

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043634**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.06.07

(51) Int. Cl. **G01N 33/574 (2006.01)**

(21) Номер заявки
202291660

(22) Дата подачи заявки
2022.06.24

**(54) СПОСОБ КОМПЛЕКСНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ЖКТ
(КИШЕЧНИКА)**

(43) **2023.05.26**

(96) **2022000049 (RU) 2022.06.24**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "АГРОС -
ИНТЕРНЕЙШНЛ" (RU)**

(72) Изобретатель:

**Коновалов Станислав Александрович
(RU)**

(74) Представитель:

Насонова К.В. (RU)

(56) LANAS A. et al. Simultaneous testing of fecal hemoglobin and calprotectin predicts the detection of significant colorectal disease in the work-up of symptomatic primary-care patients: the advantage study. UEG WEEK 2020 POSTER PRESENTATIONS. UNITED EUROPEAN GASTROENTEROLOGY JOURNAL, 2020, Vol 8 (8S), p. 144-887 doi:10.1177/2050640620927345 с. 530 реферат

TURVILL J. et al. Diagnostic accuracy of one or two faecal haemoglobin and calprotectin measurements in patients with suspected colorectal cancer. SCANDINAVIAN JOURNAL OF

GASTROENTEROLOGY, 2019, Vol 53, № 12, p. 1526-1534 doi:10.1080/00365521.2018.1539761 весь документ, особенно реферат и разделы методы и результаты

MOWAT C. et al. Faecal haemoglobin and faecal calprotectin as indicators of bowel disease in patients presenting to primary care with bowel symptoms. GUT, 2015, Vol 65, №. 9, p. 1463-1469 doi:10.1136/gutjnl-2015-309579 весь документ, особенно реферат и разделы дизайн и результаты

HÖGBERG C. et al. Diagnosing colorectal cancer and inflammatory bowel disease in primary care: The usefulness of tests for faecal haemoglobin, faecal calprotectin, anaemia and iron deficiency. A prospective study. SCANDINAVIAN JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, 2016, Vol 52, № 1, p. 69-75 doi:10.1080/00365521.2016.1228120 весь документ, особенно реферат и разделы материалы/методы и результаты

КНЯЗЕВ О.В. и др. Значение фекального кальпротектина в мониторинге активности воспалительных заболеваний кишечника. ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ АРХИВ, 2019, № 4, с. 53-61, весь документ, особенно реферат и разделы материалы/методы и результаты/обсуждения RU-C1-2517069

(57) Изобретение относится к области медицины и диагностики *in vitro*, в частности раннему выявлению онкологических заболеваний органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), предраковых состояний (полипы) и воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК). Предложен способ диагностики *in vitro* онкологических заболеваний органов ЖКТ и заболеваний ЖКТ, предшествующих онкологическим заболеваниям, заключающийся в том, что одновременно проводят иммунохимический количественный анализ одного образца кала пациента на несколько маркеров: фекальный гемоглобин и кальпротектин.

B1

043634

**043634
B1**

Область техники

Изобретение относится к области медицины и диагностики *in vitro*, в частности раннему выявлению онкологических заболеваний органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), предраковых состояний (полипы) и воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК).

