

Диагностика паразитарных инвазий



Мостович Людмила Андреевна
АО «Вектор-Бест»
mostovich@vector-best.ru



В мире

1.5 млрд человек

24% населения

Более 350 видов

Из них 24 вида чаще всего

Казахстан

9 026 случаев в 2022 году

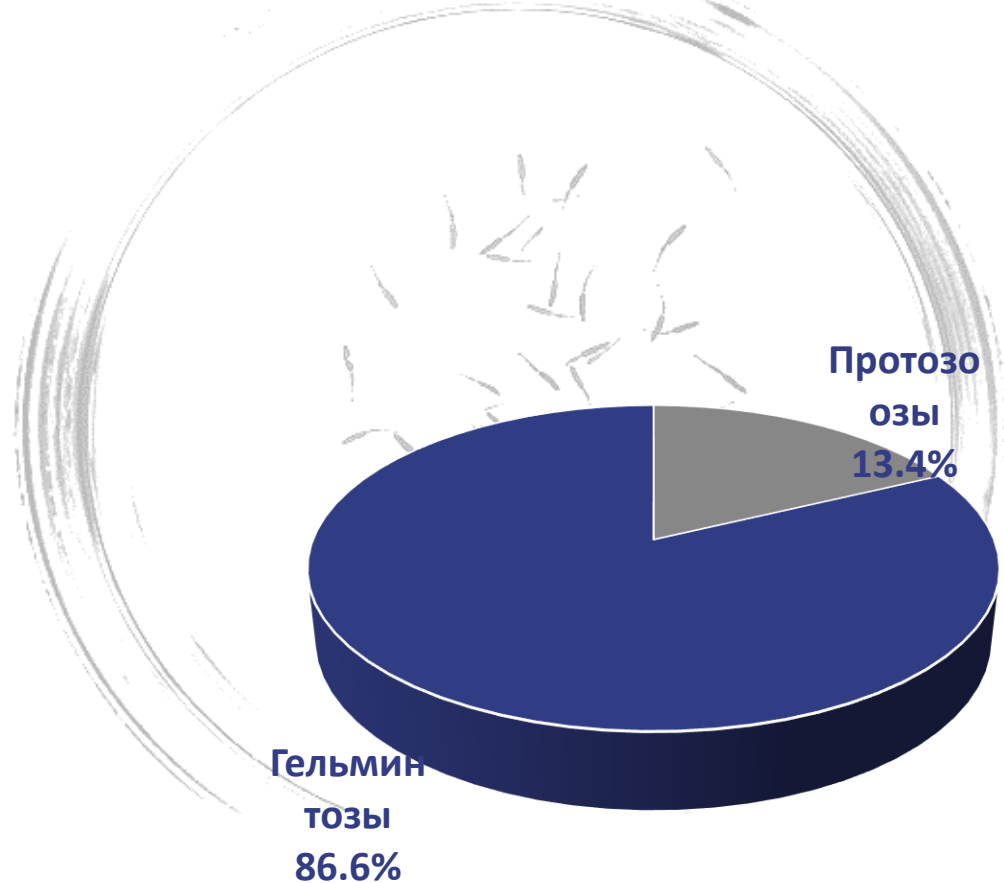
Энтеробиоз

Лямблиоз

Аскаридоз

Эхинококкоз

Описторхоз



Диагностика паразитарных заболеваний



Сложность и часто невозможность прямого подтверждения паразитологического диагноза

Лабораторные методы диагностики

Прямые



Микроскопический анализ
Молекулярная диагностика (ПЦР анализ)

Непрямые



Серологические методы
Определение антител в крови



Диагностика паразитарных заболеваний



ЖКТ

- *Giardia lamblia*,
- *Entamoeba histolytica*,
- *Ascaris lumbricoides*
- *Enterobius vermicularis*
- *Taenia saginata*

Кал, дуоденальное содержимое

- **Микроскопия**
- ПЦР
- Иммунохимия (ИФА, ИХА)



Другие органы и ткани

- *Toxocara canis*, *T. cati*,
- *Echinococcus granulosus*
- *Trichinella spiralis*
- *Plasmodium spp.*
- *Toxoplasma gondii*

