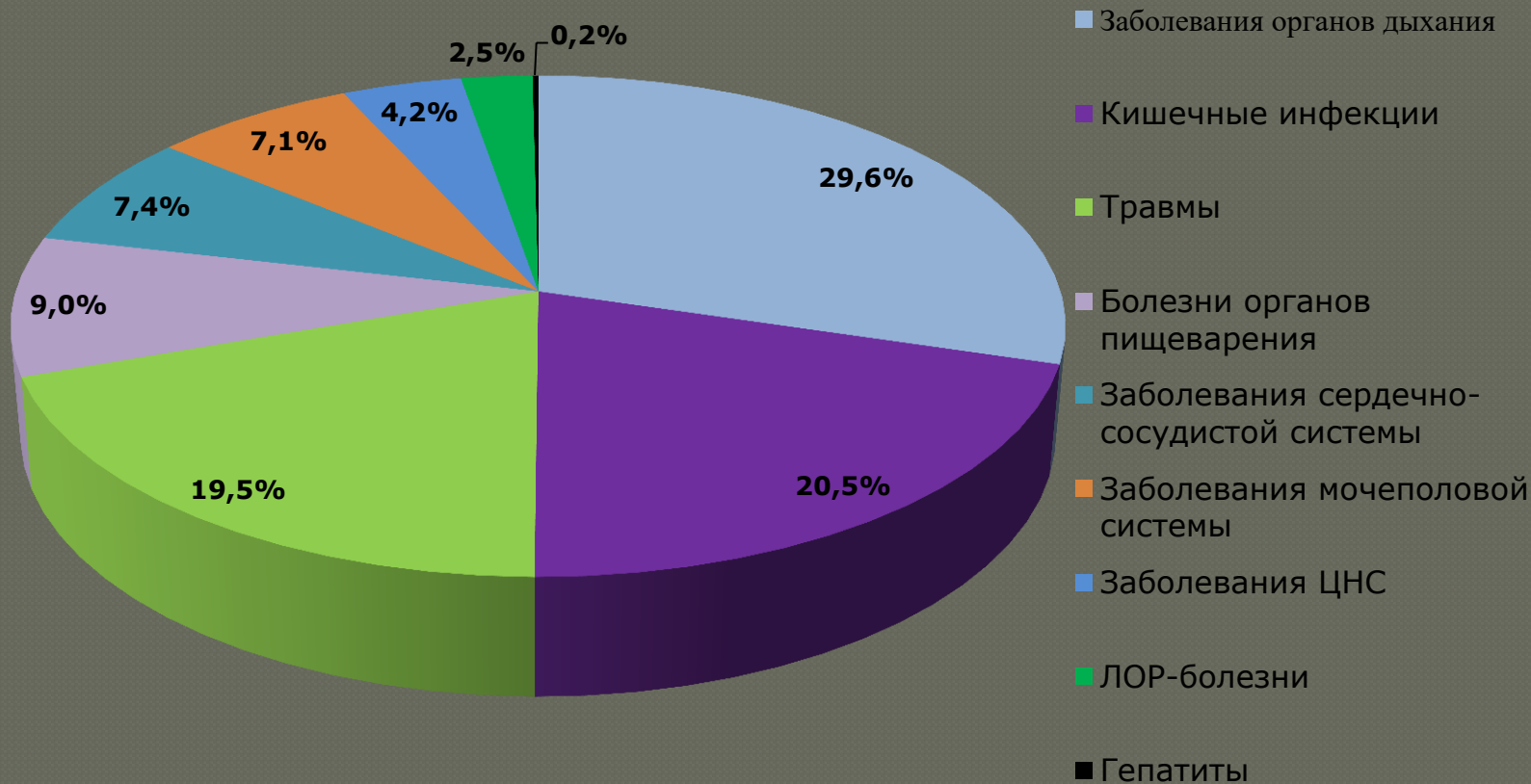
Классификация ОКИ по типу диареи

Тип диареи	Топический диагноз	Этиологический фактор	Пусковой механизм диареи	Клинические синдромы
2. Секреторный («водянистая» диарея без явлений метеоризма)	- Энтерит - Гастроэнтерит	Холерные вибрионы Энтеротоксигенные штаммы: - эшерихий - клебсиелл пневмония - клостридий - кампилобактера - сальмонелл - иерсиний - стафилококка - протей - синегнойной палочки	Гиперсекреция воды и электролитов энтероцитами	Синдром дегидратации (токсикоз с эксикозом)
3. Осмотический («водянистая» диарея с явлениями метеоризма)	- Энтерит - Гастроэнтерит	Ротавирусы Респираторно-кишечные: корона-, адено- и реовирусы	Дисахаридазная недостаточность	Синдром дегидратации (токсикоз с эксикозом)
4. Смешанный тип (инвазивно-секреторный, инвазивно-осмотический)	- Любой отдел ЖКТ	Бактериально-бактериальная или вирусно-бактериальная микст-инфекция	Превалирует любой из механизмов	Возможно развитие любого клинического синдрома

