

© Боднар В.А.  
УДК 616.98-036.12-071

## УДОСКОНАЛЕННЯ ДІАГНОСТИКИ ХРОНІЧНИХ ФОРМ ІНФЕКЦІЇ, ЗУМОВЛЕНОЇ ВІРУСОМ ЕПШТЕЙНА-БАРР\*

Боднар В.А.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

*В статье проанализированы отдаленные последствия инфекционного мононуклеоза (ИМ) у взрослых и усовершенствована диагностика хронических форм Эпштейна-Барр вирусной (ЭБВ) инфекции. С этой целью обследовано 111 человек с различными формами ЭБВ-инфекции и 20 здоровых. Последствия ИМ оценивали по результатам динамического наблюдения за 48 реконвалесцентами. Показано, что ИМ у взрослых иммунокомпетентных пациентов, как правило, заканчивался выздоровлением – 83,3%, у 16,7% формировались хронические формы ЭБВ-инфекции. Хроническая ЭБВ-инфекция у взрослых характеризовалась при стертой форме типичными признаками ИМ без признаков генерализации процесса, напряженностью иммунных реакций (повышение содержания CD8+, ЦИК, IgM, ЛКБ и НСТ-теста на фоне снижения CD3+, CD16+, CD20+, ИРИ, IgA и IgG), при активной – манифестным течением, полиморфизмом проявлений с признаками генерализации процесса: субфебрилитет (94,3%), тонзиллофарингит (74,3%), генерализованная лимфаденопатия (88,6%), гепато- (88,6%) и спленомегалия (45,7%), выраженные астеновегетативный (100,0%), абдоминально-болевой, диспептический (57,1%) и артралгический (28,6%) синдромы, изменением лабораторных показателей (анемия – 25,7%, лейкопения – 48,5%, тромбоцитопения – 37,1%, лимфоцитоз – 68,5%, гипергаммаглобулинемия – 68,5%), органными поражениями (арахноэнцефалит – 42,8%, гепатит – 28,6%), выраженным иммунным дисбалансом с признаками угнетения клеточного и гуморального иммунитета (снижением субпопуляций лимфоцитов CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, IgG и IgA, угнетением функциональной активности фагоцитоза, повышением содержания ЦИК). По результатам проведенного исследования с помощью дискриминантного анализа разработан двухэтапный скрининг для усовершенствования дифференциальной диагностики хронических форм ЭБВ-инфекции на догоспитальном и госпитальном этапах.*

Ключевые слова: Эпштейна-Барр вирусная инфекция, инфекционный мононуклеоз, диагностические подходы.

Однією з найпоширеніших інфекцій у світі є інфекція, спричинена вірусом Епштейна-Барр (ЕБВ) [1, 5, 8, 10]. Відомо, що наслідки інфекційного мононуклеозу (ІМ), як найбільш вивченого варіанта перебігу гострої ЕБВ-інфекції, залежать від наявності і ступеня вираженості імунної дисфункції, генетичної схильності до тих чи інших ЕБВ-асоційованих захворювань, а також від впливу зовнішніх факторів, які негативно впливають на імунну систему [2, 10, 11]. Показано, що через 3-5 років після перенесеного ІМ можливі гематологічні та інші клінічні порушення різного ступеня вираженості [3, 7, 12].

В останні роки відзначається зростання захворюваності ІМ серед дорослих, що пояснюється погіршенням стану здоров'я населення в цілому [1, 2, 9]. Враховуючи поліморфізм клінічної картини як гострих, так і хронічних форм ЕБВ-інфекції, складність інтерпретації специфічних лабораторних тестів, на сьогодні існують деякі розбіжності в поглядах на пріоритетність різних методів діагностики для визначення стадії інфекційного процесу [1, 3, 4, 5, 7]. Таким чином, у зв'язку зі значним збільшенням кількості випадків ІМ серед дорослого населення і доведеним внеском хронічних форм у розвиток патології імунної системи, а отже, і хронічних соматичних захворювань, удосконалення діагностики хронічних форм ЕБВ-інфекції є актуальним і необхідним, що й зумовило напрямок нашого дослідження.

Мета роботи – проаналізувати віддалені наслідки ІМ та вдосконалити діагностику хронічних форм ЕБВ-інфекції у дорослих.

### Матеріал і методи дослідження

Всього обстежено 111 осіб з різними формами ЕБВ-інфекції та 20 здорових. Результати ІМ оцінювали за результатами динамічного спостереження за 48 реконвалесцентами у віці від 15 до 39 років (чоловіків – 26, жінок – 22). Всіх спостерігали протягом гострого періоду і обстежили через 3-5 років після виписки. ІМ діагностували згідно МКХ-10 (В003, 1998р.), в основу якої покладено етіологічний принцип, і підтверджували виявленням у сироватці крові антитіл класу IgM до VCA, IgM до EA при відсутності антитіл класу IgG EBNA ЕБВ методом імуноферментного аналізу (ІФА) і визначенням ДНК ЕБВ в крові в полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Хронічну ЕБВ-інфекцію діагностували згідно з класифікацією С.А.Крамарева і співавт. (2007), за якою виділяють латентну, субклінічної реактивації, хронічну стерту і хронічну активну форми [3]. Діагноз верифікували визначенням у сироватці крові серологічних профілів IgM VCA/IgG EA/IgG EBNA та виявленням ДНК ЕБВ в крові методом ПЛР. Латентну форму визначали за відсутності клініко-лабораторних ознак хронізації інфекції, ДНК ЕБВ у крові та наявності серологічного профілю (- / - / +); серологічну реактивацію – при відсутності клініко-лабораторних ознак хронізації процесу, ДНК ЕБВ у крові та наявності сероло-

\* Цитування при атестації кадрів: Боднар В.А.. Удосконалення діагностики хронічних форм інфекції, зумовленої вірусом Епштейна-Барр // Проблеми екології і медицини. – 2013. – Т. 17, № 5-6. – С. 9 –5.

