

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВИ У ВЗРОСЛЫХ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

Попкова М. И. ¹,

Филатова Е. Н. ¹,

Минаева С. В. ²,

Неумоина Н. В. ¹,

Перфилова К. М. ¹,

Уткин О. В. ¹

¹ ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия.

² ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, г. Нижний Новгород, Россия.

QUANTITATIVELY ASSESSED BLOOD LEUKOCYTE EPSTEIN-BARR VIRUS IN ADULT HIV-INFECTED PATIENTS

Popkova M. I. ^a,

Filatova E. N. ^a,

Minaeva S. V. ^b,

Neumoina N. V. ^a,

Perfilova K. M. ^a,

Utkin O. V. ^a

^a Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhniy Novgorod, Russian Federation.

^b Privolzhskiy Research Medical University, Nizhniy Novgorod, Russian Federation.

Резюме

Коинфицирование вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) и вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ) - актуальная медико-биологическая проблема. Цель исследования – оценить частоту выявления и вирусную нагрузку ВЭБ в лейкоцитах крови у взрослых ВИЧ-инфицированных пациентов. Материалом исследования послужили лейкоциты крови 138 ВИЧ(+) и 68 ВИЧ(-) лиц в возрасте 20-69 лет. Количественное определение ДНК ВЭБ выполнено методом ПЦР в реальном времени. Статистический анализ проводили дифференцированно по стадиям ВИЧ-инфекции, содержанию CD4⁺ Т-лимфоцитов, приверженности антиретровирусной терапии. В результате показано, что ДНК ВЭБ у ВИЧ(+) пациентов выявляли значительно чаще, чем у ВИЧ(-) лиц (70,3±3,9% и 48,5±6,1%, $p=0,008$). Вирусная нагрузка ВЭБ составила соответственно 18 [5; 139] против 2 [1; 3] копий/10⁵ клеток ($p<0,001$). Показано, что группа ВИЧ(+) пациентов неоднородна по частоте выявления и вирусной нагрузке ВЭБ. Наиболее высокие значения частоты (86,7±6,2%) и концентрации ДНК ВЭБ (121 [34; 252] копий/10⁵ клеток) отмечались в группе «наивных» пациентов с тяжелым иммунодефицитом. Среди «опытных» пациентов, получавших терапию, относительный риск выявления ДНК ВЭБ при низкой приверженности был значительно выше по сравнению с теми, у кого сформировалась высокая приверженность (ОР 1,69 (95% ДИ: 1,28-2,24), $p<0,05$). При достижении неопределяемого уровня вирусной нагрузки ВИЧ концентрация ДНК ВЭБ была существенно ниже, чем в случаях, когда РНК ВИЧ определялась (1[0; 8] против 15 [1; 162] копии/10⁵ клеток, $p<0,001$). Обнаружение ДНК ВЭБ сопряжено с более высоким уровнем вирусной нагрузки ВИЧ и низким содержанием CD4⁺ Т-лимфоцитов по сравнению с теми пациентами, у кого ДНК ВЭБ не выявлялась. Установлена взаимосвязь между количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов у ВИЧ(+) пациентов и вероятностью активной ВЭБ-инфекции. Определено пороговое значение 200 клеток/мкл. Количество CD4⁺ Т-лимфоцитов <200 клеток/мкл ассоциировано

с повышенным в 3,3 раза риском выявления активной ВЭБ-инфекции по сравнению с пациентами, у которых количество CD4⁺ Т-лимфоцитов ≥ 200 клеток/мкл (ОР 3,3 (95% ДИ: 2,4-4,7), $p < 0,001$). Таким образом, впервые в России проведена количественная оценка ВЭБ у ВИЧ-инфицированных пациентов в разрезе разных клинических стадий ВИЧ-инфекции, степени иммунных нарушений, применения и приверженности терапии. Необходимо продолжать междисциплинарные исследования для совершенствования ранней диагностики ВЭБ-ассоциированных заболеваний у ВИЧ-инфицированных.

Ключевые слова: вирус Эпштейна-Барр, ВИЧ-инфекция, ДНК ВЭБ, РНК ВИЧ, CD4⁺ Т-лимфоциты, приверженность АРТ, ПЦР.

Abstract

Coinfection with the human immunodeficiency virus (HIV) and Epstein-Barr virus (EBV) represents a current biomedical problem. *The purpose* of the study was to evaluate blood leukocyte EBV detection rate and viral load in adult HIV-infected patients. *Materials and Methods.* There were examined blood leukocytes collected from 138 HIV (+) and 68 HIV(-) individuals aged 20-69 years. Statistical analysis was carried out differentiated according to the stages of HIV infection, the CD4⁺ T-lymphocyte count, and adherence to antiretroviral therapy. *Results.* It was shown that EBV DNA was detected significantly more often in HIV (+) vs. HIV(-) individuals ($70.3 \pm 3.9\%$ and $48.5 \pm 6.1\%$, $p=0.008$), with EBV viral load comprising 18 [5; 139] versus 2 [1; 3] copies/ 10^5 cells ($p<0.001$), respectively. It has been shown that the group of HIV (+) patients is heterogeneous in the frequency of EBV detection and viral load, with the peak EBV frequency ($86.7 \pm 6.2\%$) and DNA (121 [34; 252] copies/ 10^5 cells) level observed in “naive” patients with severe immunodeficiency. Among “experienced” patients receiving therapy, the relative risk of detecting EBV DNA with low treatment adherence was significantly higher compared to those who developed high adherence ($p<0.05$). When the HIV viral load reached undetectable level, EBV DNA concentration was significantly lower where HIV RNA was detectable (1 [0; 8] versus 15 [1; 162] copies/ 10^5 cells, $p<0.001$). Detection of EBV DNA is associated with higher HIV viral load level and lower CD4⁺ T-lymphocyte count compared to patients with undetected EBV DNA. A relationship has been established between the CD4⁺ T-lymphocyte count in HIV (+) patients and the likelihood of active EBV infection. A threshold cut-off of 200 cells/ μl was determined. CD4⁺ T-lymphocyte count <200 cells/ μl vs. ≥ 200 cells/ μl ($p<0.001$) is associated with a 3.3-fold higher risk of detecting active EBV infection. *Conclusion.* It is necessary to continue interdisciplinary research to improve early diagnostics of EBV-associated diseases in HIV-infected individuals.

Key words: Epstein-Barr virus, HIV infection, EBV DNA, HIV RNA, CD4+ T lymphocytes, ART adherence, PCR.

1 Введение

Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) – лимфотропные вирусы, которые поражают преимущественно В-клетки и CD4⁺ Т-клетки соответственно. Оба вируса убиквитарны, характеризуются всеобщей восприимчивостью населения и пожизненной персистенцией в организме человека. Специфические средства профилактики до сих пор отсутствуют, а терапевтические стратегии не позволяют полностью элиминировать эти вирусы [12, 21].

Коинфицирование ВЭБ и ВИЧ является актуальной медико-биологической проблемой. Более 90% населения мира во взрослом возрасте являются серопозитивными к ВЭБ [5, 41, 49]. Большинство взрослых людей, которые заражаются ВИЧ, уже инфицированы ВЭБ [12, 21, 50]. К началу 2022 года распространенность ВИЧ среди взрослого населения в возрасте от 15 до 49 лет во всем мире достигла 0,7% [24], в России – 1,42% [6], для сравнения, в Китае – 0,05% [49]. Россия относится к тем странам, в которых темпы увеличения случаев новых заражений ВИЧ-инфекцией и числа смертей, связанных с ВИЧ, велики [11].

На протяжении 40-летнего периода от начала эпидемии ВИЧ-инфекции наиболее широко в работах как зарубежных, так и российских исследователей изучались преимущественно вопросы реактивации ВЭБ-инфекции, взаимного влияния ВЭБ и ВИЧ друг на друга в контексте прогрессирования ВИЧ-инфекции, а также патогенеза ассоциированных с ними злокачественных новообразований [9, 11, 12, 18, 21, 29, 45, 47]. В то время как клинко-эпидемиологические особенности ВЭБ-инфекции у лиц с ВИЧ-инфекцией остаются недостаточно изученными.

По данным литературы у ВИЧ-инфицированных ВЭБ является возбудителем, наиболее часто выявляемым в самых разных биосубстратах и в широком диапазоне концентраций [13, 33, 39, 50]. ВЭБ, обнаруживаемый в периферической крови ВИЧ-инфицированных пациентов, преимущественно

ассоциирован с моноклеарными клетками периферической крови (МНПК) и в плазме крови выявляется редко [20, 40]. Частота обнаружения ДНК ВЭБ у ВИЧ-инфицированных в МНПК по данным разных исследователей существенно различается, варьируя от 6,7% [43] до 78,8% [36]. Вирусная нагрузка ВЭБ в МНПК у взрослых лиц быстро увеличивается после сероконверсии ВИЧ и остается на высоком уровне в течение многих лет [37]. Во всем мире исследования, направленные на количественную оценку выявления ДНК ВЭБ у ВИЧ-инфицированных, не носят систематический характер, а имеющиеся в литературе данные представляют собой разрозненную информацию, полученную на основе использования разных лабораторных протоколов, обследования разнородных групп пациентов и ограниченного набора клинико-лабораторных признаков [13, 34, 46, 50]. В РФ изучению данного вопроса посвящены единичные публикации [13].

Цель исследования – оценить частоту выявления и вирусную нагрузку ВЭБ в лейкоцитах крови у взрослых ВИЧ-инфицированных пациентов.

2 Материалы и методы

Проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 138 ВИЧ-инфицированных пациентов в возрасте 20–69 лет, которые находились на диспансерном наблюдении в ГБУЗНО «НОЦ СПИД» (г. Нижний Новгород), и 68 ВИЧ-неинфицированных лиц сопоставимого пола и возраста без клинических признаков инфекционной патологии, проходивших диспансеризацию в ООО «НИКА СПРИНГ НН» (г. Нижний Новгород).

Соблюдение этических требований. Работа проводилась с деперсонализированными данными пациентов. Информированное согласие пациентов на проведение исследовательской работы в соответствии с положениями Хельсинкской декларации (2013) было получено лечащими врачами медицинских организаций. Работа получила одобрение на заседании локального этического комитета ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (Протокол №3 от 11.11.2021 г.).

Группы сравнения. Сформированы группы сравнения:

1. ВИЧ-инфицированные пациенты (ВИЧ(+), n=138) и ВИЧ-отрицательные лица (ВИЧ(-), n=68);

2. ВИЧ(+) пациенты по клиническим стадиям ВИЧ-инфекции на основе действующей в РФ классификации [3]: стадия 3 (C₃, n=64), стадия 4 (C₄, n=74), в том числе 4а (C_{4а}, n=46), 4б (C_{4б}, n=9) и 4в (C_{4в}, n=19);

3. ВИЧ(+) пациенты на основе комбинации данных о степени иммунных нарушений (на основе классификации ВОЗ [48]) и антиретровирусной терапии (АРТ): «наивные» пациенты (без АРТ), CD4⁺ Т-лимфоциты <200 клеток/мкл (G1, n=30); «наивные» пациенты (без АРТ), CD4⁺ Т-лимфоциты >500 клеток/мкл (G2, n=20); «опытные» пациенты (получающие АРТ в среднем 36 месяцев), CD4⁺ Т-лимфоциты <200 клеток/мкл (G3, n=43); «опытные» пациенты (получающие АРТ в среднем 36 мес.), CD4⁺ Т-лимфоциты >500 клеток/мкл (G4, n=45).

