

## ЗАСТОСУВАННЯ РЕАКЦІЇ НЕПРЯМОЇ ІМУНОФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ (ТЕХНОЛОГІЯ БІОЧИП) ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ЕПШТЕЙНА-БАРР-ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ В ЖИТЕЛІВ ТЕРНОПІЛЬЩИНИ

©Т. І. Юзьків, М. Т. Гук, М. І. Шкільна, О. Л. Івахів, М. М. Корда, І. М. Кліщ

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

**РЕЗЮМЕ. Мета** – діагностувати EBV-інфекцію у жителів Тернопільської області за вмістом сироваткових антитіл класів М та G до антигенів вірусу: капсидного та його білків gp125 і p19, антитіл класу G – до раннього та ядерного антигенів, визначених одночасно за допомогою РНІФ (технологія БІОЧИП).

**Матеріал і методи.** У Центрі з вивчення Лайм-бореліозу та інших інфекцій, що передаються кліщами, при Тернопільському національному медичному університеті імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, обстежено 26 пацієнтів віком від 30 до 72 років, які мали клінічні прояви EBV-інфекції. Чоловіків було 7 (26,9 %), більшість обстежених склали жінки – 19 (73,1 %). Проживали в місті 18 (69,2 %) осіб, у селі – 8 (30,8 %).

Для діагностики EBV-інфекції використали мультиплексну реакцію непрямої імунофлуоресценції (РНІФ) (технологія БІОЧИП). Застосували тест-систему «BIOCHIP Sequence EBV (with avidity determination)» (EUROIMMUN, Німеччина), яка містить капсидний антиген і його білки gp125 і p19, ядерний та ранній антигени EBV.

Результати визначення специфічних антитіл до зазначених антигенів EBV оцінювали в полі зору флуоресцентного мікроскопа (Olympus IX70, об  $\times 10$ , об  $\times 20$ ;40) за яскраво-зеленим світінням імуного комплексу антиген-антитіло, міченого флуоресцеїном, яке було специфічним для кожного із вказаних антигенів.

**Результати.** Метод мультиплексної непрямої імунофлуоресценції з використанням технології БІОЧИП дозволив діагностувати хронічну EBV-інфекцію у всіх обстежених пацієнтів, а за рахунок одночасно виявлення різних поєднань IgG до капсидного антигену EBV та його білків gp125 і p19, а також до ядерного і раннього антигенів, встановити у 46,2 % осіб із EBV-інфекцією стадію реактивації, у 34,6 % – давнє інфікування, у 19,2 % – хронічну інфекцію з недавньою реактивацією.

У хворих на хронічну EBV-інфекцію частіше відзначали скарги на збільшення лімфатичних вузлів (56 %) і біль у м'язах та суглобах (36 %).

**Висновок.** Зазначений метод для діагностики хронічної EBV-інфекції в Тернопільській області застосований вперше і продемонстрував високу інформативність.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** Епштейна-Барр вірус (EBV); EBV-інфекція; сироваткові антитіла до білків EBV: ранній антиген (EA), капсидний антиген (VCA) і його білки gp125, p19, ядерний антиген (EBNA); мультиплексна непряма імунофлуоресценція, технологія БІОЧИП.

**Вступ.** Епштейна-Барр вірус (англ. – Epstein-Barr virus (EBV), human herpes virus 4 (HH4) – вірус герпесу людини 4-го типу) досить розповсюджений у людській популяції. За даними дослідників, у різних регіонах світу серопозитивними щодо цього збудника є близько 90–95 % дорослих і від 50 до 80 % дітей [1, 2].

EBV належить до родини *Herpesviridae*, підродини *Gammapherpesviridae*, є типовим представником лімфотропних вірусів приматів (*Lymphocryptovirus*). Він здебільшого уражає В-лімфоцити, в яких реплікується і тривало персистує, не спричиняючи їх лізису, а також моноцити, макрофаги, нейтрофіли, ще й епітеліоцити носоглотки, що визначає характер клінічних проявів низки недуг у людини. EBV зумовлює хвороби імунної системи з розвитком синдромів лімфопроліферації та імунної недостатності, має опортуністичні й онкогенні властивості [3, 4]. Недуги, спричинені ним, займають важливе місце в структурі інфекційних захворювань герпесвірусної етіології [5, 6]. Насамперед із цим вірусом асоціюють ряд хвороб, зокрема інфекційний мононуклеоз, синдром хронічної втоми в до-

рослих, злякисні недуги, такі як лімфома Беркітта і карцинома носоглотки, хвороба Ходжкіна, а також низку посттрансплантаційних лімфопроліферативних захворювань. Інфекційний мононуклеоз, асоційований із EBV, здебільшого виникає в дітей і має характерні клінічні прояви. Водночас EBV в організмі людини здатний перебувати в латентній, персистентній і реактивованій формах [3, 4]. В останнє десятиліття суттєво збільшилося число повідомлень про хронічний перебіг недуги, спричиненої EBV (EBV-інфекції), здебільшого у підлітків і дорослих, в осіб з імунодефіцитними станами [7].