Наиболее значимые и потенциальные возбудители ОКИ

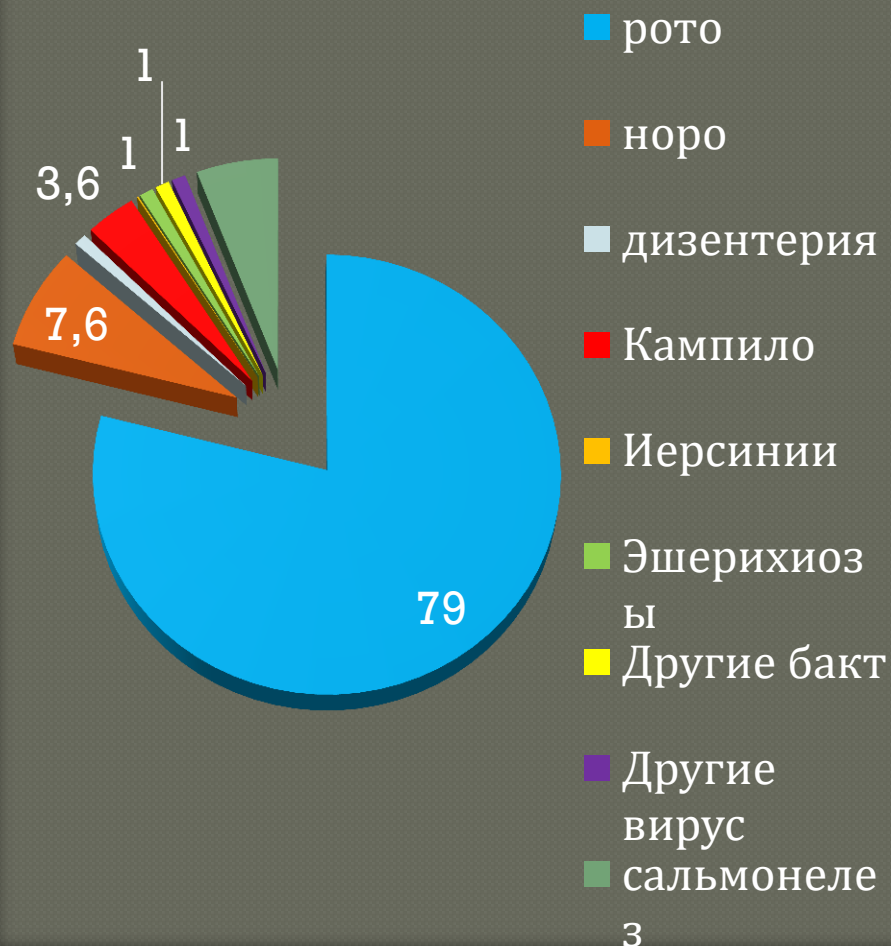


Распределение пациентов по нозологии ДГКБ № 9 им Г.Н. Сперанского 2017

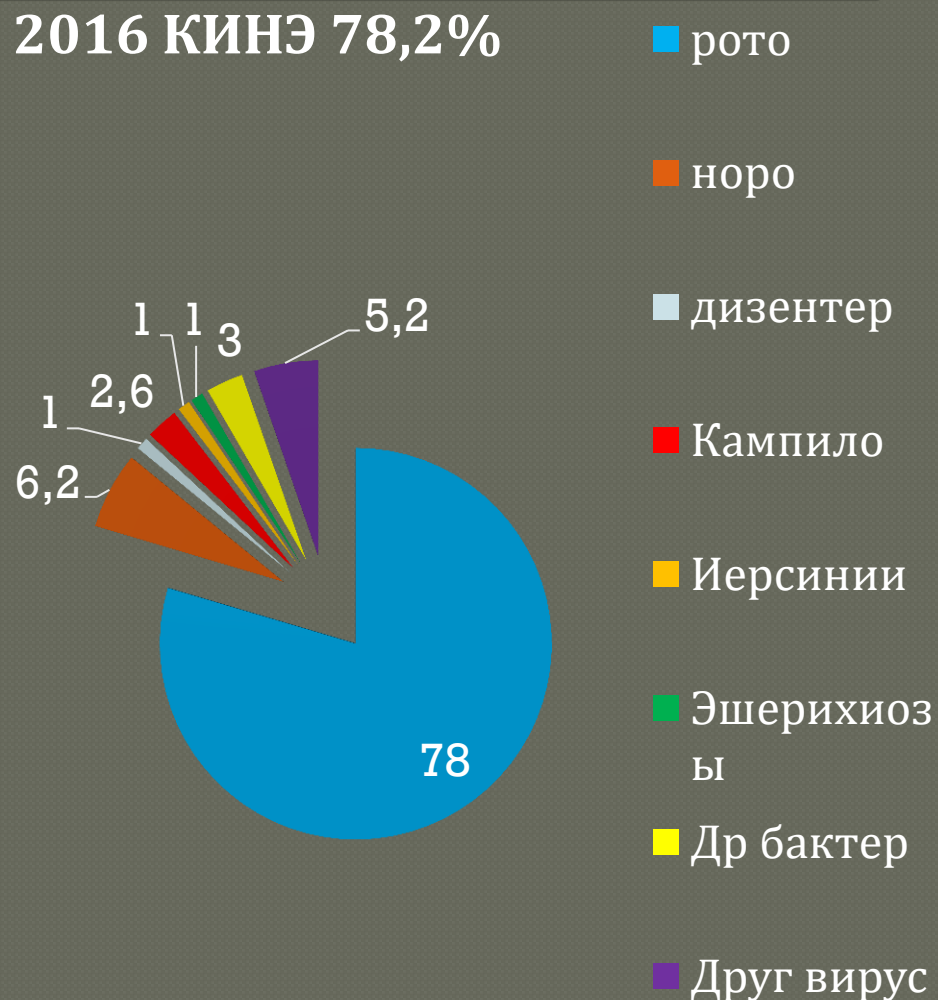


Структура ОКИ с установленной этиологией в ДГКБ 9 2016-2017гг

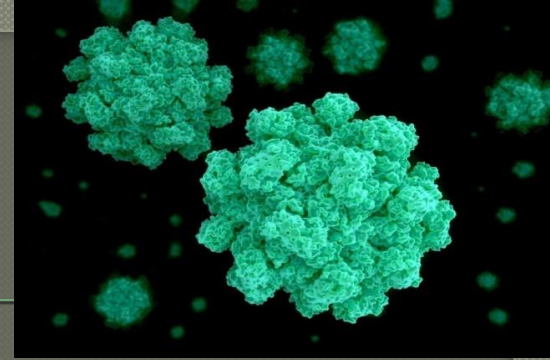
2017 КИНЭ 74,5%



2016 КИНЭ 78,2%



Изменение этиологической структуры ОКИ



- ✓ Рост удельного веса вирусных инфекций в общей структуре ОКИ
- ✓ Снижение заболеваемости дизентерией

Снижение заболеваемости шигеллезом коррелирует с повышением уровня жизни населения (в том числе и в странах с традиционно высокими показателями заболеваемости)

[von Seidlein L, Kim DR, Ali M, Lee H, Wang X, et al. PLoS Med 2006 3: e353 ; Zaidi MB, Estrada-García T. Curr Trop Med Rep. 2014 Jun 1;1(2):81-87].

- ✓ Преобладание в структуре бактериальных инфекций сальмонеллезов и кампилобактериоза при стабильных показателях заболеваемости

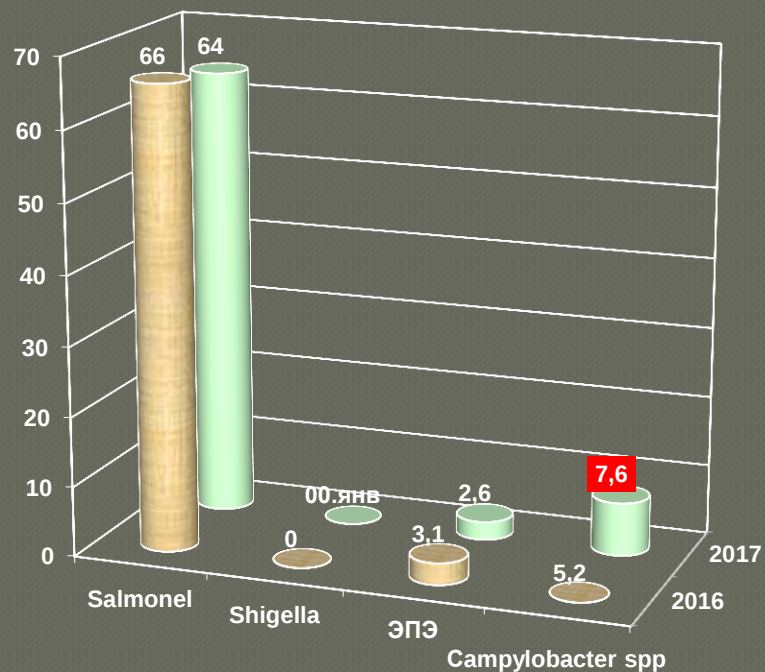
Исследовано 13000 образцов фекалий от больных ОКИ в Европе, ПЦР-РВ:
Salmonella enterica – 3,0%, *Campylobacter jejuni* – 8,1%
R.F. de Boer, A. Ott, B. Kesztyüs, A.M.D.Kooistra-Smid, 2009

Разработка алгоритмов и технологических карт, СОП на основании действующих нормативных документов

