

Invenția se referă la medicină, în special la o metodă de tratament al infecției cu Herpes simplex de tip 1 și 2.

Ținta tratamentului în infecția herpetică include:

- Reducerea severității bolii, scăderea contagiozității și riscului de complicații prin inhibarea replicării virusurilor și stoparea răspândirii infecției.
- Formarea unei apărări imune de o reală valoare prin asigurarea unui răspuns adecvat (Баринский И.Ф., Махмудов Ф.Р. Герпес, Баку, 2013, 352 с. (10-123 с.); Spânu C., Bîrca Ludmila, Rusu Galina. Infecția cu Herpes simplex-particularități clinico-epidemiologice, de evoluție, diagnostic, tratament, profilaxie (ghid practic), Chișinău, Tipografia centrală, 2006, 132 p (23-65 p).

Aceste obiective pot fi atinse prin: chimioterapie (tratament etiotrop antiherpetic), terapie imunomodulatoare (interferoni, inductori ai interferonogenezei, preparate cu anticorpi antiherpetic, vaccinoaterapie), combinația celor enumerate (chimioterapie+terapie imunomodulatoare) și tratament antiinflamator, topic, analgezic. Specificul tratamentului etiotrop al infecției herpetice este demonstrat în mare măsură de interrelația dintre Herpes-virusuri (HV) și organismul uman gazdă caracterizată prin persistența îndelungată a virusului în ganglionii nervoși senzitiv, activizarea lor în cazul diminuării imunității specifice și nespecifice, posibilitatea de reinfectare cu alte tulpini virale de herpes virusuri.

Preparatele antiherpetice constituie 80% din toate preparatele antivirale existente, unele deja au fost abandonate din cauza toxicității severe sistemice importante (idoxuridina, vidarabina). Majoritatea substanțelor antivirale utilizate în terapia infecțiilor produse de herpesvirusuri acționează prin inhibarea sintezei ADN-ului viral și sunt din punct de vedere chimic analogi nucleozidici ai bazelor purinice sau pirimidinice. Cei mai utilizați compuși în terapia infecțiilor produse de herpesvirusuri sunt aciclovirul și analogii săi penciclovirul și ganciclovirul. Valaciclovirul, famciclovirul și valganciclovirul sunt pro-medicamente cu același spectru de activitate ca al aciclovirului, dar cu biodisponibilitate orală superioară, ce permite administrarea lor pe cale orală. Se cunoaște că aciclovirul pentru a deveni activ trebuie supus trifosforilării: prima fosforilare se efectuează prin intermediul enzimei virale timidinkinaza, celelalte două fosforilări sunt realizate de enzimele celulei gazdă unde ADN-polimeraza virusurilor herpetice include greșit aciclovirul trifosfat în lanțul ADN-ului viral în locul dezoxiguanzintrifosfatului natural, conducând la blocarea replicării virale. Activitatea aciclovirului este strict specifică deoarece timidinkinaza herpesvirusurilor de mii de ori mai rapid decât cea a celulelor se leagă cu aciclovirul din care cauză aciclovirul se acumulează doar în celule infectate cu virus.

În acest context o problemă extrem de majoră prezintă apariția rezistenței la aciclovir, în special la imunodeprimați care poate varia de la 10% pînă la 40% cauzate de tulpinile de virus herpes simplex (tip 1/2) defecte în timidinkinaze (TK⁻). La moment tratamentul în infecția cu herpes virus simplex (HSV 1/2) implică: (Каримова И. М. Герпесвирусная инфекция (диагностика, клиника, лечение), Медицинское информационное агенство, Москва, 2004, 117 стр. (67-75 с.), Ciufecu Elvira Sînziana., Virusologie medicală, Familia Herpesviridae, Editura Medicală Națională, București, 2003, (p. 280-334)

I. Stabilirea diagnosticului clinic, ținând cont de sediul anatomic al infecției și spectrul evolutiv condiționat de acest factor cu identificarea anamneșticului maladiei, examenul clinic obiectiv.

II. Anamneza epidemiologică

III. Inițierea tratamentului etiotrop și simptomatic cu declanșarea investigațiilor de laborator întru confirmarea diagnosticului clinic

III (a). Conform standardelor existente de tratament a infecției cu HSV 1/2 clinicianul nu trebuie să temporizeze tratamentul etiotrop specific (cu aciclovir) pînă la sosirea rezultatelor investigațiilor de laborator. Suspiciunea de tulpină virală rezistentă la aciclovir (TK⁻) este pusă pe parcursul tratamentului, adică în absența răspunsului clinico-virusologic favorabil după 7-12 zile în primoinfecție herpetică și peste 1-3 luni în infecția herpetică cronică (persistentă). Așadar instituirea

„alternativei terapeutice” la moment se face în baza răspunsului clinic la tratamentul antiviral, iar alegerea pe criterii de probabilitate statistică.

