

## Evaluation of immunomodulatory effect of Pacovirin in women vaccinated against hepatitis B

\*C. Spinu, M. Isac, O. Sajen, V. Guriev, Ig. Spinu, P. Scoferta, A. Donos, P. Cristalov

National Center of Public Health, Chisinau, the Republic of Moldova  
Center of Public Health, Orhei, the Republic of Moldova

\*Corresponding author: [lehv@cnsnp.md](mailto:lehv@cnsnp.md). Manuscript received July 17, 2013; accepted April 15, 2014

### Abstract

**Background:** In the article have been shown the results of the use of the autochthonous vegetal product *Pacovirin* with antiviral, immunomodulatory and antioxidant effects in women of reproductive age with immune deficiency, vaccinated against hepatitis B, to increase the process of immunogenesis and protective titers of antibodies to hepatitis B.

**Material and methods:** The immune status has been assessed on the basis of the ratio *Th indicator Th (CD4ml/Ts (CD8ml)*. Totaly, the study has included 80 women of reproductive age including 40 in the experimental group and 40 in the control group. To determine the presence of antibodies to the virus of hepatitis B the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) has been used with the specifics of 99.5% and the sensitivity of 99.8%, manufacturer – the company Bio-Rad, France. Subclasses of T-lymphocytes (Th, CD4 and Ts CD8) have been identified and evaluated through Capcellia test and the method of sockets in the presence of theophylline

**Results:** Overall in the experimental group we achieved an immune response in  $95.0 \pm 3.4\%$  of the cases and in the control group only  $67.5 \pm 7.4\%$  of women developed an immune response durable. The results of this study may serve in the future as an important element in the change of the strategy of vaccination of persons with immune deficiency, especially the women of childbearing age – with the vaccine against viral hepatitis B, where *Pacovirin* will serve as a supplement with immunomodulatory effect. These results will be implemented in the course of the new National Program for the struggle against viral hepatitis B, C and D in the period of 2012-2016, approved by Government Decree № 90 dated by 13.02.2012.

**Conclusions:** Vaccination against HBV of women of childbearing age with compromised immune status, with concomitant administration of *Pacovirin* significantly increases efficiency and minimizes risk to get sick with HBV in the category of women said.

**Key words:** vaccine against hepatitis B, *Pacovirin*, antibodies, women of reproductive age.

## Evaluarea efectului imunomodulator al Pacovirinei la femeile vaccinate contra hepatitei virale B

### Introducere

Hepatitele virale și sechelele lor, care includ hepatitele cronice, cirozele hepatice și cancerul primar hepatic reprezintă o problemă social-medicală la nivel mondial. Conform datelor OMS, circa 2 miliarde de persoane au contactat infecția cu virusul hepatitei virale B (HVB), iar 350 de mln de indivizi au rămas purtători cronici de AgHBs, care pot servi ca sursă de infecție cu HVB și au un risc potențial de a se infecta cu virusul hepatitei virale D (VHD). În urma complicațiilor acestor maladii, în fiecare an decedază circa 1 mln de persoane, ceea ce reprezintă a 9-a cauză de deces în lume și a 2-a cauză de mortalitate prin cancer după fumat [1, 2, 3].

Republica Moldova încă mai face parte din regiunile cu endemicitate medie, în pofida realizărilor obținute în revenirea cazurilor de îmbolnăvire prin HVB acută. Problema HVB rămâne actuală, în țară, din cauza persistenței continue a riscului înalt de transmitere a infecției, determinat de nivelul înalt de portaj al AgHBs (2-8%) în populația generală și prevalența înaltă a persoanelor cu HVB cronică, ce reprezintă sursa principală de transmitere a infecției. În acest context, o actualitate deosebită îi revine răspândirii HVB printre persoanele expuse unui risc sporit de infectare și, în special, femeile de vârstă fertilă care sunt parte componentă a păturii sexual active a societății, în care persistă riscul transmiterii infecției cu virusul hepatitei B pe cale sexuală. Cercetările în domeniu, atât la nivel internațional, cât și în Republica Moldova, au scos în evidență faptul că circa 25-50% din ca-

zurile de hepatite virale parenterale la adulți se datorează căii sexuale de transmitere.

