



MD 2848 F1 2005.09.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **2848** (13) **F1**
(51) Int. Cl.: *A61B 10/00* (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

| | |
|---|--|
| Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării | |
| (21) Nr. depozit: a 2005 0049 (22) Data depozit: 2005.02.22 | (45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2005.09.30, BOPI nr. 9/2005 |
| (71) Solicitanți: DUMBRAVA Vlada-Tatiana, MD; ȚURCANU Adela, MD; LUPAȘCO Iulianna, MD; ANDRIEȘ Lucia, MD | |
| (72) Inventatori: DUMBRAVA Vlada-Tatiana, MD; ȚURCANU Adela, MD; LUPAȘCO Iulianna, MD; ANDRIEȘ Lucia, MD | |
| (73) Titulari: DUMBRAVA Vlada-Tatiana, MD; ȚURCANU Adela, MD; LUPAȘCO Iulianna, MD; ANDRIEȘ Lucia, MD | |

(54) **Metodă de diagnostic diferențial al hepatitei cronice virale C și hepatitei
cronice virale C asociate cu infecție herpetică**

(57) **Rezumat:**

1

Invenția se referă la medicină, și anume la hepatologie, și este destinată pentru monitorizarea tratamentului hepatitei virale C.

Esența metodei constă în aceea că se determină subpopulațiile limfocitelor CD₈ și CD₄ și în cazul în care cantitatea limfocitelor CD₈ constituie 17...20%, iar cantitatea limfocitelor CD₄ – 40...44%, și indicele imunoregulator este mai mare sau egal cu 2,2, se stabilește diagnosticul hepatitei

2

5 cronice virale C; iar în cazul în care cantitatea limfocitelor CD₈ constituie 14...17%, iar cantitatea limfocitelor CD₄ – 19...22%, și indicele imunoregulator este mai mic sau egal cu 1,3, se stabilește diagnosticul hepatitei cronice virale C asociate cu virusul herpesului simplu.

10

Revendicări: 1

MD 2848 F1 2005.09.30

MD 2848 F1 2005.09.30

3

Descriere:

Invenția se referă la medicină, și anume la hepatologie, și este destinată pentru monitorizarea tratamentului hepatitei virale C.

5 Depistarea virusului herpesului simplu la pacienții cu hepatită C atât la începutul tratamentului cât și pe parcursul acestuia are o importanță mare pentru alegerea tacticii tratamentului de către medicul curant. S-a observat că sub influența unor preparate, de exemplu Intron, are loc activarea virusului herpesului simplu la pacienții în stare de remisiune. În acest caz este necesar de a schimba tactica tratamentului și de a indica preparate antiherpetice, cum ar fi aciclovirul. Administrarea concomitentă a mai multor preparate pentru eliminarea din organism a virusurilor ce cauzează hepatita virală C și herpesul poate provoca diverse complicații, datorită supraîncărcării medicamentoase. De aceea, este important de a depista infecția herpetică până la inițierea tratamentului contra hepatitei cronice C.

10 Actualmente există diferite metode de depistare a virusului hepatic C și a virusului herpesului simplu. Diagnosticul hepatitei virale C este bazat pe depistarea anticorpilor globali IgM și IgG la virusul hepatitei C (anti-HCV) cu utilizarea analizei imunoenzimatică și imunoblotului, precum și a ARN-ului virusului hepatic C (HCV-RNA) prin metoda reacției de polimerizare în lanț [1].

15 La examinarea clinică a bolnavilor, precum și în timpul tratamentului când se depistează simptome de hepatită virală sau pentru care tratamentul antiviral nu este tipic și nu are efect pozitiv se recomandă investigații de laborator la prezența virusului herpesului simplu.