EBV-інфекція – антропоноз, основним джерелом збудника є клінічно здорові хронічні носії вірусу, що виділяють його зі слиною, значно рідше – хворі на маніфестні форми недуги. Шляхи передачі вірусу – зазвичай повітряно-крапельний і контакт-побутовий, зрідка можливий трансплантаційний, трансфузійний і статевий. Однак здебільшого EBV передається через тісний контакт, іграшки, спільні предмети побуту і таке інше [8, 9].

Хронічна EBV-інфекція може перебігати як у латентній (безсимптомній), так і в активній формах.

Хронічна активна EBV-інфекція характеризується тривалим рецидивним перебігом, наявністю клінічних і лабораторних ознак реплікації вірусу. Переважно пацієнти відзначають загальну слабкість, біль голови, підвищену пітливість, кашель, утруднене носове дихання, неприємні відчуття в горлі, болі в м'язах і суглобах, наявність висипань на шкірі, тяжкість у правому підребер'ї, запаморочення; емоційну лабільність, депресію, порушення сну, зниження пам'яті, уваги, інтелекту. Часто в таких хворих відзначають субфебрильну температуру тіла, збільшення багатьох груп лімфовузлів, переважно передньо-і задньошийних, гепатоспленомегалію різного ступеня вираження. Досить часто ця симптоматика має хвилеподібний характер [10].

Оскільки хронічна активна EBV-інфекція не має патогномонічних проявів чи характерної симптоматики, суттєві складнощі виникають при діагностиці недуги, особливо встановленні її стадії. Натепер здебільшого застосовують імунологічні методи діагностики [7, 11].

Коли EBV розмножується в організмі людини, то він експресує понад 70 різних специфічних білків. Натепер доведено клініко-діагностичне значення імуногенних білків чотирьох груп, виявлення антитіл до яких дає можливість визначити стадію недуги [12, 14]. До них належать:

- ранній антиген (англ. – early antigen, EA), який містить білки p54 і p138; наявність сироваткових антитіл до нього і його складових свідчить про первинну або гостру фазу реактивованої інфекції;

- вірусний капсидний антиген (англ. – viral capsid antigen, VCA), до складу якого входять 30 різних білків, у тому числі й gp125/110, p18/19, p40, p23, p160, gp350/220; присутність антитіл до антигену в сироватці крові вказує на первинну або реактивовану інфекцію, їх визначають як у гострій, так і в хронічній фазах реактивації;

- Епштейна-Барр ядерний антиген (англ. – Epstein-Barr nuclear antigen, EBNA), який містить білок p72; антитіла до нього наявні при будь-якій формі хронічної інфекції або свідчать про імунну пам'ять після клінічного одужання;

- латентний мембранний білок (англ. – latent membrane protein, LMP); антитіла виявляють за прихованої або персистентної інфекції [1, 15–17].

На переконання багатьох дослідників, в Україні недуги, спричинені EBV, виявляють набагато рідше, що не відповідає реальному рівню захворюваності. Тому для діагностики EBV-інфекції необхідна не лише краща обізнаність лікарів первинної ланки про клінічне розмаїття недуги, а й наявність сучасних лабораторних тестів для підтвердження діагнозу і встановлення стадії інфекції [5, 7, 11].

Подібно до інших герпесвірусів, EBV, потрапивши в організм, здебільшого спричинює латент-

ну інфекцію і персистує в ньому протягом усього життя людини. Довічна латентція вірусу в організмі характеризується періодами його реактивації, що може призвести до клінічної маніфестації недуги.

Більшість науковців схиляються до того, що для диференціації нещодавнього інфікування EBV, реактивації від персистентної інфекції необхідно визначити антитіла різних класів щонайменше до капсидного (EBV VCA) і ядерного (EBNA) антигенів [4, 18, 19].

Натепер для серологічної діагностики EBV-інфекції зазвичай застосовують три методи: реакцію непрямой імунофлуоресценції (РНІФ), імуноферментний аналіз (ІФА) і вестерн-блот [19]. Порівняно з іншими методами, РНІФ залишається класичним, високоспецифічним, так званим «золотим стандартом», який дозволяє діагностувати різні стадії EBV-інфекції в одному зразку сироватки крові хворого [7, 16, 20].

**Мета** – діагностувати EBV-інфекцію у жителів Тернопільської області за вмістом сироваткових антитіл класів М та G до антигенів вірусу: капсидного та його білків gp125 і p19, антитіл класу G – до раннього та ядерного антигенів, визначених одночасно за допомогою РНІФ (технологія БІОЧИП).

**Матеріал і методи дослідження.** У Центрі із вивчення Лайм-бореліозу та інших інфекцій, що передаються кліщами, при Тернопільському національному медичному університеті імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, обстежено 26 пацієнтів віком від 30 до 72 років, які мали клінічні прояви EBV-інфекції. Чоловіків було 7 (26,9 %), більшість обстежених склали жінки – 19 (73,1 %). Проживали в місті 18 (69,2 %) осіб, у селі – 8 (30,8 %).

Обстежені пацієнти з різною частотою висловлювали скарги на збільшення лімфатичних вузлів, болі в м'язах і суглобах, неприємні відчуття в горлі, утруднене носове дихання, наявність висипань на шкірі, оніміння і відчуття слабкості в кінцівках, підвищену втому/загальну слабкість, біль голови, запаморочення, зниження пам'яті та уваги, емоційну лабільність. Зазначені скарги обстежені особи відзначали більше ніж 6 місяців.

