

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 379 066**

51 Int. Cl.:  
**C07H 21/04** (2006.01)

12

### TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **03749438 .2**
- 96 Fecha de presentación: **05.09.2003**
- 97 Número de publicación de la solicitud: **1539791**
- 97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.06.2005**

54 Título: **Método para distinguir la colitis ulcerosa de la enfermedad de Crohn detectando la presencia de anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA) fecales**

30 Prioridad:  
**05.09.2002 US 408809 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**20.04.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**20.04.2012**

73 Titular/es:  
**TECHLAB, INC.  
2001 KRAFT DRIVE  
BLACKSBURG, VA 24060-6358, US**

72 Inventor/es:  
**BOONE, James, Hunter;  
LYERLY, David, Maxwell y  
WILKINS, Tracy, Dale**

74 Agente/Representante:  
**de Elizaburu Márquez, Alberto**

**ES 2 379 066 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Método para distinguir la colitis ulcerosa de la enfermedad de Crohn detectando la presencia de anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA) fecales

### Antecedentes de la invención

5 Esta invención se refiere a métodos no invasivos para diferenciar subtipos clínicos de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal, a saber la Enfermedad de Crohn (EC) y la Colitis Ulcerosa (CU). Más específicamente, esta invención se refiere a un método para ayudar en la diferenciación de la enfermedad de Crohn de la colitis ulcerosa determinando la presencia de anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA, por sus siglas en inglés), en el que la presencia de ANCA es indicativa de colitis ulcerosa, según la reivindicación 1. La presencia de ANCA fecales se puede usar para diferenciar la colitis ulcerosa de otras enfermedades gastrointestinales tales como el Síndrome del Intestino Irritable.

10 1 Millón estimado de americanos adolece de Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII). La EII se caracteriza por una respuesta inflamatoria crónica que resulta en daño histológico para el revestimiento intestinal. La enfermedad de Crohn puede implicar a todo el tracto gastrointestinal e incluye inflamación que se extiende a la mucosa transmural, mientras que la colitis ulcerosa afecta solamente al intestino grueso e incluye inflamación del revestimiento más interior. Estas dos enfermedades distintas requieren un diagnóstico diferencial rápido para el tratamiento óptimo. Los métodos convencionales que utilizan múltiples exámenes por endoscopia y análisis histológicos pueden llevar años para confirmar un diagnóstico. La patente de Estados Unidos nº 6.218.120 describe un método de determinar la presencia de ANCA de suero como un marcador para diagnosticar la EII. No obstante, no describe un método para diagnosticar la colitis ulcerosa en un paciente diagnosticado con EII. Además, el método no describe analizar heces humanas en presencia de ANCA.

15 Existen otros métodos en los que se analizan muestras de suero para detectar la presencia de anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos, tal como en el documento WO 99/60403. Además, hay métodos descritos que indican que la presencia de anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos en sueros puede estar relacionada con colitis ulcerosa, tal como los descritos en el trabajo de Roozendaal C. et al., *Clinical and Experimental Immunology*, Oxford, GB, vol. 116, nº 2 (1999-2005), paginas 206-213 y Database Biosis [en línea] Biosciences Information Service, Filadelfia, PA, US: 2002 Lecis Pierrenrico et al.: “[p-ANCA and ASCA antibodies and the differential diagnosis between ulcerative colitis and Crohn’s disease]”.

20 El documento EP 0615129 describe métodos y kits para detectar la presencia de anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos para diagnosticar colitis ulcerosa en suero y también analiza el suero de pacientes para detectar la presencia de anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos.

25 El documento US 5.932.429 describe un método para diagnosticar un subtipo clínico de la enfermedad de Crohn determinando si el anticuerpo antineutrófilo perinuclear (pANCA, por sus siglas en inglés) está presente en un paciente con enfermedad de Crohn obteniendo una muestra de suero de un paciente con enfermedad de Crohn.

30 En *Med. Microbiol.* vol. 39 (1993), 408-415, C. A. Siddons y P. A. Chapman describen un estudio en el que el objetivo era comparar métodos para la detección de suero y anticuerpos fecales en colitis hemorrágica (CH) producida por infección adquirida por cepas de *E. coli* que producen verocitotoxina.