Предшествующий уровень

В настоящее время выявлению заболеваний ЖКТ уделяется большое внимание. К основным заболеваниям ЖКТ относят колиты, воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), предраковые состояния (полипы) и рак кишечника и желудка на разных стадиях. ВЗК имеет частоту в среднем 200 случаев на 100 тыс. населения, но по прогнозам наблюдается увеличение заболеваемости до 500 случаев на 100 тыс. населения. В последние годы также регистрируют колиты различной этиологии (микроскопических, эозинофильных, лимфоцитарных, недифференцированных), наблюдается рост выявления рака толстой кишки у пациентов с язвенным колитом (ЯК), что может быть связано с более ранним началом ВЗК. Если в общей группе больных ЯК риск развития рака в 9 раз превышает популяционный показатель, то при тотальном поражении толстой кишки он выше в 13 раз, при левостороннем ЯК - в 5 раз. Таким образом, раннее выявление ЯК имеет решающее значение в диагностике рака и предраковых состояний. При этом следует учитывать, что ВЗК могут приводить к развитию аутоиммунных заболеваний и различных видов рака кишечника. Важную проблему представляет выявление предраковых новообразований, рака кишечника на ранних стадиях (0-I) с целью повышения успеха лечения. Однако проблема заключается в том, что функциональные состояния синдром раздраженной кишки (СРК), некротирующий язвенный колит (НЯК), ВЗК и различные виды рака могут иметь сходные симптомы, что требует формирования новых подходов к дифференциальной диагностике с использованием комплекса биомаркеров и предпочтением неинвазивного метода. Также требуется уточнение исследований в целях онкопрофилактики, раннего выявления и лечения заболеваний ЖКТ при реализации скрининговых программ, комплексного обследования Check-up. С этой целью проводится исследование кала на скрытую кровь иммунохимическим методом (на основе образования комплекса антиген-антитело) в качественном или количественном вариантах. В условиях эпидемии COVID-19 были установлены новые данные, свидетельствующие о росте числа пациентов с коронавирусной инфекцией с резким возрастанием диспепсических симптомов, а также пациентов с постковидным синдромом, что объясняется как повреждающим действием вируса SARS-CoV-2 на слизистую ЖКТ, так и изменением состава кишечной микробиоты, в том числе на фоне терапии. Наиболее выраженные изменения отмечалось у больных ВЗК и аутоиммунными заболеваниями, порой с неблагоприятными исходами.

Для анализа используется образец кала. Как правило, проводится однодневное качественное иммунохимическое исследование на фекальный гемоглобин "ручными" методиками. По данной методике достаточно часто возможно получение ложноотрицательных результатов, которые связаны с деградацией гемоглобина, а также с тем, что кровотечение может иметь нестабильный характер, особенно при запорах. В случае положительного результата по гемоглобину в кале в случае подозрения на злокачественные новообразования толстого кишечника по назначению врача-хирурга или врача-колопроктолога проводят колоноскопию. Данное исследование представляет собой достаточно травматичную процедуру осмотра отделов кишечника, проводимую, как правило, под общим наркозом и требующую дополнительной подготовки пациента. Положительные значения фекального гемоглобина встречаются в большом количестве у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, но не имеющими полипов или рака кишечника. Таким образом, необходим способ лабораторного анализа, который бы позволял дифференцировать функциональные состояния (чаще - синдром раздраженного кишечника, СРК), ВЗК и другие заболевания ЖКТ от злокачественных новообразований кишечника. Таким биомаркером, свидетельствующем о наличии воспаления в слизистой оболочке кишечника, является кальпротектин.

Согласно предложенному изобретению, при исследовании одного образца кала на анализаторе в автоматическом режиме одновременно иммунохимическим методом определяют количества двух биомаркеров: фекального кальпротектина и фекального гемоглобина. Анализ количественных результатов позволяет по уровню биомаркеров выделить не только пациентов с наличием воспалительных заболеваний кишечника, полипов, рака кишечника (стадии 0-IV) и иной патологии, но и определить степень (глубину) поражения слизистой кишечника.

Возможно проведение однодневного или двухдневного исследования на гемоглобин, и целесообразно одновременное проведение исследования на кальпротектин. Установлено, что при двухдневном варианте количество положительных результатов исследования на гемоглобин возрастает на 15%. Проблема заключается в том, что воспалительные заболевания кишечника могут приводить к развитию раковых состояний, и при анализе дают положительный результат на скрытую кровь. Таким образом, при лабораторной диагностике на фекальный гемоглобин и трансферрин сложно правильно дифференцировать заболевание: является ли оно воспалительным или раковым.

