

## СЕРОЛОГИЧНО ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА ANTI- EBV (VCA) IGG АНТИТЕЛА В БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТИ ПРЕЗ ПЕРИОДА 2009 – 2011 Г.

П. Генова-Калу<sup>1</sup>, А. Гоцева<sup>2</sup>, М. Йорданова<sup>1</sup>

**Key words:** *Epstein-Barr virus (EBV), anti-EBV (VCA) IgG, ELISA test, seroepidemiology, period 2009 - 2011*

### Увод

Херпесните вируси са повсеместно разпространени и причиняват заболявания с изключително разнообразна клинична изява – от безсимптомни до тежки генерализирани инфекции, включително и злокачествени новообразувания (1,3). Уникално свойство на тези вируси е пожизнената им персистенция в латентно състояние в организма след първична инфекция (2). По данни на СЗО, 60 - 95% от човешката популация на Земята е носител на поне един херпесен вирус. Понастоящем са известни осем херпесни вируса, които атакуват човека (HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, CMV, HHV-6, HHV-7 и HHV-8) (1, 3). Един от тях е Ебщайн-Бар вирус (EBV, HHV-4). Счита се, че при 90 - 95% от възрастното население има серологични данни за прекарана EBV инфекция (4). Най-честата клинична презентация на първична EBV инфекция е инфекциозната мононуклеоза (4,5), но в определени случаи може да се развие остър вирусен хепатит с леко до умерено повишени стойности на чернодробните ензими. Като изключително рядка проява са описани случаи на фулминантен хе-

### The seroepidemiology evaluations of anti-ebv (vca) igg antibodies in bulgarian patients during the period 2009 - 2011

*P. Genova-Kalou,  
A. Gotseva, M. Jordanova<sup>1</sup>*

**INTRODUCTION:** *The Epstein-Barr virus (EBV) is a widespread in the human population; more than 90 – 95% of the adults show serological evidence of past infection. EBV causes increasing variety of conditions such as infectious mononucleosis, cancer and proliferative disorders. Routine EBV diagnostics based on serological assay. In immunocompetent individuals the key issue of EBV diagnostics is the detection or exclusion of a primary, a past, or no EBV infection. The presence of IgG anti-VCA antibodies in the absence of VCA IgM detected probably past or recent EBV infection or not sufficiently functional cellular immunity.*

**AIM:** *The aim of this investigation was to assess the prevalence of anti-EBV (VCA) IgG antibodies in different age and groups from Bulgarian patients, as well as to see epidemiological and seasonal variations of this disease.*

**METHODS:** *The seroepidemiology of infection due to EBV was carried out on 552 sera collected in our Laboratory at 2009 - 2011 (age range: 6 months – 80 years). All sera were tested for IgG antibody to the EBV (VCA) by a commercially available enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).*

**RESULTS:** *From all of this 436 samples were immunity of EBV. Age specific*

<sup>1</sup>Национален Център по Заразни и Паразитни Болести, Отдел „Вирусология“, Лаборатория „Рикетсии и тъканни култури“,

<sup>2</sup>СБАЛИПБ „Проф. Иван Киров“, гр. София

*prevalence of IgG antibodies to EBV (VCA) showed a progressive increase with age in both males and females. It has been observed that the EBV seropositivity rapidly increases with age and over 60 years of age it is over 94%. Significantly higher titers 85 – 88% of IgG anti-VCA was found in the elderly group of patients as well.*

**CONCLUSIONS:** *Our results correlate with data from other developing country like in Saudi Arabia, Hungary and UK, which reported level of immunity by the ages of 10 – 14 years 85%, 83% and 65% respectively. ELISA test can be used for seroepidemiological surveys; however, the sera negative by ELISA should be checked routinely by indirect IF or PCR technique.*

патит асоцииран с EBV инфекция (6, 7). Инфекциозната мононуклеоза, в повечето случаи протича с ангина, продължителен фебрилитет, хепатомегалия, шийна или генерализирана лимфонодулопатия, гъгнив назален говор и характерни промени в кръвната картина (4, 5). В Африка, Югоизточна Азия и Латинска Америка сероконверсия се наблюдава в ранното детство и инфекцията е по-малко срещана (8 – 10) в сравнение с развитите държави, където първичната инфекция настъпва в юношеска възраст (11 – 13).

Заразяването с EBV може да доведе не само до развитие на самоограничаващи се заболявания като инфекциозната мононуклеоза и EBV хепатит, но така също и до разнообразен спектър от малигнени лимфопролиферативни синдроми (лимфома на Бъркит, болест на Ходжкин, назофарингеален карцином, Х-свързан лимфопролиферативен синдром) (14, 15), както и състояния свързани с имуноен дефицит (орална космоглава левкоплакия, В-клетъчни лимфоми) (14, 16). Съществуват доказателства, че инфекцията с EBV се свързва и с повишен риск при някои автоимунни заболявания (17), особено дерматомиозит, системен лупус еритематозен, ревматоиден артрит, синдром

на Съогрен, множествена склероза (18) и синдром на хроничната умора (19).