4. ВИЧ(+) пациенты, получающие АРТ (n=88), по схемам терапии: 2 НИОТ+ННИОТ (А, n=41), 2 НИОТ+ИП (В, n=27), 2 НИОТ+ИИ (С, n=14), ИП+ИИ (D, n=6)¹.

5. ВИЧ(+) пациенты, получающие АРТ (n=88), по степени приверженности: высокая (Н, n=55), средняя (М, n=5), низкая (L, n=28).

Анализ клинико-лабораторных показателей каждого пациента (клинические стадии, схемы АРТ и приверженность терапии, результаты ИФА, иммуноблоттинга и ПЦР для определения маркеров ВИЧ-инфекции) проведен ретроспективно на основе данных медицинской документации. Для количественной оценки CD4⁺ Т-лимфоцитов использовали проточный цитофлуориметр BD FACSCalibur (Becton Dickinson, США). Вирусную нагрузку ВИЧ определяли методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с помощью тест-системы «РеалБест РНК ВИЧ количественный» (АО «Вектор-

¹ НИОТ - нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы, ННИОТ - ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы, ИП - ингибиторы протеазы, ИИ - ингибиторы интегразы.

Бест», Россия). Рекомендуемый производителем тест-системы порог определяемой вирусной нагрузки ВИЧ в плазме крови составляет 58 копий/мл.

ПЦР-исследования для детекции ДНК ВЭБ проводились в лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. Всем здоровым участникам исследования также было выполнено количественное определение абсолютного и относительного числа CD4⁺ Т-лимфоцитов на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II (Becton Dickinson, США) с использованием набора реагентов «BD Multitest™ 6-color TBNK» (BD Biosciences, США).

Материал для исследования. Материалом для исследования послужила цельная периферическая кровь, стабилизированная К₃ЭДТА. Для получения фракции лейкоцитов крови использовали реагент «Гемолитик» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Количественное определение ДНК ВЭБ. Выделение тотальной нуклеиновой кислоты из лейкоцитов крови проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Выявление и количественное определение ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови выполняли методом ПЦР-РВ с применением коммерческого набора «АмплиСенс® EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) на амплификаторе Rotor-Gene Q 5plex HRM («Qiagen», Германия). Лабораторный протокол на всех этапах ПЦР соблюдали согласно инструкции производителя.

Статистическая обработка данных. Статистическая обработка данных проводилась с использованием языка программирования R версия 2022.12.0+353 (The R Foundation for Statistical Computing, Inc)² и среды RStudio

² URL: <https://www.R-project.org/>.

версия 2022.12.0+353 (RStudio, RBC)³. Принадлежность выборок к нормальному распределению определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка и графиков квантилей. Для попарного сравнения независимых выборок использован критерий Манна-Уитни и коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s). Количество ДНК, РНК и клеток представляли в виде Ме [Q1; Q3] (где Ме – медиана, Q1, Q3 – первый и третий квартили). Долю описывали с указанием стандартного отклонения процентной доли ($P \pm \sigma_p$), в %. Оценку различий относительных показателей в анализируемых группах проводили с применением критерия χ^2 (хи-квадрат) с поправкой Йетса и критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Оценку возможного влияния ВИЧ-инфекции на активность ВЭБ-инфекции проводили с использованием метода главных компонент (РСА-анализ). Анализировали распределение ВИЧ(+) пациентов в координатах первых двух главных компонент в зависимости от вирусной нагрузки ВИЧ, содержания $CD4^+$ Т-лимфоцитов и приверженности пациентов АРТ. При этом приверженность терапии выражали в числовых значениях от 0 до 1, где 0 — без АРТ, 1 — высокая приверженность АРТ. Для оценки вклада исследуемых переменных в состав компонент рассчитывали их корреляцию - косинус угла между вектором переменной и осью компоненты. Возможные факторы группировки пациентов в координатах двух первых измерений выявляли методом визуального наложения.

Для оценки возможности применения показателей вирусной нагрузки ВИЧ и содержания $CD4^+$ Т-лимфоцитов в качестве скрининговых лабораторных критериев отнесения ВИЧ(+) пациентов в группу риска активной ВЭБ-инфекции строили логит-модель зависимости выявления активной ВЭБ-инфекции от вирусной нагрузки ВИЧ и абсолютного

³ URL: <http://www.rstudio.com/>.

количества CD4⁺ Т-лимфоцитов. ВЭБ-инфекцию считали активной, если вирусная нагрузка ВЭБ превышала установленный нами ранее пороговый уровень ≥ 29 копий/10⁵ клеток [7]. Для оценки стабильности модели, воспроизводимости результата применяли метод кросс-валидации. Оценку качества модели производили на основании показателей AUC и коэффициента R² МакФаддена (AUC $\geq 0,750$ и R² $\geq 0,200$). Для определения порогового значения количества CD4⁺ Т-лимфоцитов, соответствующего активной ВЭБ-инфекции, рассчитывали значение индекса Юдена построенной ROC-кривой отношения специфичности и чувствительности теста. Затем всех исследуемых лиц объединяли в две группы: с низким содержанием CD4⁺ Т-лимфоцитов (ниже порогового) и с высоким (равным или выше порогового). Рассчитывали отношение рисков (ОР) выявления активной ВЭБ-инфекции у лиц с содержанием CD4⁺ Т-лимфоцитов ниже и выше выявленного порога. В расчетах применяли метод максимального правдоподобия и метод Вальда.

3 Результаты исследований

Частота обнаружения и концентрация ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови ВИЧ(+) и ВИЧ(-) взрослых лиц

На основе метода ПЦР-РВ установлено, что ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови ВИЧ(+) пациентов выявляли чаще и в более высокой концентрации, чем среди ВИЧ(-) лиц (табл. 1). Рассчитанный относительный риск выявления ДНК ВЭБ в группе ВИЧ(+) был в 1,4 раза выше по сравнению с группой ВИЧ(-) (ОР 1,37 (95% ДИ: 1,09-1,72), p=0,008). Вирусная нагрузка ВЭБ в группе ВИЧ(+) варьировала в широком диапазоне – от недетектируемого уровня до 11137 копий/10⁵ клеток, а по сравнению с группой ВИЧ(-) в среднем была выше на 14 (95% ДИ: 7-43) копий/10⁵ клеток (p<0,001).

Неоднородность группы ВИЧ(+) пациентов по частоте выявления и концентрации ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови

На основе дифференциального анализа в группе ВИЧ(+) пациентов установлены различия по частоте выявления и концентрации ДНК

ВЭБ в лейкоцитах крови. При оценке полученных результатов по стадиям ВИЧ-инфекции показано, что в группе С₃ частота обнаружения ДНК ВЭБ была одинаковой по сравнению с группой ВИЧ(-), но вирусная нагрузка отличалась более высокими значениями ($p=0,003$) (табл. 1). Как общая тенденция, в группах С₄ (С_{4а}, С_{4б}, С_{4в}) относительно группы С₃ резко возрастали частота выявления и концентрация ДНК ВЭБ ($p<0,001$ и $p=0,023$ соответственно). При этом между группами С_{4а}, С_{4б} и С_{4в} статистически значимые различия выявлены не были. Дополнительно проведенный анализ данных по стадиям ВИЧ-инфекции с учетом проводимой АРТ позволил уточнить, что наиболее высокие значения вирусной нагрузки ВЭБ наблюдались в группе С₄ у пациентов без АРТ. Средняя концентрация ДНК ВЭБ у них была в 3,0 раза выше по сравнению с пациентами этой же группы, получавших АРТ ($p=0,043$), и в 4,0 раза выше, чем у пациентов в группе С₃ без АРТ ($p<0,001$).

Примененный нами подход разделения ВИЧ(+) пациентов на группы G1-G4 позволил выявить следующие закономерности. Наименьшая частота выявления ДНК ВЭБ, близкая по своим значениям к группе ВИЧ(-), отмечалась в группе G4 (табл. 1). Наиболее высокая частота обнаружения и вирусная нагрузка ВЭБ были выявлены в группе G1. Рассчитанный относительный риск выявления ДНК ВЭБ в этой группе был в 3,5 раза выше, чем у ВИЧ(-) лиц (ОР 3,53 (95% ДИ: 1,33-9,32), $p=0,003$). Для сравнения, в совокупной группе ВИЧ(+) ОР составил 1,37. Между группами G1 и G3, а также G2 и G4 по частоте обнаружения и вирусной нагрузке ВЭБ статистически значимые различия не выявлены.

Дана оценка влияния АРТ на количественные показатели ВЭБ (табл. 1). Установлено, что применение той или иной схемы АРТ существенно не отражалось на обнаружении и концентрации ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови ВИЧ-инфицированных. Выявление вирусной ДНК было обусловлено, главным образом, приверженностью терапии. Относительный риск выявления

ДНК ВЭБ в группе L по сравнению с группой Н был выше в 1,7 раза (ОР 1,69 (95% ДИ: 1,28-2,24), $p<0,05$).

Последующая дифференциальная оценка частоты обнаружения и вирусной нагрузки ВЭБ у лиц, получающих АРТ, позволила выявить разные профили пациентов в группах G3 и G4 в зависимости от приверженности терапии. Так, в группе G4 вирусная нагрузка ВЭБ при низкой приверженности терапии статистически значимо превышала уровень у пациентов этой же группы с высокой приверженностью на 11 (95% ДИ: 2-20) копий/ 10^5 клеток ($p=0,022$) и даже соответствующей группы G2 (без АРТ) на 9 (95% ДИ: 2-19) копий/ 10^5 клеток ($p=0,022$). Частота обнаружения ДНК ВЭБ в группах G2, G4 с низкой приверженностью и G4 с высокой приверженностью АРТ составила соответственно $70,0\pm 10,3\%$, $77,0\pm 13,7\%$ и $41,8\pm 8,2\%$ (статистически незначимые различия).

Аналогичные тенденции отмечались и в группе G3, когда при низкой приверженности АРТ наблюдались наиболее высокие значения вирусной нагрузки ВЭБ (123 [8; 234] копии/ 10^5 клеток) по сравнению с теми пациентами этой же группы, у кого приверженность была высокой (19 [2; 187] копии/ 10^5 клеток) и даже по сравнению с соответствующей группой G1 (без АРТ) (55 [7; 186] копии/ 10^5 клеток). При этом частота обнаружения ДНК ВЭБ у них была одинаковой ($87,5\pm 6,8$, $81,4\pm 5,9$, $86,7\pm 6,2\%$ соответственно).