Описание изобретения

Настоящее изобретение относится к способу дифференциальной диагностики синдрома раздраженной кишки, воспалительных заболеваний кишечника, предраковых состояний и рака при исследовании одного образца кала от пациента, заключающаяся в том, что одновременно проводится иммунохимиче-

ский анализ с определением количества фекального гемоглобина и кальпротектина. При превышении пороговых значений показателей (фекальный гемоглобин - 100 нг/мл; кальпротектин - 50 мкг/г) в зависимости от ранжирования делают вывод о возможной патологии (наличии воспалительного процесса). При язвенном колите и болезни Крона количество кальпротектина может превышать пороговое значение в 10-15 раз; при синдроме раздраженной кишки оба показателя находятся в пределах пороговых значений.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к способу дифференциальной диагностики функциональных состояний (СРК) и органических поражений кишечника, включая колиты различной этиологии, воспалительные заболевания кишечника (ЯК, болезнь Крона и другие аутоиммунные заболевания с вовлечением кишечника), предраковых состояний и злокачественных новообразований ЖКТ у пациента, и заключается в том, что при проведении количественного иммунохимического анализа одного образца кала пациента на два фекальных биомаркера (гемоглобин и кальпротектин) можно делать вывод о наличии (степени выраженности) либо отсутствии воспалительных процессов в кишечнике. Пороговыми значениями являются: фекальный гемоглобин - 100 нг/мл, фекальный кальпротектин - 50 мкг/г.

Способ согласно изобретению заключается в том, что проводят одновременное иммунохимическое количественное определение кальпротектина и гемоглобина в одном образце кала для дифференциальной диагностики функциональных (СРК) и предраковых состояний, аутоиммунных и воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), злокачественных новообразований. Техническим результатом изобретения является повышенная точность диагностики заболеваний кишечника, снижение времени на диагностику и более точную постановку диагноза, безболезненность и безопасность процедуры как для пациента, так и для сотрудников лаборатории.

Следует отметить, что фекальный гемоглобин можно измерять в 2 образцах, сданных в два последовательных дня, показатели обозначены как "фекальный гемоглобин 1 день" (первый день) и "фекальный гемоглобин 2 день" (второй день). При этом пациент собирает образец кала последовательно 2 дня, предоставляя образцы, полученные каждый определенный день, соответственно. Сбор двух образцов кала (2 дефекации) является приоритетным, что повышает частоту выявления злокачественных новообразований на 15%.

Количественные значения, указанные для маркеров "фекального гемоглобина" и "кальпротектина", следует понимать как "равно и больше". Таким образом, если для маркера "фекальный гемоглобин" приведено пороговое значение "100 нг/мл", это значит, что значимым является содержание 100 нг/мл и выше, например, 110, 120, 130 нг/мл и так далее. Значимым для диагностики является содержание кальпротектина в образце от 50 мкг/г, т.е. 60, 100, 130 нг/мл и т.д.

Все анализы кала на указанные показатели могут быть проведены традиционными или известными методами на каждый маркер, в частности, для определения кальпротектина - методом иммуноферментного анализа (ИФА), для определения гемоглобина - методом иммунохроматографии. Также способ согласно изобретению может быть реализован в автоматическом режиме с получением количественного результата, предпочтительно с применением автоматического анализатора. Сбор образца стандартизован. Для проведения исследования пациенту необходимо собрать в микроконтейнер всего 10 мг образца, что возможно благодаря специальной конструкции контейнера. Контейнеры загружаются в анализатор оператором, исследование проводится в автоматическом режиме, что исключает ошибки связанные с наличием человеческого фактора при выполнении исследования вручную.

Далее изобретение будет проиллюстрировано примерами, которые не ограничивают объем изобретения в какой-либо мере.

Пример 1.

Одновременное количественное определение кальпротектина (Ср) и гемоглобина (Hb) иммунохимическим методом.

Пациент 56 лет, мужского пола. При осмотре жалоб не предъявлял.

