

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291248** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.10.06

(51) Int. Cl. **G01N 33/49** (2006.01)
C12Q 1/06 (2006.01)
C12R 1/145 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.05.13

(54) **СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ РАССТРОЙСТВА АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА У ДЕТЕЙ**

(96) **2022000037 (RU) 2022.05.13**

(72) Изобретатель:

(71) Заявитель:
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ "САНКТ-
ПЕТЕРБУРГСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ПЕДИАТРИЧЕСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ"
МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО СПбГПМУ МИНЗДРАВА
РОССИИ) (RU)**

**Яковенко Анна Евгеньевна, Новикова
Валерия Павловна, Платонова
Анна Геннадьевна, Завьялова Анна
Никитична, Гречаный Северин
Вячеславович (RU)**

(57) Изобретение относится к медицине, в частности к психиатрии, гастроэнтерологии и лабораторной диагностике, и может применяться в качестве диагностического маркера для выявления расстройств аутистического спектра у детей, имеющих неспецифический гастроинтестинальный симптомокомплекс. В способе повышения точности диагностики расстройства аутистического спектра (РАС) у детей с подозрением на аутизм, имеющих функциональное нарушение со стороны желудочно-кишечного тракта, путем оценки бактериологического содержимого кишечника, оценивают содержание *Clostridium ramosum* в тонкой кишке с помощью газовой хроматоспектрометрии по Осипову и при содержании *Clostridium ramosum* выше 2000×10^5 клеток/грамм подтверждают РАС у детей с подозрением на аутизм. Заявляемый способ повышает эффективность диагностики РАС у детей. Он позволяет выявить РАС у детей в группе риска, в том числе и в грудном возрасте, и начать соответствующую психотерапевтическую и медикаментозную терапию. Способ доступен врачам любой специальности, не требует дорогостоящего оборудования и проведения большого количества лабораторных и инструментальных исследований, что делает его самым доступным, быстрым и дешевым среди аналогов. Способ может быть широко применим, так как забор крови может проводиться в том числе и методом сухой капли, что делает его повсеместно доступным.

A1

202291248

202291248

A1

Изобретение относится к медицине, в частности, к психиатрии, гастроэнтерологии и лабораторной диагностике и может применяться в качестве диагностического маркера для выявления расстройств аутистического спектра у детей, имеющих неспецифический гастроинтестинальный симптомокомплекс.

Для диагностики расстройств аутистического спектра (РАС) на сегодняшний день применяется:

Генетическое тестирование: хромосомный микроматричный анализ; секвенирование нового поколения (NGS), полноэкзонное секвенирование, тест на синдромальные формы аутизма в качестве дифференциальной диагностики [Jacob AS Vorstman Autism genetics: oportunities and challenges for clinical translacation. Nature Review Genetics: 2017. DOI 10.1038/nrg.2017.4].

Генетические тесты как таковые не могут применяться в качестве основы для постановки диагноза РАС, так как причины и генез РАС до сих пор до конца не изучены.

ADOS – шкала наблюдения для диагностики расстройства аутистического спектра. ADOS является стандартизированным диагностическим тестом на аутизм спектрального расстройства (РАС). [C Lord 1, M Rutter, and authors, Autism diagnostic observation schedule: a standardized observation of communicative and social behavior. J Autism Dev Disord . 1989 Jun; 19(2):185-212. doi: 10.1007/BF02211841].

Недостатком способа является невозможность применения теста для детей грудного возраста, а также для детей с нарушениями развития. При средней продолжительности теста в 40-60 минут многие дети с особенностями развития не могут завершить тестирование. Консультация психиатра отвергается родителями при наличии постоянных неспецифических жалоб со стороны желудочно-кишечного тракта. Советы по психиатрической экспертизе также отвергаются родителями детей, имеющих гастроинтестинальные симптомы.

Ближайшим к заявляемому способу является 16s рРНК секвенирование - молекулярно-генетический способ определения видового состава микробных сообществ путем анализа размеров терминальных рестрикционных фрагментов области гена 16S рибосомальной РНК бактерий (рРНК). [Пестова Н.Е. и соавторы Изучение эффективности применения метода секвенирования ДНК по фрагменту гена 16s рРНК для идентификации микроорганизмов. «Профилактическая и клиническая медицина», 2011 стр.: 54-55 УДК: 579.252:616-093].

Недостатками способа, выбранного в качестве прототипа, являются следующие. Способ изучает просветную микрофлору лишь толстой кишки (биоматериал - стул), является дорогостоящим, малодоступным. Результаты исследования микробиома стула не позволяют выделить из биоматериала толстой кишки анаэробы, микробы, характерные для РАС, или так называемую «микробную подпись». На выполнение 16s рРНК секвенирования затрачивается 30 рабочих дней.

