

T.C.  
ÇALIŞMA ve SOSYAL GÜVENLİK BAKANLIĞI  
SOSYAL SİGORTALAR KURUMU BAŞKANLIĞI  
SAĞLIK İŞLERİ GENEL MÜDÜRLÜĞÜ  
GÖZTEPE EĞİTİM HASTANESİ  
İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği  
Şef: Doç. Dr. Nail Özgüneş

**0-18 YAŞ GRUBUNDA EPSTEİN-BARR  
VİRUS'UNUN SEROLOJİK TANISINDA  
ELISA VE İFA TESTLERİNİN  
KARŞILAŞTIRILMASI**

(Uzmanlık Tezi)

**Dr. Fatma SARGIN**

**İstanbul-2003**

## ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren Klinik Şefimiz Doç. Dr. Nail Özgüneş'e,

Başhekimimiz Prof. Dr. Hasan Erbil'e,

Bizden destek ve yardımlarını esirgemeyen, her konuda deneyimlerine başvurduğumuz Şef Yardımcımız Dr. Saadet Yazıcı'ya,

Eğitimime yaptıkları katkılardan dolayı Başasistanımız Dr. Ayşe Canan Üçışık'a ve Uz. Dr. Nüket Ceylan'a,

Rotasyonlarımda eğitimime katkıda bulunan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım 2. Dahiliye Klinik Şefi Prof Dr. Aytekin Oğuz'a ve Çocuk Hastalıkları Klinik Şefi Uz. Dr. Müferet Ergüven'e,

Tezimi hazırlamamda yardımcı olan Uz. Dr. Ayşegül Uyar'a,

Tez çalışması sırasında yardımlarını gördüğüm Çocuk Hastalıkları Kliniği asistanlarına, ELISA Laboratuvarı laborantlarından Biyolog Reşat Karabacak'a, Kimya mühendisi Hamiyet Temizer'e,

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum klinik uzmanlarına, asistan arkadaşlarıma, Enfeksiyon Hastalıkları Kliniğinin ve Bakteriyoloji Laboratuvarının tüm çalışanlarına,

Ve tez hazırlama sürecimdeki her türlü desteğinden dolayı eşim Uz. Dr. Mehmet Sargin'a,

Teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	4
GENEL BİLGİLER	5
• TARİHÇE	5
• VİRUSUN GENEL ÖZELLİKLERİ	7
• PATOGENEZ	9
• EBV İLE İLİŞKİLİ HASTALIKLAR	11
• İNFEKSİYÖZ MONONÜKLEOZ	13
• TANI	26
• AYIRICI TANI	36
MATERYEL VE METOD	39
BULGULAR	50
TARTIŞMA	63
ÖZET	68
KAYNAKLAR	70

## GİRİŞ VE AMAÇ

İnfeksiyöz mononükleoz (İM) hastalığının etkeni olan Epstein-Barr virus (EBV), 1964 yılında Orta Afrikalı çocukların çene bölgelerinde tümör etkenlerinin araştırılması sırasında saptanmıştır (1). Tüm dünyada yaygın olarak görülen bu virus genellikle asemptomatik infeksiyonlara yol açmaktadır.

Semptomatik seyrettiği durumlarda hastalığın başlıca belirtileri ateş, farenjit, lenfadenopati ve splenomegalidir. Ancak bu klinik belirtilerin yalnız İM'a özgü olmaması nedeniyle laboratuvar tanısı oldukça önem taşımaktadır.

Tanı kanda atipik lenfositlerin görülmesi, transaminaz seviyesinin yükselmesi ve virus antijenlerine karşı oluşan spesifik antikorların belirlenmesi ile olur (2). Bu amaçla EBV'a özgü viral kapsid antijeni (VCA), erken antijen (EA) ve Epstein-Barr nükleer antijeni (EBNA) adı verilen antijenlere karşı oluşan spesifik IgM ve IgG sınıfı antikorlar ayrı ayrı belirlenerek klinik tanı yönlendirilmektedir (2,3,4). Etkenin üretilerek izole edilmesi zor ve zaman alıcıdır.

Çalışmamızda EBV infeksiyonlarının laboratuvar tanısında kullanılan serolojik yöntemlerin karşılaştırılması olarak araştırılması amaçlanmıştır.



# GENEL BİLGİLER

## TARİHÇE

Epstein-Barr virusu dünyanın her yerinde bulunabilen, litik, persistan veya latent infeksiyonların yanında infekte ettiği hücreleri transforme edebilen bir insan herpesvirusudur.

İlk defa Burkitt tarafından 1958 yılında tarif edilen ve Orta Afrikalı çocuklarda sık rastlanan Burkitt lenfoma, lenfoid dokunun bir tümörüdür (5). İlk yıllarda; eklem bacaklıların florası ile yakın ilişkisi, sıtmanın yoğun olduğu bölgelerde sık görülmesi ve her olgunun aynı antijeniteyi göstermesi nedeniyle, bu tümörün etyolojik etkeninin eklem bacaklılarla taşınan bir virus olabileceği düşünülmüş ve arboviruslar, herpes simpleks virusu, pox viruslar, reoviruslar ve pikornoviruslar aday olarak gösterilmiştir. Tümörlerden alınan biyopsi örnekleri, Uganda'dan Londra'ya gönderilmiş ve yenidoğan farelere, doku kültürlerine, embriyolu yumurtaya inoküle edilmiştir. Bu ortamlarda virus üretilmediği gibi elektron mikroskopunda da virus partikülü gösterilememiştir (6).

Epstein ve arkadaşları tarafından 1964 yılında, biyopsi örneklerinden hazırlanan lenfoid hücre kültürlerinde herpes benzeri bir virus izole edilmiş, elektron mikroskopunda gösterilmiş ve Epstein-Barr Virus (EBV) olarak isimlendirilmiştir (6,7). EBV standart doku kültürü sistemlerinde üretilmemiş, ancak orijinal lenfoblastoid hücrelerden normal insan fibroblastlarına hücre füzyonu ile nakledilebilmiştir.

İnfeksiyöz Mononükleoz (İM), daha çok çocuk ve genç erişkinlerde rastlanan, boğaz ağrısı, ateş, lenfadenopati ile karakterize bir hastalıktır. İlk kez 1889 yılında Pfeiffer, "glandular fever" adını verdiği bu hastalığa ait bulguları bildirmiştir. 1921 yılında Sprunt ve Evans ise hastalığın kliniğini tanımlayarak İnfeksiyöz Mononükleoz olarak adlandırmışlardır (5).

Diğer infeksiyonlarda izlenen lenfositozdaki uniform lenfosit morfolojisinin aksine İM'da mononükleer lenfositozun patolojik olduğu dikkati çekmiştir. İM'un tanımlanmasından 2 yıl sonra Downey ve Mc Kinlay inceledikleri yeni vakalarla atipik lenfosit morfolojisinin daha detaylı bilgilerini sunmuşlardır (5).

En büyük ilerleme 1932 yılında Paul ve Bunnell'in serum hastalığının immünolojisini incelerken, İM'lu hastaların serumlarında koyun eritrositleriyle spontan oluşan yüksek titredeki aglutinasyonları (heterofil antikorları) bulmalarıyla yaşanmıştır (5,6,7).

EBV'nun tanımlanmasından sonra, Henle'nin laboratuvarında çalışan bir teknisyende İM'un gelişmesiyle, bu hastalıkla EBV arasında bir ilişki olduğu düşünülmüş ve heterofil antikor bulunan İM'lu hastalarda, Werner ve Gertrude Henle tarafından indirekt immunfloresans antikor (IFA) tekniği ile (5) EBV'na karşı yüksek titrelerde antikor saptanmıştır.

