



MD 357 Y 2011.04.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **357** (13) **Y**

(51) Int. Cl.: *A61B 10/00* (2006.01)
G01N 1/30 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
G01N 33/567 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)
G01N 33/577 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

În termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție de scurtă durată, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: s 2011 0006 (22) Data depozit: 2011.01.03	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2011.04.30, BOPI nr. 4/2011
(71) Solicitant: ȘAPTEFRAȚI Lilian, MD (72) Inventatori: ȘAPTEFRAȚI Lilian, MD; CERNÎI Anatol, MD; MAZURU Vitalie, MD; GUȚU Lilian, MD CARDANIUC Corina, MD; ANCUȚA Eugen, RO; ANCUȚA Codrina, RO (73) Titular: ȘAPTEFRAȚI Lilian, MD	

(54) Metodă de pronostic al riscului metastazării hematogene după tratamentul neoplaziei colului uterin

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la medicină, în special la morfopatologia oncologică și poate fi utilizată pentru pronosticul riscului metastazării hematogene după tratamentul neoplaziilor colului uterin prin utilizarea imunocolorării duble cu anticorpi monoclonali anti-CD31 și anti- α actină a mușchiului neted.

Esența invenției constă în aceea că se pregătesc secțiuni histologice din biotatate cu grosimea de 3 μ m, se colorează cu hematoxilină-eozină, după care se efectuează reacțiile de imunocolorare cu anticorpii monoclonali anti-CD31, clona JC70A, cu colorarea

2

5 in brun a endoteliului vaselor, apoi cu anticorpii monoclonali anti- α actină a mușchiului neted, clona 1A4 cu colorarea în roșu a celulelor musculare perivascularare și pericitelor, în baza cărora se determină numărul de vase imature și dacă se determină până la 5 vase imature, se pronosticează un risc minor de metastazare hematogenă, iar dacă sunt mai mult de 5 vase imature, se pronosticează un risc sporit al metastazării hematogene.

Revendicări: 1

15

(54) Method for predicting the risk of hematogenic metastasis after treatment of neoplasia of the neck of uterus

MD 357 Y 2011.04.30

(57) Abstract:

1 The invention relates to medicine, in particular to oncologic morphopathology and can be used for predicting the risk of hematogenic metastasis after treatment of neoplasia of the neck of uterus using the immunological double staining with monoclonal antibodies anti-CD31 and anti- α smooth muscle actin.

Summary of the invention consists in that there are prepared histological sections from biopsy materials of a thickness of 3 μ m, they are stained with hematoxylin-eosin, and then there are carried out the reactions of immunological staining with monoclonal

2 antibody anti-CD31, clone IC70A, with staining in brown of vascular endothelium, afterwards with the monoclonal antibody anti- α smooth muscle actin, clone 1A4, with staining in red of perivascular muscle cells and pericytes, on the basis of which is determined the number of immature vessels and if it is determined up to 5 immature vessels, it is predicted a minor risk of hematogenic metastasis, and if more than 5 immature vessels, it is predicted an increased risk of hematogenic metastasis.

Claims: 1

(54) Метод прогнозирования риска гематогенного метастазирования после лечения неоплазии шейки матки

(57) Реферат:

1 Изобретение относится к медицине, в частности к онкологической морфопатологии и может быть использовано для прогнозирования риска гематогенного метастазирования после лечения неоплазии шейки матки с использованием иммунологического двойного окрашивания с моноклональными антителами анти - CD31 и анти- α актином гладкой мышцы.

Сущность изобретения состоит в том, что приготавливают гистологические срезы из биоптатов толщиной 3 мкм, окрашивают гематоксилин-эозином, после чего выполняют реакции иммунного окрашивания моноклональным антителом анти - CD31,

2 клон JC70A, с окрашиванием сосудистого эндотелия в коричневый цвет, затем моноклональным антителом анти- α актин гладкой мышцы, клон 1A4, с окрашиванием периваскулярных мышечных клеток и перидитов в красный цвет, на основе которых определяют число незрелых сосудов и если определяют до 5 незрелых сосудов, то прогнозируют минимальный риск гематогенного метастазирования, а если более 5 незрелых сосудов - прогнозируют повышенный риск гематогенного метастазирования.