În conformitate cu datele OMS, în regiunile cu endemicitate înaltă, principala cale de transmitere a infecției cu VHB este calea perinatală și 70-80% din copiii infectați contractează virusul hepatitei B pe această cale. În același timp, la circa 90% dintre acești copii se va dezvolta infecția cronică cu VHB, care se va manifesta, foarte probabil, peste 10-15 ani. Rata de cronicizare a infecțiilor virale hepatice, provocate de virusul B, se estimează la 15-25%. Infecțiozitatea VHB este de 100 de ori mai mare față de virusul hepatitei C (VHC) și virusul imunodeficienței umane (HIV), însă evoluția infecției cu VHB depinde în mare măsură de vârstă. Astfel, cea mai mare probabilitate de a dezvolta o hepatită cronică cu VHB o au copiii infectați în primul an de viață, riscul constituind circa 90%, copiii infectați la vârsta de până la cinci ani au un risc de cronicizare între 30-50%, iar adulții de circa 25,0%.

Actualmente, cea mai efectivă măsură profilactică în combaterea și prevenirea hepatitei virale B este vaccinarea, în primul rând, a persoanelor din grupurile cu risc sporit de infectare. Prioritățile principale ale vaccinării contra hepatitei virale B sunt:

- Vaccinul contra HVB este primul și la moment unicul care poate preveni un număr mare din cazurile de cancer hepatic și ciroze hepatice la om.
- Vaccinarea contra HVB este o metodă eficace de prevenire și pentru HVD.

– Majoritatea vaccinurilor utilizate astăzi au o imunogenitate înaltă cu o rată nesemnificativă de reacții adverse indesezirabile.

Totodată, tot mai mulți cercetători s-au avântat în obținerea unui „vaccin” și a unei „metode de vaccinare ideale”, care ar conține o substanță puternic imunogenă, cu eficacitate totală într-o singură inoculare, neproducând reacții adverse de niciun fel, determinând o protecție postvaccinală puternică și durabilă pentru toată viața, la 100% dintre recipienți. Succesele obținute în realizarea unei protecții postvaccinale specifice și eficiente pe termen lung au stimulat cercetările în vederea perfecționării vaccinurilor și metodelor de utilizare a acestora pentru obținerea unui nivel maxim posibil de răspuns imun, fără vreun risc, ușor de administrat și la un preț accesibil pentru orice categorie socială. Eficacitatea metodei de vaccinare a persoanelor din grupurile cu risc sporit contra HVB depinde de o gamă extinsă de factori determinanți. Factorii care reduc din imunogenitate sunt: vârsta mai mare de 40 de ani, obezitatea, factorii genetici, hemodializa, patologii preexistente inclusiv HIV, tabagismul, păstrarea și introducerea incorectă a vaccinului (inocularea subcutană sau în fesă, congelarea vaccinului, accelerarea schemei de vaccinare), supresia și deficitul imun ca urmare a diverselor patologii, în special, de genăz infecțioasă, care se înregistrează la o parte considerabilă dintre pacienții spitalizați în secțiile de hemodializă, hematologie etc. Riscul infectării cu virusul HVB a persoanelor imunocompromise după vaccinare constituie până la 16,3%. Este cunoscut faptul, că circa 5,0-10,0% dintre indivizii sănătoși și 30,0-35,0% dintre persoanele cu deficit imun, nu răspund sau au un nivel redus de anticorpi specifici față de HVB (anti-HBs) la administrarea vaccinului contra HVB [4, 5, 6, 7]. Conform standardelor internaționale titrul protectiv de anticorpi anti-HBs este de 10 UI/l și mai mare. De menționat că persoanele care răspund cu un titru de anticorpi mai mic de 10 UI/l rămân susceptibile la infecția cu VHB, în aceste cazuri fiind recomandată administrarea unei *booster* doze de vaccin. Referitor la administrarea dozelor *booster*, Organizația Mondială a Sănătății constată că până la momentul n-a fost raportat niciun caz de HVB acută la persoanele vaccinate (care au avut un titru protectiv al anti-HBs mai mare de 10 UI/l). Memoria imunologică induce un răspuns anamnezic rapid la expunerea repetată la VHB și astfel nu permite dezvoltarea infecției. Au fost declarate cazuri de manifestare clinică numai la persoanele, care în rezultatul contractării infecției au produs seroconversia numai anti-HBc nu și anti-HBs. Reieșind din cele menționate mai sus, revaccinarea persoanelor care au răspuns la vaccin prin seroconversie înaltă a anti-HBs nu este recomandată.