гічних профілів реактивації (+ / + / +; + / - / +; - / + / +); хронічну стерту – за наявності періодичного субфебрилітету, астеновегетативного, лімфопрліферативного синдромів, міалгій, артралгій, клінічних ознак вторинного імунodefіціту з нашаруванням вторинних інфекцій, хронічну активну – при комбінації вищезазначених синдромів з ознаками органних уражень нервової системи та внутрішніх органів тривалістю більше 6 місяців з серологічними профілями (+ / + / +; + / - / +; - / + / +) і ДНК ЕБВ в крові. З хронічними формами ЕБВ-інфекції обстежено 63 пацієнта, з них 16 – зі стертою хронічною (чоловіків – 10, жінок – 6, у віці від 19 до 44 років), 27 – активною хронічною (чоловіків – 14, жінок – 13, у віці від 20 до 47 років), 20 – латентною (чоловіків – 9, жінок – 11, від 18 до 34 років). Обов'язковою умовою було виключення вірусних гепатитів, ВІЛ-інфекції та реплікативних форм інших герпесвірусних інфекцій: ВПГ 1/2, ВВЗ, ЦМВ, ВПГ 6 в динаміці.

Всім проведено комплексне загальноклінічне та лабораторне (в тому числі імунологічне) обстеження після отримання інформованої письмової згоди.

Статистична обробка отриманих результатів проводилася за стандартними методиками варіаційної статистики з урахуванням відмінностей за t-критерієм Стюдента, непараметричних методів: критерію Манна-Уїтні, Уїлксона і дискримінантного аналізу. Відмінності вважали достовірними при  $p < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

Комплексне обстеження реконвалесцентів ІМ з урахуванням серологічних профілів і визначення ДНК ЕБВ в крові в динаміці показало, що переважна більшість обстежених ( $n=40$ ; 83,3%) видужала, а у 8 (16,7%) за сукупністю клініко-лабораторних ознак і специфічних маркерів неможливо було виключити хронічну форму ЕБВ-інфекції: у 5 (10,41%) – стерту, у 3 (6,25%) – активну.

З метою пошуку діагностично значущих ознак хронічної ЕБВ-інфекції, враховуючи імуносупресивну дію вірусу, представилося доцільним комплексно охарактеризувати клініко-лабораторні показники хворих з різними формами ЕБВ-інфекції.

Проведені дослідження показали, що при латентній формі ЕБВ-інфекції, мали місце зміни соматичного статусу, що вимагають обстеження для виключення можливої хронічної форми ЕБВ-інфекції: у 18,2% – синдром вегетативної дисфункції, у 27,6% – лімфаденопатія за рахунок збільшення підщелепних лімфовузлів, яка поєднувалася з ознаками тонзиліту, з них у 13,6% – фарингіту. При аналізі показників крові, як загальноклінічних так і біохімічних, істотних змін не виявлялося. За показниками імунного статусу у більшості обстежених з латентною формою ЕБВ-інфекції імунні параметри також ресструвалися на рівні показників здорових, однак при індивідуальному аналізі у частини з них виявлялися зміни, що свідчили про напругу в системі противірусного захисту. Так, різноспрямовані зміни показників CD4+ і CD8+ лімфоцитів зумовили підвищення імунорегуляторного індексу (IPI) CD4/CD8 у 60,0%, у 40,0% – його зниження в порівнянні з показниками контрольної групи, коефіцієнт співвідношення CD3/CD20 знаходився в межах величин контрольної групи здорових тільки у 20,0% обстежених, у решти – визначався вище (40,0%) або нижче (40,0%). Достовірних відмінностей за середніми показниками фагоцитарної активності нейтрофілів не ви-

являлося, однак при зіставленні індивідуальних показників активності НСТ-тесту реєструвалася зниженою у 70% обстежених, підвищеною – у 20%. Показники гуморального імунітету, як правило, визначалися на рівні контрольної групи, і лише в поодиноких випадках змінювалися різноспрямовано: вміст IgA, IgG і IgM в сироватці крові визначалися вище – у 30,0%, 20,0% і 20,0%, нижче – у 10,0%, 20,0% і 40,0% відповідно. Таким чином, дослідження імунного статусу осіб з латентною формою ЕБВ-інфекції продемонстрували зміни, які могли бути обумовлені наявністю супутньої патології. Можна також припустити, що при посиленні імунної супресії у цих пацієнтів є ризик реактивації ЕБВ.

Хронічна ЕБВ-інфекція в обстежених хворих перебігала у вигляді стертої або активної форми.