П. формулы: 1

Descriere:

Invenția se referă la medicină, în special la morfopatologia oncologică și poate fi utilizată pentru pronosticul riscului metastazării hematogene după tratamentul neoplaziilor colului uterin prin utilizarea imunocolorării duble cu anticorpi monoclonali anti-CD31 și anti- α actină a mușchiului neted.

Este cunoscută metoda de pronostic al evoluției cancerului de col uterin, în care a fost utilizat gradul histopatologic al tumorii [1].

Dezavantajul metodei cunoscute constă în aceea că nu întotdeauna în baza gradului de diferențiere a neoplasmului poate fi stabilit un pronostic corect de lungă durată, și anume de metastazare la distanță, deoarece diferite forme de cancer mai des se răspândesc pe cale limfatică, adică regional, iar altele se răspândesc la distanță prin vasele sangvine.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în elaborarea unei metode eficiente de pronostic al metastazării hematogene după tratamentul neoplaziilor colului uterin, prin utilizarea unor markeri de elecție pentru vasele sangvine, inclusiv cele implicate în angiogenează, și anume prin dubla imunocolorare a vaselor imature *versus* mature în neoplazii, care servește drept un pas obligatoriu în trierea pacienților în vederea stabilirii pronosticului pe termen lung, în baza căruia pot fi stabilite unele cure ulterioare de tratament specific cu scop de preîntâmpinare a răspândirii procesului neoplazic.

Esența invenției constă în aceea că se pregătesc secțiuni histologice din biotate cu grosimea de 3 μ m, se colorează cu hematoxilină-eozină, după care se efectuează reacțiile de imunocolorare cu anticorpii monoclonali anti-CD31, clona JC70A, cu colorarea în brun a endoteliului vaselor, apoi cu anticorpii monoclonali anti- α actină a mușchiului neted, clona 1A4 cu colorarea în roșu a celulelor musculare perivascularare și pericitelor, în baza cărora se determină numărul de vase imature și dacă se determină până la 5 vase imature, se pronostichează un risc minor de metastazare hematogenă, iar dacă sunt mai mult de 5 vase imature, se pronostichează un risc sporit al metastazării hematogene.

Rezultatul invenției constă în stabilirea unui pronostic cert de durată lungă a perioadei de postratament, cu indicarea necesității de a efectua un tratament specific adăugător pentru o anumită formă de neoplasm cu scopul de a preîntâmpina apariția metastazelor la distanță cu răspândire pe cale hematogenă.

Avantajele metodei revendicate constau în aceea că este mai selectivă și mai exactă, pot fi stabilite cert formele cu potențial major de metastazare hematogenă, adică la distanță, ceea ce dă posibilitatea de a interveni suplimentar chirurgical sau terapeutic pentru a preveni răspândirea procesului canceromatos al colului uterin.

În studiu au fost incluse biopsiile prelevate din leziuni evidente macroscopic și piesele de conizație. Biopsiile au fost prelucrate după tehnica histologică uzuală, fixate în formalină și incluzionate în parafină.

Din fiecare bloc au fost efectuate secțiuni în serii de 3 μ m grosime. Secțiunile inițiale au fost colorate prin metoda hematoxilină-eozină pentru diagnosticul patologic și stabilirea gradului de diferențiere (G) a tumorii. Leziunile au fost clasificate după cum urmează: neoplazie cervicală intraepitelială NCI 1 (n=17), NCI 2 (n=11), NCI 3 (n=7), carcinom microinvasiv (n=10) și carcinom invaziv (n=49). Cazurile control (n=5) au fost reprezentate de speciemenle normale rezultate în urma procedurii de conizație. La subgrupele cu carcinom microinvasiv și invaziv, gradul de diferențiere a fost: G1 la 29 cazuri, G2 la 22 cazuri și G3 la 8 cazuri.