Drept alternativă metodei de sporire a procesului de imunogenează la persoanele imunocompromise și vaccinate contra hepatitei virale B prin utilizarea *booster* dozelor de vaccin servesc produsele medicamentoase, inclusiv unii adjuvanți cu acțiune imunomodulatoare.

Așadar, reieșind din cele expuse, actualmente, un deosebit interes prezintă cercetările științifice consacrate statutului imun al persoanelor imunocompromise prin utilizarea

adjuvanților, inclusiv a produselor cu acțiune imunomodulatoare. Utilizarea acestor produse modifică substanțial procesul de imunogenează, având un impact pozitiv asupra dezvoltării unui nivel protector de anti-HBs semnificativ.

Acestea sunt premisele care au stat la baza inițierii prezentului studiu cu utilizarea produsului medicamentos autohton Pacovirina cu acțiune antivirală, imunomodulatoare și antioxidantă pe parcursul vaccinării contra hepatitei virale B a femeilor de vârstă fertilă imunocompromise.

### Material și metode

Probele de sânge pentru examinarea la anticorpii anti-HBs au fost colectate de la 80 de femei de vârstă fertilă (18 și 29 de ani) incluse în studiu, care au fost divizate în două loturi experimentale și martor. Astfel, în lotul experimental au fost incluse 40 de femei de vârstă fertilă cu deficit imun, anti-HBs negative, iar în grupul martor a fost inclus același număr de femei anti-HBs negative.

Pentru determinarea prezenței anticorpilor față de virusul hepatitei virale B a fost folosită metoda imunofermantativă (ELISA) cu specificitate 99,5% și sensibilitate 99,8%, implicit kituri pentru diagnostic produse de firma Bio-Rad, Franța [1]. Metoda ELISA constă în depistarea calitativă și cantitativă a markerilor corespunzători (antigene sau anticorpi), bazată pe principiul „sandwich”.

Rezultatele au fost măsurate în baza densității optice și calculate în dependență de *cut-off*-ul rezultat al fiecărei reacții. Titrul cantitativ anti-HBs a fost exprimat în unități internaționale UI/l și calculat în baza serurilor standard de referință din fiecare trusă respectivă. Subclasele de T-limfocite (Th, CD4 și Ts CD8) au fost determinate și evaluate prin testul *Capcellia* și metoda rozetelor în prezența teofilinei. Celulele T-helper au fost considerate limfocitele teofilinrezistente, iar celulele T-supresoare cele teofilinsensibile. Toate investigațiile de laborator au fost efectuate conform instrucțiunilor anexate la trusele de diagnostic respective. Din arsenalul bogat de metode epidemiologice și statistice în studiul de față au fost utilizate următoarele: analiza epidemiologică descriptivă, screeningul serologic, statistică, matematică, computerizată, analitică etc. Persoanele incluse în studiu au fost selectate în mod randomizat, iar pentru studiul produsului medicamentos Pacovirina a fost folosită metoda dublu orb.