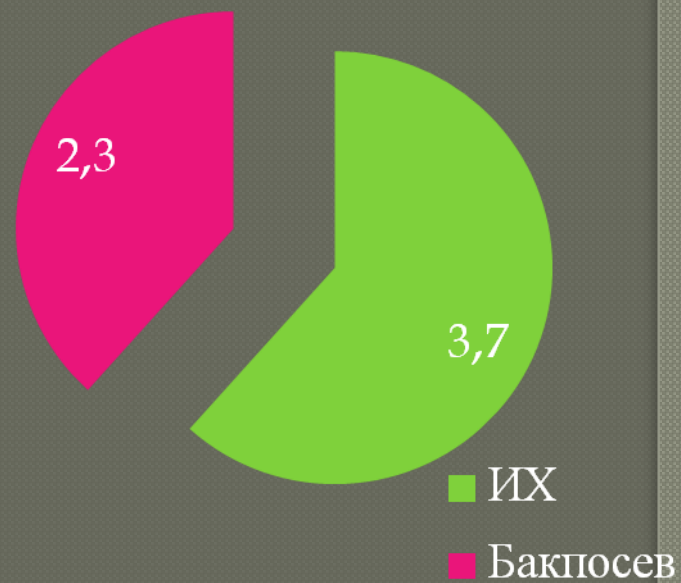
- СП 3.1.3108-13 «Профилактика ОКИ»(с изменениями на 5.12.2017)
- СП 3.1.7.2615-10 Профилактика иерсиниоза
- СП 3.2.3215-14 «Профилактика паразитарных болезней..»
- МУ 3.2.1882-04 Профилактика лямблиоза»
- МУ 4.2.2723-10» лабораторная диагностика сальмонеллезов...» от13.08.13
- МУ 04-723\3 от 17.12.1084г МУ по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями
- МР № 01\15702-8-34 от 26.12.2008г «Микробиологическая диагностика кампилобактериоза»
- МУК 4.2.2746-10 « Порядок применения молекулярно-генетических методов при обследовании очагов ОКИ»
- МУ 3.1.1.2969-11 « Эпиднадзор,лабдиагностика и проф. Норовирусной инфекции
- МУ 3.1.1.2957-11 «Эпиднадзор,лабдиагностика и профил ротовирусной инфекции»
- НП « НАСКИ» CD ассоциированная диарея Федеральные клинические рекомендации 2017 г(пересмотр ч\з 3г)

Этиология бактериальных инфекций

Определение кальпротектина в кале
(дифдиагностика ВЗК от НВЗК)

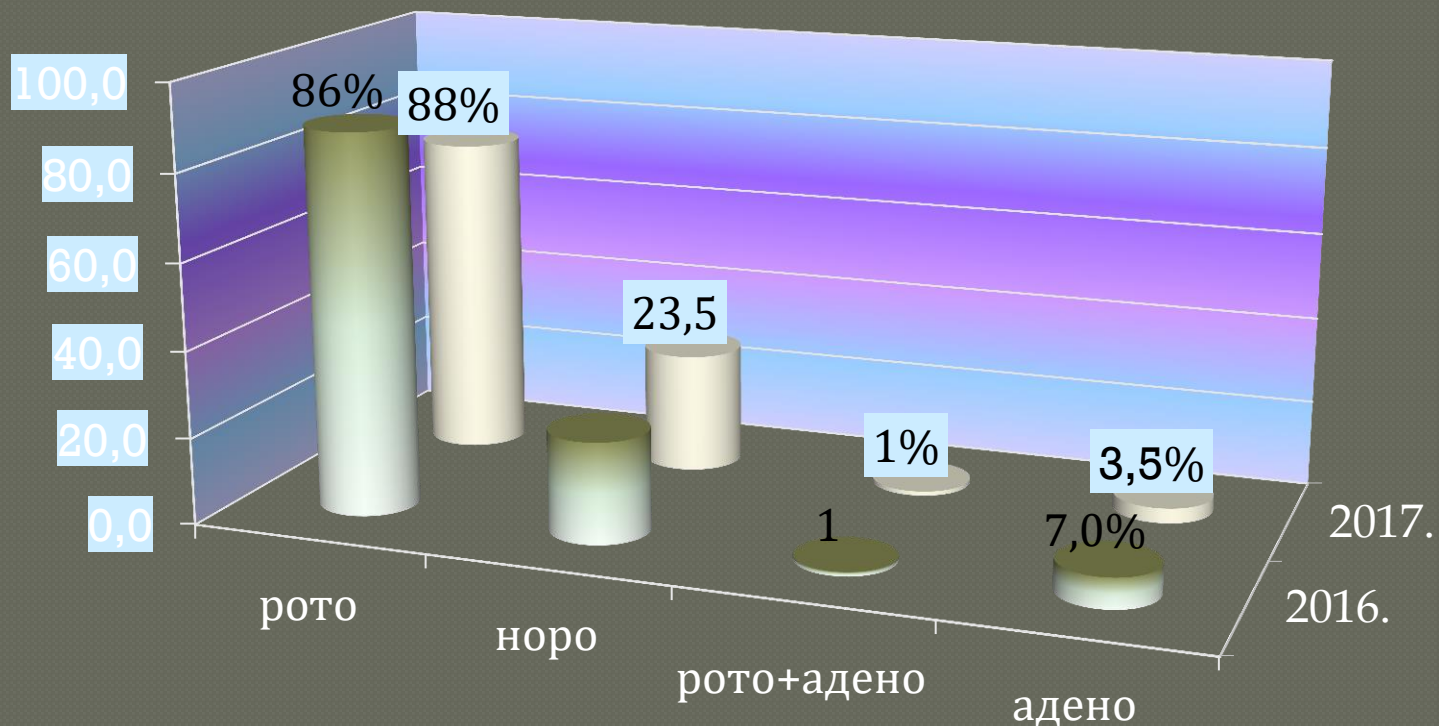


Кампилобактер



ЭТИОЛОГИЯ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

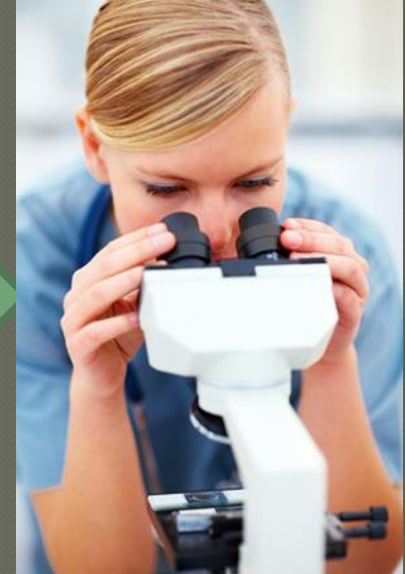
Рото-, адено-, норфолк-, астро- и энтеровирусов в кале методом иммунохроматографии(ИХ) с последующим подтверждением ИФА



Стратегия постановки эффективного этиологического диагноза



*Принцип «тесного» профессионального
контакта Принцип комплексного подхода
к проведению обследования*