În dubla imunocolorare s-au folosit 2 anticorpi monoclonali: anti-CD31, clona JC70A pentru evidențierea endoteliului vaselor normale și tumorale și anticorpi anti- α actină a mușchiului neted, clona 1A4 pentru identificarea celulelor musculare perivascularare sau a pericitelor. Sistemul de lucru Envision Doublestain (DakoCytomation) a inclus anticorpi secundari anti-șoarece, - iepure și - oaie, metoda HRP (peroxidază) pentru CD31 și AP (fosfatază alcalină) pentru actină. Produsul final de reacție pentru CD31 s-a colorat în brun cu DAB (celulele endoteliale), iar celulele musculare netede au avut afinitate pentru Fast Red, colorându-se în roșu.

Particularitatea metodei constă în utilizarea CD31 la o diluție de 1:50 urmată de reducerea timpului de incubare de la 12 ore la temperatura de 4°C, la 30 min la temperatura camerei, fără a folosi un sistem de amplificare sau sistemele de tip Envision+ sau LSAB+. Contracolorarea nucleară s-a realizat cu hematoxilină Lille modificată. Montarea s-a realizat în mediu apos, fără deshidratarea și clarefierea uzuală în etanol absolut urmat de benzen din

cauza solubilității cromogenului Fast Red în alcool. Întreaga procedură imunohistochimică a fost realizată cu Autostainerul DakoCytomation.

5 Cuantificarea tipurilor de vase a vizat vasele peritumorale și intratumorale, precum și reacția vasculară din zonele de inflamație și invazie din stroma adiacentă tumorii. Pentru studiul angiogenezei au fost utilizate două tipuri de metode – calitativă și cantitativă.

Metoda calitativă

10 Această metodă presupune interpretarea corectă a secțiunilor colorate imunohistochimic. Au fost luate în considerare în vederea numărării elementelor delimitate de endoteliul pozitiv pentru markerul anti-CD31. Au fost numărate inclusiv grupurile celulare mici, care nu formează lumen.

Metoda cantitativă

15 Pentru estimarea cantitativă a vaselor sangvine a fost utilizată metoda descrisă (Korkolopoulou P., Konstantinidou A., Kavantzias N., Patsouris E., Pavlopoulos P., Christodoulou P., Thomas-Tsagli E., Davaris P. Morphometric microvascular characteristics predict prognosis in superficial and invasive bladder cancer. Virchows Arch., 2001, vol. 438, № 6, p. 603-611). Conform acestei metode, pentru cuantificarea vaselor sangvine este necesar de a respecta următoarele principii:

- se utilizează secțiuni colorate pentru CD31;
- 20 - prin examinare cu obiectiv $\times 10$ și $\times 40$ se identifică ariile cu densitate maximă de capilare și vase mici;
- se alege câmpul microscopic $\times 20$ cu densitatea cea mai mare;
- imaginea este captată cu cameră digitală și stocată ca fișier JPEG (1550 $\times$ 1070pxl, 16,7 milioane culori, 24-bit);
- 25 - dacă nu este evidențiată o arie de maximă vascularizare, se aleg 2...4 câmpuri și se stochează microdensitatea vasculară;
- se ia în considerare doar câmpul cu vascularizație maximă;
- se exclud din interpretare ariile cu infiltrat abundent, necroze și ulceratii, dar sunt utile pentru controlul intern al colorării celulelor endoteliale;
- 30 - celulele endoteliale izolate sau situate în grupuri mici se consideră vase individuale;
- nu se numără vasele cu perete muscular;
- variabilele care se includ în analiza statistică sunt valorile medii ale parametrilor;
- întreaga procedură trebuie să se desfășoare fără cunoașterea datelor clinico-patologice.

35 Clasificarea vaselor pozitive la anticorpii anti-CD31 și/sau anti- α actină a mușchiului neted a respectat criteriile descrise (Gee M.S., Makonnen S., Kofahi K., Roysam B., Payvandi F., Man H.W., Muller G.W., Lee W.M. Selective cytokine inhibitory drugs with enhanced antiangiogenic activity control tumor growth through vascular inhibition. Cancer Res., 2003, vol. 63, № 23, p. 8073-8078).