Для діагностики EBV-інфекції нами застосовано мультиплексну РНІФ із використанням технології БІОЧИП. При проведенні РНІФ використали тест-систему «BIOCHIP Sequence EBV (with avidity determination)» (EUROIMMUN, Німеччина), яка дає змогу в одному зразку сироватки крові одночасно провести детекцію специфічних антитіл класів М та G до VCA і його білків: gp125 (нативного антигену) і p19 (рекомбінантного білка), антитіл класу G до EBNA і EBЕА.

Результати зазначених досліджень дають змогу залежно від варіантів виявлених поєднань різних специфічних антитіл до білків EBV встано-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення  
 вити стадію хвороби. Отримані результати серологічних досліджень інтерпретували згідно з рекомендаціями виробника тест-систем [21].

Сироватки крові хворих досліджували в полі зору флуоресцентного мікроскопа Olympus IX70 у світлі ртутної лампи на 100 Вт, фільтр збудження з 450–490 нм, бар'єрний фільтр з 515 нм, ок ×10, об ×20; 40.

Позитивним вважали зразок, в якому було наявне яскраво-зелене світіння комплексу антиген-антитіло, міченого флуоресцеїном. При оцінці результатів враховували особливості світіння імунних комплексів із кожним із досліджуваних антигенів EBV окремо. Так, до прикладу, комплекси антиген-антитіло, мічені флуоресцеїном, із VCA EBV зумовлюють типову флуоресценцію насамперед у цитоплазмі клітин, із gp125 цього антигену – утворюють яскраво-зелену флуоресценцію у вигляді квадрата на темному тлі, із p19 – у вигляді ромба; із EBV-EA – спричинюють щільну дрібно-

зернисту флуоресценцію в ядрах клітин. Водночас комплекс антиген-антитіло з EBNA утворює гранулярну флуоресценцію в ядрах інфікованих клітин (близько 50 %), що часто нагадує форму листка конюшини.

**Результати й обговорення.** Проведено ретельний аналіз частоти виявлення різних скарг в обстежених пацієнтів. Установлено, що найчастіше більшість осіб (14; 56,0 %) турбувало збільшення лімфатичних вузлів, скарги на біль у м'язах і суглобах, що свідчило про ураження опорно-рухової системи, висловлювали 9 (36,0 %) пацієнтів, на утруднене носове дихання і підвищену втому/загальну слабкість – по 6 (23,1 %) обстежених. Неприємні відчуття у горлі та оніміння і відчуття слабкості в кінцівках відзначали по 5 (19,2 %) осіб. Водночас на емоційну лабільність пацієнти вказували рідко – лише 4 (15,4 %) з обстежених, ще рідше відзначали шкірні висипання, зниження пам'яті та уваги (рис. 1).

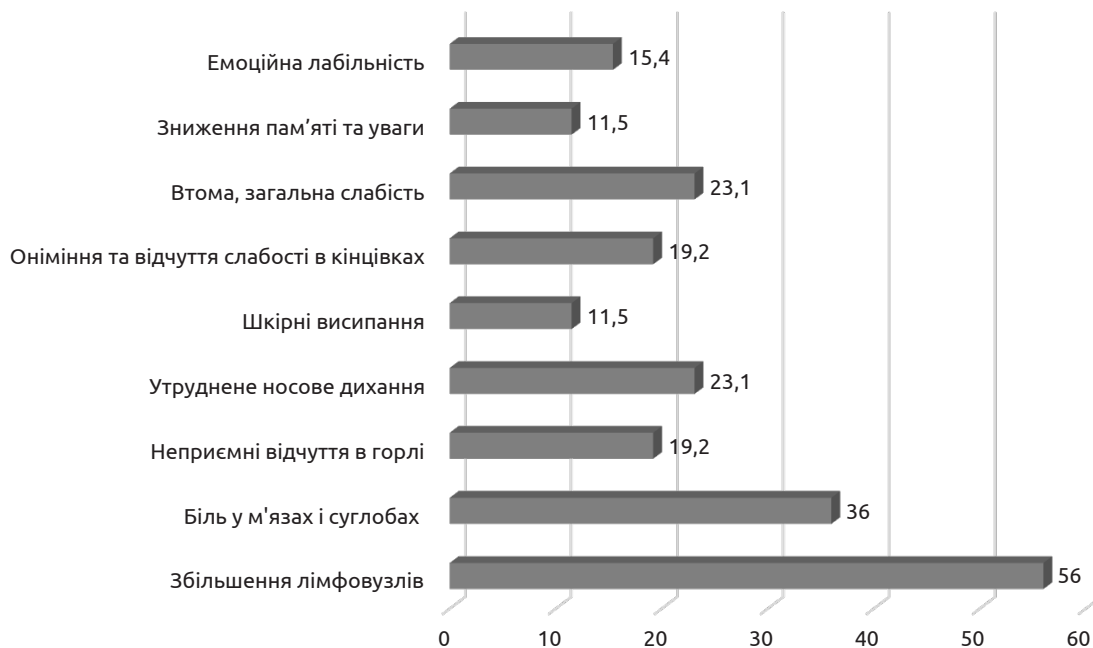


Рис. 1. Частота скарг в обстежених пацієнтів (n=26), %.