Выполнено диспансерное обследование с использованием фекальных маркеров иммунохимическим методом, выявлено увеличение фекального гемоглобина при нормальных значениях кальпротектина.

Данные представлены в таблице ниже.

	Hb	Hb	Ср
№ дня исследования	1 день	2 день	1 день
Пациент до терапии	560	300	49
Пациент после терапии	84	76	34

фекальный Hb 1 день 560 нг/мл,
фекальный Hb 2 день 300 нг/мл,
кальпротектин 49 мкг/г.

Выполнена ФКС, выявлен рак прямой кишки, ст 1. T1N0M0, по результатам гистологии: аденокарцинома, выполнена эндокопическая резекция опухоли.

Через месяц после удаления выполнены контрольные исследования фекальных маркеров, показатели нормализовались:

фекальный НВ 1 день 84 нг/мл,

фекальный НВ 2 день 76 нг/мл,

кальпротектин 34 мкг/г.

Пример 2.

Пациент 65 лет, мужского пола, жалоб не предъявлял. При плановом диспансерном обследовании по результатам фекальных маркеров выявлено увеличение фекального гемоглобина во второй день и незначительное повышение кальпротектина.

Результаты представлены в таблице ниже.

	Нб	Нб	Ср
№	1 день	2 день	1 день
Пациент до терапии	87	150	84
Пациент после терапии	56	55	34

Проводилась дифференциальная диагностика между дивертикулезом кишечника и полипами. При проведении ФКС выявлены полипы в левых отделах кишечника, по результатам гистологии: тубулярные аденомы различной степени дисплазии, выполнена полипэктомия. Через месяц выполнены контрольные анализы, фекальные маркеры нормализовались: фекальный НВ 1 день 56 нг/мл, фекальный НВ 2 день 55 нг/мл, кальпротектин 34 мкг/г.

Пример 3.

Пациентка 65 лет, жалобы на явления метеоризма, нарушения стула.

При определении фекальных маркеров выявлено увеличение фекального НВ во второй день исследования, кальпротектин был в пределах нормальных значений. Результаты представлены в таблице ниже.

	Нб	Нб	Ср
№	1 день	2 день	1 день
Пациент до терапии	76	185	46
Пациент после терапии	34	43	12

Проводили дифференциальную диагностику между обострением геморроя, дивертикулезом, полипозом кишечника. Выполнена ФКС, выявлен дивертикулез кишечника. Проведена санация кишечника, спазмолитическая терапия. При контроле анализов результаты пришли в норму: фекальный НВ 1 день 34 нг/мл, фекальный НВ 2 день 43 нг/мл, кальпротектин 12 мкг/г.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ диагностики *in vitro* онкологических заболеваний кишечника, полипов кишечника и воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), заключающийся в том, что проводят иммунохимический количественный анализ одного образца кала пациента одновременно на фекальный (ФГ) и фекальный кальпротектин (ФКП), где пороговые значения показателей: ФГ - 100 нг/мл, ФКП - 50 мкг/г,

при этом при значениях ФГ ниже порогового и при значении ФКП выше порогового делают вывод о наличии ВЗК, а при значениях ФГ выше порогового и при значении ФКП ниже порогового делают вывод о наличии полипов, раковых заболеваний кишечника.

2. Способ по п.1, в котором воспалительные заболевания кишечника включают язвенный колит, болезнь Крона, энтероколит.

3. Способ по п.1, в котором раковые состояния кишечника включают предраковые состояния и рак кишечника на ранних стадиях.

4. Способ по п.1-3, в котором анализ на ФГ и ФКП проводят одновременно из одного образца.

5. Способ по п.1, в котором измерения ФГ проводят в разных образцах, полученных в первый день анализа и во второй день анализа, следующим за первым днем анализа.

6. Способ по пп.1-5, который проводят в автоматическом режиме, предпочтительно с применением автоматического анализатора.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2