20 Pentru depistarea virusurilor herpesului simplu se utilizează, de asemenea, metoda reacției de polimerizare în lanț (PCR) [2]. Metoda PCR a avansat diagnosticul clinic de laborator la o înălțime principial diferită – nivelul determinării acizilor nucleici (ADN și ARN), ceea ce permite depistarea directă a agentului infecțios sau a mutației genetice în orice mediu biotic sau abiotic. Totodată, prin metoda PCR, teoretic, poate fi depistată doar o moleculă necunoscută a acizilor nucleici (AN) printre milioanele de molecule AN. Metoda PCR este bazată pe principiul replicației naturale. Esența metodei constă în repetarea multiplă a ciclurilor sintezei (amplificării) secvenței virusospecifice a ADN cu ajutorul Tag ADN-polimerazei termostabile și a doi inoculatori specifici – așa-numiții primeri. Fiecare ciclu constă din trei etape cu un regim de temperatură diferit. În fiecare ciclu se dublează numărul copiilor sectorului sintetizat. Din nou fragmentele ADN sintetizate servesc în calitate de matrice pentru sinteza fibrelor noi în ciclul următor de amplificare, ceea ce permite în 25...35 de cicluri de a produce un număr

30 suficient de copii ale sectorului ADN ales pentru determinarea lui, de obicei, cu ajutorul electroforezei în gel de agar. Metoda este înalt specifică și foarte sensibilă. Ea permite de a depista câteva copii ale ADN-lui viral în materialul investigat. În ultimii ani metoda PCR este aplicată pe larg pentru diagnosticarea și monitorizarea infecțiilor virale (virusurile hepatitelor, herpesului, citomegaliei, papilomului etc.).

35 Cu toate acestea, în prezent metoda PCR, ca test diagnostic, are anumite dezavantaje, la care poate fi referită complexitatea efectuării investigației, ce presupune cerințe înalte pentru utilarea laboratorului, calitatea test-seturilor și respectarea strictă a regulamentului investigației spre a evita obținerea rezultatelor false. Mai mult decât atât, această metodă de diagnosticare a hepatitei virale C asociate cu virusul herpesului simplu are o serie de dezavantaje. Diagnosticul virusului herpesului simplu se efectuează, de obicei, doar după suspiciunea infectării bolnavului. În consecință, se pierde mult timp pentru tratament.

40 Problema pe care o soluționează invenția propusă constă în diagnosticul diferențial rapid, simplu, veridic și unimomentan al hepatitei virale C și hepatitei virale C asociate cu virusul herpesului simplu.

45 Problema preconizată se soluționează prin aceea că se determină subpopulațiile limfocitelor, și anume CD₈ și CD₄, și în cazul în care cantitatea limfocitelor CD₈ constituie 17%...20%, cantitatea limfocitelor CD₄ – 40%...44%, iar indicii imunoregulator este mai mare sau egal cu 2,2, se stabilește diagnosticul hepatitei cronice virale C; iar în cazul în care cantitatea limfocitelor CD₈ constituie 14%... 17%, cantitatea limfocitelor CD₄ – 19%... 22%, iar indicii imunoregulator este mai mic sau egal cu 1,3, se stabilește diagnosticul hepatitei virale C asociate cu virusul herpesului simplu.

50 Avantajul acestei metode este faptul că ea oferă informații obiective despre prezența hepatitei virale C și despre asocierea sau activarea infecției herpetice. Această metodă este mai simplă și mai economică spre deosebire de alte metode de depistare a patologiei indicate.

55 Rezultatele sus-menționate au fost obținute pe cale experimentală la examinarea a 150 de pacienți. Datele de mai sus sunt obiective și permit cu siguranță stabilirea diagnosticului clinic.

60 Rezultatul invenției este simplificarea și accelerarea diagnosticării hepatitei virale C, precum și depistarea asocierii sau activării infecției herpetice.

Metoda propusă se realizează în felul următor. Statutul imun al pacientului cu depistarea limfocitelor T și a subpopulațiilor se determină prin utilizarea reacției indirecte a imunofluorescenței (RIF) cu anticorpii monoclonali. Metoda este bazată pe utilizarea anticorpilor care intră în contact cu colorantul, de exemplu cu fluoresceinizotiocianatul. Conform variantei RIF indirecte pe materialul examinat se depune