*Преаналитический
этап*

*Лабораторный
этап*

*Этап принятия
диагностического решения*

Внелабораторная преаналитика ДГКБ №9 им Г.Н. Сперанского



Внутрилабораторная преаналитика ДГКБ № 9 им Г.Н. Сперанского

регистрация



маркировка



центрифугирование



Критерии отказа

штрихкодирование

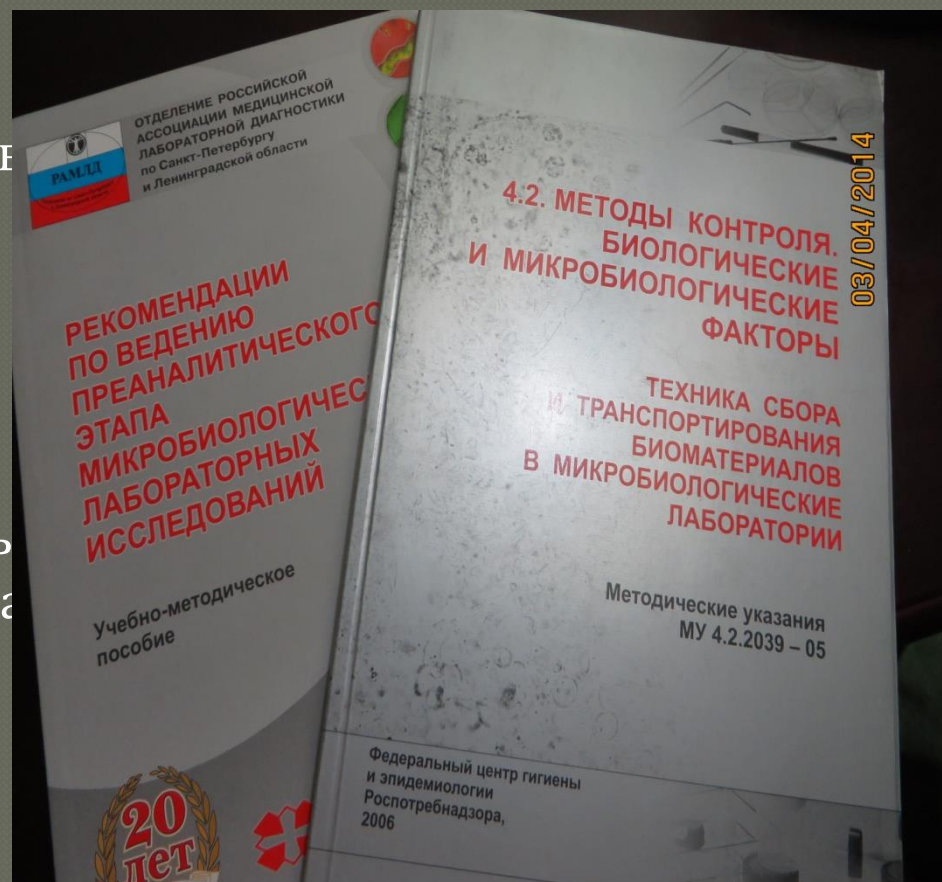
доставка на рабочие места,

Обороты по
формуле, используя
 g (важна модель
центрифуги)



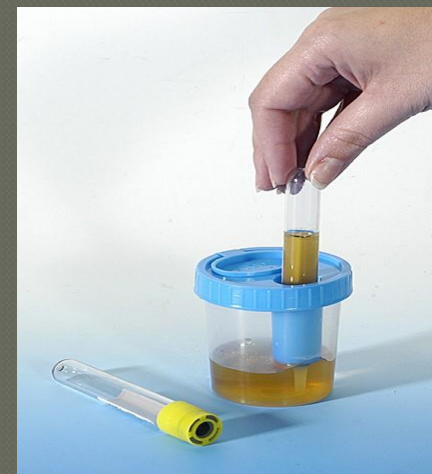
Основные правила забора материала для микробиологических исследований ДГКБ №9

- Желательно проводить забор **достаточного** количества **соответствующего** материала в **острую стадию** заболевания
- до назначения АБТ
- Проблемы связанные со взятием материала для микробиологических исследований не должны быть причиной для задержки начала проведения АБ-терапии
- Имеются **четкие письменные инструкции (СОП)** для персонала и пациентов по правилам взятия материала



Основные правила забора материала для микробиологических исследований

- Используйте соответствующую **методику и транспортные среды** в зависимости от предполагаемых возбудителей
- Забор материала следует производить в **стерильную, плотно закрывающуюся** небыющую посуду
- Старайтесь максимально **избежать контаминации** материала нормальной эндогенной микрофлорой
- **Руководствуемся СОП и технологической картой** по нозологии в соответствии со стандартами.



Стационарное отделение

Кишечные инфекции

КОС + Бактериологическое исследование кала + РПГА

Рото-, адено-, норфолк-, астро- и энтеровирусов в кале методом иммунохроматографии(ИХ) с последующим подтверждением ИФА

Определение кальпротектина в кале(диф. ВЗК от НВЗК)

Выявление *Campilobacter spp*, методом ИХ с последующим подтв бакпосевом.

Латекс тест для выявл. *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *E.coli* O157, *G. lamblia* в кале.

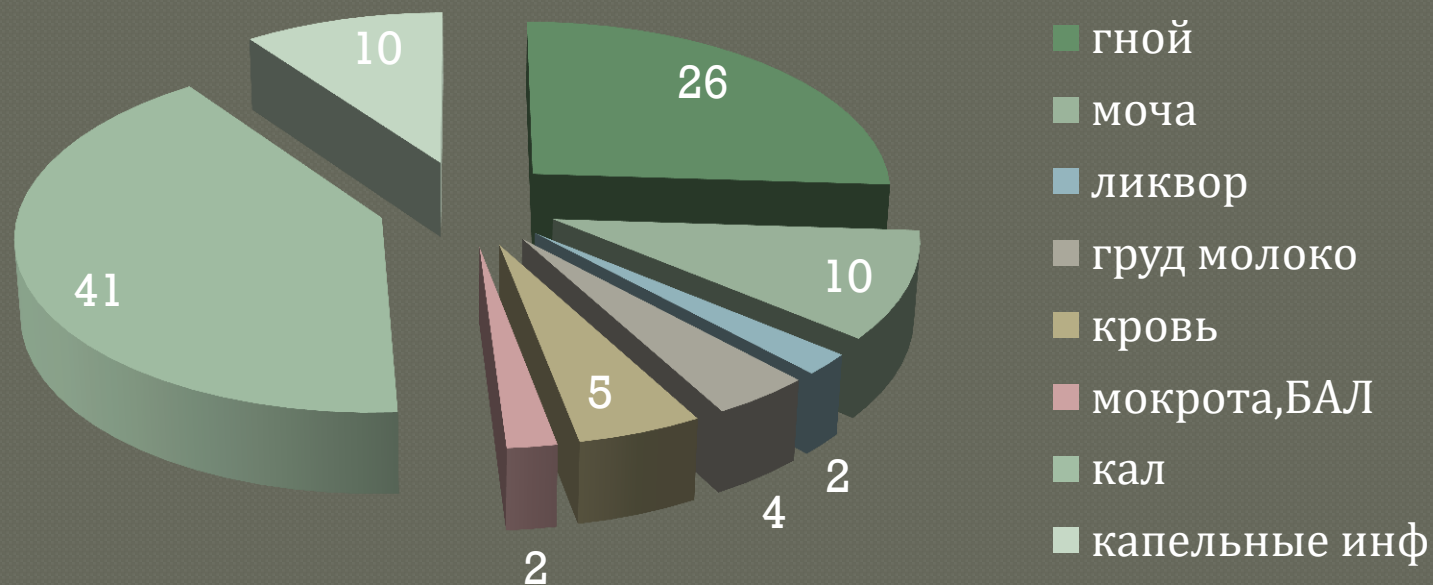
Определение АГ и токсина А/В *C.difficile* в кале методом ИХ, ИФА, микроб по

ДНК(ПЦР) бактерий и вирусов в кале.

Определение IgM, IgA и IgG *H.pylori* (дифдиагноз)