### Rezultate obținute

Studiul preconizat a fost focusat asupra utilizării produsului medicamentos autohton de origine vegetală Pacovirină, cu efecte antivirale, imunomodulatoare și antioxidante de femeile de vârstă fertilă, cu deficit imun, vaccinate contra hepatitei virale B întru sporirea procesului de imunogenează și ca urmare a majorării semnificative a titrului de anticorpi protectivi anti-HBs. Statusul imun a fost apreciat în baza indicatorului Th (CD4ml)/Ts (CD8ml). Pentru evaluarea răspunsului imun ca rezultat al vaccinării contra HVB, în dependență de administrarea preparatului Pacovirină, au fost selectate două loturi de femei de vârstă fertilă (între 19 și 29 de ani) din or. Orhei cu deficit imun: experimental

și martor. Astfel, în grupul experimental au fost selectate 40 de femei de vârstă fertilă cu deficit imun, anti-HBs negative, iar în grupul martor a fost inclus același număr de femei anti-HBs negative, în baza acordului informat. Toate persoanele incluse în studiu au fost vaccinate contra HVB cu vaccin recombinant Euvax-B, care constă din particule neinfecțioase de antigen de suprafață a virusului hepatitei B înalt purificate și adsorbite pe sare de aluminiu cu adjuvant, conservate cu timerosal, care corespunde cerințelor OMS pentru vaccinurile recombinante. Vaccinul a fost administrat intramuscular, în mușchiul delatoid, în doză de 2,0 ml ( $\mu\text{g}$  de AgHVs) conform schemei 0, 1, 2 și 12 luni, la persoanele cu imunodeficiență din contingentele cu risc sporit de infectare din lotul experimental. Același algoritm de administrare a vaccinului contra hepatitei virale B a fost utilizat și pentru persoanele din lotul martor. Subiecților din lotul experimental, concomitent cu vaccinul, li s-a administrat și preparatul Pacovirină în doză de 50,0 mg în pastile, câte o pastilă pe zi, dimineața, cu 30 min. înainte de dejun, timp de 30 de zile, începând cu prima zi de administrare a vaccinului contra HVB. La pacienții vaccinați contra hepatitei virale B, pe fonul aplicării preparatului Pacovirină pentru stimularea răspunsului imun, vaccinul contra HVB a avut o acțiune evident benefică în lotul experimental, comparativ cu lotul martor (tab. 1) [6].

În tabelul 1 sunt prezentate rezultatele determinării răs-

punsului imun la femeile de vârstă fertilă, incluse în lotul experimental și martor. Lotul experimental a inclus femei de vârstă fertilă cu deficit imun, vaccinate contra HVB cu administrarea Pacovirinei, iar lotul martor – femei de vârstă fertilă cu deficit imun, vaccinate în absența adaptogenului natural Pacovirină.

Rezultatele investigațiilor demonstrează că ponderea anticorpilor specifici anti-HBs după vaccinarea completă contra HVB în lotul experimental constituie 95,0%, ori din totalul de 40 persoane vaccinate, 38 s-au dovedit a fi respondente la vaccinarea contra hepatitei virale B cu administrarea concomitentă a preparatului Pacovirină, dintre acestea cu titrul anticorpilor anti-HBs de 10-50 UI/l nu a fost identificată nicio persoană, cu titrul anticorpilor anti-HBs de 51-100 UI/l au fost 3 persoane sau  $7,9 \pm 4,4\%$ , iar cu titrul anti-HBs  $> 250$  UI/l 35 persoane –  $92,1 \pm 4,4\%$ . Aceste rezultate sunt total diferite de cele obținute în rândul persoanelor incluse în lotul martor (care au primit doar vaccin contra HVB), la care doar 27 au dezvoltat răspuns imun, ceea ce constituie 67,5%. Dintre acestea, la 5 persoane titrul anticorpilor anti-HBs a fost de 10-50 UI/l, adică o pondere de  $18,5 \pm 7,4\%$ , la alte 8 persoane titrul anticorpilor anti-HBs a fost cuprins între 51-100 UI/l ori o pondere de  $29,6 \pm 8,8\%$ , în timp ce în cazul a 14 persoane din lotul martor s-a stabilit un titru al anti-HBs de  $> 250$  UI/l ceea ce reprezintă o pondere de  $51,9 \pm 9,6\%$ . Rezultatele menționate