40 Acești autori au propus segregarea vaselor tumorale în trei categorii, pe baza dimensiunilor, perfuzării, proliferării celulelor endoteliale și prezenței pericitelor:

- 40 - vase imature constituite din muguri de celule endoteliale, care se formează din peretele vaselor funcționale, nu sunt perfuzate și au rata mare de proliferare; mugurii pot fi reprezentați de celule endoteliale izolate, fără lumen vizibil, pozitive pentru anti-CD31;
- vase intermediare, care sunt mici, perfuzate și nu conțin în perete pericite sau celule musculare netede;
- 45 - vase mature, care au un lumen larg și perete subțire, în care celulele endoteliale sunt în stare inactivă cu potențial proliferativ minim, care în perete conțin pericite și care rareori formează muguri endoteliali.

50 CD31 este un marker (proteină transmembranară cu greutate moleculară de 130 kDa) exprimat pe suprafața tuturor celulelor endoteliale vasculare. Reprezintă markerul de elecție pentru vasele sangvine, inclusiv cele implicate în angiogeneză, poate fi determinat pe secțiunile cu parafină. CD31 mai este exprimat de către trombocite, monocite, neutrofile și limfocite T.

55 α -actina mușchiului neted este o proteină contractilă din citoplasma celulelor musculare, miofibroblastelor și pericitelor.

În vasele microcirculației în procesul de angiogeneză sunt incluse în special două tipuri de celule – celule endoteliale și pericite. Mai mult, în vasele mari cooptate de către tumoare, celulele musculare ale tunicii medii se transformă în pericite. Celulele endoteliale sunt „păzite” de către pericite, care facilitează menținerea endoteliului în starea non-proliferativă.

În lamina proprie superficială a colului uterin normal predomină vasele patului micro-circulator: arteriole, capilare și venule. Majoritatea absolută a acestor vase sunt de tip matur, mult mai rar de tip intermediar. Rețeaua de vase capilare este bine dezvoltată, în special în vecinătatea epiteliului exocolului din componența papilelor conjunctive subepiteliale. În stroma profundă, vasele sangvine au un lumen mai mare, numeric fiind mai puține. Densitatea vaselor sangvine din stroma colului uterin este de $14,1 \pm 2,1$. În CIN1, distribuția și numărul de vase sangvine nu se deosebesc semnificativ de rezultatele obținute în colul uterin normal. În CIN2, densitatea vaselor sangvine este puțin mai mare – $19,8 \pm 1,5$, uneori au fost depistate vase sangvine de tip intermediar. O creștere semnificativă a numărului de vase sangvine a fost constatată în cazurile cu CIN3. În materialul de la acești pacienți s-au determinat multiple vase sangvine cu o densitate de $31,1 \pm 3,5$, localizate la interfața stromei cu epiteliul neoplazic. Prezintă interes faptul că în aceste cazuri a sporit semnificativ ponderea de vase sangvine de tip imatur și intermediar. Vasele sangvine în carcinoamele microinvazive și în carcinoamele *franc* invazive au un aspect diferit comparativ cu vasele patului microcirculator din colul uterin normal. Aceste vase au lumen diferit, traiect sinuos, perete subțire, în peretele lor frecvent lipsesc pericitele. Reacție pozitivă s-a înregistrat atât în vasele peritumorale, cât și în cele tumorale. Remarcăm, însă, că majoritatea vaselor sangvine sunt concentrate în ariile peritumorale. Peritumoral s-au observat două tipuri de vase pozitive la CD31: vase mari cu lumen larg și traiect sinuos, cu morfologie asemănătoare vaselor limfatice și vase cu lumen mediu sau mic. Atât vasele intratumorale, cât și cele peritumorale prezintă semnale imunohistochimice pentru ambii markeri utilizați. În carcinoamele microinvazive, densitatea vaselor sangvine ale patului microcirculator a fost de $36,9 \pm 3,4$. Similar cu cazurile de CIN3, aceste vase sunt situate preponderent la interfața stromei cu epiteliul neoplazic. Densitatea vaselor microcirculației sangvine în carcinoamele invazive a constituit $49,2 \pm 4,7$, cele peritumorale predominând cantitativ.