Хронічна стерта форма характеризувалася типовими синдромами ІМ без ознак генералізації процесу: субфебрилітет (25,9%), тонзилофарингіт (92,9%), лімфаденопатія (92,6%), гепато- та спленомагалія (37,0%), помірно виражений астеновегетативний синдром (40,7%); зміною лабораторних показників (лімфоцитоз – 51,8%, гіпермагглобулінемія – 77,8%). За показниками імунного статусу хворі з хронічною стертою формою ЕБВ-інфекції відрізнялися від здорових і обстежених з латентною. Зміни імунологічних показників характеризувалися зниженням загальної кількості лейкоцитів, абсолютного числа лімфоцитів, CD3+, CD4+, CD16+, IPI, IgA і IgG, підвищенням – абсолютної та відносної кількості CD8+, IgM, ЦІК, показників НСТ-тесту і ЛКБ. Загалом зміни імунологічного статусу при стерті формі хронічної ЕБВ-інфекції свідчили про послаблення клітинної ланки імунітету і напругу в системі противірусного захисту.

Хронічна активна форма характеризувалася маніфестним перебігом, поліморфізмом проявів з ознаками генералізації процесу: субфебрилітет (94,3%), тонзилофарингіт (74,3%), генералізована лімфаденопатія (51,6%), гепато- (88,6%) та спленомагалія (45,7%), виражений астеновегетативний (100,0%), абдомінально-больовий, диспептичний (57,1%) і артралгічний (28,6%) синдроми, зміною лабораторних показників (анемія – 25,7%, лейкопенія – 48,5%, тромбоцитопенія – 37,1%, лімфоцитоз – 68,5%, гіпермагглобулінемія – 68,5%), органними ураженнями (арахноенцефаліт – 42,8%, гепатит – 28,6%). При аналізі імунних показників при активній формі хронічної ЕБВ-інфекції виявлені найбільш істотні зміни в порівнянні з групою контролю та пацієнтами з латентною і стертою формами: зниження абсолютного і відносного вмісту всіх субпопуляцій лімфоцитів, IPI, IgA, IgG, пригнічення фагоцитарної активності за показниками ЛКБ- і НСТ-тестів, зниження вмісту ЦІК в порівнянні зі стертою і підвищення – в порівнянні з латентною формою і контрольною групою, що свідчило про імуносупресію як клітинного так і гуморального ланок імунітету. В цілому проведені дослідження показали, що вивчення імунного статусу може використовуватися як додатковий диференційно-діагностичний критерій у діагностиці різних форм ЕБВ-інфекції.

Враховуючи неспецифічність і поліморфізм клінічних проявів, значну вартість специфічних серологічних, молекулярно-біологічних маркерів та імунологічних тестів, діагностика хронічних форм ЕБВ-інфекції представляє велику складність для лікаря практичної охорони здоров'я. Тому, важливим і економічно обґрунтованим є пошук сукупності клініко-лабораторних ознак, за якими можна діагностувати хронічні форми

ЕБВ-інфекції на догоспітальному та госпітальному етапах. З метою пошуку найбільш значущих діагностичних критеріїв нами був застосований дискримінантний аналіз, за даними якого розроблений двоетапний скринінг для удосконалення диференційної діагностики хронічних форм ЕБВ-інфекції. На догоспітальному етапі були зіставлені частоти загальноклінічних і біохімічних ознак, на госпітальному – враховували також специфічні маркери та імунні показники.

При зіставленні показників, що визначаються на догоспітальному етапі в групах хворих з активною формою в порівнянні зі стертою, найвищі дискримінантні відмінності мали: лихоманка ( $F=52,37$ ;  $p<0,000002$ ), астеничний синдром ( $F=43,53$ ;  $p<0,000001$ ), арахноенцефаліт ( $F=18,82$ ;  $p<0,000004$ ), гепатит ( $F=10,66$ ;  $p<0,000032$ ), моноцитоз ( $F=9,05$ ;  $p<0,000056$ ), синдром вегетативної дисфункції ( $F=5,72$ ;  $p<0,000056$ ), тромбоцитопенія ( $F=4,28$ ;  $p<0,001389$ ), генералізована лімфаденопатія ( $F=4,1$ ;  $p<0,000322$ ), міокардит ( $F=4,12$ ;  $p<0,008791$ ), тонзиллофарингіт ( $F=4,12$ ;  $p<0,005511$ ), лімфоцитоз ( $F=4,12$ ;  $p<0,008791$ ), лейкопенія ( $F=4,11$ ;  $p<0,000142$ ).

Тобто, за даними дискримінантного аналізу ці показники можуть бути критеріями диференціальної діагностики між активною та стертою формами хронічної ЕБВ-інфекції на догоспітальному етапі.

На основі отриманих даних за допомогою множинного дискримінантного аналізу отримано систему рівнянь, яка за сукупністю ознак дозволяє діагностувати стерту та активну форму хронічної ЕБВ-інфекції:

$$C1 = 3,393 * A - 0,387 * B + 1,417 * C + 1,024 * D + 1,861 * E - 2,726 * G - 1,254 * I + 3,285 * K + 1,232 * L + 1,417 * M - 1,255 * N - 1,313 * O - 3,148;$$

$$C2 = 7,201 * A - 0,673 * B + 6,215 * C + 5,137 * D + 3,719 * E - 3,396 * G - 0,919 * I + 6,779 * K + 4,005 * L - 0,464 * M - 1,611 * N + 3,193 * O - 11,492;$$

де: А – астеничний синдром, В – синдром вегетативної дисфункції, С – арахноенцефаліт, D – лихоманка, E – генералізована лімфаденопатія, G – міокардит, I – гепатит, K – фарингіт, L – лейкопенія, M – лімфоцитоз, N – моноцитоз, O – тромбоцитопенія.