В предыдущих исследованиях нами было установлено пороговое значение вирусной нагрузки ВЭБ (29 копий/ 10^5 клеток или $1,5 \lg$ копий/ 10^5 клеток), которое может служить лабораторным критерием дифференциальной оценки активной и латентной формы ВЭБ-инфекции [7]. В данном исследовании вирусная нагрузка ВЭБ ≥ 29 копий/ 10^5 клеток выявлялась у $30,4\pm 3,9\%$ от общего числа пациентов в группе ВИЧ(+). При этом уровни, превышающие пороговое значение ДНК ВЭБ, чаще выявлялись среди пациентов группы C₄ по сравнению с C₃ ($50,0\pm 5,9\%$ против $14,1\pm 4,4\%$, $p<0,001$). Как общая тенденция, их доля увеличивалась от стадии 4а ($43,5\pm 7,4\%$) к 4в

(70,0±10,5%) ($p=0,087$). Вирусная нагрузка ВЭБ превышала 29 копий/ 10^5 клеток у основной части группы G1 (70,0±8,5%) и у половины группы G3 (44,2±7,7%) ($p=0,030$). В то время как в группах G2 и G4 такие случаи встречались редко (5,0±5,0% и 4,4±3,1% соответственно), характеризуя тем самым преимущественно латентную форму течения ВЭБ-инфекции. Значительные различия вирусной нагрузки ВЭБ ≥ 29 копий/ 10^5 клеток наблюдались между группами H и L (10,9±4,2% и 50,0±9,6% соответственно $p<0,001$).

Характеристика клинико-лабораторных показателей ВИЧ-инфекции при обнаружении ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови пациентов

На следующем этапе исследования выполнен сравнительный анализ лабораторных показателей ВИЧ-инфекции и проводимой АРТ между пациентами, у которых ДНК ВЭБ была обнаружена или не обнаружена – ВЭБ(+)/ВИЧ(+) и ВЭБ(-)/ВИЧ(+) соответственно. Представленные в таблице 2 данные свидетельствуют, что при обнаружении ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови отмечается более высокий уровень вирусной нагрузки ВИЧ и низкое содержание $CD4^+$ Т-лимфоцитов по сравнению с теми пациентами, у кого ДНК ВЭБ не выявлялась. Различия по возрасту и полу пациентов между группами не выявлены.

ДНК ВЭБ чаще обнаруживали при определяемом уровне вирусной нагрузки ВИЧ, чем при достижении неопределяемого уровня (то есть 58 копий/мл и ниже) (76,9±6,8% против 55,1±7,1% соответственно, $p=0,057$). При этом вирусная нагрузка ВЭБ различалась наиболее значительно (15 [1; 162] против 1 [0; 8] копии/ 10^5 клеток, $p<0,001$).

По результатам корреляционного анализа у ВЭБ(+)/ВИЧ(+) пациентов установлено наличие прямой связи вирусной нагрузки ВЭБ и ВИЧ ($r_s=+0,39$, $p<0,001$), а также обратной связи вирусной нагрузки ВЭБ и абсолютного/относительного количества $CD4^+$ Т-лимфоцитов ($r_s=-0,57/r_s=-0,52$ соответственно, $p<0,001$). При этом отметим, что статистически значимая

связь количества CD4⁺ Т-лимфоцитов с вирусной нагрузкой ВИЧ наблюдалась только в группе ВЭБ(+)/ВИЧ(+) ($r_s = -0,46$, $p < 0,001$).

Последующий РСА-анализ позволил охарактеризовать зависимость между исследуемыми показателями. При анализе всех ВИЧ(+) пациентов удалось установить их распределение в координатах двух первых компонент, суммарно объяснявших 79,96% дисперсии. Выявлено, что в отношении первой компоненты вклад вирусной нагрузки ВИЧ равноценен, но противопоставлен вкладу содержания CD4⁺ Т-лимфоцитов и приверженности АРТ. Отметим, что параметр содержания CD4⁺ Т-лимфоцитов вносил сопоставимый вклад в формирование как первой, так и второй главных компонент. Для оценки возможного влияния исследованных переменных на ВЭБ-инфекцию провели графический анализ распределения ВИЧ(+) пациентов в координатах двух первых компонент в зависимости от вирусной нагрузки ВЭБ (рис. 1).

На графике барицентры двух групп располагались на выраженном удалении друг от друга во втором и четвертом квадрантах. Кроме того, все исследованные нами переменные оказывали влияние на риск повышенной вирусной нагрузки ВЭБ. Исходя из этого можно предположить, что у пациентов с низкой приверженностью АРТ (или без АРТ), низким содержанием CD4⁺ клеток и/или высокой вирусной нагрузкой ВИЧ риск выявления ДНК ВЭБ $\geq 1,5$ lg копий/ 10^5 клеток (или ≥ 29 копий/ 10^5 клеток), а, следовательно, активной ВЭБ-инфекции возрастал, и наоборот.

Проведена оценка возможности применения показателей вирусной нагрузки ВИЧ и количества CD4⁺ Т-лимфоцитов в качестве скрининговых лабораторных критериев отнесения пациентов в группу риска активной ВЭБ-инфекции. При тестировании вирусной нагрузки ВИЧ статистически значимых коэффициентов получить не удалось, поэтому была построена модель зависимости вероятности активной ВЭБ-инфекции только от количества CD4⁺ Т-лимфоцитов. Результаты кросс-валидации показали, что из 100 построенных моделей ни для одной показатель AUC не был ниже 0,750.

Полученная медиана значений AUC 0,850 [0,800; 0,870] свидетельствует о том, что бинарная логистическая модель качественно описывает тестируемую зависимость и обладает хорошей воспроизводимостью результатов.

Для предсказания зависимости вероятности активной ВЭБ-инфекции от количества CD4⁺ Т-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных построена модель бинарной логистической регрессии. Показатель AUC модели составил 0,829, а значение коэффициента МакФаддена – 0,231, что свидетельствует о высоком качестве модели. Сама модель имела вид:

$$\text{Logit}(p) = \text{Log}_E(p/(1-p)) = 0,558 - 0,005 \times [\text{CD4}^+],$$

где [CD4⁺] – количество CD4⁺ Т-лимфоцитов (клеток/мкл), p – вероятность выявления активной ВЭБ-инфекции.

Для данной модели построена ROC-кривая и определено пороговое значение вероятности, соответствующее комбинации максимальных значений чувствительности и специфичности модели (рис. 2А). Пороговое значение вероятности составило 0,398, а соответствующие ему значения специфичности и чувствительности – 0,73 и 0,90. При указанных условиях пороговое значение количества CD4⁺ Т-лимфоцитов было эквивалентно 200 клеток/мкл. Также были рассчитаны вероятности выявления активной ВЭБ-инфекции в зависимости от количества CD4⁺ Т-лимфоцитов (рис. 2Б). При этом уровень ложноположительных результатов составил 27% (26 из 96 случаев латентной ВЭБ-инфекции), ложноотрицательных – 10% (4 из 42 случаев активной ВЭБ-инфекции).

Проведено распределение ВИЧ(+) пациентов в группах активная ВЭБ-инфекция и латентная ВЭБ-инфекция на две категории в зависимости от количества CD4⁺ Т-лимфоцитов: с низким количеством (ниже 200 клеток/мкл) и высоким количеством (равным или выше 200 клеток/мкл). Установлено, что в категории лиц с низким количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов доля пациентов из группы активная ВЭБ-инфекция составила 59% (38 из 64 человек), а при высоком количестве – 5% (4 из 74 человек). Различия в частоте выявления

активной ВЭБ-инфекции, когда значения вирусной нагрузки ВЭБ у ВИЧ-инфицированных составляли ≥ 29 копий/ 10^5 клеток, были статистически значимыми ($p < 0,001$). Рассчитанный вероятный риск активной ВЭБ-инфекции у ВИЧ-инфицированных при низком количестве $CD4^+$ Т-лимфоцитов был в 3,3 раза выше (95% ДИ: 2,4-4,7), чем у пациентов с высоким содержанием $CD4^+$ Т-лимфоцитов.

4 Обсуждение результатов

Клинические наблюдения зарубежных и российских специалистов свидетельствуют о том, что у лиц, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), учащаются и продлеваются эпизоды реактивации ВЭБ, что может существенно влиять на показатели заболеваемости и смертности [1, 21]. ВЭБ-инфекция может приводить к развитию хронической активной ВЭБ-инфекции, волосатой лейкоплакии, лимфоидным интерстициальным пневмонитам и широкому спектру злокачественных новообразований (лимфом) у ЛЖВ. Симптомы развиваются независимо от длительности инфицирования ВИЧ и стадии заболевания, а выраженность и тяжесть симптомов ВЭБ-инфекции коррелируют с уровнем $CD4^+$ Т-лимфоцитов [1, 2].

Наше исследование было основано на определении ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови ВИЧ(+) и ВИЧ(-) взрослых. По данным литературы у взрослых доноров крови частота выявления ДНК ВЭБ в МНПК варьировала от 5,1% [42] до 72,0% [25], а у ВИЧ-инфицированных лиц от 6,7% [43] до 78,8% [36]. Однако, обобщив данные разных исследований, становится очевидным, что ДНК ВЭБ в когорте ЛЖВ выявляют значительно чаще, чем в среднем в популяции [14, 16, 17, 31, 39, 50].

По результатам собственных исследований ДНК ВЭБ была выявлена у 70,3% ВИЧ-инфицированных пациентов, медиана вирусной нагрузки составила 18 [5; 139] копий/ 10^5 клеток. Близкие данные ранее были получены в другой работе итальянскими исследователями, при этом частота обнаружения ДНК ВЭБ составила 73,1%, а медиана вирусной нагрузки – 43 [1-

151] копии/ 10^5 клеток (указана медиана [межквартильный интервал]) [36].
Полученные результаты подтверждают, что в группе ВИЧ(+) наблюдается
значительно более высокая частота выявления и концентрация ДНК ВЭБ в
лейкоцитах крови по сравнению с ВИЧ(-) лицами [20, 21, 36].

В свою очередь наши наблюдения, а также ряд зарубежных
исследований свидетельствуют о том, что группа ВИЧ(+) является
неоднородной по частоте выявления и вирусной нагрузке ВЭБ [20, 23, 36, 43].
Отметим, что сравнительный анализ литературных данных существенно
затрудняют используемые исследователями разные методологические
стратегии при формировании групп исследования, анализируемые
биосубстраты (слюна, плазма крови, МНПК, биоптаты опухолей) и отсутствие
стандартизации количественной ПЦР [13, 34, 46, 50]. Именно поэтому мы
планировали и проводили наше исследование комплексно с учетом как
русской клинической классификации [3], так и классификации ВОЗ по
степени выраженности иммунных нарушений на основе количества $CD4^+$ Т-
лимфоцитов [48], а также применения и приверженности АРТ.