по видам биоматериала 2016 г ДГКБ №9 им Г.Н. Сперанского



СЕГОДНЯ



Посев бактерий

Probakterii

ГОТОВЫЕ СРЕДЫ: ГЕМ; СРЕДОФФ; БИОМЕДИА



Диагностика Кампилобактериоза

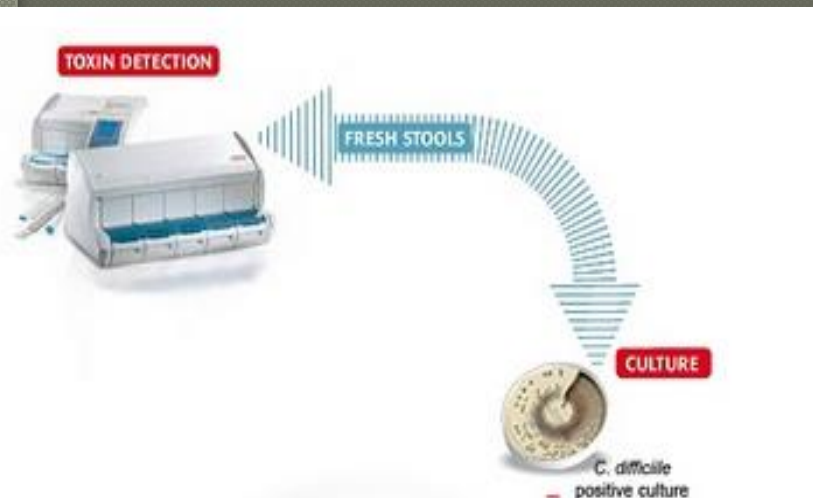
- **Бактериологическое исследование- золотой стандарт-** с использованием селективных питательных сред(**Camp/ agar** с кровью (42С анаэроустат) и **Bolton Selektiv- Anreicherungs bouillon** с последующим высевом на **C. Selektivagar Blutfrei(mod CCDA)** Важно! До АБТ и в ранний срок (6-14 дней). Идентификация на **Vitek-2, Microflex**. РЛА для подтверждения чистоты культуры. Опред чувствительности к АБ ДДМ в соответствии с **EUCAST**. ТЕТ; Ципро;Эритро;
- Материалом для исследования могут служить фекалии, кровь, желчь, околоплодные воды, гнойное содержимое при абсцедировании, ЦСЖ.
- **Метод ИХ с определением антигена** кампилобактерий в копрофильтратах .
- **Генетические методы диагностики:** ПЦР, основанная на обнаружении генетического материала кампилобактерий в копрофильтратах является наиболее высокочувствительным и перспективным методом диагностики кампилобактериоза.
- **ИФА определения Аг** в копрофильtrate
- **способ фильтрации с посевом на питательные среды без антибиотиков**, основанный на высокой подвижности и опережающей способности кампилобактеров проходить через поры фильтров из ацетата или нитрата целлюлозы диаметром 0,4-0,8 мкм.

диагноза *CDI* МКБ 10: A04.7

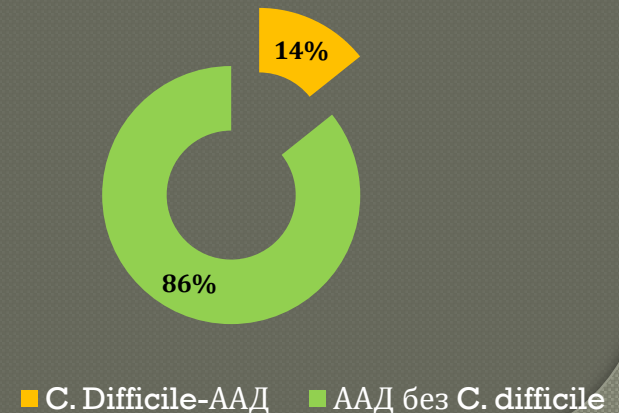
- **Анамнестические данные** (о АБТ; сопутствующих заболеваний);
- **Клинические проявления:**
 1. (ОКИ на фоне АБТ до 10 р 2 дня и > или ч/з 4 нед после отмены;
 2. диарея до 10р-от водянистой до гемоколита;
 3. схваткообразные боли в области пупка на фоне метеоризма;
 4. наличие патолог примесей в кале;
 5. Высокая лихорадка
 6. клинические проявления
- **Лабораторные данные: трехэтапный метод диагностики**
 - Определение АГ (GDG) метод ИФФ, ИХ с изоляцией копрокультур из положит.
 - Определение токсина А и В
 - Общ крови (нейтроф лейкоц); копрология (лейкоц, эритроц, фибрин)

Трех-этапный метод диагностики CDI (НП НАСКИ- ФКР)

1. — Определение **GDC** в просветных фекалиях —скрининг—
 - (ИХМ или ИФА)
 - методом ПЦР
2. Определение токсинов А и В в просветных фекалиях
 - ИХМ или ИФА
 - Методом ПЦР
3. Выделение токсигенной культуры *C.difficile* и опред АБЧ.



**511 детей с
ААД у 73
(14,29%)
Данные
Мазанковой
Л.Н.**

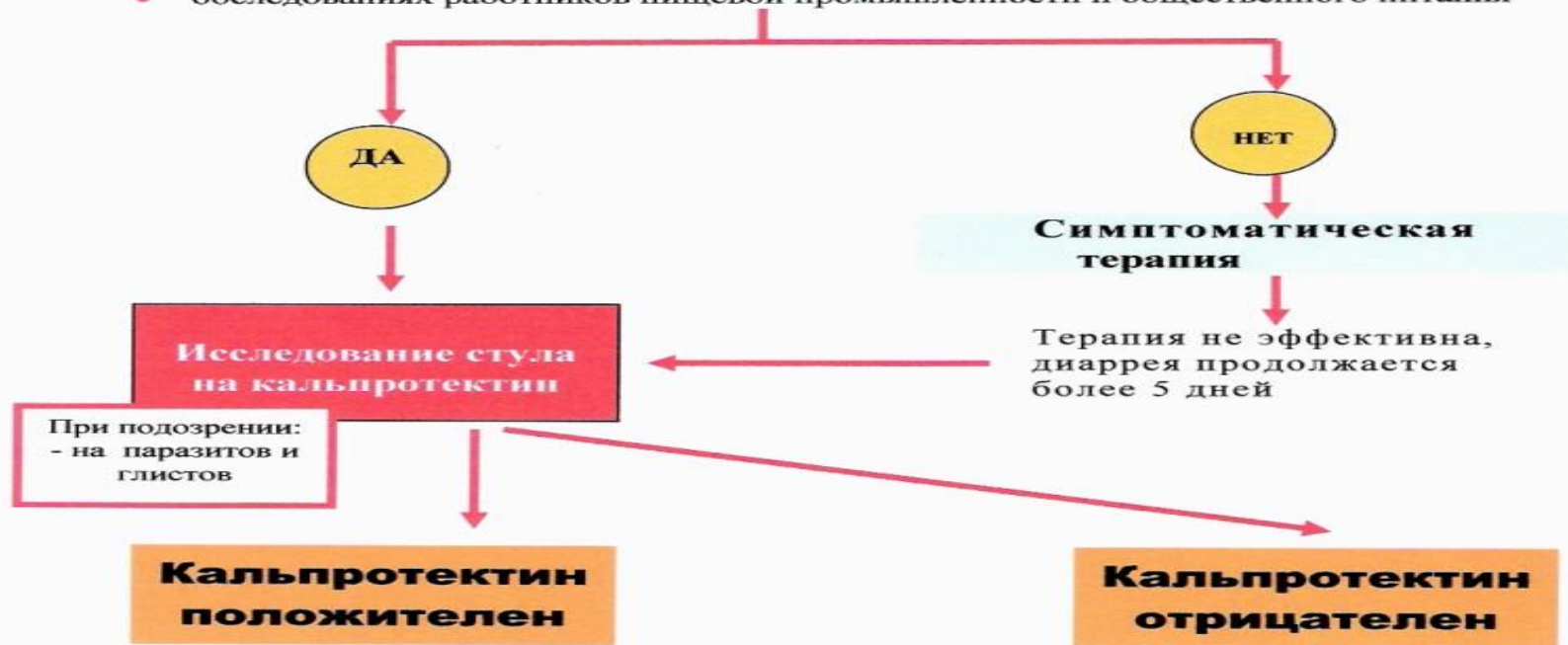


Спектр выявления инфекционных агентов ОКИ методом ПЦР

	Название теста	Специфичность	Аналитическая чувств.-ть (ГЭ/мл)
1	«АмплиСенс» [□] <i>Shigella species, EIEC</i> »	Род <i>Shigella</i> и Энтероинвазивные <i>E. coli</i> (EIEC)	500
2	АмплиСенс [□] « <i>Salmonella sp.</i> »	Род <i>Salmonella</i>	1000
3	«АмплиСенс» [□] <i>Campylobacter sp.</i> »	Термофильная группа: <i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. laridis</i> , <i>C. upsaliensis</i> .	500
4	«АмплиСенс» [□] <i>Rotavirus-290</i> »	Ротавирусы гр А	5000
5	«АмплиСенс» [□] <i>Norovirus 1, 2 genotypes</i> »	Норовирусы 1-го и 2-го генотипов	1000
6	«АмплиСенс» [□] <i>Astrovirus</i> ¹⁶⁵ »	Астровирусы человека	1000
7	«АмплиСенс» [□] <i>Adenovirus-462</i> »	Аденовирусы человека	500
8	«АмплиСенс» [□] ОКИ- скрин»	Выявление и дифференцировка: Род <i>Shigella</i> и Энтероинвазивные <i>E. coli</i> (EIEC), род <i>Salmonella</i> , термофильная группа рода <i>Campylobacter</i> , ротавирусы гр. А, норовирусы 2- го генотипа, астровирусы человека, аденовирусы гр. F	По различным патогенам от 500 до 1000

