

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

Depistarea procese a virusului herpesului simplu la pacienții cu hepatita C atât la începutul tratamentului cât și pe parcursul acestuia are o importanță mare pentru alegerea tacticii tratamentului de către medicul curant. Noi am observat că sub influența unor preparate, de exemplu Intron, are loc activarea virusului herpesului simplu la pacienții în stare de remisiune. În acest caz, se necesită 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 virusilor ce cauzează hepatita virală C și herpesul poate induce la diverse complicații, datorită supraîncărcării medicamentoase. De aceea, este important de a depista până la inițierea tratamentului infecția herpetică la pacienții cu hepatita cronică C.

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].

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.

Pentru depistarea virusilor 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 principală 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 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 praimeri. Fiecare ciclu constă din trei stadii 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 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 diagnosticul și monitorizarea infecțiilor virale (virusii hepatitelor, herpesului, citomegaliei, papilomului etc.).

Cu toate acestea, în prezent metoda PCR, ca test diagnostic, are anumite dezavantaje, la care poate fi referită complexitatea efectuării investigației, ce presupune cerințele înalte pentru utilizarea laboratorului, calitatea test-seturilor și respectarea strictă a regulamentului investigației spre a evita obținerea rezultatelor false. Mai mult decât atât, acest mod 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. Drept rezultat, se pierde mult timp pentru tratament.

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.

Problema preconizată se soluționează prin aceea că se determină subpopulațiile limfocitelor, și anume CD₈ și CD₄, și în cazul când cantitatea limfocitelor CD₈ este de la 17% până la 20%, iar cantitatea limfocitelor CD₄ – de la 40% până la 44%, precum și indicele imunoreglator fiind $\geq 2,2$, atunci se stabilește diagnosticul hepatitei cronice virale C; iar când cantitatea limfocitelor CD₈ este de la 14% până la 17%, iar cantitatea limfocitelor CD₄ – de la 19% până la 22%, precum și indicele imunoreglator fiind $\leq 1,3$, atunci se stabilește diagnosticul hepatitei virale C asociate cu virusul herpesului simplu.

Prioritatea acestei metode este că ea prezintă 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.

Rezultatele sus-menționate au fost obținute prin experimente la examinarea a 150 de pacienți. Este dovedit de noi, că datele de mai sus sunt obiective și permit cu siguranță stabilirea diagnosticului clinic.

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

Metoda propusă se realizează în felul următor. Statusul 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 fluoresceinizotiocianatul. Conform variantei RIF indirecte pe materialul examinat se depune un ser specific, anticorpii cărui intră în contact cu antigenul viral prezent în material, apoi se supraadaugă serul antitip la gamaglobulina animalului în care a fost preparat serul imun specific, de exemplu antiiepure, 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 fon de indicii normali ai CD₄ (40-44%), precum și indicele imunoreglator fiind $\geq 2,2$ – este caracteristic pentru hepatita cronică virală C; scăderea limfocitelor CD₈ (14-16%) pe fon de scădere a CD₄ (19-21%), precum și indicele imunoreglator fiind $\leq 1,3$ este caracteristic 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.

Cu ajutorul metodei propuse au fost examinați 130 de pacienți.

Exemplul 1. Pacienta M., 1964, originară din Strășeni, a fost internată în SCR, s. hepatologie, în luna august 2003.

Acuze la internare: disconfort în hipocondriul drept, astenie fizică importantă, insomnie, scăderea poftei 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.

Conform metodei propuse a fost determinat conținutul subpopulațiilor limfocitelor CD₈ și CD₄. Limfocitele T totale – 68%; CD₄ - 44%; CD₈ - 20%, a fost calculat indicele imunoreglator (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.

Analiza generală a sângelui – fără modificări: ALT – 2,86, AST – 1,76, fosfataza alcalină – 3300; GGTP – 1,23, protrombina – 84, bilirubina – 18,2 (directă – 6,2, indirectă – 12,0).

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

Testele pentru infecția herpetică – negative ... Scintigrafia ficatului: alterare difuză hepatică.

NSV?: hepatomegalie, indurație difuză hepatică. Datele obținute confirmă diagnosticul stabilit pe baza metodei propuse, și anume:

Diagnostic clinic: hepatită cronică virală C, fără de reactivare, activitate moderată.

Exemplul 2. Pacientul Țopa I., 1983, bărbat, originar din Ungheni, internat în SCR, s. hepatologie, în luna septembrie 2004.

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

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

Obiectiv: Aparatul respirator și cardiovascular fără patologice.

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.

Analizele de laborator.

Conform metodei propuse a fost determinat conținutul subpopulațiilor limfocitelor CD₈ și CD₄. Limfocitele T totale – scăzute (54%), CD₄ – 22%, CD₈ – 17%, indicele imunoreglator 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.

Hemograma – fără patologice. ALT – 5,37, AST – 4,20, protrombina – 78%, fosfataza alcalină – 3200, gGTP – 1,65, bilirubina totală – 26,8, directă – 10,4, indirectă – 16,4, marcherii virali: HCV ARN – pozitiv, antiHSV2 IgM – pozitiv.

Scintigrafia ficatului: Alterare difuză hepatică cu fon pe splină.

USG? organ. interne: hepatomegalie, splenomegalie. Indurații difuze hepatice.

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