По материалам одной из публикаций российских авторов у ВИЧ-
инфицированных пациентов, из которых основная часть случаев (75,5%)
приходилась на стадию 4В, при исследовании цельной крови ДНК ВЭБ была
обнаружена в 25,6% случаев, а вирусная нагрузка варьировала от 1,0 до 3,3 lg
копий/ 10^5 клеток [13]. Для сравнения, в нашем исследовании в данной группе
пациентов ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови выявляли с частотой 84,2%, а разброс
концентраций составил от 2 до 362 копии/ 10^5 клеток (или 0,2-2,6 lg копий/ 10^5
клеток). Выполненный нами сравнительный анализ по клиническим стадиям
русской классификации позволил расширить представления о характере
ВЭБ-инфекции у ЛЖВ. Как общая закономерность, наиболее высокие
показатели определения ДНК ВЭБ были нами выявлены у пациентов с более
тяжелым течением ВИЧ-инфекции на 4 стадии заболевания по сравнению с
теми, у кого была диагностирована 3 стадия. При этом от стадии 3 к стадии 4В

наблюдалось увеличение случаев с клинически значимыми уровнями ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови (выше 29 копии/10⁵ клеток или 1,5 lg копий ДНК ВЭБ/10⁵ клеток) – 14,1% против 70,0%, что отражает тенденцию к повышению репликативной активности ВЭБ на фоне прогрессирования ВИЧ-инфекции [20].

Между тем разделение пациентов по клиническим стадиям ВИЧ-инфекции дает общее представление о течении ВЭБ-инфекции у ЛЖВ и, к сожалению, не позволяет исследователю оценить основные факторы, которые могут влиять на частоту обнаружения и вирусную нагрузку ВЭБ при коинфицировании ВИЧ, а именно количество CD4⁺ Т-лимфоцитов и вирусную нагрузку ВИЧ, а также их особенности в зависимости от проводимой АРТ и степени приверженности терапии. Выявленные нами особенности рекомендуется учитывать при планировании дальнейших исследований, посвященных изучению коинфекции ВЭБ и ВИЧ.

Полученный профиль ВИЧ(+) пациентов с обнаруживаемой вирусной нагрузкой ВЭБ соответствует тому, что встречается в большинстве работ зарубежных авторов: ДНК ВЭБ выявляли у пациентов с более высокой вирусной нагрузкой ВИЧ и более низким количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов [23, 30, 36, 38, 50]. В некоторых публикациях встречаются противоречащие данные, согласно которым корреляция между вирусной нагрузкой ВЭБ и вирусной нагрузкой ВИЧ или количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов не была обнаружена [19, 26, 40]. Совсем исключительным представляется вариант, когда на основе оценки вирусной нагрузки ВЭБ в плазме крови ВИЧ-инфицированных наблюдалась положительная корреляция с количеством CD4⁺ клеток [46].

При естественном течении инфекционного процесса в отсутствие терапии ВИЧ-инфекция приводит к потере иммунологического контроля над ВЭБ-инфекцией (вследствие истощения пула CD4⁺ клеток) и усилению литической репликации ВЭБ [19-21]. Это объясняет, почему в нашем

исследовании группа G1, представленная «наивными» пациентами с тяжелым иммунодефицитом ($CD4^+$ Т-лимфоциты <200 клеток/мкл), по сравнению с остальными отличалась самыми высокими показателями частоты обнаружения ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови (86,7%) и вирусной нагрузки ВЭБ (121 [34; 252] копий/ 10^5 клеток). Кроме того, в большинстве случаев (70,0%) концентрация вируса характеризовала активную форму ВЭБ-инфекции. В явном контрасте с ними группа «наивных» ВИЧ-инфицированных, у которых содержание $CD4^+$ Т-лимфоцитов превышало 500 клеток/мкл, продемонстрировали относительно низкие значения вирусной нагрузки ВЭБ (6 [1; 9] копий/ 10^5 клеток), а уровни выше порогового значения были выявлены только у 5,0% пациентов.

Внедрение в 1996 году в мировую практику антиретровирусной терапии резко изменило естественное течение ВИЧ-инфекции у детей и взрослых [27]. АРТ направлена на медикаментозное подавление репликации ВИЧ и восстановление иммунитета. Однако на течение ВЭБ-инфекции, по данным литературы, АРТ оказывает неоднозначное влияние [23, 36, 44]. По одним сведениям, при эффективной АРТ вирусная нагрузка ВЭБ была ниже, чем в отсутствие терапии или при неэффективной терапии [23, 36]. В других источниках, наоборот, на фоне проводимой АРТ отмечалось повышение вирусной нагрузки ВЭБ в МНПК [26, 40]. Отметим, что в литературе встречаются схожие результаты количественного определения ВЭБ у пациентов при проведении АРТ и без нее [43] или при разной длительности лечения [46].

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что в общем у ВИЧ(+) пациентов, получавших АРТ, относительный риск выявления ДНК ВЭБ при низкой приверженности терапии был значительно (в 1,7 раза) выше по сравнению с теми, у кого сформировалась высокая приверженность. ДНК ВЭБ обнаруживали чаще при определяемом уровне вирусной нагрузки ВИЧ, чем при достижении неопределяемого уровня. Дифференциальный анализ в

разных группах ВИЧ(+) пациентов позволил установить, что вирусная нагрузка ВЭБ у лиц с количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов >500 клеток/мкл при высокой приверженности АРТ была существенно ниже, достигая недетектируемого уровня. Однако у лиц с количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов <200 клеток/мкл даже при высокой приверженности АРТ ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови определяли одинаково часто и у 36,7% из них вирусная нагрузка характеризовала активную ВЭБ-инфекцию. Снижение влияния АРТ на ВЭБ-инфекцию в данном случае, может быть обусловлено выраженным нарушением общего иммунного надзора за ВЭБ-инфекцией в этой группе пациентов [36].

Более того, у пациентов с низкой приверженностью АРТ по сравнению с высоко приверженными или «наивными» пациентами без АРТ мы наблюдали даже более высокую вирусную нагрузку ВЭБ. Ранее были предложены две теории повышения вирусной нагрузки ВЭБ после начала АРТ [35]. Но если подобные наблюдения до сих пор были описаны в литературе только в отношении лиц с тяжелым иммунодефицитом [26, 35, 36], то в нашем исследовании аналогичные, причем статистически значимые различия, были получены и для лиц с количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов >500 клеток/мкл.

На основе полученных в настоящем исследовании данных о повышенной репликативной активности ВЭБ у ВИЧ(+) взрослых по сравнению с ВИЧ(-) лицами, к тому же наиболее выраженной у отдельных категорий пациентов, нами впервые был разработан методический подход скрининга активной формы ВЭБ-инфекции. Поскольку в настоящее время в РФ клинический стандарт обследования ВИЧ-инфицированных не включает определение специфических маркеров ВЭБ-инфекции, проведена оценка возможности применения показателей вирусной нагрузки ВИЧ и количества CD4⁺ Т-лимфоцитов в качестве скрининговых для отнесения пациентов в группу риска активной ВЭБ-инфекции. В качестве дифференциального лабораторного критерия латентной и активной формы ВЭБ-инфекции был

применен установленный нами ранее пороговый уровень вирусной нагрузки ВЭБ ($29 \text{ копий}/10^5 \text{ клеток}$ или $1,5 \text{ lg копий ДНК ВЭБ}/10^5 \text{ клеток}$ [7]. Количественное ПЦР-исследование ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови является особенно актуальным у лиц с иммунодефицитом, поскольку определение только серологических маркеров острой ВЭБ-инфекции у них может быть неэффективным [4, 13].

Как и в ряде других исследований, анализ показал взаимосвязь клинически значимых уровней вирусной нагрузки ВЭБ только с количеством $CD4^+$ Т-лимфоцитов [1, 2, 38]. Установлено пороговое значение абсолютного количества $CD4^+$ Т-лимфоцитов на уровне 200 клеток/мкл . В диагностическом аспекте данный количественный критерий является приемлемым: чувствительность – 0,90; специфичность – 0,73. В результате предложена диагностическая стратегия, которая может быть рекомендована к применению в лабораторной и клинической практике, а также научно-исследовательской работе для лабораторного скрининга активной ВЭБ-инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов с целью формирования группы риска и дальнейшего углубленного обследования на ВЭБ-ассоциированные заболевания, включая злокачественные новообразования [44]. По данным собственных исследований группу риска составили 30,4% от общего числа ВИЧ(+) пациентов. Отметим, что в группе ВИЧ(-) вирусная нагрузка ВЭБ ни у кого не превышала пороговое значение. Согласно немногочисленным литературным данным, маркеры и клинические симптомы ВЭБ-инфекции (реактивация) выявлялись у 23 % лиц с ВИЧ-инфекцией [1].

Подводя итоги, отметим, что выявленная при количественной оценке ВЭБ неоднородность популяции ВИЧ-инфицированных в зависимости от иммунного статуса и приверженности АРТ является методической основой для совершенствования и планирования профилактических и противоэпидемических мероприятий. Кроме того, полученные нами результаты количественной оценки ДНК ВЭБ у ВИЧ-инфицированных в

перспективе имеют важное эпидемиологическое значение в свете имеющихся в литературе данных о том, что высокая вирусная нагрузка ВЭБ в клетках периферической крови ассоциирована с увеличением молекулярно-генетического разнообразия ВИЧ [17, 22]. Также следует отметить, что на фоне ВИЧ-инфекции у пациентов наблюдалась смена штаммов, соответствующих генотипам ВЭБ-1 и ВЭБ-2 [15]. Причинно-следственные связи этих взаимодействий ВЭБ и ВИЧ еще предстоит изучить. Несмотря на успехи АРТ, в клиническом аспекте прогнозы специалистов сводятся к тому, что эпидемический потенциал ВИЧ-инфекции на фоне увеличения продолжительности жизни пациентов будет сопровождаться ростом числа случаев выявления ВЭБ-ассоциированных опухолей, что требует продолжения междисциплинарных исследований в контексте данной проблемы [8, 10, 27, 44, 47, 50].

5 Заключение

Впервые в РФ проведена количественная оценка ВЭБ у ВИЧ-инфицированных пациентов в разрезе разных клинических стадий ВИЧ-инфекции, степени иммунных нарушений, применения и приверженности АРТ.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в лейкоцитах крови взрослых ВИЧ(+) пациентов частота обнаружения ДНК ВЭБ значительно выше по сравнению с ВИЧ(-) лицами (ОР 1,37 (95% ДИ: 1,09-1,72), $p=0,008$). При этом медиана вирусной нагрузки ВЭБ составила соответственно 18 [5; 139] против 2 [1; 3] копий/ 10^5 клеток ($p<0,001$).