Tabelul 1

#### Răspunsul imun după vaccinarea contra hepatitei virale B cu administrarea preparatului Pacovirină

Lotul	Total persoane	Pozitive la anti-HBs			Titru protector						
		Abs.	%	p	10-50 UI/l						p
					Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	
Experimental (vaccinul contra HVB+pacovirină)	40	38	$95,0 \pm 3,4$	p < 0,05	0	0	3	$7,9 \pm 4,4$	35	$92,1 \pm 4,4$	p < 0,05
Martor (vaccinul contra HVB)	40	27	$67,5 \pm 7,4$		5	$18,5 \pm 7,4$	8	$29,6 \pm 8,8$	14	$51,9 \pm 9,6$	

denotă faptul că există o diferență statistică semnificativă ( $p < 0,05$ ) între rezultatele obținute în cele 2 loturi, astfel *per total* în lotul experimental s-a obținut un răspuns imun în  $95,0 \pm 3,4\%$  din cazuri, iar în lotul martor doar  $67,5 \pm 7,4\%$  din subiecți au dezvoltat un răspuns imun durabil. Diferența este și mai semnificativă ( $p < 0,05$ ) între numărul de persoane din ambele loturi care au obținut ca urmare a vaccinării un titru protector de anti-HBs  $> 250$  UI/l, astfel printre femeile de vârstă fertilă din primul grup (experimental) această valoare a fost de  $92,1 \pm 4,4\%$ , în timp ce printre persoanele din grupul al doilea (martor) acest indice a fost de  $51,9 \pm 9,6\%$ .

De asemenea, este de menționat faptul că și nivelul titrului anti-HBs și valorile T-helper ale subclaselor de T-limfocite s-au dovedit a fi mai sporite în lotul experimental ( $p < 0,05$ ). Astfel, s-a constatat că în rezultatul administrării Pacovirinei în lotul experimental, ponderea persoanelor, care au răspuns cu titru de anti-HBs mai mare de 251 UI/l a constituit  $92,1\%$ ,

iar în lotul martor astfel de valori au fost înregistrate numai la 51,8% persoane vaccinate. De menționat faptul că a sporit esențial și valoarea indicelui T-helper limfocite de la  $403 \pm 138,9$  la  $654 \pm 279 \times 10^6$  celule/L, unde raportul CD4/CD8 a evoluat de la 0,6 la 1,5.

#### Discuții

Vaccinarea contra hepatitei virale B are un nivel excelent de siguranță și eficacitate. Din 1982, peste un miliard de doze de vaccin contra hepatitei virale B, au fost utilizate în întreaga lume. În multe țări, în care aproximativ 8-15% din copii erau infectați cronic cu virusul hepatitei B, vaccinarea a redus rata de infecție cronică la mai puțin de 1% în rândul copiilor imunizați.

Din iulie 2011, 179 de state membre ale OMS practică vaccinarea copiilor împotriva hepatitei B, ca parte din programele lor de vaccinare. Aceasta este o creștere majoră în comparație cu 31 de țări în 1992, anul în care Adunarea

Mondială a Sănătății a adoptat o rezoluție pentru a recomanda vaccinarea la nivel global față de hepatita virală B. În plus, din iulie 2011, 93 de state membre au introdus vaccinarea la naștere contra hepatitei virale B [8].

O atenție deosebită a fost și este acordată potențierii răspunsului imun la vaccinul contra hepatitei B, în special la persoanele non respondente cu risc, cum ar fi pacienții tratați prin hemodializă, beneficiari de transplant de organe, persoane infectate cu HIV, pacienții oncologici și persoanele în vârstă care răspund slab la vaccinurile existente și au nevoie de vaccinuri înalt imunogene sau regimuri optimizate de vaccinare. În această ordine de idei, un interes deosebit îl prezintă adjuvanții, care pot crește potențialul vaccinării [9], prin stimularea procesului de imunogeneză.

