



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **114587**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 33/53** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 09981**

(22) Дата подання заявки: **29.09.2016**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **10.03.2017**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **10.03.2017, Бюл.№ 5**

(72) Винахідник(и):

**Покровська Тетяна Валеріївна (UA),  
Покровська Наталя Костянтинівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ  
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА  
ГАЛИЦЬКОГО,  
вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010 (UA)**

## (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ХРОНІЧНОЇ ЕПШТЕЙНА-БАРР ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

### (57) Реферат:

Спосіб діагностики хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції (EBV) включає імунологічні та параклінічні дослідження. Методом імуноферментного аналізу виявляють антитіла до трьох антигенів EBV: капсидного антигену вірусу - VCA IgM, VCA IgG, раннього антигену - EA IgG та нуклеарного антигену - EBNA IgG. Методом полімеразної ланцюгової реакції виявляють DNA EBV і за результатами досліджень діагностують ранню, пізню і атипову реактивацію.

**UA 114587 U**



Корисна модель належить до медицини, зокрема клініки інфекційних хвороб, дитячих хвороб, клінічної імунології і алергології.

Епштейна-Барр вірусна інфекція (EBV-інфекція) належить до важливих проблем сучасної медицини і пов'язана з широкою циркуляцією цього збудника серед населення. Рівень інфікованості дорослого населення становить майже 90-100 %, а дитячого, за даними різних авторів - від 50 до 80 %. Хвороби, спричинені вірусом Епштейна-Барр (EBV), характеризуються системним ураженням внутрішніх органів, широким діапазоном клінічних проявів хвороби, що призводить до діагностичних помилок на догоспітальному етапі (від 30 до 60 %). EBV здатний залишатися необмежено довго в організмі людини в латентному стані, зумовлювати хронічні маніфести і стерті форми хвороби, реактивуватися під впливом несприятливих екзо- та ендогенних факторів.

Хронічний перебіг EBV-інфекції є наслідком гострої EBV-інфекції або розвивається як первинно-хронічна хвороба, клініка якої включає хронічний моноклеозоподібний синдром і поліорганну патологію.

Виділяють наступні клінічні форми хронічної EBV-інфекції: хронічна активна EBV-інфекція - належить до лімфопроліферативних хвороб. Спостерігається тривалий (більше 6 місяців) рецидивуючий перебіг і наявність клінічних ознак патологічного процесу (слабкість, швидка втомлюваність, поганий сон, пітливість, біль голови, артралгії, міальгії, субфебрилітет, збільшення лімфатичних вузлів, пневмонія, фарингіти); генералізована хронічна форма EBV-інфекції - розвивається при виражених імунних порушеннях, характеризується ураженням нервової системи, формуванням міокардиту, гломерулонефриту, пневмонії, гепатиту; атипові форми хронічної EBV-інфекції: латентна форма - відсутність клінічних симптомів на тлі лабораторно підтвердженої персистенції EBV; EBV-асоційований гемофагоцитарний синдром; злоякісні EBV-асоційовані лімфопроліферативні захворювання.

Діагностика хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції (EBV-інфекції) в багатьох лікувальних закладах відбувається тільки на підставі клінічних симптомів (гіпертермічний синдром, тонзиліт, поліаденіт, гепатолієнальний синдром), гематологічних змін (у вигляді збільшення числа атипових моноклеарів), визначення неспецифічних гетерофільних антитіл в реакції Пауль-Бунеля або виявлення одного із антигенів вірусу Епштейна-Барр (EBV) методом імуноферментного аналізу (ІФА) [Малый В.П. Герпесвирусные инфекции (клиника, диагностика и терапия): учебное пособие /В.П. Малый. - Х.: Прапор, 2008. - 207 с.].