Показано, что группа ВИЧ(+) пациентов является неоднородной по частоте выявления и вирусной нагрузке ВЭБ. Полученные результаты в контексте разных клинических стадий объективно отражают закономерное повышение репликативной активности ВЭБ на фоне прогрессирования ВИЧ-инфекции. При этом показано, что использование только лишь клинической

классификации ВИЧ-инфекции имеет ограниченные возможности в контексте изучения особенностей течения ВЭБ+ВИЧ-коинфекции.

Установлено, что «наивные» ВИЧ(+) пациенты с тяжелым иммунодефицитом ($CD4^+$ Т-лимфоциты <200 клеток/мкл) отличаются наиболее высокими показателями частоты обнаружения ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови ($86,7 \pm 6,2\%$) и вирусной нагрузки ВЭБ (121 [34; 252] копий/ 10^5 клеток), к тому же в большинстве случаев ($70,0 \pm 8,5\%$) концентрация вируса характеризовала активную форму ВЭБ-инфекции.

Выявлено, что среди «опытных» ВИЧ(+) пациентов, получавших АРТ, относительный риск выявления ДНК ВЭБ при низкой приверженности терапии был значительно выше по сравнению с теми, у кого сформировалась высокая приверженность (ОР 1,69 (95% ДИ: 1,28-2,24), $p < 0,05$). При достижении неопределяемого уровня вирусной нагрузки ВИЧ в плазме крови (≤ 58 копий/мл) концентрация ДНК ВЭБ была существенно ниже, чем в случаях, когда РНК ВИЧ определялась (1[0; 8] против 15 [1; 162] копии/ 10^5 клеток, $p < 0,001$).

Продemonстрировано, что обнаружение ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови сопряжено с менее благоприятным течением ВИЧ-инфекции, что выражается в более высоком уровне вирусной нагрузки ВИЧ и низком содержании $CD4^+$ Т-лимфоцитов по сравнению с теми пациентами, у кого ДНК ВЭБ не выявлялась.

Впервые установлена взаимосвязь между количеством $CD4^+$ Т-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных и вероятностью активной ВЭБ-инфекции. Пороговым значением является 200 клеток/мкл. Применение такого порога позволяет достичь высоких значений чувствительности и специфичности (0,90 и 0,73 соответственно).

Количество $CD4^+$ Т-лимфоцитов <200 клеток/мкл ассоциировано с повышенным в 3,3 раза риском выявления активной ВЭБ-инфекции по

542 сравнению с пациентами, у которых количество $CD4^+$ Т-лимфоцитов ≥ 200
543 клеток/мкл (ОР 3,3 (95% ДИ: 2,4-4,7), $p < 0,001$).

544 В целом полученные результаты создают предпосылки для более
545 активного внедрения количественных исследований ДНК ВЭБ в контексте
546 совершенствования ранней диагностики ВЭБ-ассоциированных заболеваний у
547 ВИЧ-инфицированных лиц.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Сравнительная характеристика частоты выявления и концентрации ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови ВИЧ(-) и ВИЧ(+) взрослых лиц.

Table 1. Comparative characteristics for EBV DNA detection and viral load in blood leukocytes of HIV (-) and HIV (+) adults.

Группа сравнения Comparison group	Исследовано проб Samples examined			
	Всего Total	из них ДНК ВЭБ(+) including EBV DNA(+)		
	n	n	$P \pm \sigma_p, \%$	ДНК ВЭБ, копии/10 ⁵ клеток EBV DNA, copies/10 ⁵ cells Me [Q1; Q3]
ВИЧ(-) HIV(+)	68	33	48,5±6,1	2 [1; 3]
ВИЧ(+) HIV(-)	138	97	70,3±3,9 ^{^^}	18 [5; 139] [^]
в том числе: including: C ₃	64	33	51,6±6,3	9 [2; 24] ^{^^}
C ₄	74	62	83,8±4,3 ^{^,*}	36 [6; 173] ^{^,***}
C _{4A} / C _{4A}	46	38	82,6±5,6 ^{^,*}	35 [7; 196] ^{^,***}
C _{4B} / C _{4B}	9	8	88,9±10,5 ^{^^,*}	36 [6; 173] ^{^^,***}
C _{4B} / C _{4C}	19	16	84,2±8,4 ^{^^,*}	49 [5; 115] ^{^,***}
G1	30	26	86,7±6,2 ^{^^}	121 [34; 252] [^]
G2	20	14	70,0±10,3	6 [1; 9] ^V
G3	43	35	81,4±5,9 ^{^^}	54 [8; 212] [^]

G4	45	22	48,9±7,4 ^V	9 [2; 14] ^{^^,V}
A	41	27	65,9±7,4	22 [6; 167] [^]
B	27	21	77,8±8,2 ^{^^}	14 [6; 147] [^]
C	14	7	50,0±13,9	6 [3; 30] ^{^^}
D	6	2	33,3±21,1	12 [7; 17]
H	55	29	52,7±7,4	6 [2; 22] ^{^^}
M	5	3	60,0±21,9	14 [14; 75] ^{^^}
L	28	25	89,3±5,9 ^{^, °}	54 [14; 224] ^{^, °}

Примечание: [^] - $p < 0,001$ (относительно группы ВИЧ(-)); ^{^^} - $p < 0,01$ (относительно группы ВИЧ(-)); * - $p < 0,001$ (относительно группы C₃); ** - $p < 0,01$ (относительно группы C₃); ^V - $p < 0,01$ (относительно групп G1 и G3); [°] - $p < 0,001$ (относительно группы H).

Note: [^] - $p < 0.001$ (relative to group HIV (-)); ^{^^} - $p < 0.01$ (relative to group HIV (-)); * - $p < 0.001$ (relative to group C₃); ** - $p < 0.01$ (relative to group C₃); ^V - $p < 0.01$ (relative to groups G1 and G3); [°] - $p < 0.001$ (relative to group H).

Таблица 2. Сравнительная характеристика показателей ВИЧ-инфекции в зависимости от выявления ДНК ВЭБ.

Table 2. Comparative characteristics of HIV infection indicators depending on EBV DNA detection.

Группа Group	n	CD4 ⁺		РНК ВИЧ HIV RNA
		отн. / rel., %	абс. / abs., клеток/мкл cells/ μ l	копии/мл copies/ml
ВЭБ(+)/ВИЧ(+) EBV(+)/HIV(+)	97	13,1 [6,9; 30,9]	160 [80; 556]	7600 [58; 260000]
ВЭБ(-)/ВИЧ(+) EBV(-)/HIV(+)	41	29,3 [16,7; 37,6]	589 [223; 778]	58 [58; 1200]
Δ (95% ДИ) Δ (95% CI)		-10,3 (-16,5-3,9)	-255 (-411-90)	3242 (131-27942)
Уровень значимости различий (p) p-value		0,002	0,001	<0,001

РИСУНКИ

Рисунок 1. Расположение точек ВИЧ(+) пациентов в координатах двух первых главных компонент с визуальным наложением фактора выявления ДНК ВЭБ выше или ниже порогового уровня ($1,5 \lg$ копий/ 10^5 клеток). Эллипс отображает 95%-ный доверительный интервал расположения барицентра групп. Стрелками обозначены вектора изученных переменных.

Figure 1. Position of HIV (+) patients in the coordinates of the first two principal components with visual overlay of EBV DNA detection factor above or below the threshold level ($1.5 \lg$ copies/ 10^5 cells). The ellipse displays the 95% confidence interval of the barycenter patient group location. The arrows indicate the vectors of the studied variables.

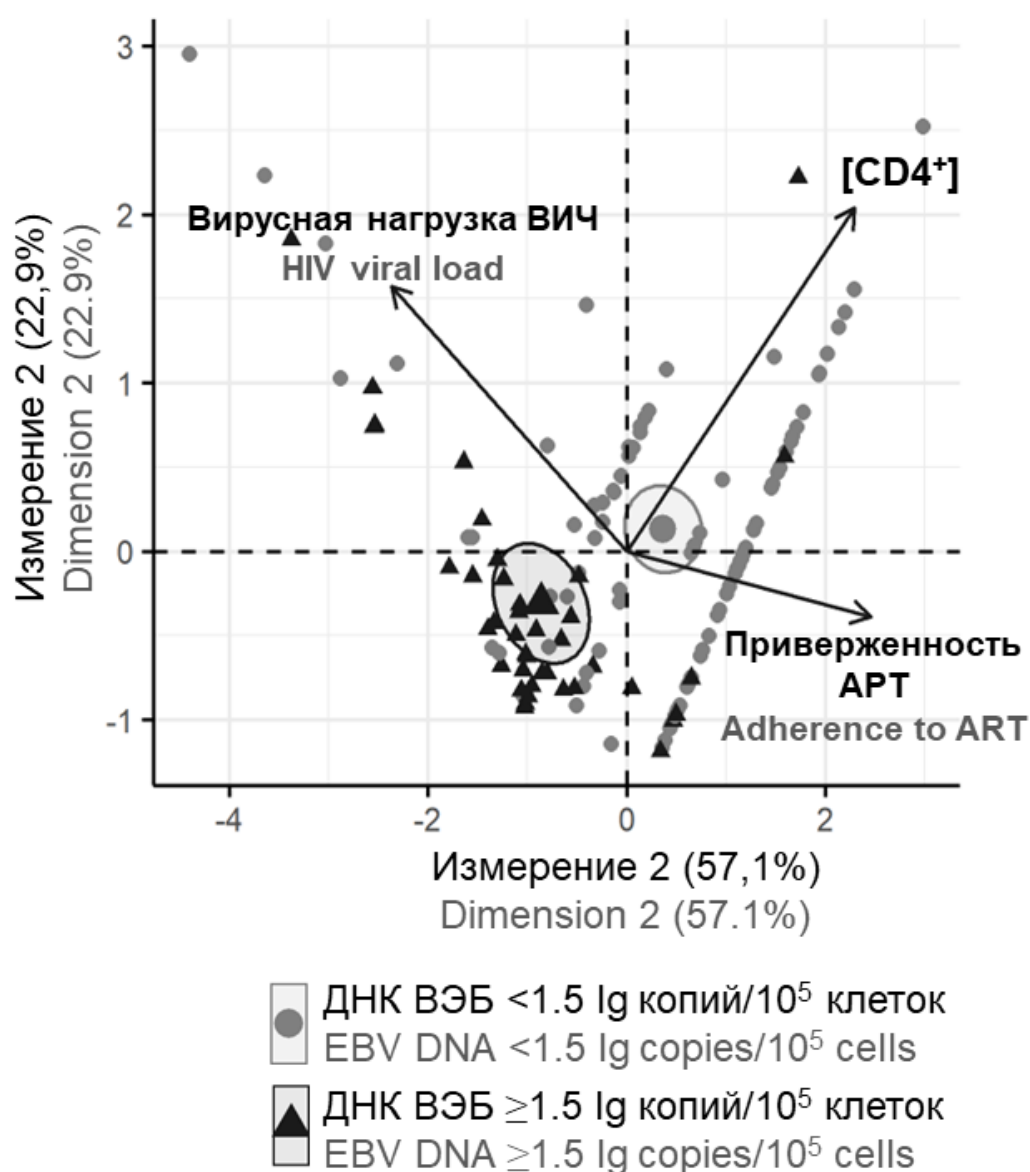
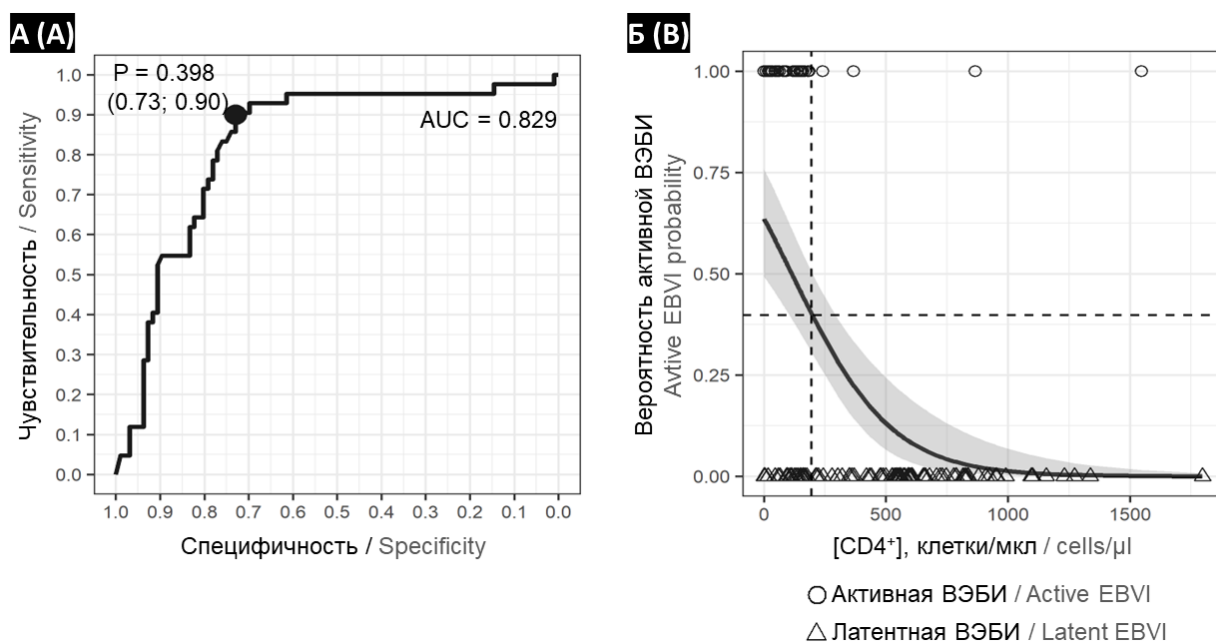