Подтверждение диагноза при:

- острой кровавой диаррее; тяжелой общей симптоматике (апатия, дегидратация, высокая температура)
- тяжелых сопровождающих заболеваний
- диаррее у детей и новорожденных
- массовых заболеваниях диарреей
- обследованиях работников пищевой промышленности и общественного питания



Диаррея воспалительного характера

Последующая диагностика на:

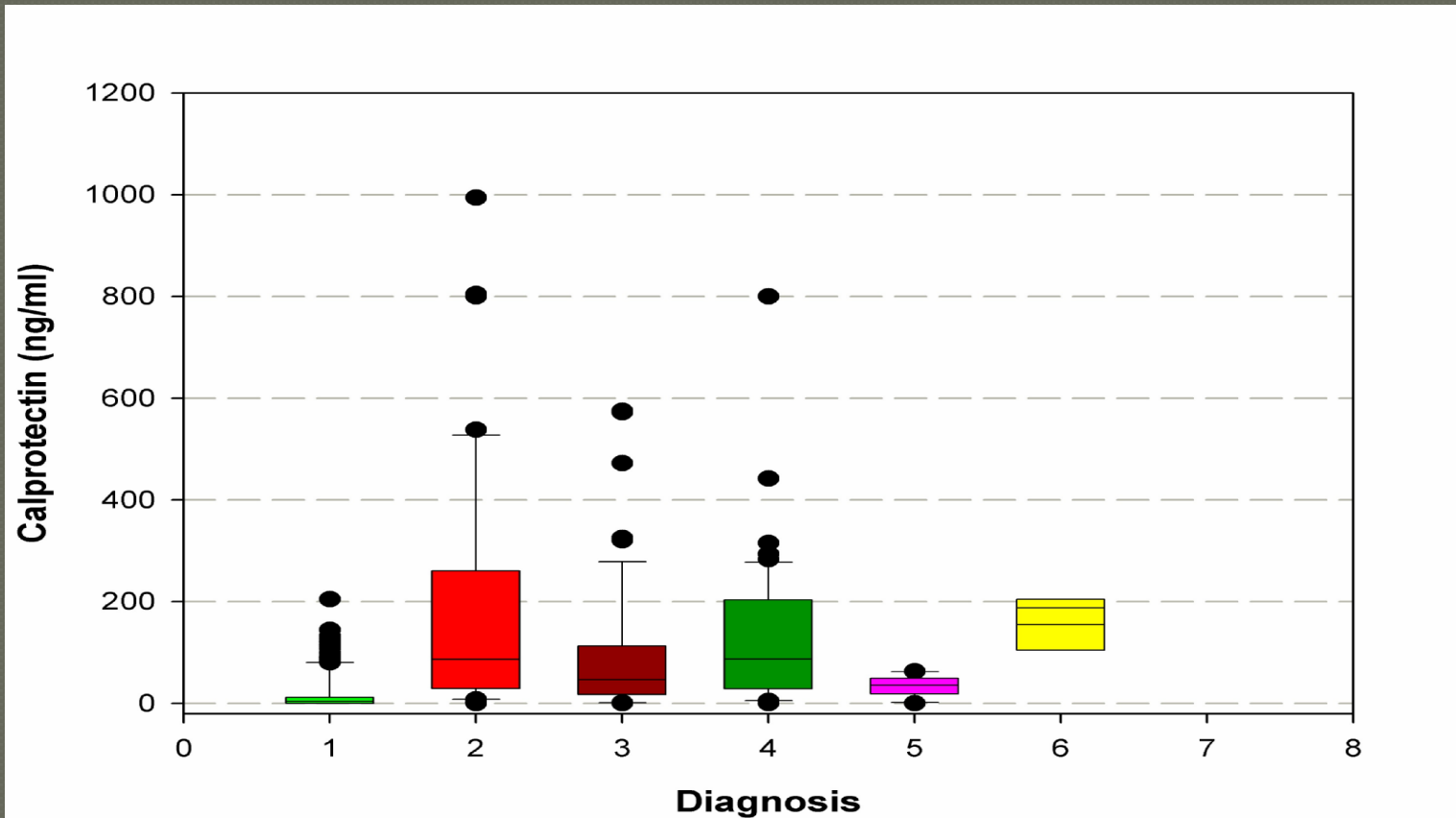
сальмонеллез
шигеллиоз
кампилобактериоз
EIEC (Enteroinvasive E. coli)
EHEC (enterohemorrhagic E. coli)
ерсиниоз
микобактериоз
Клостридии (C. difficile)

Отсутствие воспалительной диарреи

Возбудители диарреи невоспалительного характера:

Холера
EPEC (Enteropathogenic E. coli)
ETEC (Enterotoxigenic E. coli)
Rotavirus, Norovirus, Calcivirus
Аденовирусы, Астровирусы
Лямблии, или гiardии
Микроспоридии
Криптоспоридии
Циклоспоры
Изоспоры
Возбудитель амебиаза

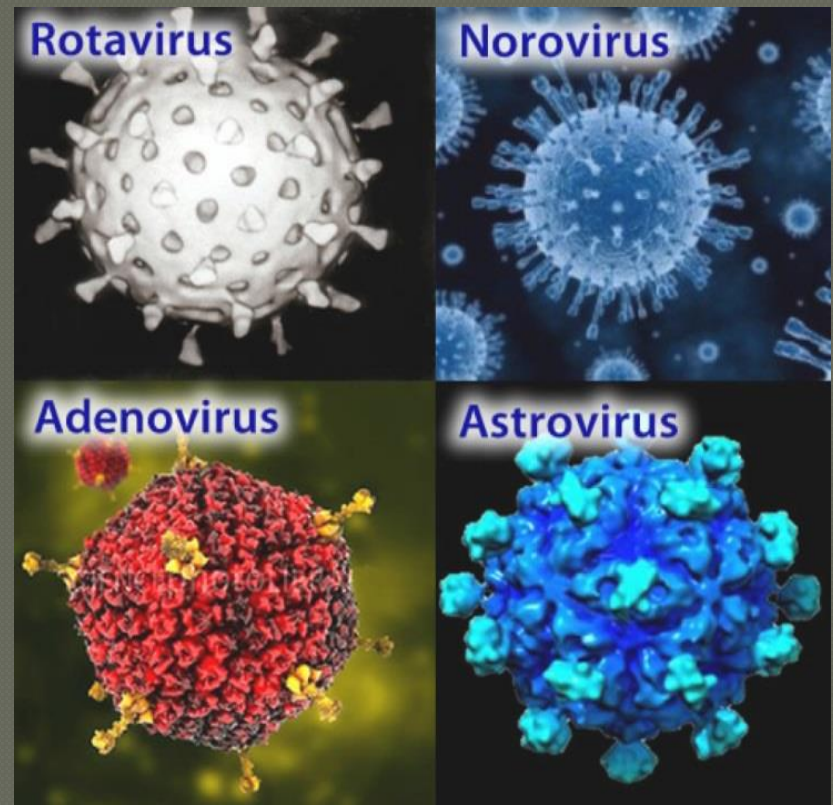
Концентрация Кальпротектина коррелирует с наличием патогена