Диагностиката на инфекцията с EBV се базира обикновено на определяне на серологичния статус и клиничната манифестация. Серологичното изследване се счита за златен стандарт в разграничаването на остра от отминала EBV инфекция при имунокомпетентни пациенти. При имуносупресирани индивиди обаче има инсуфициентен хуморален отговор срещу EBV, поради което серологичното изследване не винаги е надежден маркер за определяне на клиничния статус. Тъй като IgG антителата към вирусния капсиден антиген (VCA) остават доживотно, тяхното откриване има смисъл само при оценяване на серостатуса на пациента. Обратното, EBV VCA IgM антителата се диагностицират при 90% от случаите на ранна остра инфекция, но при малък брой болни (около 10%) може да се докажат до 4 месеца след острата инфекция (20).

Целта на настоящето проучване е да се извърши серологично проследяване на нивата на anti-EBV VCA IgG при нехоспитализирани пациенти от различни възрастови групи и пол в НРЛ „Херпесни инфекции“ със Сектор „Клетъчни култури“ към Център по Заразни и Паразитни Болести (НЦЗПБ), гр. София за периода 2009 – 2011 г. Извършена бе оценка на епидемиологичната вариация на това заболяване.

### Материали и Методи

За периода 2009 - 2011 г. в НРЛ „Херпесни инфекции“ със Сектор „Клетъчни култури“ при НЦЗПБ са изследвани 552 серумни проби от нехоспитализирани болни, като 165 от тях бяха с клиника наподобяваща тази на инфекциозна мононуклеоза, а останалите 387 - клинично здрави. Снети са и подробни анамнестични данни в лабораторния журнал при постъпване на серумните проби. Включените в изследването пациенти бяха от български произход и във възрастовия диапазон от 6 месеца и 80 години. Клиничните и ла-

бораторните данни са потвърдени със серологични методи (ELISA) чрез доказване на anti-EBV VCA IgM и anti-EBV VCA IgG антитела. За целта са използвани търговските китове за anti-EBV VCA IgM и anti-EBV VCA IgG Microplate ELISA (EUROIMMUNE, Германия). Получените резултати са изчислени на базата на стандартни криви, предоставени от производителя. За положителни се считаха пробите, чиято абсорбция е по-висока с 10% над граничната стойност ( $R > 1,1$ ), а за отрицателни – със стойност по-ниска с 10% ( $R < 0,8$ ).

### Резултати и обсъждане

От всички изследвани 552 серумни проби за периода 2009 – 2011 г. в НРЛ „Херпесни инфекции“, положителен anti-EBV VCA IgG серостатус бе наблюдаван при 436 пациенти (79%). Около 130 пациенти (29,8%) бяха с позитивни anti-EBV VCA I gM и anti-EBV VCA IgG антитела, от които с клинични оплаквания имаха 35. Като най-чести клинични симптоми бяха отчетени: увеличени шийни лимфни възли ( $n = 30$ ), фебрилитет ( $n = 21$ ) и отпадналост ( $n = 8$ ), а при останалите пациенти ( $n = 95$ ) не бе наблюдавана никаква клиника. Броят на регистрираните в лабораторията нехоспитализирани случаи с позитивни anti-EBV VCA IgG антитела за 2009 г. бяха  $n = 180$ , през 2010 г.  $n = 175$  и през 2011 г.  $n = 81$  (поради недостиг на ELISA китове).

Лабораторното наблюдение за наличие на анти-EBV VCA IgG антитела в проследените пациенти за изследваният период (01.01.2009 - 31.12.2011 г.) показва засягане на двата пола, съответно мъже  $n = 251$  (57,6%) и жени  $n = 120$  (27,5%) в зряла възраст при съотношение мъже/жени 2,1. Получените резултати корелираха с тези от световната практика за по-висок имунен статус сред мъжете (21). Отчетен бе и най-голям брой на серопозитивни във възрастта между 40 и 60 години (80 - 85%). Останалите 65 пациента (14,9%) положителни за anti-EBV VCA IgG бяха между 12 и 18 години, което показва, че нашата страна се нарежда на междинна

позиция спрямо други (ТОВА НЕ-развиращи се страни) като, Италия, Унгария и Обединеното кралство, които отчитат ниво на имунитет от възраст 10 – 14 години респективно 85%, 83% и 65% (12, 22).

### Заклучение

1. Серологичното изследване се счита за златен стандарт за разграничаване на остра от отминала EBV инфекция при имунокомпетентни лица.
2. IgG антителата на вирусният капсиден антиген (VCA) на EBV остават доживотно, тяхното откриване има смисъл само при оценяване на серостатуса на пациента.
3. Отбелязва се тенденция за нарастване на анти-EBV VCA IgG с възрастта.
4. В България се отчита ниво на имунитет във възрастта 12 – 18 години.