# VİRUSUN GENEL ÖZELLİKLERİ

## Yapısal özellikleri

EBV, Herpesviridae ailesinin Gammaherpesvirinae alt familyasına ait HHV4 olarak da bilinen bir üyesidir. İkosahedral simetri düzeninde, 162 kapsomerli, 120 nm çapında ve kılıflıdır. Diğer herpesviruslarında olduğu gibi 5:3:2 simetri düzenindeki hegzagonal görünümlü (5) kapsomerlerinin her biri 12.5 nm uzunluğunda ve ortasında uzanan 4 nm çapında bir boşluk bulunmaktadır. Nükleokapsidi 100 nm çapındadır. Çift sarmallı 172 kb olan DNA'sı; olgun virionda lineer, latent olarak infekte hücrelerde sirküler yapıdadır. EBV DNA'sının moleküler ağırlığı  $101 \pm 3 \times 10^6$  üzeri 6 daltondur. Guanin+sitozin oranı %59 ve CsCl'deki yoğunluğu  $1.718 \text{ g/cm}^3$  ' tür. EBV genomu 80 protein kodlamaktadır (5,6,7,8).

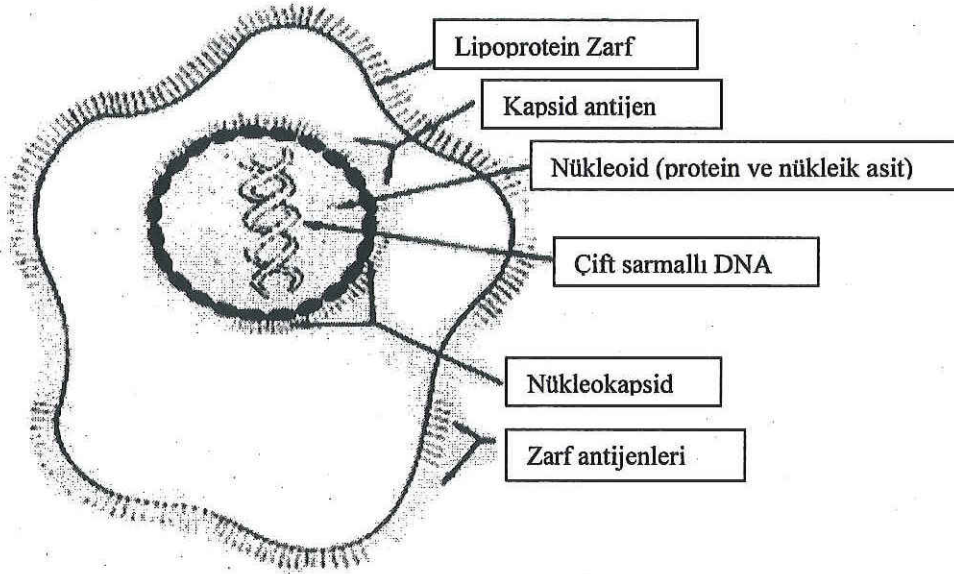
## Biyolojik özellikleri

EBV'nun konak sayısı sınırlıdır. In vitro ancak insan ve maymun orijinli B lenfosit ve nazofarinks epitel hücrelerinde üreyebilir (5,8). Diğer herpesvirusların üretilebildiği epitelyal ya da fibroblast hücre kültürlerinde üretilemez. Ürettiği hücreye sitopatik etki yapmaz ancak EBV ile infekte olup virus genomunu içeren hücre, devamlı üreme özelliği kazanır. Bu hücreye "transforme" ya da "immortal" hücre denir (8).

Herpesviridea ailesinin diğer üyeleri gibi litik, persistan, latent ve transformasyona neden olabilen infeksiyonlara yol açar. Ancak diğer tüm herpesviruslara göre EBV patogenezi ve konak immün cevabı çok daha fazla lenfositik infeksiyonla belirlenir.



Şekil 1: EBV'nun komponentlerinin şematik görünümü



EBV, yüzey reseptörü olarak CD21 (daha önce CR2 olarak bilinen; aynı zamanda C3d kompleman proteini reseptörü) eksprese eden hücreleri infekte eder. Duyarlı B lenfosit yüzey reseptörüne yapışan virus hücre içine girer. Virion nükleokapsidi nukleusa ulaşır ve burada replikasyon programlanır. Seksenden fazla EBV RNA'nın transkripsiyonu koordine şekilde yapılır. İnfeksiyondan çok kısa bir süre sonra az sayıda "erken gen" aktive olur. Bunların çoğunluğu DNA sentezini regüle etmektedir ve 6 nükleer antijeni (Epstein-Barr nükleer antijen: EBNA-1, EBNA-2, EBNA-3A, EBNA-3B, EBNA-3C, EBNA-LP), iki erken antijeni (early antigen; EA), viral DNA polimeraz ve timidin kinazı kapsar. EBNA-1 viral genomun replikasyon bölgesinde bağlıdır ve genomun otonom sirküler epizom olarak devamlılığını sağlar;

aynı zamanda diğerk viral genlerin transaktivasyonundan da sorumludur. Yani EBNA-1 ekspresyonu tüm latent ve prodüktif infeksiyon şekilleri için gereklidir (9).

Genomun replikasyonundan sonra, özellikle viral "yapısal komponentleri kodlayanlar" olmak üzere başka çok sayıda gen aktive olur. Virus üreten hücrelerde en fazla saptanan protein, viral kapsid antijendir (VCA). Virion zarfında ve hücre duvarında bulunan bir seri EBV proteininin tümüne "membran proteinleri" adı verilir. Farklı molekül ağırlıkları gösteren bu antijenlere karşı gelişen antikorlar nötralizan özelliğindedir. Bunların bir kısmı reseptöre bağlanmakta ana rolü üstlenmiş olup aşı çalışmalarının da başlıca hedefini oluşturmaktadır. Diğerk önemli viral proteinler arasında BCRF1 geni tarafından kodlanan memelideki IL-10'un yakın analogu ve latent infeksiyondan prodüktif infeksiyona dönüşümü sağlayan ZEBRA (BZLF1 tarafından kodlanan replikasyon aktivatörü) bulunur (5,7).

Birbiri ile çok yakın olan iki EBV suşu tanımlanmıştır. EBV-1 ve EBV-2 arasındaki fark EBNA-2, 3A, 3B, ve 3C'de yer alır ve bu fark nedeniyle EBV-1, B lenfositlerin immortal hale gelmesinde daha etkindir. Her iki suş da dünyada yaygın olup aynı kişide ikisi bir arada bulunabilir. EBV-1 genellikle nazofarinks kanseri, Hodgkin lenfoma ve Afrika Burkitt lenfoma olgularında saptanırken, EBV-2 AIDS hastalarındaki lenfomalarda görülür (8,10).

## **PATOGENEZ**

CD21 taşıyan B lenfositlerini infekte ederek immortal özellik kazanmasını sağlayan EBV'nun vajinal-servikal hücreler, nazofarinks kanseri ve T lenfomalarda saptanması, B hücre dışındaki hücrelerin de bu reseptörü taşıyabileceği ya da EBV'nun bazı hücrelere alternatif bir mekanizma ile girebileceği fikrini vermektedir.



EBV ile en az iki farklı infeksiyon paterni gelişmektedir. Prodüktif infeksiyon diferansiye epitel hücresinde oluşur ve yeni virion oluşumu ile karakterlidir. İnfekte B lenfositlerin ancak çok az kısmı infeksiyöz viral partikül üretir. Bu hücreler çoğunlukla virusun morfolojik ve büyüme özelliklerinde yaptığı değişiklikler sonucu immortal özellik kazanarak latent infeksiyöz siklusu sürdürür.

### **Latent İnfeksiyon**

Latent proses 11 kadar viral genin transkripsiyonu ile sürer. Bunlar altı EBNA, üç latent membran proteini (LMP-1, LMP2A ve LMP2B) ve iki EBV tarafından kodlanan RNA (EBV encoded RNA; EBER)'dir.