35 Por consiguiente, persiste una necesidad en la industria del diagnóstico para un método no invasivo de diagnosticar diferencialmente la colitis ulcerosa de la enfermedad de Crohn u otras enfermedades gastrointestinales.

### 40 Sumario de la invención

Por consiguiente, se crean métodos no invasivos para diferenciar entre diagnósticos de colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn.

45 En particular, la presente invención se refiere a un método de analizar una muestra fecal para ayudar en la diferenciación de la colitis ulcerosa de la enfermedad de Crohn como se reivindica más adelante en ésta. Las realizaciones preferidas de la invención se exponen en las reivindicaciones dependientes.

También se describen métodos para diferenciar entre colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn en los que la presencia de ANCA fecales se usa como un marcador para la colitis ulcerosa.

Se describen inmunoensayos, e. g., inmunoensayos ligados a enzimas, que utilizan anticuerpos específicos para las inmunoglobulinas humanas para la medida de ANCA endógenos totales en heces humanas.

50 También se describen métodos que diagnostican diferencialmente la colitis ulcerosa de otras enfermedades gastrointestinales, tales como el síndrome del intestino irritable (SII). Aún en otro de sus aspectos, la presente invención crea métodos para diagnosticar la colitis ulcerosa en los que la presencia de ANCA se usa como un marcador para la colitis ulcerosa, según las reivindicaciones.

5 Según la presente invención, los anteriores aspectos se consiguen mediante un método no invasivo para ayudar en la diferenciación de la colitis ulcerosa de la enfermedad de Crohn en un paciente que se presente con EII. En el método de la presente invención, se usan ANCA fecales como un marcador y la presencia de ANCA indica un diagnóstico diferencial de la colitis ulcerosa. Este diagnóstico rápido se puede usar entonces por los profesionales de la atención sanitaria para prescribir el tratamiento apropiado.

Aspectos de la presente invención también se consiguen mediante inmunoensayos que utilizan anticuerpos específicos para las inmunoglobulinas humanas para la medida de ANCA endógenos totales en heces humanas.

10 Aspectos adicionales de la invención, junto con las ventajas y nuevas características accesorias a ellas, se expondrán en parte en la descripción que sigue y en parte serán evidentes para los expertos en la técnica tras el examen de lo siguiente o se pueden aprender de la práctica de la invención. Los objetos y ventajas de la invención se pueden realizar y alcanzar por los medios, mediación y combinaciones particularmente señaladas en las reivindicaciones adjuntas.

**Breve descripción de la vista del dibujo**

15 La Fig. 1 es una representación gráfica de una curva patrón de anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos de acuerdo con una realización de la presente invención.

**Descripción detallada de la invención**

20 La presente invención se dirige a métodos no invasivos para diferenciar entre colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn usando la presencia de ANCA fecales como indicador de la colitis ulcerosa. Se describe un método para diferenciar entre colitis ulcerosa y otras enfermedades gastrointestinales tales como SII. Se describen inmunoensayos que utilizan anticuerpos específicos para las inmunoglobulinas humanas para la medida de ANCA endógenos totales en heces humanas. Las realizaciones particulares descritas en esta invención tienen la intención, a todos los respetos, de ser ilustrativas más bien que restrictivas.

25 Se pueden usar inmunoensayos específicos de ANCA para diferenciar la colitis ulcerosa y la colitis indeterminada de la enfermedad de Crohn mediante la medida de la presencia de ANCA endógenos totales. Además de materia fecal, se puede analizar una muestra de sangre entera, suero, plasma u otro fluido o tejido corporal para detectar ANCA para diagnosticar colitis ulcerosa. Este diagnóstico diferencial se puede usar entonces por los profesionales de la atención sanitaria para determinar el tratamiento óptimo. Un inmunoensayo cualitativo, tal como una tira reactiva de flujo lateral, que utiliza anticuerpos tanto monoclonales como policlonales para ANCA humanos endógenos para indicar la presencia de colitis ulcerosa.