### Литература

1. Whitley, R., Kimberlin, D., Roizman, B. *Herpes simplex viruses. Clin Infect Dis*, 1998, 26, 541 – 553.
2. Wagner, E., Bloom, D. *Experimental investigation of herpes simplex virus latency. Clin Microbiol Rev*, 1997, 10, 419 – 443.
3. Whitley, R., Roizman, B. *Herpes simplex virus infections. Lancet*, 2001, 357, 1513 – 1518.
4. Nalesnik MA. In: *Laboratory Diagnosis of Viral Infections. Lennette EH, Smith TF, editor. New York: Marcel Dekker, Inc; 1999. Epstein-Barr Virus; pp. 85 – 419.*
5. Odumade OA, Hogquist KA, Balfour HH Jr. *Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections. Clin Microbiol Rev*, 2011, 24, 193 – 209.
6. Vine LJ, Shepherd K, Hunter JG, Madden R, Thornton C, Ellis V, Bendall RP, Dalton HR. *Characteristics of Epstein-Barr virus hepatitis among patients with jaundice or acute*

- hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*, 2012, 36, 16 – 21.
7. Hinedi TB, Koff RS. Cholestatic hepatitis induced by Epstein-Barr virus infection in an adult. *Dig Dis Sci*, 2003, 48, 539 – 541.
  8. Niederman JC, Evans AS, Subrahmanyan L, Mccollum RW. Prevalence, incidence and persistence of Epstein-Barr virus antibody in young adults. *New Engl J Med*, 1970, 282, 361 -365.
  9. Biggar RJ, Henle G, Böcker J, Lennette ET, Fleisher G, Henle W. Primary EBV infections in African infants. II. Clinical and serological observations during seroconversion. *Inter J Cancer*, 1978, 22, 244 - 250.
  10. Yadav MS, Malliga N, Ablashi DV. Development of Immunity to Epstein-Barr virus in Malaysian Children. *Microbiologica*, 1987, 10, 29 – 35.
  11. Sumaya CV, Henle W, Henle G, Smith MHD, Leblanc D. Seroepidemiologic study of Epstein-Barr virus infections in a rural community. *J Infect Dis*, 1975, 131, 403 – 408.
  12. Ternak G, Szucs G, Uj M. The serological signs of the Epstein-Barr virus (EBV) activity in the elderly. *Acta Microbiol & Immunol Hung*, 1997, 44, 133 – 140.
  13. Pereira MS, Blake JM, Macrae AD. EB virus antibody at different ages. *Brit Med J*, 1969, 4, 526 – 527.
  14. Maeda E, Akahane M, Kiryu S, Kato N, Yoshikawa T, Hayashi N, Aoki S, Minami M, Uozaki H, Fukayama M, Ohtomo K. Spectrum of Epstein-Barr virus-related diseases: a pictorial review. *Jpn J Radiol*, 2009, 27, 4 – 19.
  15. Rezk SA, Weiss LM. Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders. *Hum Pathol*, 2007, 38, 1293 – 1304.
  16. Long SM, Sample CE. EBV-associated diseases in the AIDS patient. *Cancer Treat Res*, 2007, 133, 163 – 183.
  17. Toussiro E, Roudier J. Epstein-Barr virus in autoimmune diseases. *Clin Rheumatol*, 2008, 22: 883 – 896.
  18. Ascherio A, Munger KL. Epstein-Barr virus infection and multiple sclerosis: a review. *J Neuroimm Pharmacol*, 2010, 5, 271 – 277.
  19. Agliari E, Barra A, Vidal KG, Guerra F. Can persistent Epstein-Barr virus infection induce chronic fatigue syndrome as a Pavlov reflex of the immune response? *J Biol Dyn*, 2012, 6, 740 – 762.
  20. Hess RD. Routine Epstein-Barr Virus Diagnostics from the Laboratory Perspective: Still Challenging after 35 Years. *J Clin Microbiol*, 2004, 42, 3381 – 3387.
  21. Tischendorf P., Shramek G., Balagtas R., Deinhardt F., Knospe WH., Noble G, Maynard J. Development and persistence of immunity of Epstein-Barr virus in man. *J Infect Dis*, 1970, 122, 401 – 409.
  22. Ammatuna P, Di Stefano R, Arista S, Sammartano F, Bellia L., Formica P., Albeggiani A. Immune status towards Epstein-Barr virus in a group of Sicilian children. *Eur J Epidemiol*, 1989, 5, 219 – 223.

**Адрес за кореспонденция:**

Петя Генова-Калу  
 Национален Център по Заразни и  
 Паразитни Болести,  
 Отдел „Вирусология“, Лаборатория  
 „Рикетсии и тъканни култури“,  
 бул. „Ген. Столетов“ № 44А, гр. София  
 e-mail: petia.d.genova@abv.bg