EBV'nun B lenfositlerinde latent infeksiyon oluşturması, EBNA-1 proteinin oriP adı verilen viral promoter'e başlanmasıyla olmaktadır. EBNA-1, EBNA-2'yi etkileyerek, EBV tarafından kodlanan latent membran proteinlerinin, hatta pek çok B lenfosit gen ürünlerinin (CD21, CD23, c-fgr) sentezini sağlamaktadır. LMP-1'in, epitel hücrelerinin ve B lenfositlerin transformasyonunda ve EBV'na bağlı onkogeneizde önemli rolü vardır. Transforme hücre dizilerinde viral genom, EBNA kompleksi, LMP1 ve LMP2 proteinleri bulunur. EBV tarafından oluşan transformasyon, EBV DNA/hücrese DNA hibridizasyonu ile hücre çekirdeklerinde viral antijenlerin gösterilmesi ile belirlenmektedir.

Transformasyondan sonra konak hücrelerin çoğalmasıyla latent formda EBV genomu içeren hücrelerin sayısı artar. EBV ile transforme olan B lenfositlerinde viral proteinlerin yanında çoğunlukla IgM olmak üzere IgG, IgA sınıfından immüoglobulinler de sentezlenir. Bazı kimyasal maddeler veya yüzeyel immüoglobulinlere karşı oluşan antikolar, konak hücrelerdeki latent virusu uyarmaktadır.

## **Reaktivasyon**

EBV latentliği yalnızca B lenfositlerinde sürmektedir. Epitelyal hücrelerden de devamlı virus salınarak lenfositlerin infekte olması sağlanmaktadır (7). Bazı kimyasallar ve immunglobulinlere karşı gelişen antikorlar B lenfositlerindeki EBV'nun reaktivasyonuna neden olmaktadır. Normal seropozitif bireylerin %15'inde tükürükten virusu saptamak olanaklı iken; hücreyel immün yanıt bozukluğu ile orantılı olarak bu oran artmakta, AIDS ve transplantasyon hastalarında nerdeyse %100'e yaklaşmaktadır. Bu durum reaktivasyonda konak immunoregölasyonunun da önemli olduğunu göstermektedir (7).

## **EBV İLE İLİŞKİLİ HASTALIKLAR**

EBV, dünyada yaygın olarak görülen, B lenfositlerine tropizm gösteren bir DNA virusudur (11). Genellikle başlangıç, herhangi bir problemin gelişmediği üst solunum sisteminin tutulumu şeklindedir. Ancak EBV sadece akut litik infeksiyona değil, B hatta T hücrelerinin de infekte olduğu kronik aktif infeksiyona da sebep olur. Ayrıca EBV genomu Burkitt lenfoma, Hodgkin hastalığı, T/NK hücreli lenfoma, nazofarinks kanseri ve gastrik adenokarsinoma gibi epitel hücresi orijinli veya hematolojik tümörlerde tespit edilebilmektedir (Tablo 1).

EBV ile ilişkili lenfoproliferatif hastalıklar, human immunodeficiency virus (HIV) infeksiyonu veya transplant alıcıları gibi immunosupresif hastalarda da sıklıkla görülür (10).

## **Tablo 1: EBV ile ilişkili hastalıklar**

### **Lenfosit orijinli hastalıklar**

- İnfeksiyöz mononükleoz
- X ile ilişkili lenfoproliferatif sendrom (XLPS)= Duncan Sendromu
- B hücreli lenfoproliferatif hastalık (BLPD)
- Burkitt Lenfoma
- Hodgkin hastalığı
- T/NK hücreli lenfoma
- Primer effüzyonlu lenfoma
- Kronik aktif EBV infeksiyonu

### **Epitel hücresi orijinli**

- Oral hairy lökoplaki
- Nazofarinks kanseri
- Gastrik karsinoma

### **Diğerleri**

- Leiomyosarkom
- Transplantasyon sonrası lenfoproliferatif hastalıklar (PTLD)



# İNFEKSİYÖZ MONONÜKLEOZ

Geçmişte glandüler ateş, monositer anjin, öpüşme hastalığı, ukde humması, "drüsen fieber" gibi isimler de verilmiş olan infeksiyöz mononükleoz (İM), yüksek ateş, boğaz ağrısı, lenfadenopati, splenomegali, periferik kanda atipik lenfomonositoz ve %90 olguda heterofil antikor pozitifliği ile karakterize bir sendrom olarak tanımlanır (12). Hastalık tablosu asemptomatikten ölümcül infeksiyona uzanacak kadar değişkenlik gösterir.

## Etyoloji

Adolesan ve genç erişkinde gelişen tipik İM tablosunun %80-90'ından EBV, %8-16'sından ise sitomegalovirus (CMV) sorumludur (7). Adenovirus, Hepatit A virusu, Rubella, Herpes simplex virusu (HSV), Human herpes virus tip 6 (HHV-6) ve Toxoplasma gondii de benzeri bir tabloya sebep olabilir. Ayrıca akut retroviral sendrom sırasında da benzeri tablo ortaya çıkabilir.

## Epidemiyoloji

Seroepidemiolojik çalışmalar EBV infeksiyonlarının erken çocukluk çağından itibaren tüm toplumlarda yaygın olduğunu göstermektedir. 20 yaş üzerinde EBV seronegatifliği nadirdir. Ancak bazı kişiler ömür boyu negatif kalabilir (11). Virusun iki ayrı suşunun serolojik olarak ayırt edilmeleri mümkün değildir ve farklı coğrafik dağılım göstermedikleri de saptanmıştır (8). Primer infeksiyon küçük yaşlarda genellikle belirtisiz geçirilir, yaş ilerledikçe belirtili seyretme olasılığı artar. Toplamların hijyenik ve sosyoekonomik yaşam koşulları serokonversiyon yaşı üzerinde etkilidir (13). Gelişmekte olan ülkelerde 2 yaşın üzerindeki çocuklarda %90 seropozitiflik

saptanmıştır, dolayısıyla infeksiyon çoğunlukla belirtisizdir (8). Endüstrileşmiş toplumlarda ise aynı yaş grubundaki %25-40 seropozitiflik, 5 yaşına kadar ancak %50'e ulaşır. Bizim toplumumuzda erişkin yaş grubunda %80-86 oranında seropozitiflik saptanmıştır (14). EBV infeksiyonları her iki cinsten ve yılın her mevsiminde eşit sıklıkla görülür. Gerçek epidemiler yapmaz; hafif bulaşıcı infeksiyon olduğu kabul edilir. Virus insandan insana sıklıkla orofarinks salgıları ile temas sonucu, nadiren damlacık infeksiyonu şeklinde bulaşır. Tam kan veya B lenfositleri içeren kan ürünleri transfüzyonu ve organ transplantasyonu ile de bulaş mümkündür. Servikal sekresyondan EBV izole edilmişse de bulaşta cinsel yolun rolü tam olarak bilinmemektedir (15). Akut İM'lu ya da sağlıklı kişilerin %10-20'sinin, renal transplant alıcılarının %50-70'nin, hematolojik maligniteli hastaların %70-90'nın ve HIV ile infekte homoseksüel erkeklerin %50'sinin orofarinks sekresyonundan EBV izole edilebilir (5).