30 En el inmunoensayo cualitativo, la muestra fecal o corporal se diluye 10 veces y se añade a un pocillo que contiene antígenos neutrófilos inmovilizados. Si están presentes ANCA fecales endógenos, se unirán a los antígenos neutrófilos durante una etapa de incubación a 37°C. A continuación de la incubación, se añaden anticuerpos para inmunoglobulina humana polivalentes acoplados a una enzima, tal como enzima peroxidasa de rábano picante, (conjugados), y se dejan que se unan a los ANCA capturados. El conjugado no unido se lava después del pocillo y se añade un sustrato componente (e. g., tetrametilbencideno y peróxido de hidrógeno) para el desarrollo del color. A continuación de la incubación del sustrato, se añade ácido sulfúrico 0,1 M para detener la reacción y se obtiene la densidad óptica (DO) espectrofotométricamente a 450 nm.

40 En un estudio clínico, se inscribió un total de 98 pacientes con EII y comprendían 51% de machos y 49% de hembras con un intervalo de edad de 0 hasta 69 años. La relación aproximada de 1 a 1 es similar a la relación observada en las poblaciones de pacientes con EII. El grupo de pacientes con SII tenía un intervalo de edad de 5 hasta 39 años con 57% de machos y 43% de hembras. Los testigos sanos eran 55% de machos y 45% de hembras y comprendían un intervalo de edad de 20 hasta 79 años. Los números individuales para cada grupo de edad se muestran en la Tabla 1.

45 TABLA 1. Resumen de población de pacientes

<b>Resumen de historias clínicas (N=116)</b>	<b>Sujetos totales</b>
Número total de pacientes con EII	98
Nº de machos	50
Nº de hembras	48
Número total de pacientes con enfermedad de Crohn	47
Nº de machos	26
Nº de hembras	21
Número total de pacientes con colitis ulcerosa	51

Nº de machos	24
Nº de hembras	27
Número total de pacientes con síndrome del intestino irritable	7
Nº de machos	4
Nº de hembras	3
Número total de personas sanas	11
Nº de machos	6
Nº de hembras	5

5 Había 51 pacientes con colitis ulcerosa (CU), 47 pacientes con enfermedad de Crohn (EC), 7 pacientes con  
 10 síndrome del intestino irritable (SII) y 11 pacientes sanos (S) adultos reclutados para el estudio. Las muestras  
 15 fecales se recogieron de cada paciente inscrito y se almacenaron a -70°C hasta que se analizaron. La consistencia  
 de las muestras variaba desde sólida hasta líquida. El nivel de ANCA fecales se determinó usando ELISA de ANCA  
 cualitativo como se describe previamente. La actividad de la enfermedad se definió usando lactoferrina fecal elevada  
 como un indicador de la inflamación intestinal. En el ensayo ELISA cualitativo se usó una dilución de 1:10 y los  
 resultados se presentaron como positivo (valores de absorbancia  $\geq 0,140$ ) o negativo (valores de absorbancia  $< 0,140$ ). Las densidades ópticas medias, la desviación estándar y los valores de P (ensayo t de Student de dos colas  
 con varianza desigual) se determinaron para los pacientes con colitis ulcerosa positivos en ANCA. De los 26  
 pacientes que se analizaron positivos para ANCA fecales, había cuatro pacientes que tenían enfermedad de Crohn,  
 21 tenían colitis ulcerosa y un paciente estaba sano. La colitis ulcerosa positiva en ANCA mostró una  $DO_{450}$  media  $\pm$   
 DE de  $0,311 \pm 0,166$ . La densidad óptica media para los pacientes con colitis ulcerosa era significativamente  
 diferente de las personas con SII y sanas (valor de  $p < 0,0005$ ). Un resumen del análisis estadístico se lista en la  
 Tabla 2.