Кровь, сыворотка, ликвор,
биопсийный материал

- Биопсия тканей
- Микроскопия
- **Серология (ИФА, ИХЛА, РИФ)**
- ПЦР

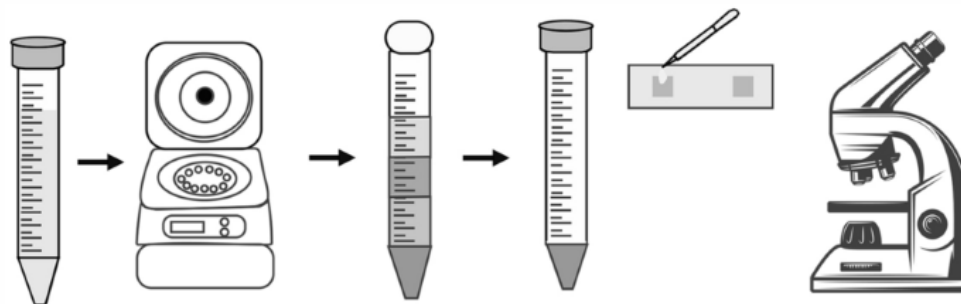
Прямые паразитологические методы

Макроскопия

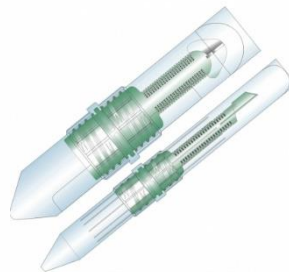
Микроскопия

Обогащение

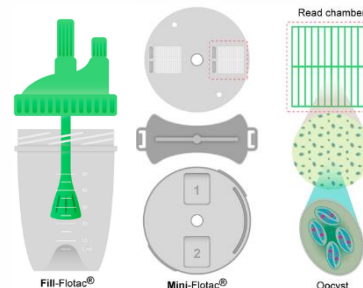
- Седиментация
- Флотация



Parasep



FLOTAC



БЕСТ

Полная автоматизация исследований

Автоматическая станция для анализа кала

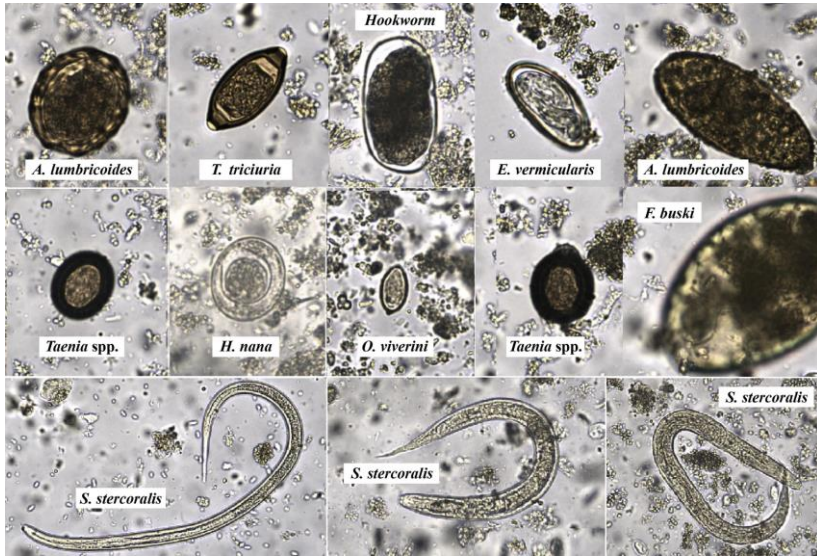


- Пробоподготовка
- Разведение



Полная автоматизация исследований

Автоматическая станция для анализа кала



Boonyong S. et al. Parasites Vectors 17, 13 (2024).
<https://doi.org/10.1186/s13071-023-06108-1>

- Многослойное микроскопирование с фиксацией изображения
- Анализ изображений (AI)

Run Pls put in tube rack

Sample ID	Sample No.	Icon	Abnormal	Status
2129	1			To be submitted
2157	2			To be submitted
2159	3			To be submitted
2159	4			To be submitted
2160	5			To be submitted
2161	6			To be submitted
2162	7			To be submitted
2163	8			To be submitted
2164	9			To be submitted
2165	10			To be submitted
2166	11			To be submitted
2167	12			To be submitted
2168	13			To be submitted
2169	14			To be submitted
2170	15			To be submitted
2171	16			To be submitted
2172	17			To be submitted
2173	18			To be submitted