У подальшому методом РНІФ, технологія БЮЧИП, у сироватках крові усіх обстежених пацієнтів виявили антитіла хоча б до одного антигену EBV, а то й до кількох одночасно, що дало підстави встановити у них діагноз EBV-інфекції.

При аналізі результатів серологічного дослідження сироваток крові 26 пацієнтів при застосуванні РНІФ антитіл класу М до VCA і його білків (gp125 і p19) не виявлено в жодної особи. Це дало підстави виключити діагноз гострої EBV-інфекції в усіх обстежених хворих.

Водночас з'ясовано, що частіше виявляли сироваткові антитіла класу G до VCA і EBNA, ніж антитіла

цього класу до EBNA,  $p < 0,05$ , що свідчить про хронічний перебіг EBV-інфекції в обстежених осіб (рис. 2).

Далі з'ясовували частоту виявлення антитіл класу G до антигену EBV-CA окремо і в поєднанні з антитілами цього класу до EBNA та EBV-EA у сироватках крові хворих. За допомогою РНІФ з'ясовано, що в обстежених осіб суттєво частіше знаходили сироваткові антитіла цього класу одночасно до двох антигенів – EBV-CA і EBNA, ніж до трьох – VCA, EBV-EA і EBNA, і тим паче до одного VCA – відповідно в 15 (57,7 %) пацієнтів проти 6 (23,1 %) і 5,0 (19,2 %),  $p < 0,05$ . Ці результати є ще одним підтвердженням хронічного перебігу EBV-інфекції (табл. 1).

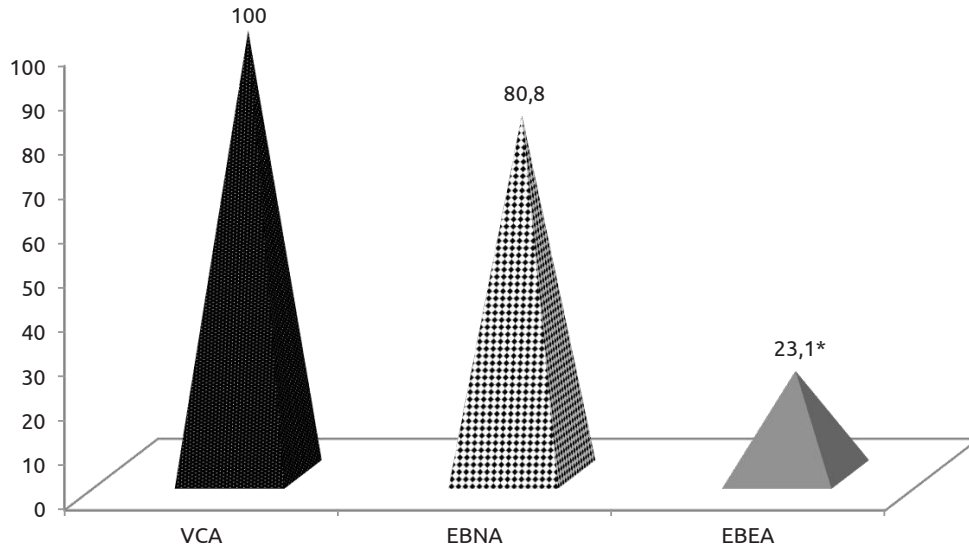


Рис. 2. Частота виявлення антитіл класу G до антигенів EBV в обстежених пацієнтів за допомогою РНІФ (n=26), %  
Примітка. \* – різниця достовірна між частотою виявлення антитіл до різних антигенів.

Таблиця 1. Частота виявлення антитіл класу G до антигену EBV-CA окремо і в поєднанні з EBNA і EBV-EA в сироватках крові пацієнтів із EBV-інфекцією за допомогою РНІФ (n=26), %

Антигени	Хворі з наявними антитілами	
	абс. число	%
EBV-CA	5	19,2
EBV-CA + EBNA	15	57,7*
EBV-CA + EBV-EA+ EBNA	6	23,1

Примітка. \* – різниця достовірна щодо наявності антитіл до інших антигенів у поєднанні та окремо.

Проаналізовано частоту виявлення в обстежених хворих сироваткових IgG до білків EBV-CA: gp125 (нативний антиген), наявність антитіл до якого свідчить про загострення інфекційного процесу, і p19 (рекомбінантний антиген) – знаходження антитіл до цього білка вказує на завершення

активного інфекційного процесу [22]. З'ясовано, що антитіла зазначеного класу до білка p19 VCA виявляли в сироватках крові усіх обстежених хворих. Водночас IgG до gp125 EBV-CA знаходили в сироватках крові лише 17 (65,4 %) пацієнтів (табл. 2).

Таблиця 2. Частота виявлення антитіл класу G до EBV-CA і його білків gp125 і p19 у сироватках крові пацієнтів із EBV-інфекцією за допомогою РНІФ (n=26), %

Антигени	Хворі з наявними антитілами	
	абс. число	%
EBV-CA	26	100,0
VCA gp125	17	65,4
VCA p19	26	100,0

Для визначення активності хронічної EBV-інфекції за допомогою РНІФ здійснили аналіз серологічних профілів наявності антитіл у різних поєднаннях до антигенів EBV в обстежених хворих (табл. 3).