TABLA 2. Resumen de la desviación media, estándar y valores de P para densidades ópticas según el ensayo ELISA cualitativo

ID del Grupo	Número	Densidad Óptica Media	Desviación Estándar	Intervalo de Densidad Óptica	Valores de P
ANCA + CU	21	0,311	0,166	0,141-0,804	CU vs EC P<0,5
ANCA + EC	4	0,209	0,115	0,141-0,381	CU vs EC, SII, S P<0,0005
SII	7	0,078	0,027	0,047-0,121	CU vs EC, SII P<0,005
Sanos	11	0,071	0,041	0,039-0,104	CU vs SII, S P<0,0005

20 En el grupo de pacientes con EII, había 47 con enfermedad de Crohn y 51 con colitis ulcerosa. En el grupo con  
 colitis ulcerosa, 41% fueron positivos. En el grupo con enfermedad de Crohn, un total de 9% de pacientes fueron  
 positivos usando el ensayo ELISA cualitativo. De las 11 personas sanas, 1 fue positivo y todos los 7 pacientes con  
 SII fueron negativos por el ensayo ELISA cualitativo. Un resumen de resultados positivos para el ensayo ELISA  
 cualitativo se muestra en la Tabla 3 y resultados individuales se listan en la Tabla 4 y Tabla 5.

TABLA 3. Resumen de resultados positivos para la enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y SII.

Evaluaciones totales N = 116	Total	ANCA fecales positivos	ANCA fecales negativos
EII totales (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa)	98	26% (25)	75% (73)
Enfermedad de Crohn totales	47	9% (4)	91% (43)
Colitis ulcerosa totales	51	41% (21)	59% (30)
SII totales	7	0	7
Personas sanas totales	11	9% (1)	91% (10)

25

Cuando se distingue colitis ulcerosa de enfermedad de Crohn, el ensayo ELISA cualitativo exhibió una sensibilidad de 41% y especificidad de 92%. Los valores positivos y negativos predictivos fueron 84% y 59%, respectivamente, y la correlación fue 65% (Tabla 4).

5 TABLA 4: Evaluación estadística usando el ensayo ELISA cualitativo para distinguir la enfermedad de Crohn de la colitis ulcerosa

N = 98	Colitis ulcerosa	Enfermedad de Crohn
ANCA positivo	21	4
ANCA negativo	30	43

Sensibilidad	41%
Especificidad	92%
Valor positivo predictivo	84%
Valor negativo predictivo	59%
Correlación	65%

10 Cuando se distingue colitis ulcerosa del síndrome del intestino irritable y personas sanas, el ensayo ELISA cualitativo exhibió una sensibilidad de 41% y especificidad de 92%. Los valores positivos y negativos predictivos fueron 81% y 67%, respectivamente, y la correlación fue 70%, como se muestra en la Tabla 5.

TABLA 5: Evaluación estadística usando el ensayo ELISA cualitativo para distinguir colitis ulcerosa de enfermedad de Crohn, síndrome del intestino irritable y personas sanas

N = 116	Colitis ulcerosa	Enfermedad de Crohn, SII/Sanas
ANCA positivo	21	5
ANCA negativo	30	60

Sensibilidad	41%
Especificidad	92%
Valor positivo predictivo	81%
Valor negativo predictivo	67%
Correlación	70%

15 La sensibilidad del ensayo ELISA cualitativo se determinó usando diluciones al doble en serie de suero positivo de ANCA humano. Para el análisis, se generaron curvas patrón usando el diluyente de la muestra. El ensayo fue consistentemente positivo hasta un título de 0,063, como se determina mediante un valor de corte de absorbancia de  $\geq 0,200$ . Los resultados individuales se muestran debajo en la Tabla 6 y las curvas patrón se muestran en la Fig. 1.

20 TABLA 6. Curvas patrón generadas usando ensayo ELISA cualitativo (los cortes están en negrita)

Suero ANCA Humano	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Media	Desv. Est.
1,000 (puro)	1,441	1,469	1,525	1,478	0,043
0,500	1,098	0,941	1,014	1,018	0,079
0,250	0,717	0,595	0,666	0,659	0,061
0,125	0,492	0,428	0,444	0,455	0,033
0,063	<b>0,327</b>	0,303	0,320	0,317	0,012
0,032	0,196	<b>0,295</b>	<b>0,221</b>	<b>0,237</b>	0,051
0,016	0,132	0,184	0,179	0,165	0,029
Diluyente	0,067	0,093	0,109	0,090	0,021

25 La Tabla 7, a continuación, contiene los datos clínicos y los resultados de ensayo para pacientes con colitis ulcerosa que participaron en el estudio. La Tabla 8, más adelante, contiene los datos clínicos y los resultados de ensayo para pacientes con enfermedad de Crohn que participaron en el estudio. La Tabla 9, más adelante, contiene los datos clínicos y los resultados de ensayo para pacientes con síndrome del intestino irritable que participaron en el estudio. La Tabla 10, más adelante, contiene los datos clínicos y los resultados de ensayo para pacientes sanos que participaron en el estudio.