Задачей настоящего изобретения является повышение точности диагностики РАС у детей при снижении стоимости процедуры и затраченного времени.

Технический результат поставленной задачи достигается тем, что в способе диагностики расстройства аутистического спектра у детей путем оценки бактериологического содержимого кишечника, оценивают содержание *Clostridium ramosum* в тонкой кишке с помощью газовой хроматоспектрометрии по Осипову и при содержании *Clostridium ramosum* выше $2000 \cdot 10^5$ клеток/грамм диагностируют расстройство аутистического спектра.

Повышение уровня содержания *Clostridium ramosum* в тонкой кишке характерно для микробиоты детей, страдающих РАС. Выявление *Clostridium ramosum* способом газовой хроматоспектрометрии (ГХ-МС) повышает эффективность диагностики РАС, т.к. этот показатель значительно повышен именно у детей с РАС. является быстрым, доступным, малоинвазивным способом диагностики. Забор крови может осуществляться методом сухой капли и использоваться повсеместно, стоимость обследования по сравнению с 16s рРНК секвенированием в 4 раза ниже. Выполнение диагностики занимает неделю.

Содержание *Clostridium ramosum* у детей с диагнозом РАС, страдающих от функциональных нарушений ЖКТ, в 75% случаев превышает референсные значения ($2000 \cdot 10^5$ клеток/грамм). Среднее значение *Clostridium ramosum* для данной группы составляет $3494 \cdot 10^5$ клеток/грамм. Таким образом, при определении содержания *Clostridium ramosum* выше $2000 \cdot 10^5$ клеток/грамм диагностируют РАС.

Способ осуществляется следующим образом. При подозрении на аутизм производится забор крови (капиллярная кровь, венозная кровь или метод сухой капли) для исследования. За 2 недели до исследования исключается прием антибиотиков, про и пребиотиков, сдача крови происходит натощак. Далее, проба используется для детектирования микроорганизмов по видоспецифичным высшим жирным кислотам (ЖК) клеточной стенки сходен с генетическим анализом (ПЦР, определение последовательности нуклеотидов 16sРНК и пр.). Оценивают содержание *Clostridium ramosum* в тонкой кишке с помощью газовой хроматоспектрометрии по Осипову и при содержании *Clostridium ramosum* выше $2000 \cdot 10^5$ клеток/грамм диагностируют расстройство аутистического спектра.

Пример 1. Мальчик М., г.р. 2015, диагноз: РАС (атипичное, тяжелое течение), отставание развития, 5 лет на момент обращения. Наблюдается психиатром СПбГПМУ, диагноз РАС подтвержден. Жалобы со слов матери. Не отзывается на чужие просьбы, приходит на голос мамы только для удовлетворения потребностей (поесть, погулять, посмотреть мультики). В большей степени ориентируется на интонацию. С другими детьми не играет, редко проявляет к ним интерес, может подойти потрогать за лицо, взять за руку, смотрит в лицо. Не агрессивен, просит внимания от старших, при этом может схватить за руку прохожего на улице.

Со стороны ЦНС: задержка психического развития, аутоагрессия, стереотипии, афазия, нарушение циркадного ритма, инсомния. Со стороны ЖКТ: функциональные нарушения (диарея) неясного генеза. Моторное и психическое развитие в соответствии с возрастом до 1.3 лет. Затем - резкий откат в развитии с потерей всех навыков.

Мать обратилась за помощью гастроэнтерологу в Многопрофильный центр СПбГПМУ в январе 2021 года. Методом сухой капли 10.02.2021 был проведен анализ ГХ-МСМ.

По результатам обследования заявляемым способом содержание Clostridium ramosum 7392 кг/л*10*5. Повышение по сравнению с референтом в 3,696 раз. Поставлен диагноз РАС. В настоящее время наблюдается неврологом и психиатром по месту жительства, получает коррекционную помощь и медикаментозную поддержку.

Пример 2. Пациент С., 2014 г.р., диагноз: ЗППР с элементами РАС. Наблюдается психиатром СПбГПМУ по поводу этого заболевания. На момент обращения к гастроэнтерологу в Многопрофильный центр СПбГПМУ 13.11.2020.

Со слов матери: развивался согласно возрасту, около 3 лет произошел откат в развитии, перестал есть, замкнулся в себе, начал всего бояться, речь ухудшилось, появилась нервозность, неусидчивость, ухудшилось понимание обращенной речи. На момент обращения: гиперактивный, незначительно нарушена коммуникация, темповая задержка речевого развития. Гиперчувствительность: чрезмерная реакция на шум и другие внешние раздражители. Занимается с дефектологом. Со стороны ЖКТ: функциональные расстройства (запор).