Недоліком цього способу є недостатня діагностика хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції, оскільки її клінічні форми проявляються ураженням різних органів і систем, що потребує додаткових методів досліджень.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб діагностики хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції шляхом проведення додаткових серологічних досліджень диференціювати стадії хвороби, що дозволить оптимізувати принципи патогенетичної терапії.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі діагностики хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції, що включає імунологічні та параклінічні дослідження, згідно з корисною моделлю, методом імуноферментного аналізу виявляють антитіла до трьох антигенів EBV: капсидного антигену вірусу - VCA IgM, VCA IgG, раннього антигену - EA IgG та нуклеарного антигену - EBNA IgG; методом полімеразної ланцюгової реакції виявляють DNA EBV і за результатами досліджень діагностують ранню, пізню і атипову реактивацію.

Поставлена задача вирішується також тим, що при виявленні маркерограми VCA IgM <sup>+</sup>/ VCA IgG <sup>+</sup>/ EBNA IgG <sup>+</sup> діагностують ранню реактивацію, при виявленні маркерограми VCA IgM <sup>-</sup>/ VCA IgG <sup>+</sup>/ EBNA IgG <sup>+</sup> - пізню реактивацію і при виявленні маркерограми VCA IgM <sup>+</sup>/ VCA IgG <sup>-</sup>/ EBNA IgG <sup>+</sup> атипову реактивацію.

EBV-інфекція перебігає з поліморфізмом клінічних проявів, ураженням багатьох органів і систем, ускладненнями, довготривалими залишковими явищами із залученням в патологічний процес імунної системи і потребує лабораторного підтвердження діагнозу.

Хронічний перебіг EBV-інфекції є наслідком гострої EBV-інфекції, або розвивається як первинно-хронічна хвороба, клініка якої включає хронічний моноклеозоподібний синдром і поліорганну патологію. Тривала персистенція EBV передбачає реактивацію інфекційного процесу за умови дії факторів, які сприяють імуносупресії.

Удосконалення діагностики хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції у пацієнтів шляхом лабораторного дослідження (методом імуноферментного аналізу та полімеразної ланцюгової реакції) дозволяє виявити 3 групи перебігу: ранню реактивацію, пізню реактивацію та атипову реактивацію.

Використання методів імуноферментного аналізу (ІФА), впровадження в клініку ампліфікаційних технологій для виявлення DNA EBV дає змогу підняти специфічну діагностику

EBV-інфекції на якісно вищий рівень, покращити діагностику первинної гострої і хронічних форм, диференціальну діагностику патологічних станів, перебіг яких супроводжується моноклеозоподібним синдромом.

EBV містить наступні специфічні антигени: капсидний антиген (VCA), ядерний антиген (EBNA), ранній антиген (EA). Біологічне значення цих антигенів різне. Знання термінів появи і циркуляції антитіл до них дає можливість з достатньою вірогідністю діагностувати ранню, пізню і атипову реактивацію хвороби.

Позитивні VCA IgM і негативні антитіла до EBNA є діагностикою первинної гострої EBV-інфекції. Збільшення титрів IgM та IgG до VCA і EA є індикатором реактивації EBV-інфекції. Підвищення рівня антитіл до раннього антигену (EA) в присутності антитіл до нуклеарного антигену (EBNA) свідчить про реактивацію вірусу. Методом ІФА виявляють антитіла до трьох антигенів EBV: до капсидного антигену вірусу - VCA IgM, VCA IgG, раннього антигену - EA IgG та до нуклеарного антигену - EBNA IgG.

Рання реактивація EBV-інфекції з індикацією маркерограми VCA IgM <sup>+</sup>/ VCA IgG <sup>+</sup>/ EBNA IgG <sup>+</sup> характеризується більшою і тривалішою вираженістю клінічної симптоматики.

У випадку виявлення маркерограми VCA IgM <sup>+</sup>/ VCA IgG <sup>+</sup>/ EBNA IgG <sup>+</sup>, що свідчить про ранню реактивацію інфекційного процесу, необхідні додаткові діагностично-терапевтичні заходи для запобігання несприятливому перебігу хвороби.

IgM до капсидного антигену (VCA), який локалізується в ядрі і цитоплазмі продукуючих клітин, з'являється вже на першому тижні хвороби (одночасно з появою клінічних проявів EBV-інфекції) і є найкращим маркером гострої (первинної) EBV-інфекції. Позитивні VCA IgM і негативні антитіла до EBNA є діагностикою первинної гострої EBV-інфекції.