Рисунок 2. Анализ предиктивной силы показателя абсолютного количества $CD4^+$ Т-лимфоцитов для выявления активной ВЭБ-инфекции. А) ROC-анализ. Точкой обозначено пороговое значение вероятности и соответствующие ему значения специфичности и чувствительности. Б) Предсказанные вероятности активной ВЭБИ. Закрашенная область соответствует доверительному интервалу вероятности. Пунктирными линиями обозначено пороговое значение вероятности 0,398 и соответствующее ему пороговое значение количества $CD4^+$ Т-лимфоцитов (200 клеток/мкл). ВЭБИ – ВЭБ-инфекция.

Figure 2. Analysis of the predictive power for absolute $CD4^+$ T cell count to detect active EBV infection. A) ROC analysis. The dot indicates the threshold probability value and the corresponding specificity and sensitivity levels. B) Predicted probabilities of active EBVI. The shaded area corresponds to probability confidence interval. The dotted lines indicate the probability threshold of 0.398 and the corresponding $CD4^+$ T-lymphocyte count threshold (200 cells/ μ l). EBVI – EBV infection.



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Попкова Мария Игоревна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии; ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора;

адрес: 603950, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, д. 71;

телефоны: 8(831)469-79-46 / 8(906)352-60-15;

факс: 8(831)469-79-20;

e-mail: popmarig@mail.ru

Popkova Mariia I., PhD (Medicine), Leading Researcher of Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology; Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology;

address: 603950, Nizhny Novgorod, Malaya Yamskaya st., 71;

telephonea: 8(831)469-79-46 / 8(906)352-60-15;

Fax: 8(831)469-79-20;

e-mail: popmarig@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Попкова М. И., кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора;

ORCID: 0000-0001-5864-5862;

e-mail: popmarig@mail.ru

Popkova M. I., PhD (Medicine), Leading Researcher of Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology;

ORCID: 0000-0001-5864-5862;

e-mail: popmarig@mail.ru

Филатова Е. Н., кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора;

ORCID: 0000-0002-6683-7191;

e-mail: filatova@nniiem.ru

Filatova E. N., PhD (Biology), Leading Researcher of Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology;

ORCID: 0000-0002-6683-7191;

e-mail: filatova@nniiem.ru

Минаева С. В., кандидат медицинских наук, доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России;

ORCID: 0009-0004-9476-6214;

e-mail: mistella@yandex.ru

Minaeva S. V., PhD (Medicine), Associate Professor of the Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine Department, Privolzhskiy Research Medical University;

ORCID: 0009-0004-9476-6214;

e-mail: mistella@yandex.ru

Неумоина Н. В., кандидат медицинских наук, главный врач клиники инфекционных болезней ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора;

ORCID: 0000-0002-1394-3484;

e-mail: tak1510@yandex.ru

Neumoina N. V., PhD (Medicine), Chief Physician of the Clinic of Infectious Diseases, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology;

ORCID: 0000-0002-1394-3484;

e-mail: tak1510@yandex.ru

Перфилова К. М., кандидат медицинских наук, заместитель главного врача клиники инфекционных болезней ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора;

ORCID: 0000-0001-6395-9014;

e-mail: kperfilova@yandex.ru

Perfilova K. M., PhD (Medicine), Deputy Chief Physician of the Clinic of Infectious Diseases, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology;

ORCID: 0000-0001-6395-9014;

e-mail: kperfilova@yandex.ru

Уткин О. В., кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора;

ORCID: 0000-0002-7571-525X;

utkino2004@mail.ru

Utkin O. V., PhD (Biology), Head of Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology;

ORCID: 0000-0002-7571-525X;

utkino2004@mail.ru

Блок 3. Метаданные статьи

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР В
ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВИ У ВЗРОСЛЫХ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ
ПАЦИЕНТОВ

QUANTITATIVE CHARACTERIZATION OF EPSTEIN-BARR VIRUS IN
BLOOD LEUKOCYTES IN ADULT HIV-INFECTED PATIENTS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ВЭБ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ
EBV IN HIV-INFECTED PATIENTS

Ключевые слова: вирус Эпштейна-Барр, ВИЧ-инфекция, ДНК ВЭБ, РНК
ВИЧ, CD4+ Т-лимфоциты, приверженность АРТ, ПЦР.

Key words: Epstein-Barr virus, HIV infection, EBV DNA, HIV RNA, CD4+ T
lymphocytes, ART adherence, PCR.

Оригинальная статья.

Количество страниц текста – 20, количество таблиц – 2, количество рисунков
– 2.

13.12.2023.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или DOI
1	Давидович Г.М., Карпов И.А. Клиническое течение вирусной инфекции Эпштейн-Барр у пациентов с ВИЧ // Рецепт. 2007. № 4 (54). С. 115–117.	Davidovich G.M., Karpov I.A. Clinical course of Epstein-Barr viral infection in patients with HIV. Retsept=Recipe, no. 4, pp. 115–117. (In Russ.)	URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_20134387_39734170.pdf

2	Денисенко В.Б., Симованьян Э.М. Клинико-иммунологическая характеристика оппортунистических инфекций у детей при естественном течении ВИЧ-инфекции с учетом пути инфицирования // Детские инфекции. 2022. Т. 21, № 2. С. 16–22.	Denisenko V.B., Simovanyan E.M. Clinical and immunological characteristics of opportunistic infections in children with the natural course of HIV infection, taking into account the route of infection. Detskie Infektsii=Children infections, 2022, vol. 21, no. 2, pp. 16–22. (In Russ.)	URL: https://detinf.elpub.ru/jour/article/view/723 [doi: 10.22627/2072-8107-2022-21-2-16-22]
3	Клинические рекомендации: ВИЧ-инфекция у взрослых. 2020.	Clinical practice guidelines: HIV infection in adults, 2020. (In Russ.)	URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/79_1?ysclid=lpxujclz1r102497388

4	Львов Н.Д., Дудукина Е.А. Ключевые вопросы диагностики Эпштейна-Барр вирусной инфекции // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2013. № 3. С. 24–32.	Lvov N.D., Dudukina E.A. Key issues of current and diagnosis of Epstein–Barr virus infection. Infectious diseases: news, opinions, training, 2013, no. 3, pp. 24–32. (In Russ.)	URL: https://infect-disease-journal.ru/ru/jarticles_infection/70.html?SSr=3601343f0b23ffffff27c07e40c1b17242e-330a
5	Марданлы С.Г. Инфицированность вирусом Эпштейна-Барр отдельных групп населения Московской области // Клиническая лабораторная диагностика. 2020. Т. 65, № 6. С. 358–361.	Mardanly S. G. Infection with Epstein-Barr virus in certain groups of the population of the Moscow region. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika=Russian Clinical Laboratory Diagnostics, 2020, vol. 65, no. 6, pp. 358–361. (in Russ.)	URL: https://clinlabdia.ru/article/inficzirovannost-virusom-epshtejna-b/ [doi: 10.18821/0869-2084-2020-65-6-358-361]

6	Покровский В.В., Ладная Н.Н., Соколова Е.В. ВИЧ-инфекция: Информационный бюллетень № 47. Москва, 2023. 80 с.	Pokrovsky V.V., Ladnaya N.N., Sokolova E.V. HIV Infection: Information bulletin No. 47, Moscow, 2023, 80 p. (in Russ.)	URL: http://www.hivrussia.info/wp-content/uploads/2023/05/Byulleten-47-VICH-infektsiya-za-2021-g.pdf
7	Попкова М.И., Филатова Е.Н., Соболева Е.А., Брызгалова Д.А., Кулова Е.А., Сахарнов Н.А., Уткин О.В. Диагностическое значение количественного определения ДНК вируса Эпштейна – Барр в лейкоцитах крови у детей при инфекционном мононуклеозе // Журнал инфектологии. 2022. Т. 14, № 2. С. 128–137.	Popkova M.I., Filatova E.N., Soboleva E.A., Bryzgalova D.A., Kulova E.A., Sakharnov N.A., Utkin O.V. Diagnostic value of Epstein – Barr virus DNA quantification in blood leukocytes in children with infectious mononucleosis. Journal Infectology, 2022, vol. 14, no. 2, pp. 128–137. (In Russ.)	URL: https://journal.niidi.ru/jofin/article/view/1361 [doi: 10.22625/2072-6732-2022-14-2-128-138]