MD 2848 F1 2005.09.30

4

un ser specific, anticorpii cărui intră în contact cu antigenul viral prezent în material, apoi se adaugă serul antiîpure, antical etc. Prioritatea variantei RIF indirecte constă în necesitatea doar a unui tip de anticorpi marcați. Analizând datele imunogramei s-a determinat că: scăderea limfocitelor CD₈ (circa 17...20%) pe fonul indicilor normali ai CD₄ (40...44%), precum și indicele imunoregulator mai mare sau egal cu 2,2 sunt caracteristice pentru hepatita cronică virală C; scăderea limfocitelor CD₈ (14...16%) pe fonul scăderii CD₄ (19...21%), precum și indicele imunoregulator mai mic sau egal cu 1,3 sunt caracteristice pentru hepatita cronică virală C în asociere cu infecția herpetică activă. Astfel, aprecierea indicilor imunologici celulari ne oferă informații despre asocierea sau activarea unei infecții oportuniste, cum ar fi infecția herpetică.

10 *Exemplul 1.*

Pacienta M., a fost internată în SCR, s. hepatologie.

15 Acuze la internare: disconfort în hipocondriul drept, astenie fizică importantă, insomnie, scăderea poftelor de mâncare. *Anamnezis morbi*: se consideră bolnavă de 3 ani, când pentru prima dată au apărut acuzele sus-numite. Nu s-a tratat, starea s-a înrăutățit cu o săptămână anterior internării.

Obiectiv: aparatul respirator și cardiovascular fără particularități patologice. Aparatul digestiv: hepatomegalie (+4 +5 cm) cu margine rotunjită, elastică, indolore. Splina nu se palpează.

20 Conform metodei propuse a fost determinat conținutul subpopulațiilor limfocitelor CD₈ și CD₄: limfocitele T totale – 68%, CD₄ – 44%, CD₈ – 20%, apoi a fost calculat indicele imunoregulator (CD₄/CD₈) – 2,2. Pe baza datelor obținute se poate stabili diagnosticul de hepatită cronică virală C.

Au fost efectuate de asemenea investigații de laborator.

25 Analiza generală a sângelui fără modificări; ALT – 2,86 mmol/o/L, AST – 1,76 mmol/o/L, fosfataza alcalină – 3300 nmol/(s·L); gGTP – 1,23 nmol/(s·L), protrombina – 84%, bilirubina – 18,2 μmol/L (directă – 6,2 μmol/L, indirectă – 12,0 μmol/L).

Marcherii virali: HBsAg – neg., antiHB corsum – neg., antiHBsAg – neg., antiHCVsum +4, ARN HCV – poz.

Testele pentru infecția herpetică negative. Scintigrafia ficatului: alterare difuză hepatică, HSV, hepatomegalie, indurație difuză hepatică. Datele obținute confirmă diagnosticul stabilit pe baza metodei propuse, și anume: hepatită cronică virală C, fără reactivare, activitate moderată.

30 *Exemplul 2.*

Pacientul Ț., a fost internat în SCR, s. hepatologie.

Acuze la internare: dureri în hipocondriul drept și stâng, xerostomie, astenie fizică, labilitate emoțională.

Anamneză: se consideră bolnav de 5...7 ani. Nu s-a tratat.

35 Obiectiv: aparatul respirator și cardiovascular fără patologie.

Aparatul digestiv: limba uscată, cu depuneri albicioase; abdomenul moale, dureros la palpare în hipocondriul drept; ficatul mărit cu 4...5 cm sub rebordul drept, semidur, sensibil la palpare; splina se palpează la rebordul costal stâng, elastică, indolore.

40 Conform metodei propuse a fost determinat conținutul subpopulațiilor limfocitelor CD₈ și CD₄: limfocitele T totale – scăzute 54%, CD₄ – 22%, CD₈ – 17%, indicele imunoregulator – 1,3.

Pe baza datelor obținute se poate stabili diagnosticul de hepatită virală C în asociere cu virusul herpesului simplu.

Au fost efectuate de asemenea alte investigații de laborator care au confirmat diagnosticul stabilit pe baza metodei propuse.

45 Hemograma fără patologie; ALT – 5,37 mmol/o/L, AST – 4,20 mmol/o/L, protrombina – 78%, fosfataza alcalină – 3200 nmol/(s·L), gGTP – 1,65 nmol/(s·L), bilirubina totală – 26,8 μmol/L, (directă – 10,4 μmol/L, indirectă – 16,4 μmol/L), marcherii virali: HCV ARN – pozitiv, antiHSV₂ IgM – pozitiv. Scintigrafia ficatului: alterare difuză hepatică cu fon pe splină.