III (b). Este cunoscută metoda tradițională, complexă de tratament al infecției cu virusul herpes simplex, (HSV 1/2) care include tratamentul etiotrop specific cu aciclovir (analogii săi), tratamentul local, terapia antiinflamatoare, imunomodulatoare și tratamentul simptomatic. Frecvent pentru tratamentul local se utilizează ung. Florenali 0,5%, ung. Tebropheni 3,0%, ung. Oxolini 1,0%, ung. Ridoxoli 0,5%. Terapia antiinflamatoare include remedii medicamentoase nesteroidice: acid acetyl salicilic, salicilamid, phenylbutazon; imunomodulatoare – interferoni (viferon, ghiaferon, leichiniferon), inductori de interferon (amixin, poludan, ridostin, cicloferon). Este recomandat aplicarea curantului în termeni precoce întru corecția microcirculației sanguine, a vitaminelor A, B, C și E pentru stimularea efectului trofic asupra tegumentelor și mucoaselor. Cuparea durerii herpetice, postherpetice și a pruritului se face cu sedative, somnifere și analgetice (analgin, sedalgin, baralgin, promedol, etc).

Durata tratamentului cu utilizarea aciclovirului durează de la 7-12 zile pentru primoinfecție herpetică și mai îndelungat pînă la 1-3 luni în dependentă de forma clinică de manifestare: infecție cronică, latentă, persistentă. Acest tratament etiotropic cu aciclovir sau analogii săi de comun cu tratamentul topic și simptomatic permite vindecarea bolnavilor cu excepția infecției herpetice cauzate de HSV 1/2 rezistente la aciclovir [1,2].

Dezavantajele metodei constau în absența efectului terapeutic în infecția herpetică primară și recidivantă cauzată de virusurile herpetice rezistente la aciclovir (TK⁻), dezvoltarea efectelor adverse pronunțate (greață, vomă, diaree, afectarea rinichilor, convulsii, halucinații, etc) pe parcursul administrării îndelungate a aciclovirului, cheltuieli financiare nejustificate.

IV. Diagnosticul de laborator

Tehnicile de laborator utilizate întru confirmarea diagnosticului clinic pentru infecția cu herpesvirusuri includ: 1) Izolarea virusului HSV $\frac{1}{2}$ în cultură de celule HEP-2, HeLa, Vero, BSC-21, C1-13, FEO, în ou embrionat, prin inoculare animalelor de laborator și identificarea virusului izolat în reacția de neutralizare, hemaglutinare, fixare a complementului, 2) Examenul prin tehnică imunofluorescentă (EIF) întru identificarea antigenului virusurilor herpetice (HSV $\frac{1}{2}$) în baza anticorpilor monoclonali și policlonali, 3) Utilizarea reacției de amplificare genică PCR și a tehnicilor de hibridizare pentru evidențierea și evaluarea ADN-lui virusului herpetic, 4) analiza imunoenzimatică, realizată prin echipament dotat cu anticorpi monoclonali pentru evidențierea anti – HSV IgM și anti – HSV IgG și evaluarea infecției herpetice primare, cronice, recidivante, 5) analiza imunoenzimatică (imunodot) cu utilizarea a două glicoproteine de suprafață a virusului HSV – 1 (gG1) și HSV – 2 (gG2) întru identificarea formelor subclinice ale infecției herpetice și evaluarea seroconversiei în infecția herpetică recidivantă, 6) analiza prin Western blot (imunoblot) capabilă de a evidenția anticorpii din serul pacientului testat către 50 proteine individuale ale virusului herpetic (HSV $\frac{1}{2}$), 7) metoda citomorfologică – examenul microscopic al probelor recoltate din leziuni (cutanate, mucoase, biopat, etc) care demonstrează celule gigante polinucleare și incluziuni intranucleare, cunoscute sub numele de celule Unna, dar nu permite diferențierea de alte virusuri. Suplimentar la cele menționate pot fi realizate examene complementare (puncția lombară cu cercetarea lichidului cefalorahidian, Rezonanța Magnetică Nucleară cerebrală, computer tomografia cerebrală, electroencefalografia, investigații ultrasonore) care sunt condiționate de forma clinică și sediul infecției. În formele recidivante și severe sunt necesare investigații suplimentare de apreciere a statutului imun, în special tisular (CD4 și CD8 – subpopulațiile T – limfocitelor), statutului interferoanelor (cantitatea totală de interferon, capacitatea leucocitelor de a induce α și β – interferon, capacitatea T – limfocitelor de a induce γ – interferon), factorul de necroză tumorală. Algoritmul prezentat nu include identificarea și evaluarea tulpinelor de virus herpetic (HSV $\frac{1}{2}$) rezistente și sensibile (TK+) la aciclovir.