Actualmente, semnificativ a crescut ponderea adepților ce împărtășesc ideea de a extinde lista adjuvanților, utilizați în imunizarea populației umane. Timp îndelungat, în calitate de adjuvant în vaccinurile umane era folosit hidroxidul și fosfatul de aluminiu. S-a constatat însă că pentru majoritatea antigenilor acești adjuvanți manifestau o acțiune imunomodulatoare modestă. În viziunea unor savanți [10, 11, 12], un neajuns serios al adjuvanților preparați în baza derivaților de aluminiu se reduce la incapacitatea lor de a activa celulele T-helper, producerea interleukinei și interferonului –  $\gamma$ . Este important de menționat că mulți din adjuvanții nelicențiați s-au dovedit a fi efectiv superiori celor cunoscuți în stimularea imunogenezei umorale și celulare.

În prezent sunt inițiate noi studii privind utilizarea adjuvanților de nouă generație, lipsiți de toxicitate, cu potențial sporit de stimulare a imunogenezei în calitate de componenți ai vaccinului [1]. În pofida faptului că saponinele (componenta de bază a Pacovirinei) posedă proprietăți exprimate de adjuvant, totuși utilizarea lor în practica medicală este limitată din cauza studierii limitate și substituirii lor cu unele preparate comerciale de acest gen, dar de altă origine. Este cunoscut faptul că proprietățile imunostimulatoare ale saponinelor variază în dependență de structura moleculară, ulterior în dependență de poziția agliconilor, fapt confirmat de noi în studiile inițiale de selectare a saponinelor – candidați utilizați pentru obținerea produsului medicamentos Pacovirina [13].

Potrivit concepțiilor actuale, sistemul imun reprezintă un complicat sistem alcătuit din mai multe componente aflate în strânsă interacțiune. Aceste componente formează de fapt o unitate funcțională complexă în care se disting: 1. factori de rezistență naturală; 2. răspunsul indus precoce; 3. factorii imunității dobândite [14, 15, 16]. Această problemă este deosebit de importantă pentru contingentele de populație cu status imun compromis, care influențează negativ imunizarea populației, în special și vaccinarea contra hepatitei virale B [1]. Rezultatele obținute pe parcursul vaccinării contra hepatitei virale B a femeilor de vârstă fertilă pe fundalul aplicării Pacovirinei, demonstrează rezultate superioare în comparație cu metoda tradițională. Astfel, datele evaluate confirmă acțiunea imunomodulatoare a Pacovirinei, manifestată prin revenirea la normă a procesului de formare a anti-HBs față

de antigenul de suprafață a virusului hepatitei B și indicelui imunoreglator T helperi/supresori.

Rezultatele obținute relevă importanța studierii în continuare a potențierii răspunsului imun la vaccinul contra hepatitei B prin administrarea concomitentă a preparatului imunomodulator autohton Pacovirina, în special în continentele de populație cu statut imun compromis, fapt care în continuare va reduce semnificativ riscul de contractare a infecției cu virusurile hepatitelor virale B, C și D.

### Concluzii

1. S-a demonstrat sporirea eficacității imunizării prin stimularea răspunsului imun la vaccinul contra HVB, la administrarea concomitentă a vaccinului și produsului medicamentos Pacovirină, care sporește evident titrul de anticorpi și reduce numărul de persoane imunorefractare la vaccinul contra hepatitei virale B Euvax-B în rândul femeilor de vârstă fertilă.

2. Vaccinarea contra HVB a femeilor de vârstă fertilă cu statut imun compromis, cu administrarea concomitentă a Pacovirinei sporește semnificativ eficacitatea imunizării, reducând la minimum riscul apariției cazurilor de HVB în categoria de femei menționată.