### **Patogenez ve patoloji**

EBV duyarlı konağa çoğunlukla orofarinksten girerek önce orofarinks ve tükürük bezi epitel hücrelerine, daha sonra hedef hücreler olan larinksin lenfoid dokularındaki B lenfositlere ulaşmaktadır. EBV ile infekte olan B lenfositlerinde 30-50 günlük inkübasyon dönemini takiben viral replikasyon başlar. Mekanizması bilinmemekle birlikte B lenfosit proliferasyonunun söz konusu olduğu bölgede yoğun sitokin üretimi saptanmıştır (16). Virus B lenfositlerinde çoğalarak hücreleri tahrip eder ve hücrelerden salınır. Salınan viruslar retikuloendotelial sisteme geçer. EBV ile infekte hücrelere karşı kişilerde hümmoral ve hüccresel tip immün reaksiyon başlar. EBV infeksiyonu ile birlikte B lenfositlerinde poliklonal IgM yapımı uyarılarak, başta heterofil antikorlar olmak üzere trombosit, nötrofil, lenfosit membranlarına veya



nükleer antijenlere karşı antikor sentezlenir (5). Heterofil antikorlar IgM'in çoğunlukta olduğu heterojen bir gruptur. Bu antikorların titresi ile hastalığın şiddeti arasında belirgin bir ilişki yoktur. Heterofil antikorların iyileşmedeki rolü bilinmemektedir. Heterofil antikorlar EBV'a spesifik antikorlarla çapraz reaksiyon yapmazlar. Virusun indüklediği antijenlerin B lenfositlerin hücre zarlarına girmesiyle, infekte olan B lenfositleri için sitotoksik olan T lenfositleri aktive olmaktadır. T lenfositlerinin B lenfositleri ile reaksiyonu sonucu ateş başta olmak üzere, servikal lenf nodlarının şişmesi ve hastalığın ilk birkaç haftasında anormal mononükleer hücre proliferasyonu ile karakterize olan IM gelişmektedir. Enfeksiyon sırasında periferik kanda görülen atipik lenfositlerin büyük kısmının T hücre özelliğini taşıdığı saptanmıştır. Artan baskılayıcı T hücre (T8) fonksiyonu sonucu erken dönemde hücre sel cevap baskılanır ve cilt testleri negatifleşir. EBV enfeksiyonu, yardımcı ve baskılayıcı lenfositlerin aktivasyonu, B ve T hücrelerinden salınan interferon, doğal öldürücü hücreler, humoral özgül antikorlar, antikor bağımlı hücre sel sitotoksisite ve hafıza hücrelerinin işbirliği ile sınırlandırılmaktadır. Hastaların çoğu 2-3 haftada kendiliğinden iyileşir. İyileşme ile atipik lenfositler tedricen azalır. EBV'na karşı hücre sel ve humoral immün yanıt oluşmasına rağmen virus organizmadan elimine edilememektedir. EBV'nun diğer herpesviruslar gibi latent enfeksiyon yapma eğilimi fazladır. Klinik iyileşmeden sonra 12-18 ay süre ile boğaz çalkantı suyundan ve daha sonra aralıklı olarak boğaz ve kandan izole edilebilir (7). Genellikle subklinik geçen enfeksiyondan sonra immün sistem baskılandığı zaman EBV tekrar aktive olur. T hücre yanıtının oluşmadığı bazı immün yetmezliklerde B hücre proliferasyonu devam edebilir ve enfeksiyon lenfoma ile sonuçlanabilir.

Histopatolojik olarak organlarda mononükleer hücre infiltrasyonu izlenir. Lenf düğümlerinde aktif, genişlemiş lenf folikülleri; germinal merkezde histiosit, lenfosit ve

blast hücre akımı dikkati çeker. Dalakta kapsül kalınlaşmış, kırmızı pulpa hiperplaziktir. Ağır olgularda subkapsüler fokal hemoraji, konjesyon saptanabilir (8). Karaciğer viral hepatitlerin erken döneminde de görülen; hepatositlerde şişme ve vakuolizasyon, portal aralığın lenfomonosit infiltrasyonu ve safra kanallarında hafif ödem gibi minimal değişiklikler saptanır. İM'un ölümcül seyrettiği vakalarda sinir sisteminde histopatolojik değişiklikler bildirilmiştir.

### **Klinik belirti ve bulgular**

Primer EBV infeksiyonu çocukluk çağında genellikle asemptomatik seyreder. Nadiren semptomatik olduğu olgularda üst solunum yolu infeksiyonu, tonsillofarenjit, lenfadenopati gibi tipik bulguların yanı sıra larenjit, otit, karın ağrısı ve diyare gibi tipik olmayan belirti ve bulgularla da seyredebilir (17). Genç ve erişkinlerde ise akut infeksiyon yüksek ateş, boğaz ağrısı, lenfadenopati, lenfomonositoz, heterofil antikor pozitifliği ile karakterize tipik tabloyu oluşturur. Hastalığın inkübasyon süresi erişkinde 30-50 gün, çocuklarda 10-14 gündür. Genellikle 2-5 gün süren, halsizlik, iştahsızlık, bulantı, batında dolgunluk hissi, miyalji, retrobulber ağrı, üşüme, titreme, terleme gibi bulguları içeren bir prodrom dönemi vardır. Daha az sıklıkla yüksek ateş ve boğaz ağrısı aniden ortaya çıkar. Hastalar doktora en sık boğaz ağrısı yakınması ile başvurur. Ateşli dönem ortalama 10-14 gün sürer. Tonsiller sıklıkla hipertrofik ve eksudatiftir. Ancak vakaların sadece %5 kadarına streptokok infeksiyonu eşlik eder. Boğaz ağrısı ve anjin 7-10 gün sürer. Bazı hastalarda yumuşak ve sert damak birleşim bölgesinde 1-2 mm çapında peteşiel döküntüler ortaya çıkar; 3-4 günde geriler. Periorbital ödem saptanabilir. Adenopati özellikle servikal lenf nodlarında görülür. Ön ve arka tüm servikal lenf nodları etkilenir. Fakat oksipital, supraklavikuler, aksiler, epitroklear ve inguinal lenf nodlarını da içeren generalize



lenfadenopati de görülebilir. Mezenterik LAP'e bağlı karın ağrısı, hiler LAP'e bağlı öksürük görülebileceği akılda tutulmalıdır (18). Lenf düğümleri 5-25 mm çapında ağrısız ancak palpasyona duyarlı, hafif sert ve mobildir. Bazı hastalarda özellikle gövde ve ekstremitenin üst kısmında maküler, makülopapüler, peteşiyel, ürtikeriyel veya eritema multiforme benzeri döküntüler olur. Makülopapüler döküntüler genellikle ampisilin ile tedavi edilmeye çalışılan hastalarda görülür ve ilacın kesilmesi ile geriler. Küçük çocuklarda döküntü ve karın ağrısı büyük çocuklara göre daha sık görülür. Batın muayenesinde sağ hipokondriumda hassasiyet sık olmasına rağmen hastaların ancak %10-15'inde hepatomegali saptanır. Olguların en az yarısında splenomegali vardır. Dalak hastalığının ikinci haftasında maksimum boyutlarına ulaşır ve 7-10 günde geriler (Tablo 2).

Bazı olgularda İM alışılmışın dışında kendini gösterir. Örneğin İM'lu bir kişi sadece yüz felci, konvülziyon, mukozal kanama veya ciddi hepatit bulgularıyla doktora başvurabilir ve ancak alışılmış İM bulgularının ortaya çıkması ile hastalık fark edilebilir (8).

**Tablo 2:** İnfeksiyöz mononükleozda klinik belirti ve bulgular

<b>Bulgular</b>	<b>Sıklık ( % )</b>
Lenfadenopati	94
Farenjit	84
Yüksek ateş	76
Splenomegali	52
Hepatomegali	12
Damakta enanem	11
Raş	10
Sarılık	9
<b>Semptomlar</b>	<b>Sıklık ( % )</b>
Boğaz ağrısı	79
Halsizlik	59
Baş ağrısı	46
İştahsızlık	18
Miyalji	17
Titreme	14
Bulantı	9
Karında rahatsızlık hissi	8
Öksürük	5
Kusma	5
Artralji	2

## **Komplikasyonlar**

Hastaların çoğu 2-3 hafta içinde kendiliğinden iyileşir. Halsizlik genellikle en son kaybolan belirtidir. Komplikasyon çok nadirdir.