Dezavantajele metodei cunoscute de tratament a infecției herpetice etiologic cauzate de HSV – $\frac{1}{2}$ includ;

- Absența testului de identificare a tulpinelor de virus herpes simplex (tip $\frac{1}{2}$) rezistente la aciclovir defecte în (TK⁻) în primele (12-24 ore) de inițiere a tratamentului antiviral etiotrop specific,
- Eșecul tratamentului antiviral cu aciclovir la 40% pacienți în special la cei imunodeprimați cu infecție herpetică acută, cronică (recidivantă).
- Necesitatea modificării spectrului de antivirale etiotropspecifice pentru infecția herpetică inclusiv și doza de aplicare pe parcursul tratamentului.
- Utilizarea neadecvată a aciclovirului în tratamentul infecției cu herpes simplex virus conduce la sporirea procentuală considerabilă a tulpinelor de virus herpetic rezistente la aciclovir.
- Sporirea semnificativă a incidenței reacțiilor adverse; afectare tranzitorie a funcției renale prin cristalizarea aciclovirului în tubii renali, reducerii funcției hepatoprotectoare a ficatului, apariția semnelor de neurotoxicitate, greață, vomă, diaree, febră, rash, confuzie, vertij, delir etc.
- Pierderi materiale (financiare) neargumentate suportate de Compania Națională de Asigurări în Medicină, și pacienți pe parcursul tratamentului ce țin de procurarea medicamentului nominalizat – aciclovir, sau analogilor lui.
- Reducerea semnificativă a posibilității de izolare și identificare a sensibilității a virusului herpes simplex (HSV $\frac{1}{2}$) la aciclovir în stadiile tardive de evoluție a infecției herpetice.

Problema pe care o rezolvă invenția este sporirea semnificativă a eficacității tratamentului specific etiotrop în infecția cu herpes simplex virus HSV $\frac{1}{2}$ manifestată prin revenirea la normă în termeni reduși a parametrilor clinici și paraclinici, reducerea semnificativă a duratei de spitalizare, efectelor adverse cauzate de administrarea nejustificată a aciclovirului, diminuarea riscului de dezvoltare a complicațiilor severe postherpetice, urmare a tratamentului neadecvat, și evitarea cheltuielilor materiale neargumentate.

Esența invenției constă în aceea că metoda constă în efectuarea examenului clinic și paraclinic al pacientului și inițierea tratamentului etiotrop cu aciclovir, precum și a tratamentelor antiinflamator, sedativ, analgezic, topic, imunomodulator și vitaminoterapeutic, totodată în decurs de 12...24 ore de la examenul clinic se efectuează testul de sensibilitate la aciclovir a tulpinilor de virus prelevate din veziculele herpetice și în cazul depistării tulpinilor rezistente la aciclovir, acesta se substituie din ziua a doua a tratamentului cu un preparat antiviral cu acțiune timidinkinaza-independentă pe bază de interferon uman recombinant α -2b.

Invenția se referă la o nouă abordare a metodelor de tratament a infecției herpetice în baza diagnosticului prezumtiv precoce (realizat în 12-24 ore) care permite diferențierea tulpinilor de virus herpetic în (TK+) și (TK-).

Rezultatul obținut. Ca rezultat se reușește la obținerea unei eficacități sporite în tratamentul etiotrop specific al infecției herpetice demonstrat prin revenirea la parametrii de normă în interval de timp redus (comparativ cu metoda prototip) a indicilor clinici și paraclinici, excluderea utilizării nejustificate a aciclovirului (derivaților săi), care pot dezvolta efecte adverse extrem de nedorite (greață, vomă, diaree, convulsii, cristalizarea aciclovirului în tubii renali, halucinații, etc), reducerea riscului de avansare a infecției herpetice în forme severe (encefalite), urmare a absenței răspunsului virusologic scontat la tratament cu aciclovir, diminuarea semnificativă a duratei de spitalizare a pacienților, inclusiv suportului material.

Soluționarea acestei probleme, privind sporirea eficacității tratamentului în infecția cu herpes virus simplex este cauzată de includerea acestui modul original de diferențiere a virusurilor herpetice în HSV $\frac{1}{2}$ (TK+) și HSV (TK⁻) în primele 12-24 ore de la inițierea investigației clinice a pacientului, care face posibil modificarea în timp real a

tratamentului antiviral cu dezvoltarea unui răspuns clinic-virusologic de tratament al infecției herpetice cu HSV ½ (TK+); HSV ½ (TK⁻) susținut.

Toate aceste argumente ne permit să afirmăm că prin aplicarea metodei propuse se soluționează o importantă problemă clinic-virusologică, obținând importante rezultate terapeutice și epidemiologice benefice, însoțite de ameliorarea indicilor clinici și paraclinici cu un impact pozitiv asupra diminuării morbidității prin infecțiile herpetice.

