



УКРАЇНА

(19) UA (11) 38640 (13) U  
(51) МПК (2006)  
G01N 33/00  
G01N 33/50

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ СТАНУ КИШЕЧНИКУ

1

2

(21) u200808949

(22) 08.07.2008

(24) 12.01.2009

(46) 12.01.2009, Бюл.№ 1, 2009 р.

(72) СТЕПАНОВ ЮРІЙ МИРОНОВИЧ, UA, ФЕДОРОВА НАТАЛІЯ СТАНІСЛАВІВНА, UA

(73) СТЕПАНОВ ЮРІЙ МИРОНОВИЧ, UA, ФЕДОРОВА НАТАЛІЯ СТАНІСЛАВІВНА, UA

(57) Спосіб діагностики стану кишечника, що включає відбір калу як аналізу та його дослідження імуноферментним шляхом, який **відрізняється** тим, що додатково в аналізі досліджують концентрацію кальпротектину та визначають відсутність

хронічного запального захворювання кишок або функціональний розлад кишечника за анамнезом, якщо концентрація кальпротектину становить менше 50 мкг/г, або ідентифікують хронічне запальне захворювання кишок, якщо концентрація кальпротектину сягає вище 50 мкг/г, а диференціюючи значення концентрації кальпротектину, встановлюють помірний або легкий, або середній, або важкий ступінь тяжкості хронічного запального захворювання кишок, якщо значення концентрації фекального кальпротектину складає 50-100 або 101-250, або 251-500, або понад 501 мкг/г, відповідно.

Корисна модель відноситься до медицини, зокрема, до дослідження або аналізу матеріалів особливими способами, переважно, біологічних, до імунологічних іспитів, області дослідження мікробіологічних, ферментативних процесів і м, )- же бути використаною в гастроентерології, онкології, або в педіатрії.

Відомий спосіб діагностики стану кишечника, що включає відбір венозної крові як аналізу, біохімічне дослідження проби, визначення, оцінку концентрації С-реактивного білка в плазмі, ідентифікацію хронічного запального захворювання кишок (ХЗЗК), за перевищенням концентрації С-реактивного білка в плазмі 5 мг/л, як нормативного значення, і визначення ступені тяжкості ХЗЗК шляхом диференціювання значення концентрації С-реактивного білка за прямопропорційною залежністю від клінічних проявів запалення [1]. Наведений аналог ґрунтується на можливості констатації неспецифічної реакції С-реактивного білка на специфічні антитіла, котрий настає ще до виникнення клінічних ознак ХЗЗК, через 6-8 годин після гострої фази й досягає піку через 24-48 годин.

До недоліків способу відносяться інвазивний характер дослідження і замала достовірність кінцевого результату. Це зумовлене залученням венозної крові як аналізу, а з іншої сторони, недостатньою чутливістю та інформативністю (реактивного білка, відносно функціональних розладів кишечника (ФРК) та локалізації запального

процесу, відповідно. Більш за все, це впливає з відсутності запального компонента в етіології ХЗЗК і ФРК. Натомість, збільшення концентрації С-реактивного білка притаманне не лише ХЗЗК, але й хворобі Крона, неспецифічному виразковому коліту, проявам багатьох вірусних і бактерійних інфекцій, системним ревматичним захворюванням, іншим патологіям, а також процесам новоутворення, не зв'язаним з патологічними процесами шлунково-кишкового тракту. Поряд із цим, при хворобі Крона підвищення С-реактивного білка часто корелює зі ступенем вираженості запального процесу, а при неспецифічному виразковому коліті така тенденція не спостерігається [1,2].

Більш наближеним за кількістю істотних ознак до дійсної корисної моделі серед об'єктів аналогічного призначення є спосіб діагностики стану кишечника, що включає парентальне введення у шлунок лейкоцитів, мічених <sup>111</sup>Індієм, трикратне сканування їх накопичення в тканинах радіоізотопним шляхом через добу, відбір калу як аналізу, його імуноферментне дослідження, визначення триденної фекальної екскреції мічених лейкоцитів в аналізі і подальшу ідентифікацію ХЗЗК [3]. Даний спосіб відбиває закономірність підвищення міграції лейкоцитів в зоні запалення і є більш специфічним за клінічними ознаками, ніж попередній аналог. За умов відтворення способу усувається можливість інфікування крові під час її відбору, а разом із цим, пригнічуються фактор вірулентності

UA (19) 38640 (13) U

патогенних мікробів і спроможність збудників інфекційних хвороб проникати та розповсюджуватися в організмі, що ліквідує онтогенію інвазивних процесів. Необхідність трикратного сканування тканин зумовлена тим, що на першу добу запалення кишок екран сканографа нагадує про абсцеси печінки, селезінки й решти органів, а з часом, після елімінації певних процесів, картина запалення кишечника вимальовується чіткіше і з'являється інформація щодо запалення кишок.