**Hematolojik komplikasyonlar:** Otoimmün hemolitik anemi İM'lu hastaların %0,5-3'ünde oluşur. Hastalığın 2 ila 3. haftasında belirir. Hastaların %70-80'nin serumunda soğuk aglutininler saptanır (19). 1-2 ayda kendiliğinden iyileşir. Kortikosteridler bu süreyi kısaltabilir. İM'lu olguların yaklaşık yarısında trombosit sayısının  $140000/\text{mm}^3$ 'ün altında olduğu hafif trombositopeni görülür. Kanamaya neden olabilecek kadar derin trombositopeni nadir görülür. Trombositopeninin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte antitrombosit antikollarının aracılık ettiği otoimmün mekanizmanın bu olayda rolü olduğu düşünülmektedir. Tüm olgularda olmasa da bazılarında kortikosteroidlerin faydalı olabileceğini gösteren çalışmalar vardır. Fakat inatçı olgularda splenektomi endikasyonu vardır. Komplike olmayan İM'un seyrinde hafif nötropeni sık görülür. Nötropeni genellikle hafiftir ve kendi kendini sınırlar. Ancak nadir de olsa derin granülositopeni ve sekonder enfeksiyona bağlı ölüm gelişebilir. Çocuklarda İM'un başka hiçbir bulgusu olmaksızın trombositopeni, persistan lenfositoz ve pansitopeni olabilir. Virüsle ilişkili hemofagositoz sendromu 1979'da tanımlanmıştır.

**Dalak rüptürü:** İM'un çok nadir ama dramatik bir komplikasyonudur. Dalağın lenfositik infiltrasyonu ile birlikte hızla büyümesi olaya zemin hazırlar. Dalak rüptürünün görülme olasılığı hastalığın ikinci veya üçüncü haftasında en yüksektir ve bazen hastalığın ilk belirtisi olabilir. İM'da karın ağrısı sık görülmez. Karın ağrısı olduğunda dalak rüptürü ile ilişkisi olabileceği mutlaka düşünülmelidir. Ağrı sinsi ya da ani başlangıçlı olabilir, sol omuza vurabilir. Palpasyonda sol hipokondriyumda



hassasiyet saptanır. Nadiren bu bulguların hiçbiri saptanamaz, aniden şok gelişir. Acil kan transfüzyonu ve genellikle splenektomi gerekir.

**Nörolojik komplikasyonlar:** Vakaların %1'inden daha azında görülür. Serebellit, ensefalit, aseptik menenjit, meningoensefalit, Bell paralizi, Guillain-Barre sendromu, transvers miyelit gibi klinik tablolar İM'un tek bulgusu olabilir. Atipik lenfositoz ve heterofil antikor yokluğu nedeniyle tanı için EBV'a spesifik serolojik testler gerekir. Olguların %85'i iyileşir (19).

**Hepatik komplikasyonlar:** İM'lu olguların %80-90'ında geçici transaminaz yüksekliği olsa da klinik olarak belirgin hepatit ve fatal hepatik nekroz çok nadirdir. Persistan infeksiyon sonucu siroz ya da kronik hepatit gelişip gelişmediği konusunda birbiri ile çelişen görüşler vardır (5).

**Renal komplikasyonlar:** İdrar sedimenti çoğunlukla normaldir. İdrar sedimentinde en sık görülen anormallik; mikroskopik hematüri ve proteinüridir. Belirgin renal disfonksiyon nadir olmasına rağmen sporadik akut böbrek yetersizliğinin görülebildiği bildirilmektedir (20).

**Kardiyak komplikasyonlar:** Klinik bulgu veren kardiyak komplikasyon çok nadir olsa da perikardit ya da miyokardit İM'un tek bulgusu olabilir, fatal seyredebilir. Hastaların %6'sında EKG'de S-T değişiklikleri saptanabilir.

**Pulmoner komplikasyonlar:** Akciğer parenkim lezyonu çok nadir görülen komplikasyonlardandır. Ancak neden olabilecek tüm etkenler ekarte edildiğinde bu lezyonlardan EBV sorumlu tutulmaktadır (Tablo 3).

**Diğer:** Tonsil ve farinks lenfoid dokusundaki hiperplazi nadir de olsa solunum yolu obstrüksiyonuna neden olabilir. Bu durumda trakeostomi gerekir.

**Ölüm:** İM'a ait ölüm çok nadir olup; nörolojik komplikasyonlar, dalak rüptürü, solunum yolu obstrüksiyonu, dalak rüptürü ve hepatit en fazla ölüm nedenidir.

Granülositopeni, trombositopeni, hepatik yetersizlik ve miyokardit nedeniyle ölüm de bildirilmiştir.

Özellikle X'e bağlı lenfoproliferatif sendrom veya hemofagositik sendromu olan hastalarda primer infeksiyon nadir de olsa ölüme sebep olabilir (21;22).

**Tablo 3: İnfeksiyöz mononükleozun komplikasyonları**

<b>Organ / Sistem</b>	<b>Komplikasyonlar</b>
Karaciğer	Sarılık (%5), transaminaz yüksekliği (%80-90), fulminan hepatit (nadir)
Akciğer	Solunum yolu obstrüksiyonu, intertisyel pnömoni (nadir)
Nörolojik	Ensefalit, akut serebellar sendrom, aseptik menenjit, Guillain-Barre sendromu, kranial sinir felci (özellikle 7), transvers miyelit, Konvülziyon, mononörit, optik nörit, serebral hemoraji
Dalak	Dalak rüptürü
Hematolojik	Hemolitik anemi, trombositopeni, nötropeni, hemofagositoz sendromu
Sekonder inf.lar	Streptokokal anjin, nötropeniye sekonder sepsis
Psikiyatrik	Depresyon, anksiyete
Renal	Hematüri, intertisyel nefrit, glomerulonefrit (nadir)
Kardiyak	Miyokardit, perikardit, aritmi, EKG'de değişiklikler
İmmünolojik	Hücresele immünitede baskılanma



## **KRONİK AKTİF EBV İNFEKSİYONU**

Daha önce sağlıklı olduğu bilinen bireylerde primer EBV infeksiyonunun ardından ciddi, kronik, İM'a benzer tekrarlayan semptomların olduğu nadir görülen bir durumdur. Hepatik yetersizlik, lenfoma, sepsis veya hemofagositik sendrom nedeniyle yüksek mortalite ve morbiditeye sahiptir. Hastalığın tedavisi oldukça güçtür. Kemikiliği transplantasyonu veya immünoterapi gerekebilir (23).

## **X'E BAĞLI BAĞLI LENFOPROLİFERATİF SENDROM (XLPS) (DUNCAN SENDROMU)**

XLP geni taşıyan erkeklerde ortaya çıkan kontrolsüz lenfoproliferasyon ile karakterli, hemen hemen 30 yıldır bilinen, İM'un nadir, ailesel, fatal bir formudur. Tipik İM bulgularının yanı sıra soluk makülopapüler raş ve sarılık vardır. EBV infeksiyonuna kadar hümmoral ve hüccresel immün cevabın tamamen normal olduğu hastalarda infeksiyonla birlikte sitotoksik T hücre cevabında bozukluk oluşur. Karaciğer yetersizliği, koagülopatiyeye sekonder kanama, sekonder bakteriyel sepsis, fulminan lenfoma benzeri tablo ile olguların %75'inde ölüm gelişir. Ölümle sonlanmayan olgularda, akkiz hipogmaglobulinemi, B hücreli lenfoma, poliklonal lenfoproliferasyon ortaya çıkar ve kırk yaşına kadar tüm olgular kaybedilir. Mutasyonun genetik lokusu saptanmış olup prenatal tanı mümkündür.