1. отрицательный (n=196), 2. *Clostridium difficile* (n=87), 3. *Salmonella* spp. (n=51),
4. *Campylobacter* spp. (n=48), 5. Enteroinvasive *E. coli* (n=6), 6. *Shigella/Yersinia* spp. (n=3)

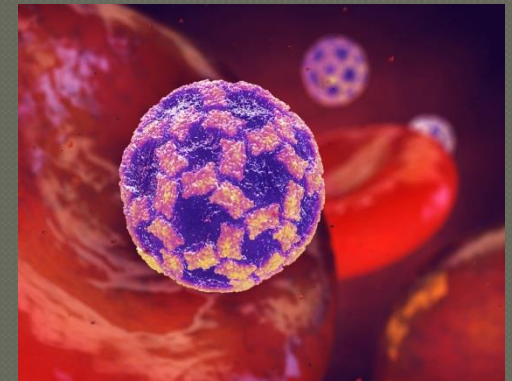
Диагностика вирусных диарей

- Выявление антигена вируса в фекалиях
 - **методом ИФА и ИХМ**
 - **ПЦР метод**
- Для типирования могут быть использованы следующие методические подходы:
 - Использование специфических праймеров
 - Прямое секвенирование 4 и 7 сегментов РНК РВ
 - Флуоресцентная детекция со специфическими зондами
 - Использование биочипов

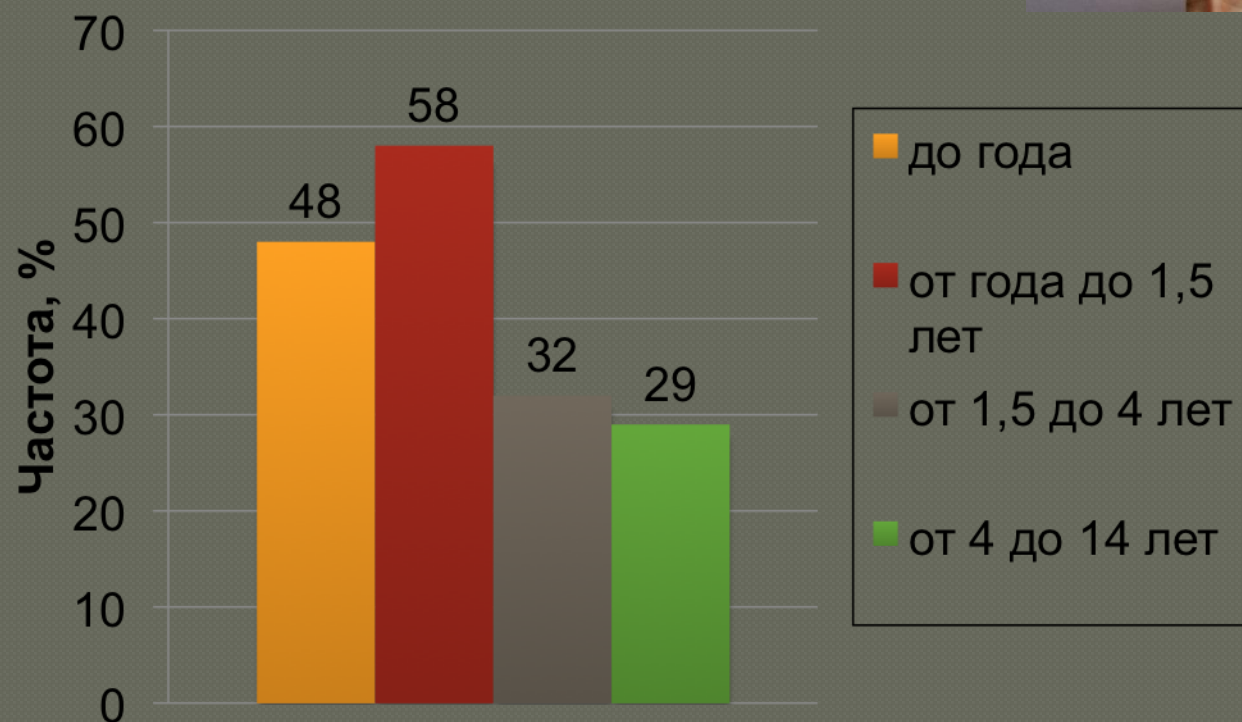


Норовирусная инфекция

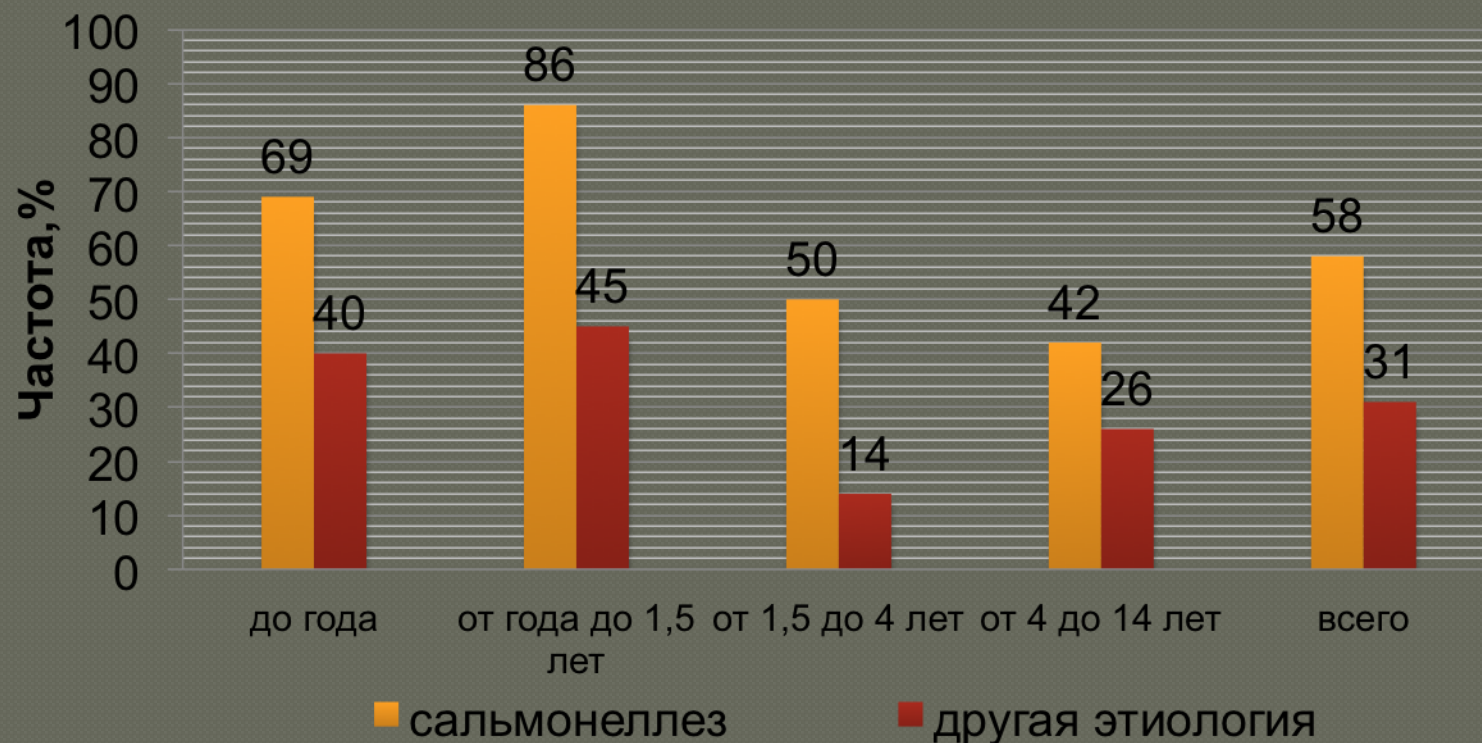
- Ведущая роль в возникновении вспышек и 2 место в инфекц патологии ОКИ
- Рост кол-ва инфицир в мире!!!
- Погибает только от хлорсодержащих дезсредств
- Большой риск у пациентов с I группой крови и любителей морепродуктов
- Повторное заражение ч\з 27-42 мес
- Дети до 5 лет
- 2015г- в 2р > заболевших
- 2016г – в 4,5 р > заболевших
- В 2016 погибло 50000 детей