Відповідно до встановлених профілів, реактивацію хронічної EBV-інфекції діагностовано в 12 (46,2 %) із 26 обстежених хворих, давнє інфікування встановлено у 9 (34,6 %) осіб, а хронічну інфекцію з недавньою реактивацією – у 5 (19,2 %). Достовірної різниці у частоті різних скарг пацієнтів з різними профілями антитіл класу G до антигенів EBV, які

дають змогу встановити реактивацію, давнє інфікування і хронічну інфекцію з недавньою реактивацією, нами не встановлено.

Для ілюстрації отриманих результатів наводимо клінічні спостереження. Пацієнт Б., 56 років, скаржився на тривале, понад 6 місяців, збільшення лімфатичних вузлів, артралгії, міалгії. Методом РНІФ у його сироватці крові виявлено антитіла класу G до білків EBV-CA – gp125, специфічне світіння яких подано на рисунку 3, і до p19 – на рисунку 4.

Таблиця 3. Частота виявлення різних профілів антитіл класу G до антигенів EBV у сироватках крові пацієнтів із EBV-інфекцією за допомогою РНІФ (n=26), %

Варіанти профілю	Хворі з наявними антитілами	
	абс. число	%
EBV-CA + VCA gp125 + VCA p19 + EBV-EA + EBNA (реактивація)	5	19,2
EBV-CA + VCA gp125 + VCA p19 + EBNA (реактивація)	7	26,9
EBV-CA + VCA p19+ EBNA (давнє інфікування)	8	30,8
EBV-CA + VCA p19+ EBV-EA + EBNA (давнє інфікування)	1	3,9
EBV-CA +VCA gp125 + VCA p19 (хронічна інфекція з недавньою реактивацією)	5	19,2

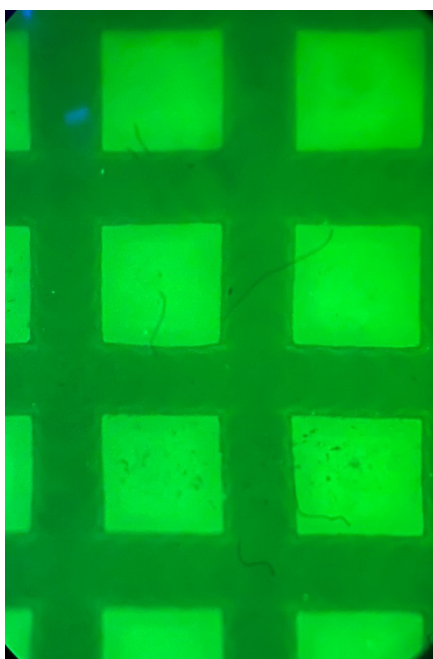


Рис. 3. РНІФ імунних комплексів із антитіл класу G і gp125 EBV-CA в сироватці крові. Хворий Б., 56 років, діагноз: хронічна EBV-інфекція, стадія реактивації.

Мікроскоп Olympus IX70, ок ×10, об ×20.

Примітка. На кольоровому малюнку – яскраво-зелене світіння комплексу антиген-антитіло у формі квадрата на темному полі.

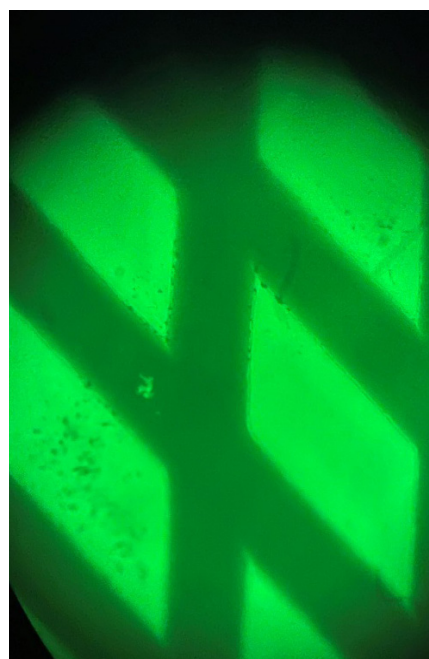


Рис. 4. РНІФ імунних комплексів із антитіл класу G та p19 EBV-CA в сироватці крові. Хворий Б., 56 років. Діагноз: хронічна EBV-інфекція, стадія реактивації.

Мікроскоп Olympus IX70, ок ×10, об ×20.

Примітка. На кольоровому малюнку – яскраво-зелене світіння комплексу антиген-антитіло у вигляді ромба.

Крім зазначених антитіл у пацієнта виявлено ще й сироваткові IgG до антигенів EBV – EBV-CA і EBNA. За наявності сукупності антитіл класу G до антигенів EBV хворому виставлено діагноз: хронічна EBV-інфекція, стадія реактивації.

Отримані нами результати щодо кількості пацієнтів із хронічною EBV-інфекцією, які скаржились на збільшення лімфатичних вузлів, дещо перевищують дані науковців Японії, в дослідженнях яких кількість хворих із наявною лімфаденопатією складала 40,0 %, і нижчі від показників, наведених науковцями США, які спостерігали збільшення лімфатичних вузлів у 70,0 % осіб з такою патологією [23].