TABLA 7. Datos clínicos y resultados del ELISA para pacientes con colitis ulcerosa

ID del paciente	Sexo	Intervalo de edad	Enfermedad	Actividad de la enfermedad	DO <sub>450</sub> por ELISA	Resultado del ELISA
CU1	H	10-19	CU	INACTIVA	0,053	NEGATIVO
CU2	H	5-9	CU	INACTIVA	0,107	NEGATIVO
CU3	H	5-9	CU	ACTIVA	0,058	NEGATIVO
CU4	M	10-19	CU	INACTIVA	0,048	NEGATIVO
CU5	M	10-19	CU	ACTIVA	0,512	POSITIVO
CU6	H	10-19	CU	ACTIVA	0,061	NEGATIVO
CU7	M	5-9	CU	ACTIVA	0,211	POSITIVO
CU8	M	10-19	CU	ACTIVA	0,106	NEGATIVO
CU9	M	10-19	CU	INACTIVA	0,804	POSITIVO
CU10	M	10-19	CU	ACTIVA	0,091	NEGATIVO
CU11	H	10-19	CU	ACTIVA	0,169	POSITIVO
CU12	H	10-19	CU	ACTIVA	0,209	POSITIVO
CU13	H	10-19	CU	ACTIVA	0,351	POSITIVO
CU14	H	10-19	CU	ACTIVA	0,198	POSITIVO
CU15	H	5-9	CU	ACTIVA	0,098	NEGATIVO
CU16	H	5-9	CU	ACTIVA	0,050	NEGATIVO
CU17	H	10-19	CU	ACTIVA	0,091	NEGATIVO
CU18	M	10-19	CU	ACTIVA	0,603	POSITIVO
CU19	M	10-19	CU	ACTIVA	0,091	NEGATIVO
CU20	F	10-19	CU	ACTIVA	0,142	POSITIVO
CU21	M	10-19	CU	ACTIVA	0,074	NEGATIVO
CU22	H	10-19	CU	ACTIVA	0,105	NEGATIVO
CU23	M	10-19	CU	INACTIVA	0,256	POSITIVO
CU24	H	0-4	CU	ACTIVA	0,308	POSITIVO
CU25	H	5-9	CU	ACTIVA	0,072	NEGATIVO
CU26	M	10-19	CU	INACTIVA	0,237	POSITIVO
CU27	M	10-19	CU	ACTIVA	0,048	NEGATIVO
CU28	M	10-19	CU	ACTIVA	0,049	NEGATIVO
CU29	M	10-19	CU	ACTIVA	0,059	NEGATIVO
CU30	H	10-19	CU	INACTIVA	0,047	NEGATIVO
CU31	M	10-19	CU	ACTIVA	0,055	NEGATIVO
CU32	M	10-19	CU	INACTIVA	0,044	NEGATIVO
CU33	H	10-19	CU	ACTIVA	0,043	NEGATIVO
CU34	M	5-9	CU	ACTIVA	0,046	NEGATIVO
CU35	M	10-18	CU	INACTIVA	0,043	NEGATIVO
CU36	M	10-17	CU	INACTIVA	0,040	NEGATIVO
CU37	H	10-19	CU	ACTIVA	0,047	NEGATIVO
CU38	H	0-4	CU	ACTIVA	0,049	NEGATIVO
CU39	H	5-9	CU	INACTIVA	0,363	POSITIVO
CU40	H	10-19	CU	INACTIVA	0,046	NEGATIVO
CU41	M	10-19	CU	ACTIVA	0,118	NEGATIVO
CU42	H	50-59	CU	ACTIVA	0,230	POSITIVO
CU43	M	10-19	CU	ACTIVA	0,051	NEGATIVO
CU44	H	30-39	CU	ACTIVA	0,060	NEGATIVO
CU45	H	50-59	CU	ACTIVA	0,465	POSITIVO
CU46	M	50-59	CU	ACTIVA	0,274	POSITIVO
CU47	H	30-39	CU	ACTIVA	0,141	POSITIVO
CU48	M	60-69	CU	ACTIVA	0,184	POSITIVO
CU49	H	40-49	CU	ACTIVA	0,397	POSITIVO
CU50	H	40-49	CU	ACTIVA	0,337	POSITIVO
CU51	M	30-39	CU	ACTIVA	0,143	POSITIVO

