

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201900456** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2021.03.31

(51) Int. Cl. *C12Q 1/686* (2018.01)
C12N 15/38 (2006.01)
C12R 1/93 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.09.27

(54) **СПОСОБ ВЫЯВЛЕНИЯ ИНФИЦИРОВАНИЯ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА**

(96) **2019000109 (RU) 2019.09.27**

(72) Изобретатель:

(71) Заявитель:
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
"НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ГЕМАТОЛОГИИ" МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБУ "НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ"
МИНЗДРАВА РОССИИ) (RU)**

**Джумабаева Болдурыз Толгонбаевна,
Тихомиров Дмитрий Сергеевич,
Туполева Татьяна Сергеевна,
Бирюкова Людмила Семёновна (RU)**

(57) Изобретение относится к медицине, а именно к способам прогнозирования инфекционных осложнений после трансплантации почки. Описан способ выявления инфицирования почечного трансплантата герпесвирусами методом полимеразной цепной реакции в моче пациента. Технический результат: разработан действенный и простой способ выявления инфицирования почечного трансплантата герпесвирусами, более точный для пациента.

A1

201900456

201900456

A1

СПОСОБ ВЫЯВЛЕНИЯ ИНФИЦИРОВАНИЯ

ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

Изобретение относится к медицине, а именно к способам прогнозирования инфекционных осложнений после трансплантации почки.

Известен патент США № 6605602, в котором, в частности, описан способ выявления риска поражения почки ВК (полиомавирус человека 1) вирусом методом полимеразной цепной реакции гена ВК вируса в моче пациента после трансплантации почки.

После трансплантации почки инфекционные осложнения у пациентов являются одним из серьезных осложнений. Среди инфекционных осложнений преимущественно герпесвирусная инфекция, которая является причиной инфицирования и удаления трансплантата.

Задача, на решение которой направлено заявляемое изобретение - разработка действенного и простого способа выявления инфицирования почечного трансплантата герпесвирусами, более точного и безопасного для пациента.

Поставленная задача решается путём применения способа выявления инфицирования почечного трансплантата герпесвирусами, определением концентрации вирусной ДНК в моче пациента методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). При концентрации ДНК герпесвируса менее 2500 коп/мл в моче констатируют наличие латентного вирусного фактора, который не сопровождается клиникой вирусной инфекции и нарушением функции

трансплантата. При концентрации ДНК герпесвируса более 2500 коп/мл в моче констатируют наличие активной вирусной инфекции, что требует назначение противовирусной терапии.

Представленный способ выявления инфицирования почечного трансплантата подтверждён следующими исследованиями.

Исследовано 32 пациента (мужчин - 21, женщин - 11) с хронической болезнью почек в терминальной стадии (ХБПС5). Медиана возраста составила 43 года.

Методом ПЦР в режиме реального времени определяли концентрацию ДНК цитомегаловируса (ЦМВ), вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) и вируса герпеса человека 6 типа (ВГЧ 6) в периферической крови и моче реципиента через 1, 2, 4, 6 месяцев и через 1 год после трансплантации почки (ТАП). Наименьшей концентрацией вирусной ДНК в периферической крови и моче считалась менее 500 коп. Концентрация вирусной ДНК более 2500 коп считалась высокой.

На фоне иммуносупрессивной терапии у реципиентов почечного трансплантата преимущественно первый два месяца после ТАП выявлялись маркеры герпесвирусной инфекции, последующие 4 и 6 месяцев, через 1 год значительно реже. Однако нарушение функции трансплантата наблюдалась не во всех выявленных случаях.

При концентрации ДНК менее 500 коп/10⁵ клеток в крови и менее 500 коп/мл в моче ЦМВ у 8 реципиентов, ВЭБ у 10 и ВГЧ у 13 не отмечалось нарушение функции трансплантата (таблица 1).

У 9 реципиентов почечного трансплантата с ЦМВ, у 6 - с ВЭБ, у 2 - с ВГЧ 6 выявлена высокая концентрация вирусной ДНК в моче более 2500 коп/мл, что сопровождалась нарушением функции трансплантата и указывала на инфицирование трансплантата (таблица 2). При этом в крови у этих пациентов вирусная ДНК либо вообще не была выявлена, либо её концентрация находилась в пределах минимальных значений – менее 500 коп/10⁵ клеток.