У випадку наявності ознаки, до рівняння вноситься коефіцієнт 1, при відсутності – 0. При перевищенні C2 над C1 підтверджують наявність у пацієнта активної форми хронічної ЕБВ-інфекції, C1 над C2 – стертої.

На госпітальному етапі скринінг виконувався з урахуванням спеціальних методів обстеження: ІФА, ПЛР та імунологічного статусу. Проведені дослідження показали, що активна форма достовірно відрізнялася від стертою за такими специфічними показниками: ПЛР ( $F=6,02$ ;  $p<0,0001$ ), CD8,% ( $F=10,45$ ;  $p<0,003$ ), НСТ, СЦК ( $F=6,77$ ;  $p<0,016$ ), CD3,% ( $F=5,66$ ;  $p<0,025$ ), титру EBNA більше 100 у.о. ( $F=5,43$ ;  $p<0,029$ ).

За цими ознаками методом множинного дискримінантного аналізу отримано систему рівнянь, яка дозволяє віддиференціювати стерту та активну форму хронічної ЕБВ-інфекції:

$$K1 = -9,632 * A - 14,261 * B + 0,593 * C + 1,504 * D + 23,683 * E - 66,796;$$

$$K2 = -6,578 * A + 17,578 * B + 0,429 * C + 0,962 * D + 20,313 * E - 41,898;$$

де: А – підвищення титру EBNA більше 100 ум.од., В – наявність ДНК ЕБВ у крові методом ПЛР, С – CD3, %, D – CD8, %, E – НСТ, СЦК.

При перевищенні K2 над K1 констатують наявність у пацієнта активної форми хронічної ЕБВ-інфекції, K1 над K2 – стертої.

Використання системи двохетапного скринінгу, заснованого на комплексній оцінці клінічних, лабораторних та спеціальних методів, дозволяє поліпшити діагностику хронічних форм ЕБВ-інфекції диференційовано на догоспітальному та госпітальному етапах.

### **Висновки**

1. За даними Полтавської обласної клінічної інфекційної лікарні наслідком ІМ у дорослих імунокомпетентних пацієнтів, як правило, було одужання – 83,3%, а у 16,7% формувалися хронічні форми ЕБВ-інфекції.

2. Хронічна ЕБВ-інфекція у дорослих характеризувалася при стертій формі типовими ознаками ІМ без ознак генералізації процесу: субфебрилітет (25,9%), тонзиллофарингіт (92,6%), лімфаденопатія (92,6%), гепато- і спленомегалія (37,0%), помірно виражений астеновегетативний синдром (40,7%) і зміною лабораторних показників (лімфоцитоз – 51,8%, гіпергаммаглобулінемія – 77,8%), при активній – маніфестним перебігом, поліморфізмом проявів з ознаками генералізації процесу: субфебрилітет (94,3%), тонзиллофарингіт (74,3%), генералізована лімфаденопатія (88,6%), гепато- (88,6%) і спленомегалія (45,7%), виражені астеновегетативний (100,0%), абдомінально-больовий, диспептичний (57,1%) і артралгічний (28,6%) синдроми, зміною лабораторних показників (анемія – 25,7%, лейкопенія – 48,5%, тромбоцитопенія – 37,1%, лімфоцитоз – 68,5%, гіпергаммаглобулінемія – 68,5%) і органами ураженнями (арахноенцефаліт – 42,8%, гепатит – 28,6%).

3. У хворих з хронічною ЕБВ-інфекцією мали місце зміни імунних показників, які характеризувалися: при стертій формі – напруженістю імунних реакцій (підвищення вмісту CD8+, ЦІК, ІgM, ЛКБ і НСТ-тесту на тлі зниження CD3+, CD16+, CD20+, ІPI, ІgA і ІgG), при активній – вираженим імунним дисбалансом з ознаками пригнічення клітинного та гуморального імунітету (зниженням субпопуляцій лімфоцитів CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, ІgG і ІgA, пригніченням функціональної активності фагоцитозу, підвищенням вмісту ЦІК).

4. Клініко-анамнестичні дані (наявність рецидивуючих запальних захворювань дихальних шляхів, астеновегетативний синдром, лихоманка, лімфаденопатія, гепато- і спленомегалія, органи ураження (насамперед арахноенцефаліт і гепатит неуточненої етіології), лабораторні ознаки (лейкопенія, тромбоцитопенія, атипіві мононуклеари, лімфоцитоз, моноцитоз, гіпергаммаглобулінемія) у сукупності або окремо є підставою для виключення хронічної форми ЕБВ-інфекції з застосуванням алгоритму верифікації діагнозу за системою дискримінантних рівнянь.

### **Література**

1. Волоха А.П. Епштейна-Барр-вірусна інфекція у дітей / А.П.Волоха, Л.І.Чернишова // Сучасні інфекції. – 2003. – № 4. – С. 79-93.
2. Клінічний перебіг інфекційного мононуклеозу у дітей в сучасних умовах / А.М.Михайлова, Ю.П.Харченко, І.В.Юрченко [та ін.] // Тези XIV з'їзду мікробіологів, епідеміологів та паразитологів. – Полтава, 2005. – С. 14-15.
3. Крамарев С.О. Клінічні варіанти інфекції, спричиненої вірусом Епштейна-Барр, у дітей / С.О.Крамарев, О.В.Виговська // Медична газета «Здоров'я України» – 2007. – № 2. – С. 44-46.