Sample No.	Barcode
1	Barcode
Character	Result
Color	Yellow
Soft stool	Not found
Stool	Not found
HP	Not found
NS / 2 / 1	Not found
Post cell	Not found
HP	Not found
Yeast	Not found
HP	Not found
Fat globule	Not found
HP	Not found
Charcot-Leyden crystal	Not found
HP	Not found
Opisthorchis viverrini eggs	Not found
HP	Not found
EColi	Not found
HP	Not found
E.Histolytica	Not found
HP	Not found
K.nana	Not found
HP	Not found
Trichomonas	Not found
HP	Not found
Paragonimus eggs	Not found
HP	Not found

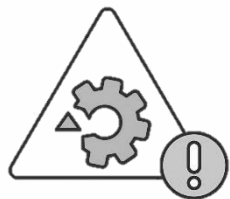
Start Date: 2023/02/17
End Date: 2023/02/17
Barcode: Microsoft Power BI, Microsoft Software Center, Microsoft Store, Microsoft Flurry Portal, McAfee Home, McAfee @ TV, McAfee Music, McAfee Speed Test, McAfee for Windows 10, Pure IT, People, Pure IT

Sample ID: F1
IP Images (display only): 03
Copy Mark: Start

Microsoft Connected: SN: Orientar/Orientar FA2807Liby Automatic Digital Faeces Analyzer v1.0.20/10.16/ 2023/02/17 16:34:00

Maintainance: F5
System: F6
Statistics: F7
Config: F8

Недостатки прямых паразитологических методов



- Ошибки метода/визуализации
- Длительность, трудоемкость
- Несовершенство методов



- Ранняя стадия
- Малоинтенсивные инвазии
- Инвазии особями одного пола
- Необходимость многократного исследования

Метод ПЦР



+ Чувствительность метода выше, чем микроскопических методов

- Генетический материал паразитов может находиться в кишечнике транзиторно

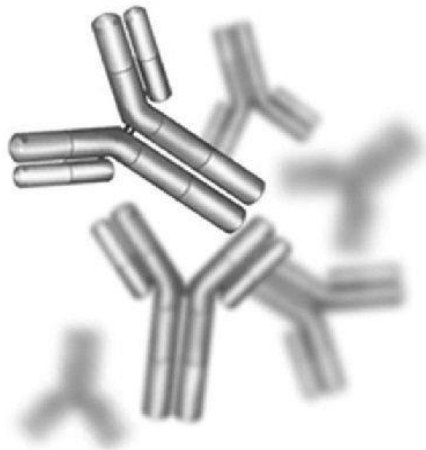
! Требуется этап гомогенизации

Выявляемость простейших методами ПЦР и микроскопии

Простейшие	ПЦР-диагностика N=6268		Микроскопия N=4442	
	обнаружено	%	обнаружено	%
Entamoeba histolytica	9	0,14%	3	0,07%
Lamblia intestinalis giardia	39	0,62%	6	0,14%
Cryptosporidium parvum	190	3,03%	0	0
Blastocystis hominis	1268	20%	211	4,75%



Непрямые паразитологические методы



Иммунологические методы диагностики паразитозов основаны на обнаружении в сыворотке крови специфических антител к тем или иным паразитам.

В большинстве случаев серологические методы являются дополнительными к классическим (прямым) методам

Антитела к паразитам начинают выявляться не ранее, чем через 2-3 недели после заражения



Диагностика лямблиоза



▶ Паразитологические исследования

исследование желчи или фекалий

3-4-кратное исследование с интервалом 3-5 дней

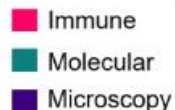
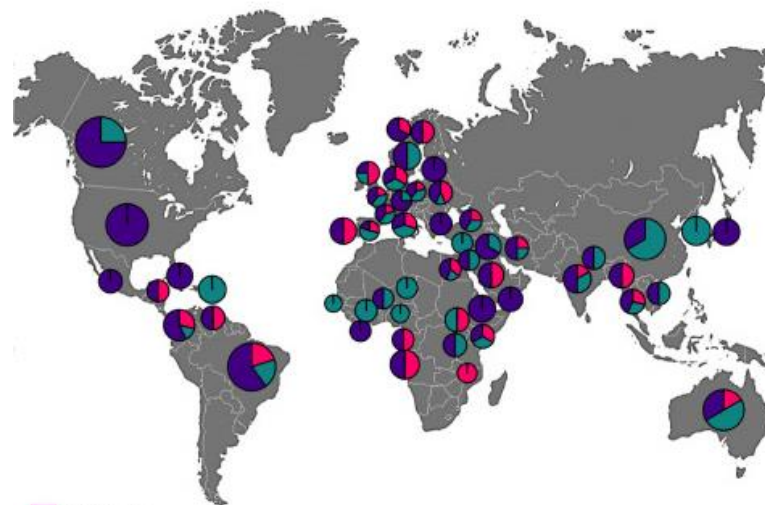
▶ ПЦР