În continuare prezentăm metodologia propusă de autori întru diferențierea tulpinelor de virus herpes simplex în HSV ½, aciclovir sensibile (TK+) și HSV ½ aciclovir rezistente (TK⁻), unde procesul tehnologic include următoarele etape:

Etapa 1. Concomitent cu examenul clinic primar al pacientului cu diagnosticul prezumptiv „Infecție herpetică”, conținutul veziculelor indiferent de localizare (herpes labial, genital, ocular, etc) în volum de 0,1 ml se inoculează în culturi celulare Vero, HEp-2 cu monostrat format, cultivate special pe lamele de sticlă (destinate pentru tehnicile de imunofluorescență), unde mediul de cultura Eagle + ser bovin (10%) a fost suplimentat cu aciclovir în concentrație inhibitorie, când IC - 50=2,0-5,0, μg/ml. După 12-24 de ore lamelele cu substrat celular, deja fixat se prelucrează cu anticorpi monoclonali anti - HSV ½ marcați cu fluoresceină (BIO-RAD, Pathfinder, SUA) pentru evidențierea markerilor antigenici a virusurilor herpetice HSV ½ la microscopul de ultimă generație în regim automatizat Leica 2500 DM, Germania.

Etapa 2. Aceiași procedură realizată prin infectarea culturilor celulare Vero, HEp-2 cu conținut vezicular de la pacienții nominalizați cu prelucrarea ulterioară prin tehnici de imunofluorescență întru evidențierea markerilor antigenici a virusului herpetic HSV ½ în absența soluției de aciclovir în concentrație IC>2,0 μg/ml

Etapa 3. Procedură similară primului test, deosebindu-se prin inocularea concomitentă a conținutului veziculelor recoltate de la pacienții cu infecție herpetică în volum de 0,1 ml și a serurilor de neutralizare a activității infecțioase a virusului herpetic HSV ½ de asemenea în volum de 0,1ml (obținute din Institutul de virusologie „D.I. Ivanovski”), Moscova, Federația Rusă, în culturi celulare.

Etapa 4. Ultimul test-martor similar primului a inclus toate elementele enumerate de identificare a virusului herpetic HSV1/2 și de evidențiere a posibilelor tulpini aciclovir-rezistente în culturile celulare nominalizate, dar inoculate cu placebo (0,1 ml ser fiziologic).

Tabel 1

Interpretarea rezultatelor obținute prin tehnici de imunofluorescență privind diferențierea tulpinelor de HSV ½ în TK+ și TK⁻, după metodologia propusă de autori în timp de 12-24 ore.

Testele utilizate	Infecție herpetică (IH) cu virusurile HSV 1/2		
	*IH cu virusul HSV,TK ⁻	** IH cu virusul HSV,TK+	*** Absența IH cu HSV
Test -1	(+)	(-)	(-)
Test -2	(+)	(+)	(-)
Test -3	(-)	(-)	(-)
Test -4	(-)	(-)	(-)

Remarcă:

* pacient cu infecție herpetică, etiologic cauzată de virusul HSV ½, rezistent la tratamentul cu aciclovir;

** pacient cu (IH) determinată de HSV ½ sensibil la tratamentul cu aciclovir,

*** absența infecției herpetice la pacienții investigați.

Pentru aprobarea metodei propuse de tratament a infecției cu herpes simplex virus s-au efectuat investigații clinice și paraclinice întru apreciere eficacității metodei originale de tratament în clinicile de boli infecțioase la copii și adulți „Spitalul clinic municipal de boli contagioase la copii”, Spitalul clinic de boli infecțioase „T.Ciorba”, Chișinău. Pe parcursul perioadei de studiu au fost examinați 85 bolnavi în vârstă de la 2,0 pînă la 18 ani cu diagnosticul clinic prezumptiv „infecție herpetică labială”.

Diagnosticul clinic prezumptiv de infecție herpetică labială a fost confirmat prin investigații paraclinice; evidențierea markerilor Ag HSV ½ și Ag HSV ½ în elementele de structură ale sângelui (limfocite, leucocite și eritrocite) la bolnavii din ambele loturi prin tehnici de imunofluorescență cu anticorpi monoclonali, marcați cu fluoresceină. Pondere bolnavilor cu infecție herpetică, etiologic cauzată de HSV " confirmată prin tehnicile nominalizate a constituit 85,9%. Ulterior bolnavii au fost repartizați în două loturi martor și experimental, fiind completate succesiv, odată cu internarea lor în staționar, care au inclus respectiv 43 și 42 pacienți. Loturile au fost formate după metoda selecției ocazionale, iar studiul realizat prin metoda dublu-orb. În lotul martor tratamentul inițiat după examenul primar clinic a inclus aciclovir 15 mg/kg per os de 5 ori /zi timp de 7-12 zile suplimentat cu ung. Florenali 0,5%,ung. Tebropheni 3,0% și ung. Oxolini 1,0% local și cu administrare de vitamine din grupul B, acid ascorbic, în unele cazuri după necesitate erau aplicate sedative și analgetice. Supravegherea clinică și investigațiile paraclinice efectuate la sfârșitul curei de tratament demonstrează că la o pondere considerabilă de bolnavi 85,7 % din lotul martor s-au redus semnificativ termenele de apariție a noi erupții veziculoase, însoțite de simptome de arsură și prurit constituind în mediu 3,7± 0,2 zile față de 10,7±0,5 zile identificate la 6 (14,3%)

