

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202291660** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
**2023.05.26**

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

(22) Дата подачи заявки  
**2022.06.24**

---

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

---

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

(72) Изобретатель:

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

**Коновалов Станислав Александрович  
(RU)**

(74) Представитель:  
**Насонова К.В. (RU)**

---

(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.

**202291660**

**A1**

**A1**

**202291660**

# СПОСОБ КОМПЛЕКСНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ЖКТ (КИШЕЧНИКА)

Область техники

Настоящее 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 вида 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 иммунохимический 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 повышенной 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 (Нб) 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.

	Нб	Нб	Ср
№ дня исследования	1 день	2 день	1 день
Пациент до терапии	<b>560</b>	<b>300</b>	49
Пациент после терапии	84	76	34

-фекальный НВ 1 день 560 нг/мл,

-фекальный НВ 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	<b>87</b>	<b>150</b>	<b>84</b>
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	<b>185</b>	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 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, и при пороговых значениях показателей:

фекальный гемоглобин – 100 нг/мл

фекальный кальпротектин – 50 мкг/г,

при значениях фекального гемоглобина ниже порогового, и при значении кальпротектина выше порогового делают вывод о наличии воспалительных заболеваний кишечника (воспалительного или аутоиммунного компонента), а при значениях гемоглобина выше порогового и при значении кальпротектина ниже порогового делают вывод о наличии полипов, раковых заболеваний кишечника или других заболеваний кишечника, не связанных с воспалением.

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

3. Способ по п. 1, в котором раковые состояния кишечника включают предраковые состояния и рак кишечника на ранних стадиях, например, на 0-I стадии.

4. Способ по п. 1-3, в котором анализ на фекальный гемоглобин и кальпротектин проводят одновременно из одного образца.

5. Способ по п.1, в котором измерения фекального гемоглобина 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.

**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ**  
(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

**202291660**

**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**

**G01N 33/574 (2006.01)**

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

**Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:**

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)

G01N 33/53, 33/574

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)  
EAPATIS, Espacenet, Patentscope, USPTO, eLibrary.ru, Embase, PubMed, КиберЛенинка, Google, Яндекс

**В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ**

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y	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	1-6
Y	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 результат	1-6
Y	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	1-6
Y	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	1-6

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: **07/12/2022**

Уполномоченное лицо:

Заместитель начальника Управления экспертизы

Начальник отдела химии и медицины

 А.В. Чебан

**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ**  
**(дополнительный лист)**

Номер евразийской заявки:

**202291660**

**ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ (продолжение графы В)**

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y	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	1-6
A	RU 2517069 C1 (ИЛЬЯШЕНКО М.Г. и др.) 2014-05-27 весь документ	1-6