ДНК в кале и/или биоптатах слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки

▶ Иммуноферментный анализ

Определение антигена в кале

Определений антител – как вспомогательный метод



Результаты исследования образцов фекалий, содержащих и не содержащих цисты лямблий, с использованием набора реагентов «Лямблия-антиген-ИФА-БЕСТ»

N=80	Положительный АГ	Отрицательный АГ
С наличием цист лямблий, N = 50	42 (84,0%)	8 (16,0%)
Без цист лямблий, N = 30	4 (13,3%)	26 (86,7%)

Серологические маркеры

► Иммуноферментный анализ

- Суммарные антитела и IgM специфичные к антигенам лямблий
 - ✓ Появляются через 2 – 3 недели после заражения.
 - ✓ Уровень остается повышенным в течение 4 – 6 месяцев после излечения
 - ✓ Возможны перекрестные реакции с кишечной амебой или бласоцистами

	IgM	Суммарные антитела (G, A, M)
Острый лямблиоз	+	-
Начало стадии реконвалесценции острого лямблиоза	+	+
Обострение хронического лямблиоза	+	+
Хронический лямблиоз	-	+
Пастинфекция	-	+

Диагностика аскаридоза



**Миграционная стадия
ранняя**
4–16 дней



**Кишечная стадия
хроническая**
2-3 месяца



▶ Микроскопия

3-кратно с интервалами 3–5 дней

Ложноотрицательные результаты

- Период миграции личинок, низкая интенсивность инвазии, наличие одних самцов в кишечнике больного



▶ Серологическая диагностика

▶ Рентгенография



Серологические маркеры аскаридоза

IgG	-	- отсутствие инфицирования - серонегативное окно
	+	- факт заражения аскаридами

- При клинической картине аскаридоза и отрицательных результатах исследование рекомендуется повторить через 2-3 недели
- В более позднюю кишечную стадию заболевания интенсивность иммуногенеза снижается, что приводит к уменьшению количества специфических антител
- **Возможны перекрестные реакции** (описторхоз, токсокароз, трихинеллез, эхинококкоз)
- Положительный результат серологического теста не является основанием для подтверждения диагноза «аскаридоз» и назначения антигельминтной терапии



Диагностика описторхоза

Бессимптомная



Острая

- Лихорадка
- Миалгии
- Экзантема



Хроническая

- Холецистит
- Панкреатит
- Гепатит



Установление факта потребления в пищу потенциально зараженной рыбы

▶ **ОАК, Биохимия**



▶ **Паразитологические исследования**

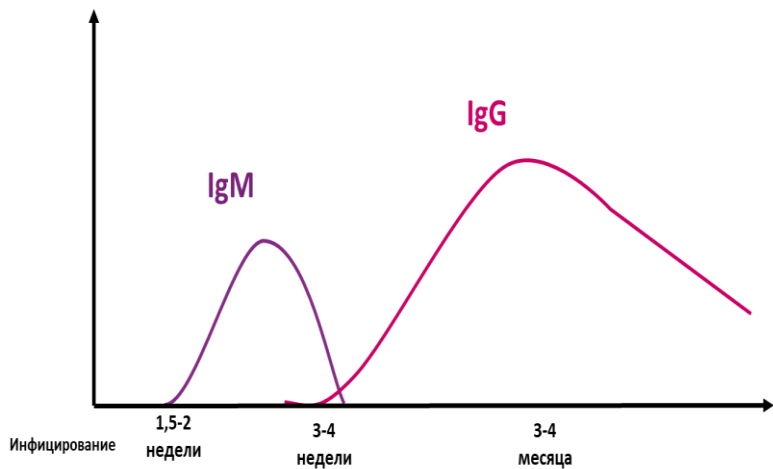
Обнаружение яиц описторхисов в образцах дуоденального содержимого или содержимого толстого кишечника больного