pacienții din același lot, ulterior identificați ca rezistenți la tratamentul cu aciclovir (TK⁻). Acest grup de pacienți în număr de 6 de asemenea a punctat un număr semnificativ de recidive 5 (cazuri) cu termene prelungite de disconfort general (dureri, mialgii, nevralgii, etc.) pînă la 12, inclusiv și absența procesului de epitelizare. (Tab.2.)

La 5 din cei 6 pacienți de asemenea au fost atestate suprainfecții bacteriene, ceea ce a condus la o creștere a duratei de manifestare a erupțiilor, durata medie a spitalizării constituind 16-19 zile.

Tabel 2

Indicii clinici de bază evidențiați la pacienții cu infecție herpetică labială după aplicarea tratamentului existent nemodificat

Nr	Indici	Lotul martor – 43 bolnavi				P
		IH cu HSV ½ TK+		IH cu HSV ½ TK ⁻		
		37(86,1%)		6(13,9%)		
		Abs	M ±m	Abs	M m±	
1	Durata spitalizării	9...10	8,5±0,3	18...21	20,5±0,3	<0,05
2	Termenele de apariție a erupțiilor noi (zile)	3...4	3,7±0,2	9...12	10,7±0,5	
3	Numărul recidivelor (cazuri)	2		5		
4	Termenele dispariției disconfortului general (dureri, nevrolgii, mialgii etc) (zile)	6.....7	6,4±0,3	14...16	13,4±0,7	
5	Suprainfecții bacteriene (cazuri)	1		6		
6	Termenele de epitelizare (zile)	15-17	16±1,0	25...30	27,3±1,0	

Remarcă: Monitorizarea clinică și a unor indici paraclinici a fost efectuată în termen de până la 3-6 luni.

Durata spitalizării pentru bolnavii cu infecție herpetică, rezistenți la tratamentul cu aciclovir (TK⁻) a constituit de la 18 pînă la 21 zile, comparativ cu 9-10 zile, interval caracteristic pentru bolnavii, care au răspuns la tratamentul cu aciclovir. În paralel cu monitorizarea clinico-virusologică s-a efectuat testarea unor indici ai imunității celulare la finele curei de tratament cu aciclovir, prin utilizarea analizei imunoenzimatică Capcellia (BIORAD) SUA cu aprecierea numărului total de limfocite și a subclaselor T-helper și T-supresor. Rezultatele examinării paraclinice a bolnavilor din lotul martor sunt expuse în tab.3.

Tabel 3

Indicii paraclinici de bază la bolnavii cu infecție herpetică labială examinați în lotul martor după tratamentul existent, nemodificat

Nr.	Indicii imunității celulare	Lotul martor - 43 bolnavi				P
		IH cu HSV1/2 TK+		IH cu HSV1/2 TK ⁻		
		37 (86,1%)		6 (13,9%)		
		Abs	M± m	Abs	M± m	
1	T- limfocite total	37	1,1± 0,1	6	1,2±0,1	<0,05
2	T- limfocite (helperi)		0,81±0,07		0,65±0,06	
3	T-limfocite (supresori)		0,29±0,02		0,50±0,04	
4	Indicele T-helperi/T-supresori		2,79±0,03		1,3±0,2	

Remarcă: Valorile indicilor paraclinici sunt exprimate astfel, spre exemplu T-limfocite (helper) =0,81± 0,07x10⁹/L

Evaluarea rezultatelor obținute demonstrează că la bolnavii cu infecție herpetică labială, care au răspuns la tratamentul cu aciclovir (TK+) după 7-12 zile s-a înregistrat o sporire a numărului de T-limfocite helper și o reducere a T- limfocitelor supresoare, comparativ cu indicatorii analogi la bolnavii care au fost identificați ca rezistenți la aciclovir (TK⁻). Indicatorul T-helper / T-supresor de asemenea reflectă această tendință, pentru bolnavii care au răspuns la tratamentul cu aciclovir.

Identificarea markerului Ag HSV ½ prin tehnici de imunofluorescență în elementele de structură ale sîngelui (leucocite, limfocite, eritrocite) la bolnavii din lotul martor, care au răspuns la tratamentul cu aciclovir după 12 zile a demonstrat o reducere semnificativă a incidenței de la 85,9% (37) pînă la 39,5% (17). P<0,05.

La cei 6 bolnavi rezistenți la tratamentul cu aciclovir, markerii Ag HSV ½ au fost identificați pînă și după tratamentul.