8	Попова М.О., Цыганков И.В., Гудожникова Я.В. Рогачева Ю.А., Волков Н.П., Лепик К.В., Демченкова М.В., Григорьева М.В., Ефиркина А.Ю., Шнейдер Т.В., Копейкина Ю.В., Степанова С.А., Потапенко В.Г., Климович А.В., Медведева Н.В., Колесникова М.А., Пospelova Т.И., Михайлова Н.Б., Байков В.В., Кулагин А.Д. Плазмобластная лимфома у пациентов с ВИЧ-инфекцией: обзор литературы и результаты российского многоцентрового ретроспективного исследования // Клиническая онкогематология. 2022. Т. 15, № 1. С. 28–41.	Popova M.O., Tsygankov I.V., Gudozhnikova Ya.V., Rogacheva Yu.A., Volkov N.P, Lepik K.V., Demchenkova M.V., Grigoreva M.V., Efirkina A.Yu., Shneider T.V., Kopeikina Yu.V., Stepanova S.A., Potapenko V.G., Klimovich A.V., Medvedeva N.V., Kolesnikova M.A., Pospelova T.I., Mikhailova N.B., Baikov V.V., Kulagin A.D. Plasmablastic Lymphoma in HIV-Positive Patients: A Literature Review and Results of a Russian Multi-Center Retrospective Study. Clinical oncohematology, 2022, vol. 15, no. 1, pp. 28–41. (In Russ.)	URL: https://old.bloodjournal.ru/plazmoblastnaya-limfoma-u-patsientov-s-vich-infektsiej-obzor-literatury-i-rezultaty-rossijskogo-mnogotsentrovogo-retrospektivnogo-issledovaniya/ [doi: 10.21320/2500-2139-2022-15-1-28-41]
---	---	--	---

9	Пузырева Л.В., Сафонов А.Д. Инфекции, вызванные вирусом Эпштейна-Барра, у ВИЧ- инфицированных пациентов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2016. Т. 93, № 6. С. 108–116.	Puzyreva L.V., Safonov A.D. Infections caused by Epstein-Barr virus in HIV- infected patients. Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, 2016, vol. 93, no. 6, pp. 108–116. (In Russ.)	URL: https://microbiol.crie.ru/jour/article /view/112 [doi: 10.36233/0372-9311-2016-6- 108-116]
10	Рассохин В.В., Некрасова А.В., Михайлова Н.Б. Злокачественные опухоли при ВИЧ-инфекции. Эпидемиология, патогенез, формы опухолей. Часть 1 // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2017. Т. 9, № 1. С. 7–21.	Rassokhin V.V., Nekrasova A.V., Mikhailova N.B. Malignant tumors in HIV patients. Epidemiology, pathogenesis, and variability. Part 1. HIV Infection and Immunosuppressive Disorders, 2017, vol. 9, no. 1, pp. 7–21. (In Russ.)	URL: https://hiv.bmoc- spb.ru/jour/article/view/235 [doi: 10.22328/2077-9828-2017-9- 1-7-21]

11	Рассохин В.В., Некрасова А.В., Байков В.В., Ильин Н.В., Виноградова Ю.Н. Эпидемиология, диагностика и лечение ВИЧ-ассоциированных неходжкинских лимфом // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2018. Т. 10, № 3. С. 17–29.	Rassokhin V.V., Nekrasova A.V., Baikov V.V., Ilyin N.V., Vinogradova Yu.N. Epidemiology, diagnosis, and treatment of HIV-associated non-hodgkin lymphomas. HIV Infection and Immunosuppressive Disorders, 2018, vol. 10, no. 3, pp. 17–29. (In Russ.)	URL: https://hiv.bmosp.ru/jour/article/view/365 [doi: 10.22328/2077-9828-2018-10-3-17-29]
12	Сенюта Н.Б., Смирнова К.В., Дидук С.В., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Гурцевич В.Э. Структурно-функциональная характеристика онкогена LMP1 у больных с опухолями, ассоциированными и не ассоциированными с вирусом Эпштейна—Барр // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2016. № 2. С. 71–75.	Senyuta N.B., Smirnova K.V., Diduk S.V., Goncharova E.V., Shcherbak L.N., Gurtsevitch V.E. Structural and functional characteristics of the LMP1 oncogene in patients with tumors associated and not associated with the Epstein–Barr virus. Molecular Genetics, Microbiology and Virology , 2016, vol. 31, no. 2, pp. 87–93. (In Russ.)	URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=26135758 [doi: 10.18821/0208-0613-2016-34-2-71-75]

13	Шахгильдян В.И., Ядрихинская М.С., Сафонова А.П., Домонова Э.А., Шипулина О.Ю., Альварес-Фигероа М.В., Долгова Е.А., Тишкевич О.А. Структура вторичных заболеваний и современные подходы к их лабораторной диагностике у больных ВИЧ-инфекцией // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2015. № 1. С. 24–30.	Shakhgildyan V.I., Yadrikhinskaya M.S., Safonova A.P., Domonova E.A., Shipulina O.Yu., Alvares-Figeroa M.V., Dolgova E.A., Tishkevich O.A. Pattern of secondary diseases and current approaches to their laboratory diagnosis in patients with HIV infection Epidemiology and Infectious diseases, 2015, no. 1, pp. 24–30. (In Russ.)	URL: https://epidemiology-journal.ru/ru/archive/article/30756?ysclid=lpxxgf0nih468708293
14	Boisseau M., Lambotte O., Galicier L., Lerolle N., Marzac C., Aumont C., Coppo P., Fardet L. Epstein-Barr virus viral load in human immunodeficiency virus-positive patients with reactive hemophagocytic syndrome. Infect. Dis. (Lond)., 2015, vol. 47, no. 6, pp. 423–427.	---	URL: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/00365548.2015.1007475 [doi: 10.3109/00365548.2015.1007475]

15	Buisson M., Morand P., Genoulaz O., Bourgeat M.J., Micoud M., Seigneurin J.M. Changes in the dominant Epstein-Barr virus type during human immunodeficiency virus infection. J. Gen. Virol., 1994, vol. 75, no. 2, pp. 431–437.	---	URL: https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/0022-1317-75-2-431#tab2 [doi: 10.1099/0022-1317-75-2-431]
16	Byrne C.M., Johnston C., Orem J., Okuku F., Huang M.L., Rahman H., Wald A., Corey L., Schiffer J.T., Casper C., Coombs D., Gantt S. Examining the dynamics of Epstein-Barr virus shedding in the tonsils and the impact of HIV-1 coinfection on daily saliva viral loads. PLoS Comput. Biol, 2021, vol. 17, no. 6, pp. e1009072.	---	URL: https://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.1009072 [doi: 10.1371/journal.pcbi.1009072]

17	Chaillon A., Nakazawa M., Rawlings S.A., Curtin G., Caballero G., Scott B., Anderson C., Gianella S. Subclinical Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus Shedding Is Associated with Increasing HIV DNA Molecular Diversity in Peripheral Blood during Suppressive Antiretroviral Therapy. J. Virol., 2020, vol. 94, no. 19, pp. e00927–20.	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.00927-20?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed [doi: 10.1128/JVI.00927-20]
18	Dandachi D., Morón F. Effects of HIV on the Tumor Microenvironment. Adv. Exp. Med. Biol., 2020, vol. 1263., pp. 45–54.	---	URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-44518-8_4 [doi: 10.1007/978-3-030-44518-8_4]

19	Dehee A., Asselot C., Piolot T., Jacomet C., Rozenbaum W., Vidaud M., Garbarg-Chenon A., Nicolas J.C. Quantification of Epstein-Barr virus load in peripheral blood of human immunodeficiency virus-infected patients using real-time PCR. J. Med. Virol., 2001, vol. 65, no. 3, pp. 543–552.	---	URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.2071
20	Fellner M.D., Durand K., Correa R.M., Redini L., Yampolsky C., Colobraro A., Sevelever G., Teyssié A.R., Benetucci J., Picconi M.A. Circulating Epstein-Barr virus (EBV) in HIV-infected patients and its relation with primary brain lymphoma. Int. J. Infect. Dis., 2007, vol. 11, no. 2, pp. 172–178.	---	URL: https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(06)00084-1/fulltext [doi: 10.1016/j.ijid.2006.04.001]

21	Gianella S., Massanella M., Wertheim J.O., Smith D.M. The Sordid Affair Between Human Herpesvirus and HIV. J. Infect. Dis., 2015, vol. 212, no. 6, pp. 845–852.	---	URL: https://academic.oup.com/jid/article/212/6/845/984770?login=false [doi: 10.1093/infdis/jiv148]
22	Gianella S., Anderson C.M., Var S.R., Oliveira M.F., Lada S.M., Vargas M.V., Massanella M., Little S.J., Richman D.D., Strain M.C., Pérez-Santiago J., Smith D.M. Replication of Human Herpesviruses Is Associated with Higher HIV DNA Levels during Antiretroviral Therapy Started at Early Phases of HIV Infection. J. Virol., 2016, vol. 90, no. 8, pp. 3944–3952.	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.02638-15?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed [doi: 10.1128/JVI.02638-15]

23	Giron L.B., Ramos da Silva S., Barbosa A.N., Monteiro de Barros Almeida R.A., Rosário de Souza L., Elgui de Oliveira D. Impact of Epstein-Barr virus load, virus genotype, and frequency of the 30 bp deletion in the viral BNLF-1 gene in patients harboring the human immunodeficiency virus. J. Med. Virol., 2013, vol. 85, no. 12, pp. 2110–2118.	---	URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.23722 [doi: 10.1002/jmv.23722]
24	Global HIV & AIDS statistics — Fact sheet: UNAIDS 2023 epidemiological estimates.	---	URL: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_en.pdf

25	Hudnall S.D., Chen T., Allison P., Tying S.K., Heath A. Herpesvirus prevalence and viral load in healthy blood donors by quantitative real-time polymerase chain reaction. Transfusion, 2008, vol. 48, no. 6, p. 1180–1187.	---	URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1537-2995.2008.01685.x [doi: 10.1111/j.1537-2995.2008.01685.x]
26	Lechowicz M.J., Lin L., Ambinder R.F. Epstein-Barr virus DNA in body fluids. Curr. Opin. Oncol., 2002, vol. 14, no. 5, pp. 533–537.	---	URL: https://journals.lww.com/co-oncology/abstract/2002/09000/epstein_barr_virus_dna_in_body_fluids.10.aspx [doi: 10.1097/00001622-200209000-00010]