TABLA 8. Datos clínicos y resultados del ELISA para pacientes con enfermedad de Crohn

ID del paciente	Sexo	Intervalo de edad	Enfermedad	Actividad de la enfermedad	DO <sub>450</sub> por ELISA	Resultado del ELISA
EC1	M	10-19	EC	ACTIVA	0,050	NEGATIVO
EC2	M	10-19	EC	ACTIVA	0,113	NEGATIVO
EC3	M	10-19	EC	ACTIVA	0,050	NEGATIVO
EC4	H	10-19	EC	ACTIVA	0,381	POSITIVO
EC5	H	10-19	EC	ACTIVA	0,058	NEGATIVO
EC6	M	10-19	EC	INACTIVA	0,068	NEGATIVO
EC7	M	10-19	EC	ACTIVA	0,066	NEGATIVO
EC8	M	5-9	EC	ACTIVA	0,059	NEGATIVO
EC9	H	10-19	EC	ACTIVA	0,059	NEGATIVO
EC10	H	10-19	EC	ACTIVA	0,065	NEGATIVO
EC11	H	10-19	EC	INACTIVA	0,055	NEGATIVO
EC12	M	10-19	EC	INACTIVA	0,071	NEGATIVO
EC13	H	10-19	EC	ACTIVA	0,065	NEGATIVO
EC14	M	10-19	EC	ACTIVA	0,098	NEGATIVO
EC15	H	10-19	EC	ACTIVA	0,099	NEGATIVO
EC16	M	10-19	EC	ACTIVA	0,166	POSITIVO
EC17	H	10-19	EC	ACTIVA	0,147	POSITIVO
EC18	M	10-19	EC	ACTIVA	0,057	NEGATIVO
EC19	H	10-19	EC	ACTIVA	0,084	NEGATIVO
EC20	M	10-19	EC	ACTIVA	0,053	NEGATIVO
EC21	H	10-19	EC	ACTIVA	0,074	NEGATIVO
EC22	M	10-19	EC	ACTIVA	0,054	NEGATIVO
EC23	M	0-5	EC	ACTIVA	0,055	NEGATIVO
EC24	M	10-19	EC	ACTIVA	0,067	NEGATIVO
EC25	M	10-19	EC	ACTIVA	0,099	NEGATIVO
EC26	M	5-9	EC	ACTIVA	0,086	NEGATIVO
EC27	H	10-19	EC	ACTIVA	0,043	NEGATIVO
EC28	H	10-19	EC	ACTIVA	0,064	NEGATIVO
EC29	M	5-9	EC	INACTIVA	0,039	NEGATIVO
EC30	M	10-19	EC	ACTIVA	0,071	NEGATIVO
EC31	H	10-15	EC	ACTIVA	0,109	NEGATIVO
EC32	M	10-19	EC	INACTIVA	0,057	NEGATIVO
EC33	M	10-19	EC	ACTIVA	0,141	POSITIVO
EC34	M	10-19	EC	INACTIVA	0,045	NEGATIVO
EC35	H	10-19	EC	ACTIVA	0,051	NEGATIVO
EC36	H	10-19	EC	ACTIVA	0,132	NEGATIVO
EC37	H	10-19	EC	INACTIVA	0,046	NEGATIVO
EC38	M	10-19	EC	ACTIVA	0,057	NEGATIVO
EC39	H	20-29	EC	INACTIVA	0,051	NEGATIVO
EC40	H	20-29	EC	ACTIVA	0,053	NEGATIVO
EC41	M	50-59	EC	ACTIVA	0,060	NEGATIVO
EC42	H	50-59	EC	ACTIVA	0,062	NEGATIVO
EC43	M	20-29	EC	ACTIVA	0,056	NEGATIVO
EC44	H	60-69	EC	ACTIVA	0,130	NEGATIVO
EC45	M	60-69	EC	ACTIVA	0,078	NEGATIVO
EC46	H	40-49	EC	ACTIVA	0,116	NEGATIVO
EC47	M	60-69	EC	ACTIVA	0,057	NEGATIVO