S-au determinat numeroase celulele endoteliale izolate dispuse intratumoral alături de vasele tumorale intermediare fără semnal pozitiv pentru markerul muscular al pericitelor. Frecvent, de la cuiburi de astfel de celule porneau ramificații CD31 pozitive. Mai mult, s-a descris formarea cordoanelor de celule anti-CD31+/anti- α actină a mușchiului neted în ariile intratumorale și în zonele de invazie a tumorii. Astfel, procesul denumit angiogeneză tumorală implică vasele capilare și venulele postcapilare din imediata vecinătate a tumorii, însă vasele nou-formate sunt diferite structural și funcțional de cele preexistente. Prezența numărului mare de celule endoteliale izolate și a vaselor de tip imatur și intermediar în carcinoamele scuamocelulare de col uterin este un factor de pronostic nefavorabil.

Conform metodei revendicate s-a demonstrat invazia vasculară în 17 cazuri din 49 de cazuri de carcinoame *franc* invazive, iar pe secțiunile tratate imunohistochimic cu anti-CD31+/anti- α actină a mușchiului neted embolia cu celule tumorale a fost depistată doar în 17 cazuri. În cazurile examinate s-au depistat embolii tumorale doar în vasele sangvine peritumorale, care au fost identificate drept vase tumorale de tip imatur și intermediar.

Conform datelor obținute, dubla imunocolorare anti-CD31+/anti- α actină a mușchiului neted permite determinarea procentului de vase mature și imature din leziunea neoplazică de col uterin cu implicații terapeutice și pronostic important. Peritumoral predomină vasele pozitive la ambii markeri, în schimb intratumoral aceste vase sunt foarte rare. Reacția pozitivă pentru anti-CD31 nu diferențiază vasele de neoformație de tip sangvin de cel limfatic. Pentru pronostic au importanță majoră vasele tumorale de tip imatur.

Importanța colorării duble constă în aceea că imunocolorarea anti-CD31 se efectuează cu scopul de colorare a endoteliului vaselor pentru a evidenția vasul pe secțiune, iar apoi prin imunocolorarea cu anti- α actină a mușchiului neted se determină numărul de vase care au o importanță primordială pentru pronostic, și anume vasele imature, în baza cărora poate fi efectuat un pronostic de lungă durată. Vasele intermediare și cele mature de asemenea se determină, dar au o importanță mai mică pentru stabilirea pronosticului de lungă durată.

Exemplul 1

Pacienta H., 1956, a fost internată în I.M.S.P.I.O., oncoginecologie pe 17.03.2008 cu diagnosticul clinic de cancer de col uterin st. IIA.

Pacienta a fost investigată clinic și paraclinic. Analiza generală a sângelui: hemoglobina 133 g/l , eritrocite $3,8 \cdot 10^{12}$, hematocritul 0,42, leucocite $4,3 \cdot 10^9$. Patologie concomitentă: Cardiopatie ischemică și dismetabolică. După o serie de tratament preoperator pacienta a fost

supusă intervenției chirurgicale în volum de histerectomie totală cu anexele bilateral. Histologia postoperator: Carcinom scuamocelular de col uterin, G1. După intervenția chirurgicală a fost indicată radioterapie.

- 5 Rezultatul dublei imunocolorări anti-CD31/ anti- α actină a mușchiului neted: 16,5 vase imature, 25 vase intermediare, 3,5 vase mature.

Peste 11 luni s-au constatat metastaze hematogene în plămâni.

Exemplul 2

Pacienta M., 1954, a fost internată în I.M.S.P.I.O., oncoginecologie pe 22.01.2008 cu diagnosticul clinic de cancer de col uterin st. IIA.

- 10 Pacienta a fost investigată clinic și paraclinic. Analiza generală a sângelui: hemoglobina 135 g/l, eritrocite $4,0 \cdot 10^{12}$, hematocritul 0,45, leucocite $6,1 \cdot 10^9$. Patologie concomitentă: Cardiopatie ischemică, pielonefrită cronică. După o serie de tratament preoperator pacienta a fost supusă intervenției chirurgicale în volum de histerectomie totală cu anexele bilateral. Histologia postoperator: Carcinom scuamocelular de col uterin, G1. După intervenția chirurgicală a fost indicată radioterapie.