4. Крамарев С.О. Эпштейна-Барр вирусная инфекция у детей / С.О.Крамарев, Н.Г.Литвиненко, Л.О.Палатная // Современная педиатрия. – 2004. – Т. 5, № 4. – С. 105-109.
5. Марков И.С. Диагностика и лечение герпетических инфекций и токсоплазмоза: сборник статей/ И.С.Марков. – К.: Издательство «АртЭк», 2002. – 192 с.
6. Пролонгированная иммуносупрессия и возможная хронизация инфекции у детей с инфекционным мононуклеозом / В.И.Иванова, О.В.Родионова, Г.Ф.Железникова [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2003. – № 4. – С. 50-54.
7. Хроническая активная инфекция, вызванная вирусом Эпштейна-Барр (обзор литературы и описание собственного наблюдения) / А.Е.Руднева, Е.В.Самочатова, Д.В.Литвинов [и др.] // Вопросы гематологии, онкологии и иммунологии в педиатрии. – 2007. – Т. 6, № 4. – С. 39-46.
8. Cohen J.I. Epstein-Barr virus infection/ J.I.Cohen //N. Engl. J. Med. – 2000; 343. – P. 481-492.
9. Godstall S.E. Infectious mononucleosis. Complexities of a common syndrome / S.E.Godstall, J.T.Kirchner // Postgrad. Med. – 2000. – Vol. 107, № 7. – P. 175-186.
10. Kawa K. Epstein-Barr virus-associated diseases in humans/ K.Kawa // Inf. J. Hematol. – 2000. – № 71. – P. 108-117.
11. Maia D.M. Chronic, active Epstein-Barr virus infection / D.M.Maia, A.L.Peace-Brewer // Current opinion in hematology. – 2000. – № 7. – С. 59-63.
12. Prognostic Factors for Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection / Hiroshi Kimura, Tsuneo Morishima, Hirokazu Kanegane [et al.] // The Journal of Infectious Diseases. – 2003. – Vol. 187. – P. 527-533.

## English version: THE IMPROVEMENT OF DIAGNOSIS OF CHRONIC EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION\*

Bodnar V.A.

HSEE "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava, Ukraine

*The long-term outcomes of infectious mononucleosis (IM) in adults is analyzed and diagnostic approaches to chronic Epstein-Barr virus (EBV) infection is improved in the article. For this purpose, 111 persons were examined with various forms of EBV-infection and 20 healthy for control. Outcomes of IM were assessed by dynamic observation of 48 convalescents. 83.3% adult immunocompetent patients of IM had recovery, and chronic forms of EBV-infection was formed in 16,7% patients. Chronic subclinical EBV-infection in adults are characterized by subclinical forms with typical signs of IM without signs of generalization process, the intensity of immune responses (increased content of CD8+, CIC, IgM, LKB and NBT test against decrease in CD3+, CD16+, CD20+, IRI, IgA and IgG), in active EBV-infection – manifest course, polymorphism with evidence of generalization of process: subfebrility (94,3%), tonsillopharyngitis (74,3%), generalized lymphadenopathy (88,6%), hepato- (88,6%) and splenomegaly (45,7%) expressed asthenovegetative (100,0%), dyspeptic (57,1%) and arthropathic (28,6%) syndromes, changes in laboratory parameters (anemia – 25,7%, leukopenia – 48,5%, thrombocytopenia – 37,1%, lymphocytosis – 68,5%, hypergammaglobulinemia – 68,5%) and organ damage (encephalitis – 42,8%, hepatitis – 28,6%), pronounced imbalance of immune suppression characteristics of cellular and humoral immunity (lymphocyte subpopulations decrease in CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, IgG and IgA, inhibition of the functional activity of phagocytosis, increased CIC). According to the results of the study and discriminant analysis, a two-stage screening to improve the differential diagnosis of chronic forms of EBV-infection in the prehospital and hospital stages is developed.*

Keywords: Epstein-Barr virus infection, infectious mononucleosis, diagnostic approaches.

### Introduction

One of the most common infections in the world is an infection caused by the Epstein-Barr virus (EBV) [1, 5, 8, 10]. It is known that the outcomes of infectious mononucleosis (IM) (the most studied variants of acute EBV infection) depend on the presence and severity of immune dysfunction, genetic predisposition to certain EBV-associated diseases, as well as external factors that affect the immune system [2, 10, 11]. It is shown that in 3-5 years after IM hematological and other clinical dysfunction of varying degrees of severity can occur [3, 7, 12].

In recent years, the increase in the incidence of IM among adults, because of the deteriorating health of the general population [1, 2, 9]. Due to polymorphism of the clinical signs both acute and chronic forms of EBV-infection, difficulty interpreting specific laboratory tests, at present there are some differences of opinion on the priority of different diagnostic methods to determine the stage of infection [1, 3, 4, 5, 7]. Thus, due to the significant increase in the incidence of IM among adults

and proven contribution to the development of chronic pathology of the immune system, and, consequently, chronic somatic diseases, improving diagnosis of chronic EBV-infection is relevant and necessary as determined the direction of our research.

The research purpose is to analyze of long-term outcomes of IM and improve the diagnosis of chronic EBV-infection in adults.