По результатам обследования заявляемым способом 01.12.2020 содержание Clostridium ramosum 3490 кг/л*10*5, повышение по сравнению с референсным значением в 1,745 раза. Диагностирован РАС с задержкой психо-речевого развития (ЗППР). В настоящее время наблюдается неврологом по месту жительства, получает корреляционную помощь.

Пример 3. Мальчик 4 г., без нарушений со стороны ЦНС, развитие в соответствии с возрастом. Мать обратилась к гастроэнтерологу в Многопрофильный центр СПбГПМУ в

апреле 2021 г. в связи с функциональными нарушениями со стороны ЖКТ (абдоминальные боли, неустойчивый стул).

По данным заявляемого способа от 5.05.2021 содержание *Clostridium ramosum* 475 кг/л*10*5 (23,75% от референсного значения). Диагноз РАС отвергнут. Диагностирован синдром избыточного бактериального роста. Ребенок развивается в соответствии с возрастом, посещает дошкольное учреждение обычной направленности.

Заявляемый способ повышает эффективность диагностики РАС у детей.

Он позволяет выявить РАС у детей в группе риска, в том числе и в грудном возрасте, и начать соответствующую психотерапевтическую и медикаментозную терапию.

Способ доступен врачам любой специальности, не требует дорогостоящего оборудования и проведения большого количества лабораторных и инструментальных исследований, что делает его самым доступным, быстрым и дешевым среди аналогов.

Способ может быть широко применим, так как забор крови может проводиться в том числе и методом сухой капли, что делает его повсеместно доступным.

Помимо диагностики РАС, результаты исследования отражают состояние микробиома тонкой кишки исследуемого, что может помочь специалисту в лечении сопутствующих проблем.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ диагностики расстройства аутистического спектра у детей путем оценки бактериологического содержимого кишечника, отличающийся тем, что оценивают содержание *Clostridium ramosum* в тонкой кишке с помощью газовой хроматоспектрометрии по Осипову и при содержании *Clostridium ramosum* выше $2000 \cdot 10^5$ клеток/грамм диагностируют расстройство аутистического спектра.

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

202291248**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**G01N 33/49 (2006.01)
C12Q 1/06 (2006.01)
C12R 1/145 (2006.01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)
G01N 33/00-33/92, A61P 25/00, C12Q 1/06, C12R 1/45Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)
Espacenet, ЕАПАТИС, ЕРОQUE Net, Reaxys, Google**В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ**

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y	FINEGOLD Sydney M. et al. Gastrointestinal Microflora Studies in Late-Onset Autism. Clinical Infectious Diseases, 2002; 35(Suppl 1): S6-16, S13, колонка 1, абзац 2, S8 колонка 1, абзац 1, таблицы 1, 2, реферат	1
Y	Методика масс-спектрометрии микробных маркеров как способ оценки пристеночной кишечной микробиоты при заболеваниях органов пищеварения. Учебно-методическое пособие. Санкт-Петербург, 2013, страница 7, абзац 2-страница 8, абзац 1, страница 14, таблица 1, страница 21, абзац 1-страница 22, абзац 3, рисунки 2, 3, страница 30, таблица 3	1
A	RU 2655073 C2 (МИГАЧЕВ ДМИТРИЙ ВАЛЕРЬЕВИЧ) 22.03.2018, формула	1
A	RU 2687580 C1 (РОЖНОВА ТАТЬЯНА МИХАЙЛОВНА) 15.05.2019, формула	1
A	WO 2016/156251 A1 (GENETIC ANALYSIS AS) 06.10.2016, пункты 1, 18 формулы, страница 36, таблица 2, страница 45, абзац 2	1
A	US 2020071747 A1 (THE UNITED STATES GOVERNMENT AS REPRESENTED BY THE DEPARTMENT OF VETERANS AFFAIRS) 05.03.2020, формула	1
A	БЛАГОНРАВОВА А.С. и тд. Нарушения кишечной микробиоты при расстройствах аутистического спектра: новые горизонты в поиске патогенетических подходов к терапии. Часть 1. Особенности кишечной микробиоты при расстройствах аутистического спектра. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2021; 98(1): 65-72 DOI: https://doi.org/10.36233/0372-9311-62 , страница 67, колонка 1, абзац 4-страница 68, колонка 1, абзац 1	1

 последующие документы указаны в продолжении

* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

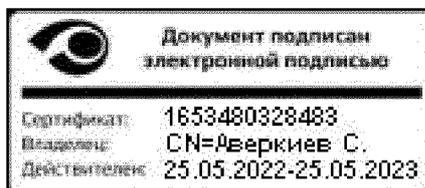
«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения
«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности
«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории
«&» - документ, являющийся патентом-аналогом
«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 20 октября 2022 (20.10.2022)

Уполномоченное лицо:
Начальник Управления экспертизы

С.Е. Аверкиев