**Висновки.** 1. За допомогою реакції непрямой імунофлуоресценції (технологія БЮЧИП) у 26 жителів Тернопільської області діагностовано хронічну EBV-інфекцію.

2. У хворих на хронічну EBV-інфекцію частіше відзначали скарги на збільшення лімфатичних вузлів (56 %) і біль у м'язах та суглобах (36 %).

3. Метод мультиплексної непрямой імунофлуоресценції з використанням технології БЮЧИП за рахунок одночасної детекції в одному зразку сироватки крові антитіл до антигенів вірусу Епштейна-Барр – класів IgM та IgG до капсидного та його білків gp125 і p19, класу G до ядерного і раннього ан-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення тигенів дав змогу діагностувати у 46,2 % пацієнтів із хронічною EBV-інфекцією стадію реактивації, у 53,8 % – без реактивації вірусу, у тому числі у 34,6 % – давнє інфікування, у 19,2 % – хронічну інфекцію з недавньою реактивацією.

4. Зазначений метод для діагностики хронічної EBV-інфекції в Тернопільській області застосо-

ваний уперше і продемонстрував високу інформативність.

**Перспективи подальших досліджень.** Доцільно з'ясувати зміни показників клітинного імунітету в пацієнтів із хронічною EBV-інфекцією, у тому числі залежно від стадії та клінічних проявів недуги.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Покровська Т. В. Хронічна Епштейна-Барр вірусна інфекція – актуальні питання / Т. В. Покровська // Інфекційні хвороби. – 2014. – № 3. – С. 70–74.
2. Damania B. Epstein-Barr virus: Biology and clinical disease / B. Damania, Sh. C. Kenney, N. Raab-Traub // Cell. – 2022.
3. Hatton O. L. The interplay between Epstein-Barr virus and B lymphocytes: implications for infection, immunity, and disease / O. L. Hatton // Immunologic Research. – 2014. – Vol. 58, No. 2–3. – P. 268–276.
4. Tcherniaeva I. The development of a bead-based multiplex immunoassay for the detection of IgG antibodies to CMV and EBV / I. Tcherniaeva // Journal of Immunological Methods. – 2018. – Vol. 462. – P. 1–8.
5. Завіднюк Н. Г. Актуальні проблеми діагностики Епштейна-Барр вірусної інфекції. / Н. Г. Завіднюк // Інфекційні хвороби. – 2015. – №4 (82). – С. 79–86.
6. Chen J. Epithelial cell infection by Epstein-Barr virus / J. Chen, R. Longnecker // FEMS Microbiology Reviews. – 2019. – Vol. 43, No. 6. – P. 674–683.
7. S G. Havuz Evaluation of Epstein-Barr Virus Indirect Immunofluorescence Assay Results / G. S. Havuz, D. Mehler // Austin Clinical Microbiology. – 2020. – Vol. 4, No. 1.
8. Niller H.-H. Epstein-Barr Virus: Clinical Diagnostics / H.-H.t Niller, G. Bauer // Epstein Barr Virus. – New York, NY, 2016. – P. 33–55.
9. Sanguenza-Acosta M. Epstein-Barr virus and skin / Martin Sanguenza-Acosta, Erica Sandoval-Romero // Anais Brasileiros de Dermatologia. – 2018. – Vol. 93, No. 6. – P. 786–799.
10. Клінічні форми хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції: питання сучасної діагностики та лікування / О. К. Дуда [та ін.] // Актуальна інфектологія. – 2015. – № 1 (6). – С. 15–20.
11. Abusalah Mai Abdel Haleem Recent Advances in Diagnostic Approaches for Epstein-Barr Virus / Mai Abdel Haleem Abusalah // Pathogens. – 2020. – Vol. 9, No. 3. – P. 226.
12. Nystad T. W. Prevalence of primary versus reactivated Epstein-Barr virus infection in patients with VCA IgG-, VCA IgM- and EBNA-1-antibodies and suspected infectious mononucleosis / T. W. Nystad, H. Myrmet // Journal of Clinical Virology. – 2007. – Vol. 38, No. 4. – P. 292–297.
13. Klutts J. S. Evidence-Based Approach for Interpretation of Epstein-Barr Virus Serological Patterns / J. S. Klutts // Journal of Clinical Microbiology. – 2009. – Vol. 47, No. 10. – P. 3204–3210.
14. Казмірчук В. Є. Діагностика та лікування інфекції, спричиненої Епштейна-Барр вірусом (вірусом герпесу людини 4 типу) : методичні рекомендації. 4.1 / В. Є. Казмірчук, Д. В. Мальцев // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2011. – № 2. – С. 30–36.
15. Münz C. EBV Infection of Mice with Reconstituted Human Immune System Components / C. Münz // Curr. Top Microbiol. Immunol. – 2015. – Vol. 391. – P. 407–423.
16. Chen Hao. Multiparametric Detection of Antibodies against Different EBV Antigens to Predict Risk for Nasopharyngeal Carcinoma in a High-Risk Population of China / Hao Chen // Cancer Prevention Research. – 2017. – Vol. 10, No. 9. – P. 542–550.
17. Park Younhee Diagnostic Performance and Comparative Evaluation of the Architect, Liaison, and Platelia Epstein-Barr Virus Antibody Assays / Younhee Park // Annals of Laboratory Medicine. – 2018. – Vol. 38, No. 5. – P. 458–465.
18. Kasifoglu Nilgun Comparison of Methods Used for the Diagnosis of Epstein-Barr Virus Infections in Children / Nilgun Kasifoglu // Polish Journal of Microbiology. – 2018. – Vol. 67, No. 1. – P. 81–88.
19. Akpolat N. Determination of serological profiles and avidity of specific antibodies in the sera of patients with potential Epstein-Barr virus (EBV) infection / N. Akpolat // Bratislava Medical Journal. – 2013. – Vol. 114, No. 08. – P. 460–463.
20. De Paschale M. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: Problems and solutions / Massimo De Paschale // World Journal of Virology. – 2012. – Vol. 1, No. 1. – P. 31.
21. Набір реагентів для визначення антитіл людини класів М та G до антигенів Epstein-Barr Virus BIOCHIP Sequence EBV (with avidity determination) (к. номер: FI 2799-21 X) [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.euroimmun.com/products/infection-diagnostics/id/herpes-virus-infections/>
22. de Ory Fernando Application of a Commercial Immunoblot to Define EBV IgG Seroprofiles / Fernando de Ory // Journal of Clinical Laboratory Analysis. – 2014.
23. Kimura H. Chronic Active Epstein-Barr Virus Disease / H. Kimura, J. I. Cohen // Frontiers in Immunology. – 2017. – Vol. 8.