### Material and methods

Total 111 patients with various forms of EBV-infection and 20 healthy were examined. Outcomes of IM were assessed by dynamic observation of 48 convalescents, aged 15 to 39 years (men – 26, women – 22). All patients were observed during the acute period and examined 3-5 years after discharge. IM was diagnosed according to ICD-10 (WHO, 1998) and confirmed the detection of serum IgM to VCA, IgM to EA in the absence of IgG antibodies EBNA EBV by enzyme immunoassay (EIA) and the definition EBV DNA levels in the polymerase chain reaction (PCR).

\* To cite this English version: Bodnar V.A. The improvement of diagnosis of chronic epstein-barr virus infection // Problemy ekologiya medytyny. - 2013. - Vol 17, № 5-6. - P. 12 -15.

Chronic EBV-infection was diagnosed according to the classification by S.A.Kramarev et al. (2007): latent, subclinical reactivation, chronic subclinical and chronic active forms [3]. The diagnosis is verified defined serum IgM serologic profiles VCA / IgG EA / IgG EBNA and EBV DNA detection in blood by PCR. Latent form was determined in the absence of clinical and laboratory signs of chronic infection, EBV DNA in the blood and the presence of serological profile (- / - / +) serological reactivation – in the absence of clinical and laboratory signs of chronic process, EBV DNA in the blood and the presence of serological reactivation profiles (+ / + / +, + / - / + - / + / +); chronic subclinical – if periodic subfebrility, asthenovegetative, lymphoproliferative syndromes, myalgia, arthralgia, clinical signs of secondary immunodeficiency stratification of infections, chronic active – with a combination of the above syndromes with signs of organ lesions of the nervous system and internal organs are longer than 6 months, the serological profiles (+ / + / +, + / - / + - / + / +) and EBV DNA in blood. 63 patients with chronic forms of EBV-infection were examined, 16 of them – with subclinical chronic (men – 10, women – 6, aged 19 to 44 years), 27 – chronic active (men – 14, women – 13, at the age of 20 to 47 years), 20 – latent (men – 9 women – 11, from 18 to 34 years). Patients did not have viral hepatitis, HIV and other forms of replicative herpesvirus infections: HSV 1/2, VVZ, CMV, HSV 6.

All patients received a complete comprehensive general clinical and laboratory (including immunological) examination after obtaining informed written consent.

Statistical analysis of the results was carried out by standard methods of variation statistics: the t-Student's test, nonparametric methods: Mann-Whitney's Wilkson's and discriminant analysis. The difference was considered reliable at  $p < 0.05$ .

### **Results and discussion**

A comprehensive survey of convalescents of IM based on serological profiles and EBV DNA detection in blood showed that the vast majority of the patients ( $n=40$ , 83,3%) had recovery, and in 8 (16,7%) for the totality of the clinical and laboratory features and specific markers could not exclude chronic EBV-infection: in 5 (10,41%) – subclinical in 3 (6,25%) – active.

In order to find important diagnostic signs of chronic EBV-infection, given the immunosuppressive effect virus, it is appropriate to characterize the complex clinical and laboratory parameters of patients with different forms of EBV-infection.

Studies have shown that a latent form of EBV-infection has changes in physical status requiring examination to exclude the possible forms of chronic EBV-infection: in 18,2% – a syndrome of autonomic dysfunction, in 27,6% – lymphadenopathy due to increased submandibular lymph nodes, which was combined with signs of tonsillitis, of which 13,6% – pharyngitis. In the analysis of blood parameters as general clinical and biochemical, significant changes were detected. In the immune status of the majority of the patients with latent form of EBV-infection immune parameters were recorded as level indicators of healthy, but the individual analysis of some of them turned out to change that showed the system voltage antiviral defense. Thus, multidirectional changes in CD4+ and CD8+ lymphocytes resulted in increasing the immunoregulatory index (IRI) SD4/CD8 in 60,0%, in 40,0% it decline as compared with the control group, the ratio of CD3/CD20

was within reference values healthy group only 20,0 % of the patients, in the others – determined above (40,0%) or below (40,0%). No significant differences in the average performance of the phagocytic activity of neutrophils is not found, however, when comparing the performance of individual activity, NBT-test was reduced in 70% of the patients, higher – 20%. Humoral immunity is usually determined at the level of the control group, and only in rare cases varied in different directions: the content of IgA, IgG and IgM in serum were above – in 30,0%, 20,0% and 20,0%, below – in 10,0%, 20,0% and 40,0%, respectively. Thus, the study of the immune status of persons with latent form of EBV-infection showed changes that could be due to the presence of comorbidities. We can also assume that in these patients is the risk of EBV reactivation in the amplification of immune suppression.

Chronic EBV-infection in patients had subclinical or active form.

Chronic subclinical form characterized of typical syndromes of IM without evidence of generalization process: subfebrility (25,9%), tonsillopharyngitis (92,9%), lymphadenopathy (92,6%), hepato-, splenomegaly and (37,0%), moderate asthenovegetative syndrome (40,7%), the change in laboratory parameters (lymphocytosis – 51,8% hypergammaglobulinemia – 77,8%). The immune status of patients with chronic subclinical forms of EBV-infection differed from the healthy and the patients with latent. Changes of immunological parameters were characterized by a decrease in the total number of white blood cells, the absolute number of lymphocytes, CD3+, CD4+, SD16+, IRI, IgA and IgG, increase – the absolute and relative number of CD8+, IgM, CIC, indicators NBT-test and LKB. In general, changes in immune status in patients with subclinical form of chronic EBV-infection showed a weakening of cellular immunity and system voltage antiviral defense.