Investigarea clinică și paraclinică a pacienților din lotul experimental cu infecție herpetică labială în număr de 42 bolnavi a inclus aceiași parametri cu excepția că la inițierea examenului clinic și a diagnosticului de laborator pentru confirmarea infecției cu HSV ½ a fost inclusă metodologia de diferențiere a tulpinilor de virus herpes simplex în TK+ și TK⁻. (Tab.1) Incluziunea testului de apreciere a sensibilității la aciclovir a tulpinilor de virus HSV ½ concomitent cu inițierea examenului clinic ne-a permis de a identifica din start în timp de 12-24 ore 5 pacienți cu infecție herpetică, rezistenți la tratamentul cu aciclovir (TK⁻). Astfel a devenit real începând cu ziua a doua de

tratament de a substitui produsul antiviral-aciclovir cu (viferon -500.000) pentru bolnavii cu infecție herpetică labială, cauzată de HSV ½ (TK⁻), nemodificând tratamentul simptomatic. Viferonul este un produs antiviral, care include interferon IFN – a 2 uman recombinat și vitaminele E și C pe ulei de cacao.

Așadar începând cu ziua a doua de tratament la cei 5 bolnavi cu infecție herpetică HSV ½ (TR⁻) din lotul experimental, produsul antiviral Aciclovir a fost substituit cu Viferon – 500.000, suplimentat cu ung. Florenali, Tebropheni, Oxolini local și cu administrarea de vitamine (grupa B), acid ascorbic și aplicarea după caz a unor sedative și analgetice pe parcursul a 7-12 zile. Rezultatul eficacității metodei de tratament modificate a bolnavilor cu infecție herpetică labială cu o durată pînă la 12 zile sunt expuse în tab. 4

Tabel 4

Indicii clinici de bază evidențiați la pacienții din lotul experimental cu infecție herpetică labială după aplicarea tratamentului etiotrop modificat

Nr	Indici	Lotul experimental – 42 bolnavi				P
		IH cu HSV1/2 TK ⁺		IH cu HSV1/2 TK ⁻		
		37 (88,1%)		5 (11,9)		
		Abs	M± m	Abs	M± m	
1	Durata spitalizării	9...11	8,8±0,3	8....9	7,2±0,3	<0,05
2	Termenele de apariție a erupțiilor noi (zile)	2....3	3,0±0,2	2....3	3,0±0,2	
3	Numărul recidivelor (cazuri)	3				
4	Termenele dispariției discomfortului general(dureri, nevralgii, mialgii,etc) zile	5....7	6,1±0,3	4....6	5,7±0,3	
5	Suprainfecții bacteriene (cazuri)	1				
6	Termenele de epitelizare (zile)	14-16	15,7±1,0	13....15	14,5±1,0	

Remarcă: Monitorizarea clinică și a unor indici paraclinici a fost efectuată în termen de până la 3-6 luni

Rezultate obținute, expuse în tabelul 5 demonstrează că practic nu este o diferență semnificativă între valoarea indicilor clinici evidențiați la bolnavi cu infecție herpetică labială HSV ½ (TK⁺) și la pacienții cu HSV ½ (TK⁻), ultimii evidențiați ca aciclovir-rezistenți a tratamentului din start cu aciclovir. Contrar lotului martor, indicii din lotul experimental, în special pentru cei 5 bolnavi (TK⁻) cărora din start li s-a modificat schema de tratament, demonstrează o tendință de ameliorare mai rapidă a valorilor indicilor nominalizați. Indicii paraclinici evidențiați pentru bolnavii cu infecție herpetică labială din lotul experimental de asemenea confirma eficacitatea sporită a metodei de tratament propuse comparativ cu metoda din cadrul celei mai apropiate soluții. Rezultatele investigațiilor de laborator ce țin de statutul imun tisular sunt expuse în tab. 5

Tabel 5

Indicii paraclinici de bază la pacienții cu infecție herpetică labială examinați în lotul experimental de tratament în varianta modificată propusă.

Nr	Indicii imunității celulare	Lotul experimental - 42 bolnavi				P
		IH cu HSV1/2 TK ⁺		IH cu HSV1/2 TK ⁻		
		37 (88,1%)		5 (11,9%)		
		Abs	M ±m	Abs	M ±m	
1	T- limfocite total	37	1,2±0,1	5	1,2±0,1	<0,05
2	T- limfocite (helperi)		0,79±0,65		0,81±0,07	
3	T-limfocite (supresori)		0,27 ±0,02		0,28±0,02	
4	Indicele T-helperi /T-supresori		2,92±0,31		2,89 ±0,30	

Remarcă: Valorile indicilor paraclinici sunt exprimate astfel, spre exemplu T-limfocite total=1,2±0,1x10⁹/L.