Ultrasonografia organelor interne: hepatomegalie, splenomegalie. Indurații difuze hepatice.

50 Diagnostic clinic: hepatită cronică virală C în asociere cu virusul herpesului simplu.

MD 2848 F1 2005.09.30

5

(57) Revendicare:

5 Metodă de diagnostic diferențial al hepatitei cronice virale C și hepatitei cronice virale C asociate
cu infecție herpetică **caracterizată prin aceea că** se determină subpopulațiile limfocitelor CD₈ și CD₄ și
în cazul în care cantitatea limfocitelor CD₈ constituie 17...20%, iar cantitatea limfocitelor CD₄ –
40...44%, și indicele imunoregulator este mai mare sau egal cu 2,2, se stabilește diagnosticul hepatitei
10 cronice virale C; iar în cazul în care cantitatea limfocitelor CD₈ constituie 14...17%, iar cantitatea
limfocitelor CD₄ – 19...22%, și indicele imunoregulator este mai mic sau egal cu 1,3, se stabilește
diagnosticul hepatitei cronice virale C asociate cu virusul herpesului simplu.

(56) Referințe bibliografice:

1. Рахманова А.Г. и др. Вирусные гепатиты. Кольцово, 2002, с. 23
2. Е.М. Скрягина, М. Вольф, О.М. Залуцкая, Г.Л. Гуревич, З.В. Лавор, И.М. Лаптева.
Диагностика вируса простого герпеса 1-го и 2-го типов методом полимеразной цепной
реакции в бронхоальвеолярном смыве <http://www.med.by/dn03/A6_3.htm>, găsit 21.01.2005

| | |
|-------------|------------------|
| Şef Secție: | GUŞAN Ala |
| Examinator: | TIMONIN Alexandr |
| Redactor: | LOZOVANU Maria |

RAPORT DE DOCUMENTARE

| | | |
|--|--|---|
| (21) Nr. depozit: a 2005 0049 | | |
| (22) Data depozit: 2005.02.22 | | |
| (51) ⁷ : A 61 B 10/00 | | |
| Titlul : Metoda de diagnostic diferențial al hepatitei cronice virale C și hepatitei cronice C asociate cu infecția herpetică | | |
| (71) Solicitantul : DUMBRAVA Vlada-Tatiana, MD; ȚURCANU Adela, MD; LUPAȘCO Iulianna, MD; ANDRIEȘ Lucia, MD | | |
| Termeni caracteristici: hepatită virală, limfocite, вирусный гепатит, лимфоциты | | |
| I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl. (7)) | | |
| (MD) Baza de date naționale: 1994-2005 | | |
| (EA)) Baza de date: http://www.eapo.org/private/ | | |
| (SU) colecția de certificate de autor la BRTȘ | | |
| Int. Cl. ⁷ : A 61 B 10/00 | | |
| II. Documente considerate ca relevante | | |
| Categoria* | Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente | Numărul revendicării vizate |
| | | |
| <input type="checkbox"/> Documentele următoare sunt indicate în continuare a rubricii II | | <input type="checkbox"/> Informația referitoare la brevete paralele se anexează |
| * categoriile speciale ale documentelor consultate: | | P - document publicat înainte de data de depozit dar după data priorității invocate |
| A - document care definește stadiul anterior general | | T - document publicat după data de depozit sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidența principiul sau teoria care conține baza invenției |
| E - document anterior dar publicat la data de depozit național reglementar sau după aceasta data | | X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă |
| L - document care poate pune în discuție data priorității invocate, poate contribui la determinarea datei publicării altor divulgări sau pentru un motiv expres (se va indica motivul) | | Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă cand documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură, aceasta combinație fiind evidentă pentru o persoană de specialitate |
| O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere sau orice altă | | & - document care face parte din aceeași familie de documente |
| Data finalizării documentării: 04.07.2005 | | |
| Examinatorul: | | TIMONIN Alexandr |