Таким образом, при инфицировании почечного трансплантата прежде всего повышается концентрация герпесвирусов в моче при этом в крови их количество может оставаться на низком уровне. Выявлена корреляция между уровнем концентрации ДНК герпесвирусов (ЦМВ, ВЭБ, ВГЧ 6) в моче и нарушением функции трансплантата. При низкой вирусной нагрузке не отмечается нарушений функции трансплантата, а при высокой вирусной нагрузке более 2500 коп/мл в моче наблюдается дисфункция трансплантата.

Таблица 1.

Низкая концентрация вирусной ДНК у реципиентов почечного трансплантата

	Концентрация вирусной ДНК, после трансплантации почки, через:										Дисфункция трансплантата
	1 мес		2 мес		4 мес		6 мес		1 год		
	кровь	моча	кровь	моча	кровь	моча	кровь	моча	кровь	моча	
Цитомегаловирус											
г	н	н	н	н	н	н	500	н	н	500	нет

М	н	н	н	н	н	н	500	н	н	н	нет
З	500	н	н	н	н	н	н	н	н	н	нет
Б	500	н	н	н	500	500	н	н	н	н	нет
Ст	500	н	500	н	н	н	н	н	н	н	нет
Ш	500	н	н	н	н	н	н	н	н	н	нет
Ал	500	500	500	500	н	н	н	н	н	н	нет
Ш	500	н	н	н	н	н	н	н	н	н	нет

Вирус Эпштейна - Барр

М	500	н	н	н	н	н	н	н	н	н	нет
З	500	н	н	н	н	н	500	н	н	н	нет
П	н	н	500	н	н	н	н	н	н	н	нет
М	н	н	500	н	н	н	н	н	н	н	нет
Л	500	н	500	н	н	500	500	н	н	н	нет
Б	500	н	н	н	н	н	н	н	н	н	нет
И	н	н	н	н	500	н	н	н	н	н	нет
А	н	500	н	500	н	н	н	н	н	н	нет
Щ	500	нет	500	н	500	н	500	н	н	н	нет
Д	н	н	н	н	500	н	н	н	н	н	нет

Вирус герпеса человека 6 типа

А	н	500	н	н	н	н	н	н	н	500	нет
Ш	н	500	н	500	н	500	н	500	н	н	нет
Т	н	н	н	500	н	500	н	500	н	500	нет
М	н	500	н	500	н	500	н	600	н	н	нет
С	н	500	н	н	н	500	н	н	н	н	нет
Шл	н	500	н	500	н	500	н	н	н	н	нет
Б	н	н	н	н	н	н	н	н	н	800	нет
А	н	500	н	500	н	н	н	н	н	н	нет
О	н	1500	н	н	н	700	н	500	н	н	нет
Ш	н	н	н	500	н	н	н	500	н	500	нет
Ст	н	700	н	500	н	н	н	н	н	н	нет
А	н	500	н	500	н	н	н	500	н	н	нет
Л	н	500	н	н	н	н	н	н	н	н	нет

Примечание: н – ДНК вируса не обнаружена.

Таблица 2

Высокая концентрация вирусной ДНК у реципиентов почечного трансплантата

Высокая концентрация вирусной ДНК, после трансплантации почки, через											Дисфункция трансплантата
1 мес		2 мес		4 мес		6 мес		1 год			
кровь	моча	кровь	моча	кровь	моча	кровь	моча	кровь	моча		
Цитомегаловирус											
Зин	500	н	н	15000	н	н	н	н	н	н	да
Ш	500	500	н	8700	н	1200	н	500	н	500	да
С	н	н	н	н	н	н	н	19600	н	500	да
Т	500	2500	500	н	н	н	н	н	н	н	да
М	500	н	н	н	н	500	н	9000	н	н	да
С	500	500	500	9500	500	500	н	н	н	н	да
Т	500	500	н	5000	н	н	н	н	н	н	да
Л	н	н	500	2700	н	н	н	н	н	н	да
Ст	500	н	н	9100	н	н	н	н	н	н	да
Вирус Эпштейна -Барр											
Ш	500	н	1000	н	н	5100	н	н	н	н	да
Ст	500	280000	н	н	н	н	н	н	н	н	да
К	н	н	н	1854500	н	н	н	н	н	н	да
А	н	н	н	н	н	н	н	3060	н	н	да
Т	500	9000	н	н	н	н	н	н	н	н	да
Ст р	н	5000	н	9100	н	н	н	н	н	н	да
Вирус герпеса человека 6 типа											
И	н	500	н	500	н	5100	н	500	н	н	да
К	н	н	н	3400	н	3400	н	н	н	н	да

Примечание: н – ДНК вируса не обнаружена.