## **B HÜCRELİ LENFOPROLİFERATİF HASTALIK**

Doku reddinin engellenmesi için immünosupresif ilaçların kullanıldığı transplantasyon olaylarında yaşamı sıkça tehdit eden bir hastalıktır. Organ transplantasyonlarında genellikle transplantasyon sonrası lenfoproliferatif hastalık (PTLD) olarak bilinir. PTLD için risk faktörleri; yüksek dozda immünosupresif ilaç

kullanımı ve tedavi esnasında primer EBV infeksiyonu gelişmesidir. Klinik prezentasyonu çok çeşitlidir ve graft-versus-host hastalığına benzer. Semptomları İM benzeri hastalık veya ektranodal bir tümör gibidir. İM'a benzer klinik özellikler tipik olarak transplantasyonun ilk yılındaki çocuklarda görülür. Genellikle de primer EBV infeksiyonu ile ilişkili olarak virusun vericiden alıcıya transferi sonunda ortaya çıkar (23).

## **HODGKİN HASTALIĞI**

Hodgkin hastalığının başlamasından aylar, yıllar önce EBV'a karşı gelişen antikor konsantrasyonunun artması (24), İM'u takip eden 5 yıl içinde Hodgkin hastalığının görülme sıklığının artması EBV'nun Hodgkin hastalığının oluşmasında rol oynayan bir ajan olduğunu düşündürmektedir.

## **HIV İLE İNFEKTE KİŞİLERDE EBV**

HIV ile infekte kişilerin çoğunda persistan EBV infeksiyonu görülür. Sirkülasyondaki EBV ile infekte B hücrelerinin sayısı İmmün sistemdeki progresif baskılanma ile artar. Lenfomalar gelişir. NHL riski genel popülasyona göre 60 kat artmıştır (25).

## **BURKİTT LENFOMA**

Coğrafi olarak malaryanın endemik olduğu Ekvator bölgesinde özellikle de Afrika'da görülmektedir. Afrikada'ki Burkitt lenfomalı hastaların hemen hemen tümünde EBV'a karşı yüksek titrede antikor saptanmıştır. EBV infeksiyonunun malignleşme özelliğinin nedeni bilinmemektedir. Ancak bağışık yanıtın kontrolünde azalma olduğu düşünülmektedir. Genetik faktörlerle birlikte , belki de malarya gibi



diğer infeksiyöz ajanların da yer aldığı çevresel faktörlerin, bu tümörlerin oluşumunda rol oynadığı görüşü hakimdir (26).

## **NAZOFARİNGEAL KARSİNOMA**

Genetik ve belirli kültürel yapılar nazofarinks kanserine zemin hazırlar. Çin'in güneydoğusunda yaşayan erkeklerde siktir. Nazofarinks kanserli hastalarda EA-D ve VCA'ne karşı IgA ve IgG antikor seviyeleri yüksek bulunur (27).

## **KRONİK AKTİF EPSTEİN-BARR VİRUS İNFEKSİYONU (KAEBV)**

KAEBV infeksiyonu, yüksek mortalite ve morbiditeye sahip bir hastalıktır. Kronik veya rekürren olarak IM benzeri semptomlarla ve alışılmadık şekilde EBV antikorlarının çok uzun süre veya ömür boyu kalıcı olmasıyla karakterizedir (28,29). Henüz kesin bir tedavi protokolü yoktur. Antiviral veya immunomodülatör ajanlar kullanılabilir (30). En son kemikiliği transplantasyonunun tedavide başarılı olduğu bildirilmiştir (31).

## TANI

### Hematolojik Bulgular

İM'un erken döneminde lökopeni vardır veya lökosit sayısı normal düzeydedir. Hastalığın ikinci veya üçüncü haftasında lenfositoz pik yapar ve lökosit sayısı 12000-18000/mm<sup>3</sup> veya nadiren 30000-50000/mm<sup>3</sup> olur. Mononükleer hücreler %60-70 oranındadır. Bunların yaklaşık %30'u anormal lenfositlerdir. "Viroisit" ya da "Downey hücresi" gibi isimler de verilen atipik lenfositler küçük çocuklarda az olabilir veya hiç bulunmayabilir. Bu hücreler matür lenfositten daha büyük, çekirdekleri lobüle veya çentikli, eksantrik yerleşimli ve daha gevşek kromatinli; sitoplazması daha geniş, daha bazofilik, kenarları kıvrılmış gibi duran hücrelerdir. Atipik lenfositlerin İM'un tanınmasında önemi büyüktür. Ancak İM için patognomonik değildir. CMV enfeksiyonu, toksoplazmoz, kızamıkçık, kabakulak, viral hepatit ve ilaç reaksiyonları gibi durumlarda da ortaya çıkabileceği unutulmamalıdır (Tablo 4). Hastaların %60-90'nında rölatif bir nütropeni ile birlikte hafif sola kayma ve genellikle hafif trombositopeni görülür.

**Tablo 4:** Atipik lenfositlerin görülebildiği hastalıklar

---

İnfeksiyöz mononükleoz

CMV enfeksiyonu

Toksoplazmozis

Akut viral hepatit

Rubella

Kabakulak

İlaç reaksiyonları

## Heterofil antikorlar

Paul ve Bunnel (5) tarafından tanımlanmış olan heterofil antikorlar, hastalığın herhangi bir döneminde ve olguların %90'unda ortaya çıkar. IgM yapısındaki bu antikorlar koyun, at, keçi ve deve eritrositlerini aglutine eder, sığır eritrositlerini hemolize uğratırlar. Koyun eritrositi aglutininlerini araştırmak üzere yapılan klasik Paul- Bunnel deneyinde 1/64 ve üzerindeki serum titrelerinde aglutinasyon saptanması İM tanısını doğrular. Ancak test, normal insan serumunda bulunabilen Forssman antikorları varlığında veya serum hastalığında da pozitif sonuç verebilir. Bunlardan ayırmak için serumun kobay böbrek ekstreleri ile muamelesinden sonra Paul-Bunnel deneyinin tekrarlanması gerekir (Tablo 5). Bu koşulda titre 1/40 ve üzerindeyse anlamlıdır. Paul-Bunnel testinde yalancı pozitiflik oranı yaklaşık %3'tür (32).

Günümüzde, ticari olarak hazırlanmış Monospot kitleri heterofil antikorların gösterilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Monospot test yönteminde koyun eritrositlerinden daha duyarlı olan at eritrositleri kullanılmaktadır. Çok nadir olarak monospot test ile lenfoma ve hepatitli hastalarda yalancı pozitiflik saptanabilir. Ancak genel olarak Monospot test ile klasik Paul-Bunnel deneyi birbiri ile uyumludur. Heterofil antikorlar hastalığın ilk haftasından itibaren serumda bulunabilir ancak ikinci veya üçüncü haftasında saptanma olasılığı artar. Paul-Bunnel deneyi ile saptanan koyun eritrositi aglutininleri %70 hastada bir yıl içinde 1/40 titrenin altına düşer. Monospot test ile araştırılan at eritrositi aglutininleri ise %75 olguda tanıdan sonra 1 yıl süre ile saptanabilir (33).

Heterofil antikorları belirleyen Monotest lam aglutinasyon testi Paul-Bunnell testine göre oldukça pratiktir (34). Ayrıca Davidsohn tarafından ortaya atılan yöntem ile hasta serumları kobay böbrek özeti ile absorblanarak yalancı pozitif sonuçlar



önlenmektedir (35). Ancak heterofil antikorları belirleyen testlerin, infeksiyonun klinik dönemi hakkında kesin sonuç vermemesi, hasta serumlarında yalancı pozitif ve negatif sonuçlara sebep olması gibi nedenlerle tanıda spesifik antikorların araştırılması önem taşımaktadır (2,36,37).

Son yıllarda EBV infeksiyonlarında kan örnekleri yerine daha az invaziv bir yol olarak oral sıvıların kullanıldığı ELISA yöntemleri üzerinde çalışılmaktadır (38).