Astfel la finele tratamentului (după 7...12 zile) cu aciclovir pentru pacienții cu infecție herpetică (TK⁺) și cu Viferon – 500.000 pentru pacienții cu herpes simplex virus HSV ½ (TK⁻) nu a fost evidențiată o diferență statistic semnificativă între indicii caracteristici pentru statutul imun tisular. În ambele cazuri indicatorii au revenit în limitele normei în termeni de timp similari.

Identificarea markerului Ag HSV ½ prin tehnici de imunofluorescență cu anticorpi monoclonali anti HSV ½ marcați cu fluoresceină la finele tratamentului după 7...12 zile a demonstrat o reducere semnificativă a prezenței markerului nominalizat în elementele de structură a sîngelui bolnavilor cu infecție herpetică de la 85,9% (36) pînă 38% (17) P=0,05. Markerul Ag HSV ½ a fost identificat după tratamentul etiotrop cu Viferon - 500.000 inițiat practic după examenul clinic la 2 bolnavi din 5 testați prezumptiv apreciați ca aciclovir rezistenți (TK⁻).

Modificarea schemei de tratament a infecției herpetice cu HSV ½ în baza includerii a unui element nou propus de autori în diagnosticul de laborator, care ne permite în timp de 12...24 ore diferențierea tulpinelor de virus herpes simplex HSV ½ în TK⁺ și TK⁻, ne oferă posibilitatea de a iniția tratamentul etiotrop practic peste 12...24 ore după realizarea examenului clinic, contrar 7...12 zile, urmare a algoritmului existent de tratament (fig.1).

Rezultatele obținute demonstrează că modificarea metodei cunoscute (prototip) de tratament cu aciclovir a infecției cu HSV ½, prin includerea la etapa inițială de examinare clinică a unui modul nou de diagnostic întru diferențierea virusurilor herpetice HSV ½ în sensibile (TK+) și rezistente (TK⁻) a condus semnificativ la sporirea eficacității tratamentului comparativ cu metoda cunoscută. Acest efect benefic include; revenirea la parametrii de normă în interval de timp cu mult mai redus a indicilor clinici și paraclinici, excluderea utilizării nejustificate a produsului antiviral etiotrop – aciclovir, care poate dezvolta efecte adverse nedorite (cristalizarea aciclovirului în tubii renali, vomă, greață, diaree, somnolență, halucinații, convulsii, amețeli, etc), reducerea riscului de avansare a infecției cu herpes în forme severe (encefalitate), cronice, latente urmare a absenței răspunsului virusologic scontat la tratamentul cu aciclovir, diminuarea semnificativă a duratei de spitalizare a pacienților, inclusiv a costului tratamentului. Pentru ilustrarea eficacității tratamentului a infecției herpetice labiale, etiologic cauzate de Herpes simplex virus prezentăm următoarele cazuri clinice:

1. Bolnavul B., 2 ani 7 luni, nr fișei 3749 s-a internat pe data 18.10.2014 cu acuze la senzație de arsuri, dureri, usturime la față în regiunea buzelor, disconfort, slăbiciune generală, febră 38,1°C. În regiunea labială (subnazală) se identificau multiple vezicule cu lichid transparent, care au apărut pe parcursul ultimelor 12-24 ore. Ganglionii limfatici periferici erau măriți în volum. În anamneză s-a stabilit apariția în premieră a acestei patologii. Investigațiile de laborator realizate în primele 24-48 ore au identificat prezența markerului Ag HSV-1 în elementele de structură a sângelui și în lichidul vezicular, markerul anti-HSV-1 IgM a fost negativ, iar anti-HSV-1 IgG pozitiv. Concomitent prin testul propus de noi s-a demonstrat că tulpina virusului herpetic HSV -1 este sensibilă la aciclovir (TK+). În consecință s-a stabilit diagnosticul clinic de infecție herpetică primară, etiologic cauzată de HSV-1 (TK+). În continuare pacientul a fost testat la markerii paraclinici: hemoleucograma (18.10.2014) Hb-106 g/l, Er-3,5x10¹²/L, leuc-6,0x10⁹/L, nes-2%, segm-60%, eoz-1%, limf-28%, mon-9%, VSH-12mm/oră și repetat (22.10.2014) Hb-128 g/l, Er-4,5x10¹²/L, leuc-5,1x10⁹/L, nes-0%, segm-35%, eoz-2%, limf-55%, mon-8%, VSH-10mm/oră; urograma și coprograma fiind în limitele normei.