- 15 Rezultatul dublei imunocolorări anti-CD31/ anti- α actină a mușchiului neted: 3,5 vase imature, 13 vase intermediare, 22 vase mature. A fost externată în stare satisfăcătoare. La examene repetate timp de 2 ani nu s-a constatat prezența metastazelor.

20

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Hoskins W.J. Prognostic factors for risk of recurrence in stages Ib and Ila cervical cancer. Baillieres Clin Obstet. Gynaecol., 1988, №4, p. 817-828

(57) Revendicări:

Metodă de pronostic al riscului metastazării hematogene după tratamentul neoplaziei colului uterin, care constă în aceea că se pregătesc secțiuni histologice din biopate cu grosimea de 3 μ m, se colorează cu hematoxilină-eozină, după care se efectuează reacțiile de imunocolorare cu anticorpul monoclonal anti-CD31, clona JC70A, cu colorarea în brun a endoteliului vaselor, apoi cu anticorpul monoclonal anti- α actină a mușchiului neted, clona 1A4 cu colorarea în roșu a celulelor musculare perivascularare și a pericitelor, în baza cărora se determină numărul de vase imature și dacă se determină până la 5 vase imature, se pronostichează un risc minor de metastazare hematogenă, iar dacă sunt mai mult de 5 vase imature, se pronostichează un risc sporit al metastazării hematogene.

Director Departament:

GUȘAN Ala

Examinator:

GROSU Petru

Redactor:

CANȚER Svetlana

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii	
(21) Nr. depozit: s 2011 0006	(32) Data de prioritate recunoscută:
(22) Data depozit: 2011.01.03	Raport de documentare internațională: ☐ da
(54) Titlul: Metodă de pronostic al riscului metastazării hematogene după tratamentul neoplaziei colului uterin	
(71) Solicitant: ȘAPTEFRAȚI Lilian, MD	
(51) (Int.Cl.): Int. Cl.: A61B 10/00 (2006.01) <i>G01N 1/30</i> (2006.01) <i>G01N 33/53</i> (2006.01) <i>G01N 33/567</i> (2006.01) <i>G01N 33/574</i> (2006.01) <i>G01N 33/577</i> (2006.01)	
II. Condiții de unitate a invenției: ☒ satisface ☐ nu satisface	
Note:	
III.Revendicări: claritatea, susținerea de descriere	
Note: ☒ satisface ☐ nu satisface	
IV. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare)	
MD (Documentare Invenții (inclusiv cereri nepublicate)) - Int. Cl.: A61B 10/00 (2006.01) <i>G01N 1/30</i> (2006.01), <i>G01N 33/53</i> (2006.01), <i>G01N 33/567</i> (2006.01), <i>G01N 33/574</i> (2006.01), <i>G01N 33/577</i> (2006.01) Cuvinte cheie limba română: „metastazare hematogenă”, „neoplazie a colului uterin”, „anti-CD31” „anti-α actină a mușchiului neted” EA, CIS (Eapatis) – Int. Cl.: A61B 10/00 (2006.01) <i>G01N 1/30</i> (2006.01), <i>G01N 33/53</i> (2006.01), <i>G01N 33/567</i> (2006.01), <i>G01N 33/574</i> (2006.01), <i>G01N 33/577</i> (2006.01) Cuvinte cheie limba rusă: „гематогенное метастазирование”, „неоплазия шейки матки”, „анти - CD31”, „анти - α актин гладкой мышцы”	
V. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate	
Hoskins W.J. Prognostic factors for risk of recurrence in stages Ib and IIa cervical cancer. _Baillieres Clin Obstet. Gynaecol. 1988, №4, p. 817-828	

VI. Documente considerate a fi relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A, D, C	Hoskins W.J. Prognostic factors for risk of recurrence in stages Ib and IIa cervical cancer. Baillieres Clin Obstet. Gynaecol. 1988, №4, p. 817-828	1
* categoriile speciale ale documentelor citate:		
A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidența principiul sau teoria pe care se bazează invenția	
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată	
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet	
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție	
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete	
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri	
Data finalizării documentării	2011-02-07	
Examinator	GROSU Petru	