Частота внутрибольничной вирусной ОКИ у детей различного возраста



Частота внутрибольничной вирусной ОКИ у детей с сальмонеллезом или другой этиологией инвазивной диареи



Целенаправленная антибиотикотерапия

■ Шигеллез:

- препаратами выбора являются пероральные цефалоспорины III поколения, нитрофураны, рифаксимин
- реже – азитромицин, ко-тримаксозол (при чувствительности к нему возбудителей)
- в тяжелых случаях – парентеральные цефалоспорины III-IV поколений
- фторхинолоны (у детей старше 12 лет при резистентности к β -лактамам и по витальным показаниям в других возрастных группах)

■ Сальмонеллез:

- цефалоспорины II-III поколений, рифаксимин
- аминогликозиды
- Нитрофураны
- амоксициллин, амоксициллин/клавуланат (в случае отсутствия выраженной диареи)
- Фторхинолоны (в основном цiproфлоксацин, реже офлоксацин, пефлоксацин) назначают при тяжелом течении, высокой резистентности возбудителей, неэффективности предшествующей антибактериальной терапии.

■ **Эшерихиоз:** спектр антибактериальных препаратов идентичен сальмонеллёзу

Целенаправленная антибиотикотерапия

Иерсиниоз

- Препараты выбора – аминогликозиды и цефалоспорины III поколения; доксициклин (с 8 летнего возраста).
- Хорошая чувствительность к налидиксовой кислоте и ко-тримоксазолу.
- Фторхинолоны используют в тяжелых случаях, детям старше 12 лет
- Использование хлорамфеникола (токсичен) – в педиатрической практике ограничено.

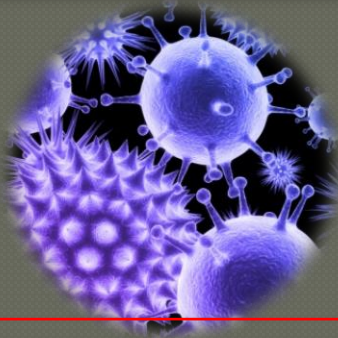
■ Кампилобактериоз

- макролиды (азитромицин, кларитромицин и др.)
- препараты резерва – фторхинолоны.
- **CDI** Препарат выбора метронидазол-7-10дн(парантерально.перорально); второй- ванкомицин
- Дефиклир(фидаксомицин)-только взрослые-дорого

Рациональный подход к диагностике и терапии острых кишечных инфекций:

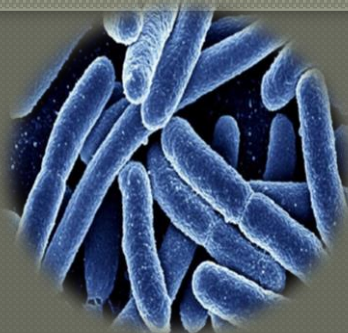
- Позволяет избегать необоснованной антибактериальной терапии и полипрогмазии ;
- Способствует выраженному клиническому эффекту и сокращению сроков заболевания
- предотвращает затяжное течение и длительное выделение возбудителя





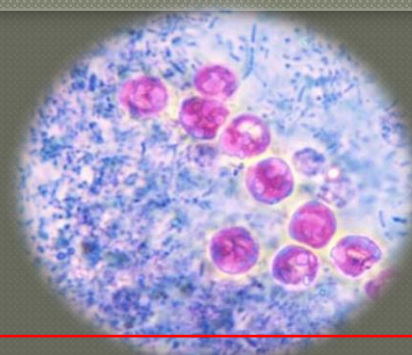
✓ ВИРУСЫ

- **Rotavirus** (ротавирус)
- **Adenovirus** (аденовирус)
- **Rota-Adenovirus** (рота-аденовирус)
- **Astrovirus** (астровирус)
- **Enterovirus** (энтеровирус)
- **HAV** (гепатит А)



✓ БАКТЕРИИ

- **H.Pylori** (*Helicobacter pylori*)
- **E.coli** (*Escherichia coli* 0157:H7)
- **Campylobacter** (*Campylobacter* spp.)
- **Salmonella** (*Salmonella* spp.)
- **Listeria** (*Listeria monocytogenes*)

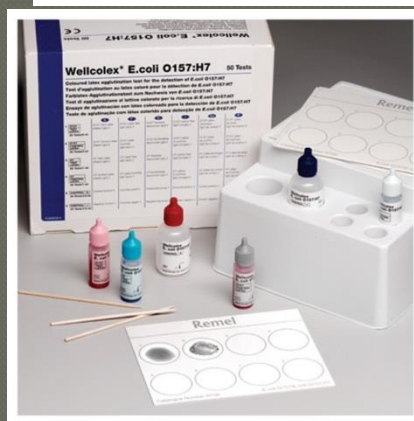
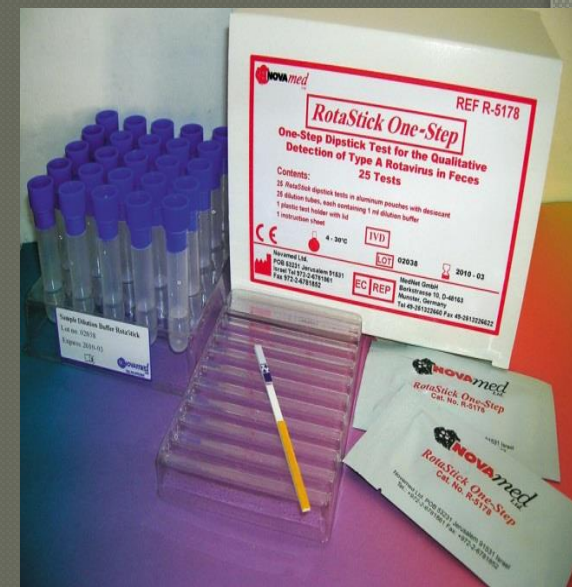


✓ ПАРАЗИТЫ

- **Crypto** (*Cryptosporidium parvum*)
- **Giardia** (*Giardia intestinalis*)

- **Calprotectin** (кальпротектин)
- **Calprotectin 50+200** (кальпротектин/ две концентрации)
- **Lactoferrin** (лактоферрин)

Экспресс тесты ИХ и ИФА :Novamed(Израиль); Vegal(Испания);Ridascreen (Германия);Savyon diagnostics(Израиль) и др





Выводы:

- Современная лаборатория обладает достаточным набором необходимых, чувствительных и специфичных тестов для диагностики инфекционных заболеваний вирусной, бактериальной и грибковой этиологии.
- Необходимо, для установления этиологического диагноза, использовать комплекс диагностических тестов согласно протоколам и стандартам медицинской помощи
- Для получения достоверного результата необходимо соблюдать стандарты преаналитического этапа. На постаналитическом этапе интерпретация результатов проводится индивидуально для каждого конкретного случая.

«Улучшение качества
медицинских услуг является,
пожалуй, величайшим
достижением человечества за
последние сто лет»

Ли чон Вук,
генеральный директор ВОЗ
2003-2006гг