TABLA 9. Datos clínicos y resultados del ELISA para pacientes con síndrome del intestino irritable

ID del paciente	Sexo	Intervalo de edad	Enfermedad	DO <sub>450</sub> por ELISA	Resultados del ELISA
SII1	H	10-19	SII	0,056	NEGATIVO
SII2	M	10-19	SII	0,047	NEGATIVO
SII3	M	5-9	SII	0,099	NEGATIVO
SII4	M	10-19	SII	0,068	POSITIVO
SII5	M	10-19	SII	0,092	NEGATIVO
SII6	H	20-29	SII	0,121	NEGATIVO
SII7	H	30-39	SII	0,064	NEGATIVO

TABLA 10. Datos clínicos y resultados del ELISA para personas sanas

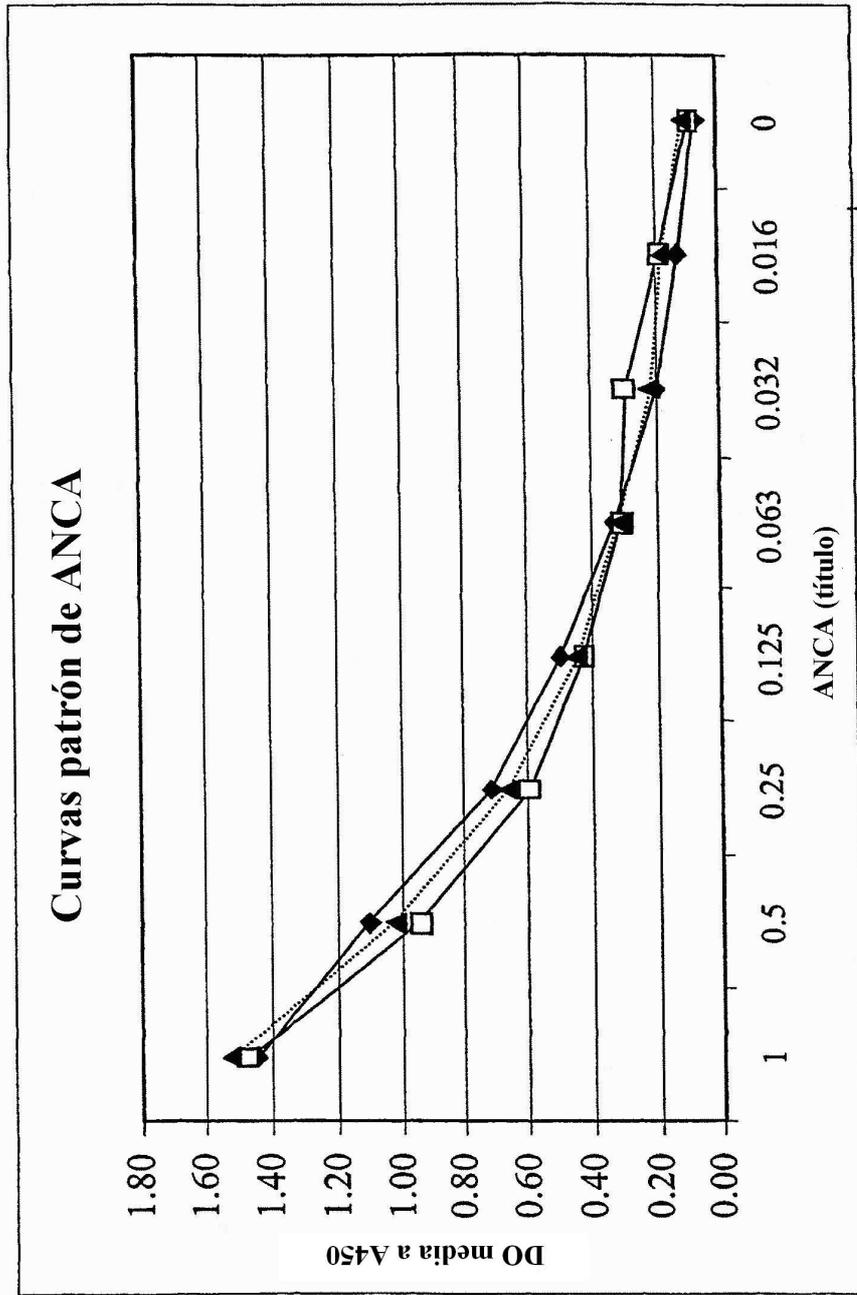
ID del paciente	Sexo	Intervalo de edad	DO <sub>450</sub> por ELISA	Resultados del ELISA
D1	H	40-49	0,087	NEGATIVO
D2	M	20-29	0,078	NEGATIVO
D5	M	20-29	0,178	POSITIVO
D15	M	50-59	0,041	NEGATIVO
D17	M	50-59	0,039	NEGATIVO
D18	H	40-49	0,069	NEGATIVO
D19	H	60-69	0,050	NEGATIVO
D20	M	70-79	0,039	NEGATIVO
D21	H	70-79	0,104	NEGATIVO
D22	M	60-69	0,045	NEGATIVO
D24	H	50-59	0,054	NEGATIVO