**Tablo 5:** Serum absorpsiyonunun heterofil antikor pozitifliğine etkisi

	Absorpsiyondan	Absorpsiyondan sonra	
	önce	Kobay böbreği	Sığır eritrositi
İnfeksiyöz mononükleoz	++++	+++	-
Serum hastalığı	+++	-	-
Normal serum (Forssman antikorları)	+	+	+

## EBV'a spesifik serolojik testler

İM'un tanısında heterofil antikörlerin pozitif bulunması yeterlidir ve başka bir teste gerek yoktur (32). Ancak atipik veya heterofil antikörlerin bulunmadığı olguların tanısında EBV'a spesifik testler yapılır (5,7,9). Heterofil antikörlerin negatif olduğu İM olgularında Toxoplasma gondii, CMV, rubella, hepatit, veya HIV'nun etken olabileceği akılda tutulmalıdır. EBV infeksiyonlarında hümoral immün cevap çabuk oluşur. EBV'nun dört antijen kompleksine karşı oluşan antikörler belirlenerek infeksiyonun serolojik tanısı konmuş ve dönemi belirlenmiş olur. Bu antijenler; VCA (viral kapsid antijeni), EA/D (erken antijenin diffüz komponenti), EA/R (erken antijenin restrikted komponenti), EBNA (Epstein-Barr virus nükleer antijeni)'dir. VCA, EA ve EBNA'ya karşı oluşan antikörler indirekt immunfloresans veya ELISA ile araştırılabilir.

İM'un klinik olarak ortaya çıktığında ve primer EBV infeksiyonunun diğer formlarında insanların çoğunda EBV VCA'a karşı antikörler oluşur (8). İM'un başlangıcında serumda VCA'a karşı hem IgG hem de IgM cinsi antikörlerin geliştiği görülür. Aynı anda veya çok kısa bir süre sonra EA'e karşı antikörler oluşur. Erken dönemde EBNA antikörleri genellikle tespit edilemez. Böylece VCA IgG, IgM ve EA antikörlerinin pozitif, EBNA antikörlerinin negatif olduğu bu dönem "akut infeksiyon" olarak tanımlanır. Akut dönemin başlamasından 4 hafta sonra VCA IgM kaybolmasına rağmen VCA IgG ömür boyu serumda tespit edilir.

EBV infeksiyonunun persistansı veya reaktivasyonu ile ilgili olabilen bazı durumlarda ise (Burkitt lenfoma, nazofaringiyal karsinoma, immün sistemi baskılı kişilerdeki bazı lenfomalar veya atipik, kronik bazı hastalıklar gibi) yüksek titrelerde anti VCA IgG antikörleri tespit edilir. Burkitt lenfomalı ve Nazofaringiyal karsinomalı kişilerde VCA IgG sağlıklı kişilerden 8-10 kat daha yüksek bulunur. VCA IgG antikörleri, pozitif EA antikörleri, bazen düşük titrelerde olabildiği için tespit

edilemese de genellikle pozitif EBNA antikorları tespit edilir. Anti VCA IgM ise negatiftir (Tablo 6).

**Tablo 6:** EBV infeksiyonlarında serolojik profil

İnfeksiyon	Anti VCA IgG	Anti VCA IgM	Anti EA/D	Anti EA/R	Anti EBNA	Heterofil Antikorlar
İmmün olmayan	-	-	-	-	-	-
Yeni infeksiyon	+	+	+	+/-	-	+
Yakında geçirilmiş infeksiyon	+	-	+	+/-	Az	+/-
Eski infeksiyon	+	-	-	-	+	-
Reaktivasyon	+	-	+/-	+/-	+	-
Burkitt lenfoma	++	-	-	++	+	-
Nazofaringiyal karsinoma	++	-	++	+/-	++	-



Akut EBV infeksiyon tanısı için; anti VCA IgM pozitifliği, yüksek titrede anti VCA IgG (IFA ile 1/320'nin üzerinde) veya akut-konvelesan dönem serum örneklerinde 4 kat titre artışının gösterilmesi gereklidir. Ancak akut infeksiyon sırasında 4 kat titre artışını belirleyebilmek güç olduğundan tanı değeri sınırlıdır. VCA 'e karşı oluşan IgM cinsi antikorlar klinik belirtilerle birlikte pozitifleşir, 4-8 hafta süre ile pozitif kalır ve kaybolur. Akut infeksiyon dışında kronik infeksiyon ya da reaktivasyonda saptanmazlar. Ancak transplant alıcılarında görülebilen eksojen reinfeksiyon ile pozitifleşebilirler (5).

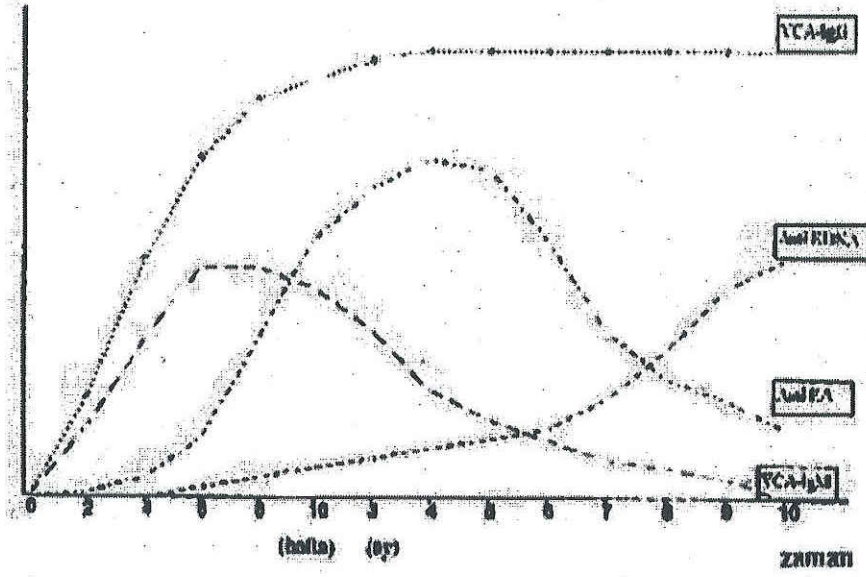
Anti VCA IgG, infeksiyonla birlikte hızla yüksek titrelere ulaşır, akut infeksiyon sonrası titresi giderek azalır ancak ömür boyu varlığını sürdürür.

Anti EA ise kliniğin başlamasıyla veya bundan çok kısa bir süre sonra ortaya çıkar, 6-12 ay sonra kaybolur. EA'e karşı gelişen antikorlar immünfloresan boyalı preperatta antijenin dağılım özelliğine göre diffüz (D) veya restriktif (R) tip olarak tanımlanır. Anti EA D; akut infeksiyon başladıktan kısa süre sonra %70-80 hastada saptanabilir. Bu antikorlar kaybolurken bazı hastalarda yerini 1-4 yıl sürecek anti EA R'e bırakır. Anti EA antikorları, immünyetmezlikli hastalarda reaktivasyon sırasında yeniden belirir, kronik infeksiyonda ve EBV ile ilişkili malign olaylarda çok yüksek titrelerde bulunabilir.

EBNA'e karşı oluşan antikorlar antikompleman immünfloresan yöntemle araştırılabilir. Infeksiyon seyrinde nispeten geç ortaya çıkarlar ancak yaşam boyu kalıcıdır. Akut fazda alınan serumda anti EBNA pozitifliği, bunun primer EBV infeksiyonu olasılığını şüpheye düşürür. Hücresel immünyetmezlikte anti EBNA oluşmayabilir ya da kaybolabilir. Anti VCA IgG ve anti EBNA yaşam boyu kalıcıdır ve kronik virus taşıyıcılığının bir göstergesidir (19) (Şekil 2). Anti VCA IgG pozitif

saptanan ve daha önceden anti EBNA negatifliđi bilinen hastada anti EBNA'nin pozitifleřtiđinin saptanması kuvvetle akut EBV infeksiyonunu dūřündürtür.