Титри VCA IgG з'являються також у ранні терміни хвороби (через 2-4 тижні від початку хвороби) і тривало персистують (протягом усього життя).

IgM EA та IgG EA виявляються в гострому періоді EBV-інфекції у 70-90 % хворих і циркулюють переважно протягом 2-3 місяців. Їх поява означає перехід до продуктивної стадії інфекції. Тривале виявлення високих титрів антитіл свідчить про активність процесу і перехід у хронічну форму. Збільшення титрів IgM та IgG до VCA і EA є індикатором реактивації EBV-інфекції.

Антитіла до ядерного антигену (EBNA) з'являються пізніше, лише через 2-4 місяці від початку хвороби і є маркером перенесеної інфекції. Їх концентрація зберігається на високому рівні все життя. Високі титри EBNA IgG, при відсутності антитіл до VCA і EA, що супроводжуються позитивними результатами ПЛР, можуть розглядатися як один із лабораторних критеріїв хронічної EBV-інфекції. Підвищення рівня антитіл до раннього антигену (EA) в присутності антитіл до нуклеарного (EBNA) свідчить про реактивацію вірусу.

Запропонований спосіб здійснюють таким чином. У пацієнтів на хронічну EBV-інфекцію виконують імунологічні та параклінічні дослідження. Методом ІФА виявляють антитіла до трьох антигенів EBV: до капсидного антигену вірусу - VCA IgM, VCA IgG, раннього антигену - EA IgG та до ядерного антигену - EBNA IgG. Індикацію DNA EBV проводять методом ПЛР, досліджуючи матеріал зскрібка слизової оболонки задньої стінки глотки, слини і крові. При виявленні маркерограми VCA IgM <sup>+</sup>/ VCA IgG <sup>+</sup>/ EBNA IgG <sup>+</sup> діагностують ранню реактивацію, при виявленні маркерограми VCA IgM <sup>-</sup>/ VCA IgG <sup>+</sup>/ EBNA IgG <sup>+</sup> - пізню реактивацію і при виявленні маркерограми VCA IgM <sup>+</sup>/ VCA IgG <sup>-</sup>/ EBNA IgG <sup>+</sup> атипову реактивацію.

Для створення способу та підтвердження його ефективності проведено клініко-лабораторне обстеження 60 пацієнтів на хронічну EBV-інфекцію (33 підлітків і 27 дорослих), які лікувалися у Львівській обласній інфекційній клінічній лікарні та Львівському регіональному медичному центрі клінічної імунології та алергології протягом 2011-2015 рр.

Верифікацію EBV-інфекції проводили на підставі даних анамнезу, характерної клінічної картини захворювання, змін периферичної крові, результатів серологічних досліджень, виявлення DNA EBV. Методом ІФА виявляли антитіла до трьох антигенів EBV: до капсидного антигену вірусу - VCA IgM, VCA IgG, раннього антигену - EA IgG та до ядерного антигену - EBNA IgG. Індикацію DNA EBV проводили методом ПЛР, досліджуючи матеріал зскрібка слизової оболонки задньої стінки глотки, слини і крові.

У 60 хворих спостерігали вперше діагностований хронічний перебіг EBV-інфекції. Велика частота поліорганної патології при хронічній EBV-інфекції, зумовлена тривалою реплікацією EBV, а відтак вторинними імунними порушеннями, автоімунними реакціями (кардіальний синдром, артралгічний тощо).