Недоліками прототипу є недостатня достовірність кінцевого результанта безпеки опромінення радіоізотопом. По-перше, це виходить з недостатнього рівня опрацювання функціональних можливостей способу, з-поза відсутності умов, інтерпретації вихідних даних, наприклад, для встановлення ступені важкості ХЗЗК. і вузького діапазону діагностичної основи, що реалізує принцип «1 або 0», тобто наявності або відсутності ХЗЗК, без шансу виявлення ФРК. По-друге, ризик опромінення 111-Індієм у 2-4 рази вище, ніж від застосування решти радіоізотопів, і більше з кратністю сканування, при цьому небезпеці піддаються як пацієнти, так і медресонал.

Іншим недоліком способу є обмеження придатності за його низькою економічною рентабельністю, насамперед, з-поза високої вартості діагностичного обладнання, радіофармпрепаратів і необхідності підготовки медперсоналу для відповідної роботи. Поряд із цим, багатьом пацієнтам (вагітні, діти, особи похилого віку, пацієнти з новоутвореннями організму, з астенізацією органів і систем, тощо) протипоказаний вплив радіофармпрепаратами.

До основи дійсної корисної моделі поставлена задача вдосконалити спосіб діагностики стану кишечника, використання котрого дозволило б, на основі залучення фекального кальпротектину як маркера запального захворювання кишок, підвищити достовірність кінцевого результату, безпеку та розширити межі переважного використання.

Рішення поставленої задачі забезпечується тим, що при здійсненні у відомому способі діагностики стану кишечника, що включає відбір калу як аналізу та його дослідження імуноферментним шляхом, відповідно до корисної моделі, додатково в аналізі досліджують концентрацію кальпротектину та визначають відсутність хронічного запального захворювання кишок або функціональний розлад кишечника за анамнезом, якщо концентрація кальпротектину становить менше 50мкг/г, або ідентифікують хронічне запальне захворювання кишок, якщо концентрація кальпротектину сягає вище 50 мкг/г, а диференціюючи значення концентрації кальпротектину, встановлюють помірну, або легку, або середню, або важку ступінь важкості хронічного запального захворювання кишок, якщо значення концентрації фекального кальпротектину складає 50-100, або 101-250, або 251-500, або понад 501 мкг/г, відповідно.

Як інформує порівняння ознак прототипу та заявленого рішення задачі, межі вдосконалення останнього засновані на імуноферментному дослідженні активності фекального кальпротектину, вперше як маркера запального захворювання кишок, на оцінці значень його концентрації, з можли-

востями ідентифікації, констатації ступені важкості ХЗЗК або визначення ФРК, на основі анамнезу пацієнта.

Відомо, що кальпротектину, як нейтрофільномукальцію і зв'язаному білку, належить близько 60 % в обсязі цитоплазматичних протеїнів у крові [4], а оскільки запальні зміни стінки кишечника супроводжуються високою міграцією лейкоцитів у вогнище запалення та їхнім виділенням у просвіт кишок, то фекальний кальпротектин набув значення високоспецифічного маркера запалення. Тобто, дослідження його концентрації в аналізі шляхом *in vitro*, на тлі зростання кількості лейкоцитів, інформує не лише про наявність чи відсутність ХЗЗК, але й допускає визначення ступенів активності останнього, з можливістю відрізнення від ФРК, при збігу з поточним анамнезом пацієнта.

За цих умов виключається шкідливий вплив від застосування радіофармпрепаратів, суттєво більшає достовірність кінцевого результату, зростає функціональність, інформативність способу за рахунок інтерпретації вихідних даних та розширюються межі його використання.

Так, відсутність ХЗЗК або наявність ФРК за анамнезом піддаються ідентифікації за концентрацією фекального кальпротектину до 50 мкг/г в аналізі.

Дані анамнезу при концентрації фекального кальпротектину до 50 мкг/г теж набувають значення, адже біля 40 % гастроентерологічних хворих часто скаржаться на розлади кишкового ґенезу при відсутності запалення кишок [2], що при схожості патологій, частоті їх виникнення допускає кваліфікацію ФРК.

Інша закономірність зв'язується з констатацією наявності ХЗЗК, за перевищенням концентрації кальпротектину понад 50 мкг/г, що допускає диференціювання показника та визначення 4-х ступенів важкості ХЗЗК, в межах 50-100, або 101-250, або 251-500, або понад 501 мкг/г фекального кальпротектину.

Таким чином, відмітні ознаки дійсного способу є суттєвими і достатніми для вирішення поставленої задачі та досягнення технічного результату. Сукупність ознак способу відповідає критерію «новизна», оскільки має причинно-наслідковий зв'язок з реалізацією вищезазначеного технічного результату та не випливає з досліджуваного рівня техніки явним чином.

Відомості, котрі підтверджують можливість здійснення заявленого способу діагностики стану кишечника, з реалізацією вищезазначеного технічного результату полягають в наступному.

Для визначення концентрації кальпротектину залучають одноразові контейнери для збору кала (виробництво ТОВ «ГЕМОПЛАСТ», Україна), лабораторні пробірки (виробництво «Eppendorf», Швейцарія), лабораторна центрифуга, лабораторний прилад для імуноферментних аналізів «IKA-VIBRAX-VRX Ч виробництво Німеччина», тест-набори «CALPROTECTIN ELISA» (виробництво с BUNLMANN, Швейцарія).