27	Linke-Serinsöz E., Fend F., Quintanilla-Martinez L. Human immunodeficiency virus (HIV) and Epstein-Barr virus (EBV) related lymphomas, pathology view point. Semin. Diagn. Pathol., 2017, vol. 34, no. 4, pp. 352–363.	---	URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740257017300448?via%3Dihub [doi: 10.1053/j.semdp.2017.04.003]
28	Lupo J., Germe R., Lancar R., Algarte-Genin M., Hendel-Chavez H., Taoufik Y., Mounier N., Partisani M., Bonnet F., Meyohas M.C., Marchou B., Filippova A., Prevot S., Costagliola D., Morand P., Besson C. Prospective evaluation of blood Epstein-Barr virus DNA load and antibody profile in HIV-related non-Hodgkin lymphomas. AIDS, 2021, vol. 35, no. 6, pp. 861–868.	---	URL: https://journals.lww.com/aidsonline/fulltext/2021/05010/prospective_evaluation_of_blood_epstein_barr_virus.2.aspx [doi:10.1097/QAD.00000000000002839]

29	McHugh D., Myburgh R., Caduff N., Spohn M., Kok Y.L., Keller C.W., Murer A., Chatterjee B., Rühl J., Engelmann C., Chijioke O., Quast I., Shilaih M., Strouvelle V.P., Neumann K., Menter T., Dirnhofer S., Lam J.K., Hui K.F., Bredl S., Schlaepfer E., Sorce S., Zbinden A., Capaul R., Lünemann J.D., Aguzzi A., Chiang A.K., Kempf W., Trkola A., Metzner K.J., Manz M.G., Grundhoff A., Speck R.F., Münz C. EBV renders B cells susceptible to HIV-1 in humanized mice Life Sci. Alliance., 2020, vol. 3, no. 8, pp. e202000640.	---	URL: https://www.life-science-alliance.org/content/3/8/e202000640 [doi: 10.26508/lsa.202000640]
----	---	-----	---

30	Miller C.S., Berger J.R., Mootoor Y., Avdiushko S.A., Zhu H., Kryscio R.J. High prevalence of multiple human herpesviruses in saliva from human immunodeficiency virus-infected persons in the era of highly active antiretroviral therapy J. Clin. Microbiol., 2006, vol. 44, no. 7, pp. 2409–2415.	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.00256-06?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed [doi: 10.1128/JCM.00256-06]
31	Montgomery N.D., Randall C., Painschab M., Seguin R., Kaimila B., Kasonkanji E., Zuze T., Krysiak R., Sanders M.K., Elliott A., Miller M.B., Kampani C., Chimzimu F., Mulenga M., Damania B., Tomoka T., Fedoriw Y., Dittmer D.P., Gopal S. High pretreatment plasma Epstein-Barr virus (EBV) DNA level is a poor prognostic marker in HIV-associated, EBV-negative diffuse large B-	---	URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cam4.2710 [doi: 10.1002/cam4.2710]

	cell lymphoma in Malawi Cancer Med., 2020, vol. 9, no. 2, pp. 552—561.		
32	Mujtaba S., Varma S., Sehgal S. Coinfection with epstein barr virus in north Indian patients with HIV/AIDS. Indian. J. Pathol. Microbiol., 2005, vol. 48, no. 3, pp. 349–353.	---	URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16761748/
33	Musukuma-Chifulo K., Siddiqi OK., Chilyabanyama O.N., Bates M., Chisenga C.C., Simuyandi M., Sinkala E., Dang X., Koralnik I.J., Chilengi R., Munsaka S. Epstein-Barr Virus Detection in the Central Nervous System of HIV-Infected Patients. Pathogens, 2022, vol. 11, no. 10, pp. 1080.	---	URL: https://www.mdpi.com/2076-0817/11/10/1080 [doi: 10.3390/pathogens11101080]

34	Nowalk A., Green M. Epstein-Barr Virus. Microbiol. Spectr., 2016, vol. 4, no. 3.	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.dmiH2-0011-2015?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori%3Arid%3Acrsref.org&rft_dat=cr_pub++0pubmed [doi:10.1128/microbiolspec]
35	O'Sullivan C.E., Peng R., Cole K.S., Montelaro R.C., Sturgeon T., Jenson H.B., Ling P.D. Epstein-Barr virus and human immunodeficiency virus serological responses and viral burdens in HIV-infected patients treated with HAART. J. Med. Virol., 2002, vol. 67, no. 3, pp. 320–326.	---	URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jmv.10080?sid=nlm%3Apubmed [doi: 10.1002/jmv.1008]

36	Petrara M.R., Cattelan A.M., Zanchetta M., Sasset L., Freguja R., Giancesin K., Cecchetto M.G., Carmona F., De Rossi A. Epstein-Barr virus load and immune activation in human immunodeficiency virus type 1-infected patients. J. Clin. Virol., 2012, vol. 53, no. 3, pp. 195–200.	---	URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1386653211005208?via%3Dihub [doi: 10.1016/j.jcv.2011.12.013]
----	---	-----	---

37	Piriou E., van Dort K., Otto S., van Oers M.H., van Baarle D. Tight Regulation of the Epstein-Barr Virus Setpoint: Interindividual Differences in Epstein-Barr Virus DNA Load Are Conserved after HIV Infection. <i>Clinical Infectious Diseases</i> , 2008, vol. 46, no. 2, pp. 313–316.	---	URL: https://academic.oup.com/cid/article/46/2/313/460709?login=false [doi: https://doi.org/10.1086/524079]
38	Sachithanandham J., Kannangai R., Pulimood S.A., Desai A., Abraham A.M., Abraham O.C., Ravi V., Samuel P., Sridharan G. Significance of Epstein-Barr virus (HHV-4) and CMV (HHV-5) infection among subtype-C human immunodeficiency virus-infected individuals. <i>Indian J. Med. Microbiol.</i> , 2014, vol. 32, no. 3, pp. 261–269.	---	URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25008818/ [doi: 10.4103/0255-0857.136558]

39	Santos L., Azevedo K., Silva L., Oliveira L. Epstein-Barr virus in oral mucosa from human immunodeficiency virus positive patients. Rev. Assoc. Med. Bras. (1992), 2014, vol. 60, no. 3, pp. 262–269.	---	URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25004273/ [doi: 10.1590/1806-9282.60.03.016]
40	Stevens S.J., Blank B.S., Smits P.H., Meenhorst P.L., Middeldorp J.M. High Epstein-Barr virus (EBV) DNA loads in HIV-infected patients: correlation with antiretroviral therapy and quantitative EBV serology. AIDS, 2002, vol. 16, no. 7, pp. 993–1001.	---	URL: https://journals.lww.com/aidsonline/fulltext/2002/05030/high_epstein_barr_virus_ebv_dna_loads_in.5.aspx [doi: 10.1097/00002030-200205030-00005]

41	Suntornlohanakul R., Wanlapakorn N., Vongpunsawad S., Thongmee T., Chansaenroj J., Poovorawan Y. Seroprevalence of Anti-EBV IgG among Various Age Groups from Khon Kaen Province, Thailand. Asian Pac. J. Cancer Prev., 2015, vol. 16, no. 17, pp. 7583–7587.	---	URL: https://journal.waocp.org/?sid=Entr ez:PubMed&id=pmid:26625765&key=2015.16.17.7583 [doi: 10.7314/apjcp.2015.16.17.7583]
42	Traore L., Tao I., Bisseye C., Diarra B., Compaore T.R., Nebie Y., Assih M., Ouedraogo A., Zohoncon T., Djigma F., Ouermi D., Barro N., Sanou M., Ouedraogo R.T., Simpore J. Molecular diagnosis of cytomegalovirus, Epstein-Barr virus and Herpes virus 6 among blood donors in Ouagadougou, Burkina Faso. BMC Infectious Diseases, 2014, vol. 14, no. 2, pp. 99.	---	URL: https://www.panafrican-med-journal.com/content/article/24/298/full/ [doi: 10.11604/pamj.2016.24.298.6578]

43	Traore L., Nikiema O., Ouattara A.K., Compaore T.R., Soubeiga S.T., Diarra B., Obiri-Yeboah D., Sorgho P.A., Djigma F.W., Bisseye C., Yonli A.T., Simpore J. EBV and HHV-6 Circulating Subtypes in People Living with HIV in Burkina Faso, Impact on CD4 T cell count and HIV Viral Load. Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis., 2017, vol. 9, no. 1, pp. e2017049.	---	URL: https://www.mjhj.org/index.php/mjhj/article/view/2017.049 [doi: 10.4084/MJHID.2017.049]
44	Vangipuram R., Tyring S.K. AIDS-Associated Malignancies. Cancer Treat. Res., 2019, vol. 177, pp. 1-21.	---	URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-03502-0_1 [doi: 10.1007/978-3-030-03502-0_1]

45	Verdu-Bou M., Tapia G., Hernandez-Rodriguez A., Navarro J.T. Therapeutic Implications of Epstein-Barr Virus in HIV-Related Lymphomas. Cancers (Basel), 2021, vol. 13, no. 1, pp. 5534.	---	URL: https://www.mdpi.com/2072-6694/13/21/5534 [doi: 10.3390/cancers13215534]
46	Wan Z., Chen Y., Hui J., Guo Y., Peng X., Wang M., Hu C., Xie Y., Su J., Huang Y., Xu X., Xu Y., Zhu B. Epstein-Barr virus variation in people living with human immunodeficiency virus in southeastern China. Virol. J., 2023, vol. 20, no. 1, pp. 107.	---	URL: https://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12985-023-02078-z [doi: 10.1186/s12985-023-02078-z]

47	Whitehurst C.B., Rizk M., Teklezghi A., Spagnuolo R.A., Pagano J.S., Wahl A. HIV co-infection augments EBV-induced tumorigenesis in vivo. Front. Virol., 2022, vol. 2, pp. 861628.	---	URL: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fviro.2022.861628/full [doi: 10.3389/fviro.2022.861628]
48	WHO case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children - Geneva: World Health Organization, 2007. 48 p.	---	URL: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/43699/9789241595629_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y

49	Yao P., Millwood I., Kartsonaki C., Mentzer A.J., Allen N., Jeske R., Butt J., Guo Y., Chen Y., Walters R., Lv J., Yu C., Plummer M., de Martel C., Clifford G., Li L.M., Waterboer T., Yang L., Chen Z. Sero-prevalence of 19 infectious pathogens and associated factors among middle-aged and elderly Chinese adults: a cross-sectional study. BMJ Open, 2022, vol. 12, no. 5, p. e058353.	---	URL: https://bmjopen.bmj.com/content/12/5/e058353.long [doi: 10.1136/bmjopen-2021-058353]
50	Zealiyas K., Teshome S., Berhe N., Amogne W., Haile A.F., Abate E., Yimer G., Weigel C., Ahmed E.H., Abebe T., Baiocchi R. The Burden of Epstein-Barr Virus (EBV) and Its Determinants among Adult HIV-Positive Individuals in Ethiopia. Viruses, 2023, vol. 15, no. 8, p. 1743.	---	URL: https://www.mdpi.com/1999-4915/15/8/1743 [doi: 10.3390/v15081743]