3. Rezultatele acestui studiu pot servi în viitor drept un element important în modificarea strategiei acoperirii vaccinale a persoanelor cu deficit imun, în special a femeilor de vârstă fertilă cu vaccin contra hepatitei virale B, unde Pacovirina ar servi ca adjuvant cu acțiune imunomodulatoare întru repararea statusului imun. Aceste rezultate vor fi implementate pe parcursul realizării Programului Național de combatere a hepatitelor virale B, C și D pentru perioada 2012-2016, aprobat prin Hotărârea de Guvern nr. 90 din 13.02.2012. Algoritmul vaccinării persoanelor cu deficit imun contra hepatitei virale B pe fundal de stimulare a procesului de imunogeneză a fost patentat prin Brevet de invenție (nr. 4177 din 28.02.2013) „Metodă de vaccinare contra hepatitei virale B a persoanelor imunocompromise”.

### References

- Spînu I, Spînu C. Actualități în tratamentul și profilaxia infecțiilor virale [Actualities in the treatment and prophylaxis of viral infections]. Chișinău, 2012.
- Papatheodoridis G, Buti M, Gornberg M, et al. EASL Clinical Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology*. 2012;57:167-185.
- Mauss S, Berg, Rockstroh J, et al. *Hepatology a clinical textbook*. 2012.
- Spînu C, Holban T, Guriev V, et al. Hepatite virale și HIV (aspecte etiologice, epidemiologice, clinice, diagnostic de laborator, tratament și profilaxie). Chișinău: Tipografia AȘM, 2013;296.
- Baldy JL, De Lima CZ, Morimoto HK, et al. Immunogenicity of three recombinant hepatitis B vaccines administered to students in three doses containing half the antigen amount routinely used for adult vaccination. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2004;46(2):103-7.
- Spînu C, Isac M, Chintea P, et al. Metodă de vaccinare contra hepatitei virale B a persoanelor imunocompromise. Brevet de invenție nr. 4177 din 28.02.2013 [Method of vaccination of immunocompromised persons against the viral hepatitis B. Patent nr. 4177 of 28.02.2013].
- CDC. Hepatitis B vaccination among high-risk adolescents and adults – San-Diego, California 1998-2001. *MMWR Weekly*. 2002;51(28):618-621.
- <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>

9. Joshi N, Kumar A. Immunoprophylaxis of hepatitis B virus infection. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2000;19(4):172-183.
10. Bernstein D, Edwards K, Dekker C, et al. Effects of adjuvants on the safety and immunogenicity of an avian influenza H5N1 vaccine in adults. *J. Infect. Dis.* 2008;197:667-675.
11. Eliasson D, Bakkouri K, Sehon K, et al. CTA1-M2e-DD: A novel mucosal adjuvant targeted influenza vaccine. *Vaccine*. 2008;26:1243-1252.
12. Gendor YuZ, Markushin SG, Krivtsov GG, et al. Chitozan as an adjuvant for parenteral inactivated influenza vaccines. *Problems of virology*. 2008;5:14-19.
13. Vorobjit V. Studiul și aprecierea activității antivirale și imunomodulatoare a tomatozidei: autoref. tezei de doctor în științe medicale. Chișinău, 1997;26.
14. Petrov RV, Khaitov RM, Masternyak TB, et al. Korrektsiya immunodefitsytnykh sostoyaniy s pomoshchyu immunomodulyatora polioksidoniy. *Allergiya, astma i klin. immunol.* 2009;9:3-7.
15. Semyonov BV, Vorobyova AA, Egorova NB. Ozhidaemye perspektivy vaksinologii do 2020 g. Fundamentalnye napravleniya molekulyarnoy meditsiny. SPb, 2005;328-392.
16. Semyonov BV, Zverev VV. Kontsepsiya sozdaniya immunologicheskoy zashity ot patogenov. *Zhurnal mikrobiologii*. 2007;4:93-100.