Сутність. Оцінюють анамнез пацієнта, відбирають як аналізат проби калу і піддають її імуноферментному дослідженню у звичайних лабораторних умовах.

Зразки аналізату можуть зберігатися при Т - 20°C на протязі 3-х місяці:

У подальшому за допомогою вищезазначеного обладнання та реактивів досліджують концентрацію кальпротектину.

При концентрації фекального кальпротектину менше 50 мкг/г діагностують відсутність ХЗЗК, але, за наявності скарг за анамнезом, виявляють ФРК.

При концентрації фекального кальпротектину більше 50 мкг/г діагностують наявність ХЗЗК. Водночас, диференціюючи значення концентрації кальпротектину, встановлюють помірну, або легку, або середню, або важку ступінь важкості ХЗЗК, якщо концентрація фекального кальпротектину складає 50-100, або 10-250, або 251-500, або понад 501 мкг/г, відповідно.

Таким чином, діагностування стану кишечника на основі фекального кальпротектину як маркера запального захворювання кишок у запропонований спосіб забезпечує підвищення достовірності кінцевого результату ( $p > 0,92$ ) не інвазивним шляхом, максимальну безпеку, без використання радіологічних засобів і високовартісної техніки, що сприяє розширенню меж його переважного використання.

Приклад № 1. Хвора М., 1974 р.н. зверталась у Дніпропетровську ОКЛ ім. Мечнікова з приводу болів сигмовидної кишки періодичного характеру, порушення стулу, здуття живота, періодичну нудоту (і/х. № 3457П0608, від 05.06.08).

Перед наданням медичної допомоги здійснювали діагностування за умов заявленого способу. Відбирали пробу калу, в котрій визначали концентрацію кальпротектину імуноферментним шляхом. За лабораторними даними концентрація фекального кальпротектину в аналізаті складала 38 мкг/г, тобто не перевищувала норми у 50 мкг/г. На підставі анамнезу гастроентерологом був визначений як ФРК, а саме синдром подразнення кишки, що виключило необхідність проведення у пацієнтки фіброколоноскопії та сприяло призначенню адекватного курсу терапії (спазмолітиками, антагоністами кальцію, препаратами корисної кишкової флори).

Приклад № 2. Хворий Р., 1979 р.н. звертався у Дніпропетровську ОКЛ і ; Мечнікова з приводу болів сигмовидної кишки періодичного характеру, порушення стулу, здуття живота, періодичну нудоту (і/х № 3358П0508, від 25.05.08).

Перед наданням медичної допомоги здійснювали діагностування за умов заявленого способу. Відбирали пробу калу, в котрій визначали концен-

трацію кальпротектину імуноферментним шляхом. За лабораторними даними концентрація фекального кальпротектину в аналізаті складала 127 мкг/г і перевищувала норму. Гастроентерологом було діагностовано ХЗЗК легкого ступеня важкості (101-250 мкг/г). За даними додаткової ректороманоскопії виявили ознаки неспецифічного виразкового коліту. Призначили адекватну протизапальну терапію в амбулаторних умовах.

Отже, наведені приклади клінічного використання запропонованого рішення задачі інформують про можливість застосування фекального кальпротектину як високочутливого та не інвазивного біологічного маркера запального захворювання кишок і диференціювання значень його концентрації, з можливістю ідентифікації, констатації ступені важкості ХЗЗК або визначення ФРК, на основі анамнезу пацієнта. Спосіб реалізується без інвазивних втручань у безпечних умовах, без спеціальної обробки досліджуваного аналізату, проведення додаткових ендоскопічних і морфологічних досліджень.

Запропоноване рішення задачі відповідає умові «промислова придатність», як таке, що може бути використаним в гастроентеро-, онкології, або в педіатрії, з можливістю реалізації продукту у вигляді діагностичного висновку, з переверненням вищенаведеного технічного результату. При цьому характеристика заявленого способу, що зазначена у Формулі, визначає відмінність його від об'єктів подібного призначення й допускає можливість набуття правового статусу як корисної моделі процесу.

Аналоги та інші джерела посилання:

1. Свінціцкий А.С. Диагностика та лікування поширених захворювань органів травлення //К.: Медкнига, 2007. -С. 296.

2. Златкина А.Р. Синдром раздражённого кишечника // Рос. Журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. -2000. -ТЛО. -№1. -С.13-17.

3. A.G. Roseth, P.N.Schmidt, M.K. Fagerhol. Correlation Between Faecal Excretion of Indium-111 Labeled Granulocytes and Calprotectin Granulocyte Marker Protein in Patients with Inflammatory Bowel Disease // Scand. Journal Gastroenterol.-gy. -1999. -№1.-P.50-54.

4. A.G.Roseth, E.Aadland, M.K.Fagerhol. Denmark Assessment of The Neutrophil Dominating Protein Calprotectin. Oslo: Department of Medicine and Pathology. Aker Hospital. -1999. -№ 21. -P. 279-286.