- 5 En resumen, la presente invención se dirige a métodos no invasivos para ayudar en la diferenciación de la colitis ulcerosa de la enfermedad de Crohn determinando la presencia de ANCA como un marcador de la colitis ulcerosa, según la reivindicación 1. Se describen inmunoensayos, e. g., inmunoensayos ligados a enzimas, cualitativos, que utilizan anticuerpos específicos para las inmunoglobulinas humanas para la medida de ANCA endógenos totales en heces humanas. La presente invención ha sido descrita en relación con realizaciones particulares que tienen la intención, a todos los respectos, de ser ilustrativas más bien que restrictivas.
- 10

De lo anteriormente expuesto, se verá que esta invención es una bien adaptada para alcanzar todos los extremos y objetos expuestos anteriormente en ésta junto con otras ventajas que son obvias y que son inherentes al método.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1.- Un método para analizar una muestra fecal para ayudar en la diferenciación de la colitis ulcerosa de la enfermedad de Crohn en una persona que se presenta con enfermedad inflamatoria intestinal; comprendiendo el método: diluir una muestra fecal obtenida de una persona; determinar la presencia de anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos en la muestra tal que se pueda concluir un diagnóstico de colitis ulcerosa.
- 10 2.- El método como se expone en la reivindicación 1, que comprende además poner en contacto la muestra con antígenos citoplasmáticos neutrófilos para crear una muestra tratada, poner en contacto la muestra tratada con anticuerpos polivalentes para la inmunoglobulina humana para crear una muestra legible y determinar una densidad óptica de la muestra legible a 450 nm, en el que la densidad óptica corresponde a un nivel de anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos endógenos en la muestra y proporciona una medida de los ANCA endógenos totales en la muestra tal que se pueda concluir un diagnóstico de colitis ulcerosa.
- 15 3.- El método como se expone en la reivindicación 1, que comprende además: poner en contacto la muestra con antígenos citoplasmáticos neutrófilos para crear una muestra tratada.
- 4.- El método como se expone en la reivindicación 3, que comprende además: poner en contacto la muestra con anticuerpos polivalentes para la inmunoglobulina humana para crear una muestra legible.
- 5.- El método como se expone en la reivindicación 4, que comprende además: determinar una densidad óptica de la muestra legible a 450 nm, en el que la densidad óptica corresponde a un nivel de anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos endógenos en la muestra.



**FIG. 1**