REFERENCES

1. Pokrovska, T.V. (2014). Khronichna Epshteyna-Barr virusna infektsiya – aktualni pytannya [Chronic Epstein-Barr virus infection – topical issues]. *Infektsiyni khvoroby – Infectious diseases*, 3, 70-74 [in Ukrainian].
2. Damania, B., Kenney, S.C., & Raab-Traub, N. (2022). Epstein-Barr virus: Biology and clinical disease. *Cell*.
3. Hatton, O.L., Harris-Arnold, A., Schaffert, S., Krams, S.M., & Martinez, O.M. (2014). The interplay between Epstein-Barr virus and B lymphocytes: implications for infection, immunity, and disease. *Immunologic Research*, 58(2-3), 268-276.
4. Tcherniaeva, I., den Hartog, G., Berbers, G., & van der Klis, F. (2018). The development of a bead-based multiplex immunoassay for the detection of IgG antibodies to CMV and EBV. *Journal of Immunological Methods*, 462, 1-8.
5. Zavidnyuk, N.G. (2015). Aktualni problemy diahnozy Epshteyna-Barr virusnoyi infektsiyi [Actual problems of diagnosis of Epstein-Barr virus infection]. *Infektsiyni khvoroby – Infectious diseases*. 4(82), 79-86 [in Ukrainian].
6. Chen, J., & Longnecker, R. (2019). Epithelial cell infection by Epstein-Barr virus. *FEMS Microbiology Reviews*, 43(6), 674-683.
7. Havuz, G.S., & Mehel D. (2020). Evaluation of Epstein-Barr Virus Indirect Immunofluorescence Assay Results. *Austin Clinical Microbiology*, 4(1).
8. Niller, H.-H., & Bauer, G. (2016). Epstein-Barr Virus: Clinical Diagnostics. *Epstein Barr Virus*. Springer New York.
9. Sanguenza-Acosta, M., & Sandoval-Romero, E. (2018). Epstein-Barr virus and skin. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 93(6), 786-799.
10. Duda O.K., & Kolesnyk R.O. (2015). Clinical forms of chronic Epstein-Barr virus infection: issues of modern diagnosis and treatment. *Actual infectology*. 1(6), 15-20.
11. Abusalah, M.A.H., Gan, S.H., Al-Hatamleh, M.A.I., Irekeola, A.A., Shueb, R.H., & Yean Yean, C. (2020). Recent Advances in Diagnostic Approaches for Epstein-Barr Virus. *Pathogens*, 9(3), 226.
12. Nystad, T.W., & Myrmel, H. (2007). Prevalence of primary versus reactivated Epstein-Barr virus infection in patients with VCA IgG-, VCA IgM- and EBNA-1-antibodies and suspected infectious mononucleosis. *Journal of Clinical Virology*, 38(4), 292-297.
13. Klutts, J.S., Ford, B.A., Perez, N.R., & Gronowski, A.M. (2009). Evidence-Based Approach for Interpretation of Epstein-Barr Virus Serological Patterns. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(10), 3204-3210.
14. Kazmirchuk, V.E., & Maltsev, D.V. (2011). Diahnostyka ta likuvannya infektsiyi, sprychynenoyi Epshteyna-Barr virusom (virusom herpesu lyudyny 4 typu) : metodychni rekomendatsiyi. 4.1 [Diagnosis and treatment of infection caused by Epstein-Barr virus (human herpes virus type 4): Guidelines. 4.1]. *Klinichna imunohiyya. Alerholohiyya. Infektolohiyya – Clinical Immunology. Allergology. Infectology*, 2, 30-36 [in Ukrainian].
15. Münz, C. (2015). EBV Infection of Mice with Reconstituted Human Immune System Components. *Curr. Top Microbiol. Immunol.*, 391, 407-423.
16. Chen, H., Chen, S., Lu, J., Wang, X., Li, J., Li, L., Fu, J., Scheper, T., Meyer, W., Peng, Y.-H., & Liu, W. (2017). Multiparametric Detection of Antibodies against Different EBV Antigens to Predict Risk for Nasopharyngeal Carcinoma in a High-Risk Population of China. *Cancer Prevention Research*, 10(9), 542-550.
17. Park, Y., Park, B. G., Ha, J., & Kim, H.-S. (2018). Diagnostic Performance and Comparative Evaluation of the Architect, Liaison, and Platelia Epstein-Barr Virus Antibody Assays. *Annals of Laboratory Medicine*, 38(5), 458-465.
18. Kasifoglu, N., Oz, S., Dinleyici, E.C., Us, T., Bor, O., Durmaz, G., & Akgun, Y. (2018). Comparison of Methods Used for the Diagnosis of Epstein-Barr Virus Infections in Children. *Polish Journal of Microbiology*, 67(1), 81-88.
19. Akpolat, N., Gedik, M., Nergiz, S., & Bilek, H. (2013). Determination of serological profiles and avidity of specific antibodies in the sera of patients with potential Epstein-Barr virus (EBV) infection. *Bratislava Medical Journal*, 114(08), 460-463.
20. De Paschale, M. (2012). Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: Problems and solutions. *World Journal of Virology*, 1(1), 31.
21. Nabir reagentiv dlya vyznachennya antytil lyudyny klasiv M ta G do antyheniv Epstein-Barr Virus BIOCHIP Sequence EBV (with avidity determination) (k. nomer: FI 2799-21 X) – A set of reagents for the determination of human antibodies of classes M and G to Epstein-Barr Virus antigens BIOCHIP Sequence EBV (with avidity determination) (order number: FI 2799-21 X) [Electronic resource]. Retrieved from: <https://www.euroimmun.com/products/infection-diagnostics/id/herpes-virus-infections/> [in Ukrainian].
22. de Ory, F., Guisasola, E., Tarragó, D., & Sanz, J.C. (2014). Application of a Commercial Immunoblot to Define EBV IgG Seroprofiles. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 29(1), 47-51. DOI: 10.1002/jcla.21726.
23. Kimura, H., & Cohen, J.I. (2017). Chronic Active Epstein-Barr Virus Disease. *Frontiers in Immunology*, 8. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01867.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