Chronic active form characterized of manifest course, polymorphism with evidence of generalization of process: subfebrility (94,3%), tonsillopharyngitis (74,3%), generalized lymphadenopathy (51,6%), hepato- (88,6%) and splenomegaly (45,7%), expressed asthenovegetative (100,0%), dyspeptic (57,1%) and arthropathic (28,6%) syndromes, changes in laboratory parameters (anemia –25,7%, leukopenia – 48,5%, thrombocytopenia – 37,1%, lymphocytosis – 68,5%, hypergammaglobulinemia – 68,5%), organ damage (encephalitis – 42,8%, hepatitis – 28,6%). In the analysis of immune parameters in the active form of chronic EBV-infection there were the most significant changes in comparison with the control group and patients with latent and subclinical forms: lower absolute and relative content of all subpopulations of lymphocytes, IRI, IgA, IgG, inhibition of phagocytic activity on indicators LKB- and NBT-tests, reduction of CIC compared to subclinical forms and increase – compared to the latent form and the control group, indicating immunosuppression of both cellular and humoral immunity. In general, studies have shown that the immune status can be used as an additional diagnostic criterion for differential diagnosis of various forms of EBV-infection.

Given nonspecific and polymorphism of clinical manifestations, a significant value of specific serological, molecular markers and immunological tests, diagnosis of chronic EBV-infection is a big challenge for physician practice health care. Therefore, an important and feasible is finding a set of clinical and laboratory signs, which can

diagnose chronic forms of EBV- infection in the prehospital and hospital phases. In order to find the most important diagnostic criteria for us was used discriminant analysis, according to which the two-stage screening is designed to improve the differential diagnosis of chronic EBV-infection. In the prehospital phase the frequency of general clinical and biochemical signs were compared, in the hospital – specific markers and immune parameters.

When comparing the indicators defined in the prehospital phase in patients with active compared to the subclinical form, the highest discriminant features were: fever ( $F=52,37$ ;  $p<0.000002$ ), asthenic syndrome ( $F=43,53$ ;  $p<0.000001$ ) encephalitis ( $F=18,82$ ;  $p<0.000004$ ), hepatitis ( $F=10,66$ ;  $p<0.000032$ ), monocytosis ( $F=9,05$ ;  $p<0.000056$ ), vegetative dysfunction syndrome ( $F=5,72$ ;  $p<0.000056$ ), thrombocytopenia ( $F=4,28$ ;  $p<0.001389$ ), generalized lymphadenopathy ( $F= 4,1$ ;  $p<0.000322$ ), myocarditis ( $F= 4,12$ ;  $p<0.008791$ ) tonsillopharyngitis ( $F=4,12$ ;  $p<0.005511$ ), lymphocytosis ( $F=4,12$ ;  $p<0.008791$ ), leukopenia ( $F=4, 11$ ;  $p<0.000142$ ).

Thus, according to discriminant analysis, these signs may be the basis for the differential diagnosis between active and subclinical forms of chronic EBV-infection in the hospital phase.

Based on the data using multiple discriminant analysis we have a system of equations that can diagnose subclinical and the active form of chronic EBV-infection:

$$C1 = 3,393 * A - 0,387 * B + 1,417 * C + 1,024 * D + 1,861 * E - 2,726 * G - 1,254 * I + 3,285 * K + 1,232 * L + 1,417 * M - 1,255 * N - 1,313 * O - 3,148;$$

$$C2 = 7,201 * A - 0,673 * B + 6,215 * C + 5,137 * D + 3,719 * E - 3,396 * G - 0,919 * I + 6,779 * K + 4,005 * L - 0,464 * M - 1,611 * N + 3,193 * O - 11,492;$$

where: A – asthenic syndrome, B – vegetative dysfunction syndrome, C – encephalitis, D – fever, E – generalized lymphadenopathy, G – myocarditis, I – hepatitis, K – pharyngitis, L – leukopenia, M – lymphocytosis, N – monocytosis, O – thrombocytopenia.

If this feature is available, a factor "1" is entered into the equation, in the absence – "0". In excess of C1 over C2 confirms that patient has active form of EBV-infection, C1 over C2 - subclinical.

At the hospital stage screening was performed on the basis of special examination methods: ELISA, PCR and immunological status. Studies have shown that the active form was significantly different from subclinical by the following specific criteria: PCR ( $F=6,02$ ;  $p<0,0001$ ), CD8,% ( $F=10,45$ ;  $p<0,003$ ), NBT ( $F=6,77$ ,  $p<0,016$ ), CD3,% ( $F=5,66$ ;  $p<0,025$ ), EBNA titer over 100 ( $F = 5,43$ ;  $p<0,029$ ).

On these grounds by method of multiple discriminant analysis of the system of equations we can differentiate subclinical and the active form of chronic EBV-infection:

$$K1 = -9,632 * A - 14,261 * B + 0,593 * C + 1,504 * D + 23,683 * E - 66,796;$$

$$K2 = -6,578 * A + 17,578 * B + 0,429 * C + 0,962 * D + 20,313 * E - 41,898;$$

where: A – titre EBNA over 100, B – the presence of EBV DNA in blood by PCR, C – CD3,%, D – CD8,%, E – NBT.

In excess of K2 over K1 patient has the active form of chronic EBV-infection, K1 over K2 – subclinical.

Using a two-stage screening system based on a combined assessment of clinical, laboratory, and special techniques we can improve the diagnosis of chronic

EBV-infection differentially in the prehospital and hospital phases.