Таким образом, как видно из представленных выше данных, разработан способ выявления инфицирования почечного трансплантата герпесвирусами путём определения концентрации вирусной ДНК методом полимеразной цепной реакции в моче пациента, более точный по сравнению с существующим методом полимеразной цепной реакции в плазме крови пациента.

В известном патентном документе США № 6605602 описан способ определения ВК вируса, который является представителем полиомавирусов и не относится к герпесвирусам. Так же в нём не раскрыта концентрация ДНК вируса, определяющая тип и стадии инфицирования трансплантата. Вышеперечисленное позволяет оценивать представленный способ, как соответствующий критерию патентоспособности «новизна».

ВК-вирус локализуется в эпителии канальцев почек. При инфицировании ВК вирусом наблюдается поражение собирательных трубочек, дистальных канальцев и петли Генле, что делает естественным выявление ДНК ВК - вируса методом ПЦР в моче реципиента почечного трансплантата. ВК - вирус практически не поражает эндотелиальные, гладкомышечные и интерстициальные клетки, что служит критерием дифференциальной диагностики с герпесвирусной инфекцией. ЦМВ поражает эндотелиальные клетки, ВЭБ преимущественно локализуется в CD21-позитивных лимфоцитах, а ВГЧ 6 преимущественно в Т-лимфоцитах. При герпесвирусной инфекции поражается интерстиций (межканальцевая

ткань и клубочки почки) почки. Поэтому повышение концентрации маркеров ЦМВ, ВЭБ и ВГЧ 6 первоначально в моче у реципиента почечного трансплантата не очевидны для специалистов, что позволяет судить о соответствии заявляемого способа критерию патентоспособности «изобретательский уровень».

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ выявления инфицирования почечного трансплантата герпесвирусами путём количественного определения вирусного ДНК методом полимеразной цепной реакции в моче реципиента.

2. Способ выявления инфицирования почечного трансплантата герпесвирусами путём определения концентрации вирусной ДНК методом полимеразной цепной реакции в моче пациента, при концентрации вирусной ДНК менее 2500 коп/мл констатируют наличие латентной вирусной инфекции у реципиента почечного трансплантата а, при концентрации вирусной ДНК равной и более 2500 коп/мл констатируют наличие активной вирусной инфекции, требующей специфической противовирусной терапии.

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

201900456**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:****C12Q 1/686** (2018.01)**C12N 15/38** (2006.01)**C12R 1/93** (2006.01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)

C12Q1/68, 1/686, C12N15/38, C12R1/93Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)
EAPATIS, PubMed**В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ**

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X	VIVIAN KOURI et al., "Prospective, Comprehensive, and Effective Viral Monitoring in Cuban Children Undergoing Solid Organ Transplantation", Springerplus . 2014 May 16;3:247. doi: 10.1186/2193-1801-3-247. eCollection 2014, весь документ.	1-2
Y, D	US 6605602 B1 (UNIV PITTSBURGH), 12.08.2003, реферат, формула изобретения.	1-2
Y	WO 2018158618 A1 (UNIV LA FRONTERA), 07.09.2018, реферат, формула изобретения.	1-2
Y	RU 2165977 C1 (ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ "ВЕКТОР"), 27.04.2001, реферат, формула изобретения.	1-2
Y	RU 2196179 C2 (ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ "ВЕКТОР"), 10.01.2003, реферат, формула изобретения.	1-2
Y	US 2015072889 A1 (THERANOS INC), 12.03.2015, реферат, формула изобретения.	1-2

 последующие документы указаны в продолжении

* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«&» - документ, являющийся патентом-аналогом

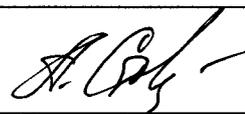
«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: **29/06/2020**

Уполномоченное лицо:

Заместитель начальника Управления экспертизы

Начальник отдела химии и медицины



А.В.Чебан