Testarea indicilor imunității celulare prin analiza imunoenzimatică (Capelia-BIORAD) a evidențiat următoarele: T-limfocite(total)-0,6x10⁹; T-limfocite (helperi)-0,31x10⁹; T-limfocite (supresori)-0,29x10⁹, T-helperi /T-supresori-1,06. S-a instituit tratamentul cu ung. Florenali 0,5%, ung. Herpevir 2,5% aplicații topice și aciclovir 15 mg/kg per os de 5 ori/zi, timp de 7 zile. Urmare a tratamentului apariția de noi vezicule herpetice s-a stopat peste 48 ore, iar erupțiile au dispărut peste 5-6 zile, concomitent dispărând și acuzele locale. Identificarea markerului Ag HSV-1 în elementele structurale ale sângelui după finisarea tratamentului a demonstrat absența acestuia. Markerii anti-HSV ½ IgM și anti-HSV ½ IgG în serul bolnavului au rămas nemodificați. Indicii imunității celulare au demonstrat următoarele: T-limfocite (total)-1,2x10⁹/L, T-limfocite (helperi)-0,80x10⁹/L, T-supresor-0,29x10⁹/L; T-helperi/ T-supresori-2,75. Supravegherea clinică pe parcursul perioadei de până la 3 luni a pacientei (tului) nu a evidențiat apariția de recidive.

Bolnavul G., 2 ani 3 luni, nr.fișei 3708 a fost internat pe data 15.10.2014 cu acuze severe de dureri, prurit, senzație de usturime, febră 37°,6 C, disconfort, slăbiciune generală însoțite de multiple vizicule cu lichid transparent localizate în regiunea perinazală a feței, apărute recent în primele 12-24 ore. În anamneză acuză prezumptiv suportarea unei infecții respiratorii acute însoțite de febră, dureri de cap și în gât, nas înfundat, ochi înroșiți (hiperemiați), disconfort general. Ganglionii limfatici periferici erau măriți în volum. Maladia evoluează cu recidive și remisii, acum recidivează a 4-oară. Din anamneză se constată că acutizarea posibil este legată de statutul imun compromis. Prezumptiv a fost stabilit diagnosticul „infecție herpetică nazo-labială. Investigațiile de laborator efectuate în primele 12-24 ore au identificat prezența markerului Ag HSV-1 în elementele de structură a sângelui și în lichidul veziculelor, markerul anti-HSV 1 IgM a fost negativ, iar anti-HSV 1 IgG pozitiv. Concomitent prin testul propus de noi la etapa primară în primele 12-24 ore de examinare clinică a bolnavului prin teste paraclinice s-a demonstrat că tulpina virusului herpetic HSV-1 este rezistentă la aciclovir (TK⁻). Astfel diagnosticul clinic a fost formulat în următoarea redacție „Infecție herpetică nazo-labială recidivantă, etiologic cauzată de HSV-1, rezistent la aciclovir (TK⁻). În continuare pacientul a fost examinat la următorii markeri paraclinici: hemoleucograma (16.10.2014) Hb-137 g/l, Er.4,5x10¹²/L, Leuc.-6,3x10⁹/L, neseg-2%, segm.-50%, eoz-4%, limf-38%, mon.-6%, VSH-12mm/oră; examenul biochimic al sângelui ureea-5,29 mmol/l, creatinina-68,4 mmol/l, ALT-13,4U/l, AST-66,2U/l, bilirubina generală-6,1mcmmol/l, amilaza-56,0U/l; urograma și coprograma (în normă). Indicii imunității celulare: T-limfocite(total)-0,80x10⁹; T-limfocite (helperi)-0,48x10⁹. T-limfocite (supresori)- 0,35x10⁹; T- helperi / T- supresori -1,37. Luând în considerație rezistența tulpinei de HSV-1 la aciclovir evidențiată în primele 12-24 ore de la examinarea clinică s-a instituit tratamentul cu aplicarea ung. Florenali 0,5%, Tebrofeni, Oxolini, și etiopatogenic cu viferon-500.000 UA/1supp. per rectum de 2 ori /zi timp de 10 zile, cura repetată. Acuzele la dureri, prurit, disconfort au dispărut peste 3-4 zile, erupțiile peste 5-6 zile. Investigațiile de laborator după finisarea tratamentului au demonstrat următoarele; absența markerului Ag HSV-1 în elementele de structură a sângelui, anti-HSV ½ IgM pozitiv și anti HSV ½ IgG-pozitiv. Indicii imunității celulare au prezentat următoarele valori: T-limfocite (total)-1,2x10⁹; limfocite (helperi)-0,84x10⁹; limfocite (supresori)-0,33x10⁹; T-helperi / T-supresori-2,55. Supravegherea clinică pe parcursul perioadei de până la 3 luni a pacientei (tului) nu a evidențiat apariția de noi recidive.

Astfel, includerea modului de diferențiere a tulpinelor de virus herpetic HSV ½ în (TK+) și (TK⁻) la etapa de examinare primară a bolnavului (în primele 12-24 ore) din start face posibil modificarea algoritmului tratamentului favorizând în continuare o evoluție favorabilă a procesului patologic, o recuperare mai rapidă a bolnavilor cu o

reducere semnificativă a duratei de manifestare a principalelor semne clinice și paraclinice în lotul experimental comparativ cu lotul martor.