## Clinical and immunological correlation in patients with anti-tuberculosis treatment failure

E. Lesnic, S. Ghinda, V. Zlepca

Department of Pneumophysiology, Nicolae Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy  
Chisinau, the Republic of Moldova

\*Corresponding author: evelinalesnic@yahoo.com. Manuscript received November 15, 2013; accepted May 15, 2014

### Abstract

**Background:** Tuberculosis is a multipathogenetic disease, the treatment response of which is influenced by the degree of the immune disturbances. The acute progressive evolution of this disease with extensive destructions and dissemination causes the lowest treatment results and in most of the cases is influenced by the heterogeneous immune response.

**Material and methods:** Clinical and immunological data obtained before and after a standard antituberculosis treatment of 54 new pulmonary TB cases with the failed treatment and of 34 new pulmonary successfully treated TB cases have been compared with the data of 50 healthy individuals.

**Results:** It has been established that despite the similar distribution of patients by gender and age in the groups and the similar prevalence of risk factors among the patients (active smoking, alcohol consumption, associated diseases) the patients with treatment failure had much longer hospitalisation period due to the persistence of clinical signs (cough, expectorations, chest pain, hemoptysis, dyspnoea, asthenia, anorexia, weight loss, fever, night sweats), which have been directly correlated with the severity of the immune disturbances. The patients with antituberculosis treatment failure have had the severe deficiency of all lymphocytes, T subpopulations, the increased level of lymphocytes B, the increased level of all types of immune globulines, the less evident sensibilisation to bacterial antigens (staphylococcus, streptococcus, pneumococcus) and micobacterial antigens; the intoxication indices have increased and the preimmune resistance indices have reduced.

**Conclusions:** All the immune disturbances revealed can be considered as the predictors of antituberculosis treatment failure. On the contrary, the successfully treated patients have had less evident immune disturbances of cellular, humoral and preimmune resistance, and some of the indices have returned to a normal level due to the antituberculosis treatment.

**Key words:** tuberculosis, antituberculosis treatment failure, immunity.

## Corelația clinică și imunologică la pacienții cu eșec al tratamentului tuberculozei

### Actualitatea temei

Tuberculoza este o boală multifactorială, a cărei evoluție și răspuns la tratament este determinat de interacțiunea între genotipul *M. tuberculosis* și genotipul uman [2]. Imunitatea mediată celular, numită hipersensibilizare întârziată este baza răspunsului imun în infecția tuberculoasă și determină particularitățile patogeniei, tabloului clinic și evoluției bolii [10]. S-a constatat că evoluția acută progresivă a tuberculozei, cu distrucții parenchimoase extinse și multiple focare de diseminare, au rezultate scăzute la tratamentul antituberculos și, în majoritatea cazurilor, este determinată de perturbările sistemului imun [7]. U. Demkow a demonstrat că manifestările clinice variate în tuberculoză reflectă dezechilibrul dintre agresivitatea micobacteriilor și mecanismele de apărare imună ale organismului infectat [1]. Celulele sistemului macrofagal (neutrofilele, macrofagele alveolare și celulele dendritice)

sunt inițiatoarele răspunsului imun în tuberculoză, a căror activitate începe cu protecția imună nespecifică – endocitoza micobacteriilor [2]. Celulele sistemului macrofagic sunt responsabile de activarea limfocitelor T și B, prin prezentarea antigenelor micobacteriene pe suprafața lor, în asociere cu complexul de histocompatibilitate de clasa I, clasa II și moleculele de suprafață CD1 [10]. Formarea granulomului tuberculos constituie prima etapă pentru blocarea evoluției infecției tuberculoase în boală, iar imposibilitatea organizării granulomului tuberculos determină progresia bolii [2]. Rolul dominant în formarea granulomului tuberculos îl au macrofagele alveolare, însă cooperarea limfocitară este esențială în organizarea structurală a granulomului. Studiile în specialitate au constatat că citokinele proinflamatorii (IL-1, IL-2, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF), produse de celulele sistemului macrofagal (celulele natural killer și celulele dendritice), în perioada precoce