### Conclusions

1. According to the Poltava Regional Clinical Infectious Hospital 83.3% adult immunocompetent patients of IM had recovery, and chronic forms of EBV-infection were formed in 16,7 % patients.

2. Chronic subclinical EBV-infection in adults characterized by subclinical forms with typical signs of IM without signs of generalization process: subfebrility (25,9%), tonsillopharyngitis (92,6%), lymphadenopathy (92,6%), hepato- and splenomegaly (37,0%), moderate asthenovegetative syndrome (40,7%) and changes in laboratory parameters (lymphocytosis – 51,8%, hypergammaglobulinemia – 77,8%), active EBV-infection – manifest course, polymorphism with evidence of generalization of process: subfebrility (94,3%), tonsillopharyngitis (74,3%), generalized lymphadenopathy (88,6%), hepato- (88,6%) and splenomegaly (45,7%) expressed asthenovegetative (100,0%), abdominal pain, dyspeptic (57,1%) and arthropathic (28,6%) syndromes, changes in laboratory parameters (anemia – 25,7 %, leukopenia – 48,5%, thrombocytopenia – 37,1%, lymphocytosis – 68,5% hypergammaglobulinemia – 68,5%) and organ damage (encephalitis – 42,8%, hepatitis – 28,6 %).

3. Patients with chronic EBV-infection have changes of immune parameters, which were characterized: in subclinical forms – the intensity of immune responses (increased content of CD8+, CIC, IgM, LKB- and NBT-test against decrease in CD3+, CD16+, CD20+, IRI, IgA and IgG), in active forms – pronounced imbalance of immune suppression characteristics of cellular and humoral immunity (lymphocyte subpopulations decrease in CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, IgG and IgA, inhibition of the functional activity of phagocytosis, increased CIC).

4. Clinical and medical history (presence of recurrent inflammatory diseases of the airways, asthenovegetative syndrome, fever, lymphadenopathy, hepato- and splenomegaly, organ damage (primarily encephalitis, hepatitis unspecified etiology), laboratory findings (leukopenia, thrombocytopenia, atypical mononuclear cells, lymphocytosis, monocytosis, hypergammaglobulinemia) in combination or alone constitute grounds for exception chronic form of EBV-infection using an algorithm for diagnosis verification by the system of discriminant equations.

### References

1. Volocha A.P. Epshteyna-Barr-virusna infekziya u ditey /A.P.Volocha, L.I.Chernishova // Suchasni infekzii. – 2003. – № 4. – S. 79-93.
2. Klinichniy perebig infekziynogo mononukleozu u ditey v suchasnich umovach / A.M.Michaylova, Yu.P.Charchenko, I.V.Yurchenko [ta in.] // Tezi ChIV z'izdu mikrobiologiv, epidemiologiv ta parazitologiv. – Poltava, 2005. – S. 14-15.
3. Kramarev S.O. Klinichni varianti infekzii, sprichinenoї virusom Epshteyna-Barr, u ditey / C.O.Kramarev, O.V.Vigovs'ka // Medichna gazeta «Zdorov'ya Ukraїni» – 2007. – № 2. – S. 44-46.
4. Kramarev S.O. Epshteyna-Barr virusnaya infekziya u detey / C.O.Kramarev, N.G.Litvinenko, L.O.Palatnaya // Sovremennaya pediatriya. – 2004. – T. 5, № 4. – S. 105-109.
5. Markov I.S. Diagnostika i lechenie gerpeticheskikh infekziy i toksoplazmoza: sbornik statey/ I.S.Markov. – K.: Izdatel'stvo «ArtEk», 2002. – 192 s.

6. Prolongirovannaya immunosupressiya i vozmozhnaya chronizaziya infekzii u detey s infekzionnym mononukleozom / V.I.Ivanova, O.V.Rodionova, G.F.Zheleznikova [i dr.] // Rossiyskiy vestnik perina-tologii i pediatrii. – 2003. – № 4. – S. 50-54.
7. Chronicheskaya aktivnaya infekziya, vyzvannaya virusom Epshteyna-Barr (obzor literatury i opisaniye sobstvennogo nablyudeniya) / A.E.Rudneva, E.V.Samochatova, D.V.Litvinov [i dr.] // Voprosy gematologii, onkologii i immunologii v pediatrii. – 2007. – T. 6, № 4. – S. 39-46.
8. Cohen J.I. Epstein-Barr virus infection/ J.I.Cohen //N. Engl. J. Med. – 2000; 343. – P. 481-492.
9. Godstall S.E. Infectious mononucleosis. Complexities of a common syndrome / S.E.Godstall, J.T.Kirchner // Postgrad. Med. – 2000. – Vol. 107, № 7. – P. 175-186.
1. Kawa K. Epstein-Barr virus-associated diseases in humans/ K.Kawa // Inf. J. Hematol. – 2000. – № 71. – P. 108-117.
2. Maia D.M. Chronic, active Epstein-Barr virus infection / D.M.Maia, A.L.Peace-Brewer // Current opinion in hematology. – 2000. – № 7. – С. 59-63.
3. Prognostic Factors for Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection / Hiroshi Kimura, Tsuneo Morishima, Hirokazu Kanegane [et al.] // The Journal of Infectious Diseases. – 2003. – Vol. 187. – P. 527–533.

*Матеріал надійшов до редакції 3.12.2013*