**APPLICATION OF THE INDIRECT IMMUNOFLUORESCENCE METHOD (BIOCHIP TECHNOLOGY)  
FOR THE DIAGNOSIS OF EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION IN RESIDENTS  
OF TERNOPIL REGION**

©Т. І. Yuzkiv, М. Т. Guk, М. І. Shkilna, О. Л. Ivakhiv, М. М. Korda, І. М. Klishch  
*I. Horbachevsky Ternopil National Medical University*

**SUMMARY. The aim** – to diagnose EBV infection in residents of Ternopil region by the content of serum antibodies of classes M and G to the EBV antigens: capsid and its proteins gp125 and p19, antibodies of class G – to early and nuclear antigens, using the multiplex indirect immunofluorescence method in the BIOCIP technology.

**Material and Methods.** At the Centre for Lyme borreliosis and other tick-borne diseases research at the I. Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, 26 patients aged 30 to 72 years with clinical manifestations of EBV infection were examined. There were 7 men (26.9 %), and the majority of the patients were women – 19 (73.1 %). 18 (69.2 %) people lived in the city, 8 (30.8 %) in the countryside.

For the diagnosis of EBV infection, the multiplex indirect immunofluorescence method in the BIOCIP technology was performed, using the commercial kit (EUROIMMUN BIOCIP Sequence EBV Avidity Determinant; Lot: FI 2799-21 X, Germany), which contains capsid antigen and its proteins gp125 and p19, nuclear and early EBV antigens. The results of determination of specific antibodies to these EBV antigens were evaluated with a fluorescence microscope (Olympus IX70; ok ×10; ob × 20, 40 objective) by the bright green glow of the fluorescein-labeled antigen-antibody immune complex, which was specific for each of these antigens.

**Results.** The multiplex indirect immunofluorescence method in the BIOCIP technology allowed to diagnose chronic EBV infection in all examined patients, and due to the simultaneous detection of different combinations of IgG to the capsid antigen of EBV and its proteins gp125 and p19 as well as to the nuclear and early antigens, we were able to establish the stage of reactivation of EBV infection in 46.2 % of patients, long-standing infection in 34.6 %, and chronic infection with recent reactivation in 19.2 %.

In patients with chronic EBV infection, complaints of swollen lymph nodes (56 %) and muscle and joint pain (36 %) were more common.

**Conclusion.** This method for the diagnosis of chronic EBV infection in the Ternopil region was used for the first time and demonstrated high information content.

**KEY WORDS:** Epstein-Barr virus (EBV); EBV-infection; serum antibodies to EBV proteins: early antigen (EA), capsid antigen (VCA) and its proteins gp125, p19, nuclear antigen (EBNA); multiplex indirect immunofluorescence, BIOCIP technology.

Отримано 22.10.2023

Електронна адреса для листування: shkilnami@tdmu.edu.ua