Клініка хронічної EBV-інфекції найчастіше характеризувалася розвитком наступних синдромів: лімфопроліферативного (58,3 %), інтоксикаційного (58,3 %), астеновегетативного (65,0 %), кардіального (46,7 %,) та артралгічного (55,0 %). У більшості хворих окремі синдроми

були поєднані. Хворі на хронічну EBV-інфекцію, залежно від виявлених серологічних маркерів, були поділені на три групи: 1-а група - рання реактивація (VCA IgM<sup>+</sup>/VCA IgG<sup>+</sup>/EBNA IgG<sup>+</sup>) - 28 хворих, із них 14 підлітків і 14 дорослих; 2-а група - пізня реактивація (VCA IgM<sup>-</sup>/VCA IgG<sup>+</sup>/EBNA IgG<sup>+</sup>) - 20 пацієнтів, із них 12 підлітків і 8 дорослих; 3-я група - атипова реактивація (VCA IgM<sup>+</sup>/VCA IgG<sup>-</sup>/EBNA IgG<sup>+</sup>) - 12 осіб, із них 7 підлітків і 5 дорослих.

Принцип поділу на групи базувався на термінах появи IgM та IgG до окремих антигенів EBV та тривалості їхньої циркуляції.

Частота виявлення DNA EBV при хронічній формі EBV-інфекції представлена в таблиці.

Таблиця

Частота виявлення DNA EBV при хронічних формах EBV-інфекції

DNA EBV + (біосередовище)	Хронічна EBV-інфекція			
	Підлітки (n = 33)		Дорослі (n = 27)	
	абс	%	абс	%
Зскрібок слизової задньої стінки глотки	25	75,7	17	62,9
Слина	3	9,1	4	14,9
Кров	2	6,1	2	7,4
Асоціація (в декількох середовищах)	3	9,1	4	14,8

Як видно з Таблиці, найчастіше виявляли DNA EBV у зскрібку слизової задньої стінки глотки.

Частота і виразність клінічних синдромів у хворих з вперше діагностованою хронічною EBV-інфекцією була неоднаковою в окремих групах пацієнтів. Встановлено, що серед хворих 1-ої групи (рання реактивація; VCA IgM<sup>+</sup>/VCA IgG<sup>+</sup>/EBNA IgG<sup>+</sup>) у підлітків порівняно з дорослими частіше спостерігалися наступні синдроми: інтоксикаційний (відповідно 100,0 % і 57,1 %; p<0,05), лімфопроліферативний (відповідно 92,8 % і 42,9 %; p<0,05), кардіальний (відповідно 85,7 % і 50,0 %; p<0,05). Натомість, у дорослих, порівняно з підлітками, частіше спостерігався рецидивуючий хронічний тонзиліт (відповідно 71,4 % і 57,1 %; p>0,05) та артралгічний синдром (відповідно 78,5 % і 21,4 %; p<0,05). Астеновегетативний синдром виявлено у 71,4 % підлітків і у всіх дорослих (p<0,05).

У пацієнтів, які склали 2-у групу (пізня реактивація; VCA IgM<sup>-</sup>/VCA IgG<sup>+</sup>/EBNA IgG<sup>+</sup>) та 3-ю групу (атипова реактивація; VCA IgM<sup>+</sup>/VCA IgG<sup>-</sup>/EBNA IgG<sup>+</sup>) частота появи і виразність клінічних синдромів були мінімальними.

Запропонований спосіб дозволяє попередити розвиток ускладнень хвороби та оптимізувати принципи патогенетичної терапії.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб діагностики хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції (EBV), що включає імунологічні та параклінічні дослідження, який **відрізняється** тим, що методом імуноферментного аналізу виявляють антитіла до трьох антигенів EBV: капсидного антигену вірусу - VCA IgM, VCA IgG, раннього антигену - EA IgG та нуклеарного антигену - EBNA IgG; методом полімеразної ланцюгової реакції виявляють DNA EBV і за результатами досліджень діагностують ранню, пізню і атипову реактивацію.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що при виявленні маркерограми VCA IgM<sup>+</sup>/VCA IgG<sup>+</sup>/EBNA IgG<sup>+</sup> діагностують ранню реактивацію, при виявленні маркерограми VCA IgM<sup>+</sup>/VCA IgG<sup>+</sup>/EBNA IgG<sup>+</sup> - пізню реактивацію, і при виявленні маркерограми VCA IgM<sup>+</sup>/VCA IgG<sup>-</sup>/EBNA IgG<sup>+</sup> атипову реактивацію.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601