▶ **Серологическая диагностика**



Серологические маркеры описторхоза

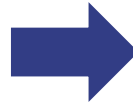


IgM	+	<ul style="list-style-type: none"> • острая инвазия • обострение хронического описторхоза • возможна перекрестная реакция антител к возбудителям других инвазий
	-	<ul style="list-style-type: none"> • отсутствие инвазии • хронический описторхоз
IgG	+	<ul style="list-style-type: none"> • поздняя острая стадия • хронический описторхоз • обострение хронического описторхоза • возможна перекрестная реакция антител к возбудителям других инвазий
	-	<ul style="list-style-type: none"> • отсутствие инвазии • острый период (до 2-х месяцев с момента инвазии)

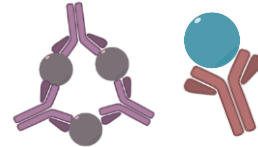
ЦИК

циркулирующие иммунные комплексы

>5 лет заболевания
уровень IgG падает ниже порогового



Связывание АТ с экскреторно-секреторными антигенами



ЦИК

- Стимулируют продукцию супрессоров Т-клеточного иммунитета
- Оказывают тормозящее влияние на функциональное состояние иммунной системы
- Коррелирует с продолжительностью и тяжестью течения патологического процесса.



Эхинококкоз

Латентный
период



Эхинококкоз
легких



Эхинококкоз
печени

▶ Инструментальные методы

УЗИ, КТ, рентгенография



▶ Иммуноферментный анализ

ПОКАЗАНИЯ К СЕРОЛОГИЧЕСКОМУ ОБСЛЕДОВАНИЮ:

- наличие объемного образования или кист в печени и других органах;
- эпидзначимые контингенты – лица, относящиеся к группам риска или проживающие в очагах эхинококкозов

УЗИ в сочетании с серологическими реакциями на эхинококкоз позволяют в большинстве случаев установить диагноз заболевания



Серологические маркеры эхинококкоза

IgG	-	отсутствие инфекции слабая иммунная реакция пациента серонегативное окно (<6-8 недель)
	+	текущее или перенесенное инфицирование

- Max. уровень IgG через 2-3 месяца
- После проведенного лечения через 2-3 месяца возможно снижение уровня антител, что свидетельствует об успешно проведенной терапии.
- Причины ложноположительных результатов анализа :
другие **паразитозы** (описторхоз, фасциолёз и цистицеркоз)
обширные деструктивные процессы органов (цирроз печени, туберкулез легких и других тканей, онкологические заболевания)



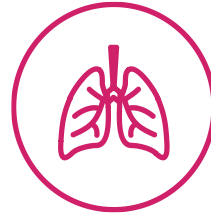
Серологические маркеры эхинококкоза

до 98%



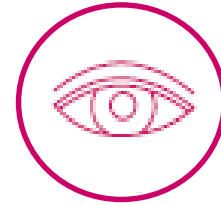
- Печень, брюшная полость и забрюшинное пространство
- При множественном и сочетанном поражении.

70-80%



- Локализация в легких,
- При наличии 1–3 кист небольшого (до 2 см) размера

40%



- Спинной или головной мозг, глаза
- Мышечная или костная ткань

- **Низкие титры:** в ранний период болезни, при обызвествленных оболочках ларвоцист;
- Резкое **снижение титров:** при далеко зашедшем процессе, в поздней, неоперабельной стадии эхинококкозов



Динамика уровня специфических IgG , больных эхинококкозом печени и лёгких

(данные к.м.н. Шангареевой Р.Х., г.УФА)

Локализация	До операции			Через 3 года			Через 6 лет		
	Кол-во, n	+	-	Кол-во, n	+	-	Кол-во, n	+	-
Печень	79	68	11	53	37 69,8%	16	46	9 19,6%	37
Чувствительность		86,1%	-	-	-	-	-	-	-
Лёгкие	37	21	16	19	9 47,4%	10	16	4 25%	12
Чувствительность		56,8%	-	-	-	-	-	-	-



Особенности диагностики паразитарных заболеваний

1. Сложное строение паразитов и хорошо отлаженные защитные механизмами, направленными против иммунной системы хозяина (инкапсуляция, антигенная мимикрия, антигенный «дрейф», инактивация ферментов и биологически активных веществ и др.)
2. На современном этапе не существует методов диагностики со 100% надежностью
3. Для диагностики гельминтозов рекомендуется использовать комплекс лабораторно-инструментальных методов
4. Выбор методов диагностики должен опираться на клинические проявления, особенности жизненного цикла паразита, его локализацию и формы существования в организме человека





Спасибо за внимание!