Spesifik EBV antikollarının belirlenmesinde EBV ile infekte hücrelerle IFA'nın kullanılması referans metoddur (39). Günümüzde hala altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak standardizasyonundaki zorluklar, sonuçların değerlendirilmesinin subjektif olması gibi sebeplerle kullanımı pratik bulunmamaktadır (40). Ayrıca EBV spesifik antikollarının araştırılabilmesi için ELISA yöntemine uygun ticari kitler mevcuttur. (41,42).



**Şekil 2: EBV Antikor Titrelerinin Profili**

Primer infeksiyon sırasında EBV'ü nötralize eden antikorlar da belirir. Hastalığın başlangıcından 6-7 ay sonra pik yapar, azalarak sabit titrelerde ömür boyu kalır. Ayrıca solubl antijenlere karşı kompleman birleştirici antikorlar (anti S) da araştırılabilir (Tablo 7).

İM'un iyileşmesinden sonra bir yıl veya daha uzun bir süre EBV oral yolla atılmaya devam eder (19). Bazı kişilerde, akut infeksiyondan sonra virus, tükürükte aralıklı olarak yaşam boyu tespit edilebilir (29).

Bazen lenfoproliferatif bozukluğu olan veya atipik seyir gösteren hastalarda da görülebildiği gibi EBV antijenlerine karşı gelişen yanıt ya yetersiz ya da yoktur. Bu



durumda dokuda veya kanda EBV taşıyan hücrelerin ya da EBV nükleik asidinin gösterilmesi gerekir.

**Tablo 7: EBV antikor profili**

<b>Antikorlar</b>	<b>İM'da ortaya çıkış zamanları</b>	<b>Antikorların İM'da görülme sıklığı (%)</b>	<b>Persistans</b>	<b>Bilgi</b>
<b>VCA</b> IgM VCA IgG VCA	Klinik semptomlarla Klinik semptomlarla	100 100	4-8 hafta Ömür boyu	Yüksek duyarlılık ve özgüllük Yüksek titrelerde görülür ve ömür boyu kalıcıdır.
<b>EA</b> Anti D Anti R	Başlangıçtan, 3-4 hafta sonra 2 hafta veya 1-2 ay sonra	70 düşük	3-6 ay 2 ay-3 yıl	Ciddi seyirli hastalığı gösterir, NFK'da görülür Ciddi ve uzamış hastalıkla ilişkilidir, Burkitt lenfomada görülür
<b>EBNA</b>	Başlangıçtan, 3-4 hafta sonra	100	Ömür boyu	Heterofil antikorların negatif olduğu vakaların tanısında yardımcıdır
Kompleman birleştirici antikor (anti S)	Başlangıçtan, 3-4 hafta sonra	100	Ömür boyu	Heterofil antikorların negatif olduğu vakaların tanısında yardımcıdır

### **Virus izolasyonu ve nükleik asit araştırmaları**

Virusun izole edilebilmesi için filtre edilmiş tükürüğün kord kanı lenfositinden elde edilen hücre kültürüne inoküle edilmesi gerekir. Kültürler 6 haftaya kadar izlenir ve bu süre içinde zemindeki dejenere olan infekte olmamış hücrelerin yüzeyinde yüzer halde bulunan, transforme hücrenin hızlı çoğalması sonucu ortaya çıkan lenfosit kümecikleri araştırılır. Hücrelerin içinde virus varlığı IF boyama ile gösterilir. İnfeksiyondan sonra uzun süre virus atılımı sürdüğünden EBV izolasyonu tanısız değer taşımaz. Ancak akut tabloda saptanmaması etyolojide başka bir etkenin araştırılmasını düşündürmelidir (6,7).

Hücre ve dokularda virus genomunu göstermek için nükleik asit hibridizasyonu ve amplifikasyon yöntemleri uygulanır (43,44,45,46). Bazı EBV ile ilişkili patolojilerin değerlendirilmesinde "southern" veya in situ hibridizasyon yöntemleri yararlı olabilir. "Southern" hibridizasyon yöntemi özellikle EBV ile ilişkili lenfoproliferatif patolojilerde virusun klonal özelliğini göstermek için yararlı olabilir. Normal seropozitif bireylerde infekte lenfosit popülasyonu çok düşük olduğundan negatif sonuç vermesi beklenir. DNA spot hibridizasyon yöntemleri yalancı pozitiflikleri "southern blot" yöntemine göre yüksek olduğundan tercih edilmez.

Son yıllarda PCR'da EBV araştırılması viral yük tayini amacıyla kullanılan yöntemler arsına girmiştir. Bu şekilde transplantasyon sonrası lenfoproliferatif patolojilerde normal seropozitif bireydekinden çok daha yüksek miktarlarda saptanan periferik kan mononükleer hücrelerindeki virus gen kopyası tanıya yardımcı olabilir (7).

### **Diğer laboratuvar bulguları**

Hemen hemen tüm hastalarda aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri normalin 2-3 katına kadar yükselmiş bulunur. Normalin 10 katına ulaşan veya daha fazla yükselen enzim düzeyleri başka bir patolojik durumu düşündürmelidir. Belirgin sarılık nadir olmasına rağmen %45 olguda hastalığın ikinci haftasındaki maksimuma ulaşan hafif bilirubin yüksekliği olur. Hastaların büyük kısmında orta derecede kriyoproteinemi saptanır (5,7).

### **AYIRICI TANI**

İM tanısında, klinik belirtiler tipik olmadığından ve özellikle heterofil antikor negatif olduğunda güçlük yaşanır. EBV'a bağlı İM seyri sırasında heterofil antikor negatifliği daha çok çocuk ve yaşlılarda görülen bir durumdur (47). Bunun dışında heterofil antikor negatif İM'un en sık nedeni CMV'dur. EBV ve CMV'a bağlı İM'u ayırt etmek güç ise de CMV infeksiyonunun daha çok transfüzyon sonrası ortaya çıkması, farenjit ve LAP saptanmaması gibi özellikleri şüphe uyandırır. Ayrıca atipik lenfositöz daha az belirgindir, karaciğer enzimleri daha az yükselir. Kesin ayırım için her iki etkene ait serolojik testlere ihtiyaç duyulur. Toxoplasma gondii, rubella virusu ve HIV heterofil antikorların negatif olduğu İM'a neden olabilir (Tablo 8). Akut toksoplazmozda anjin olmaması, lenfositözün daha hafif olması, karaciğer transaminazlarının genellikle normal olması ayırım için yardımcı ise de kesin tanı ancak serolojik testlerle konabilir. Kızamıkçık İM ile karışıklığa neden olabilecek ateş, halsizlik, LAP, lenfositöz gibi belirti ve bulguların yanı sıra farklı karakterdeki döküntüsü ile ayırt edilemediğinde serolojik testlere gerek olabilir. Primer HIV infeksiyonu da ateş, LAP, farenjit ile kendini gösterebilir. Bunlara genellikle aseptik



menenjit bulguları ve makülopapüler raş eşlik eder. Ayırımı serolojik testlerle yapılır. Streptokokal boğaz infeksiyonu da ayırıcı tanıda göz önünde bulundurulmalıdır.

**Tablo 8: Heterofil antikorların negatif olduğu İM etkenleri**

CMV

Toxoplasma gondii

Rubella virusu

HIV

Adenovirus

**Tedavi**

İM tedavisi büyük ölçüde destekleyici tedavi şeklindedir. Hastalığın ilk 2-3 haftasında istirahat önerilir. Salisilat ya da asetaminofen ateşi düşürmek ve boğaz ağrısını hafifletmek amacı ile verilebilir. Ilık su ile gargara da farenjit semptomların hafifletir. Splenomegalisi olan hastaların kabızlık, yakın dövüş sporları ve ağır kaldırmaktan kaçınması önerilir. Bu hastalarda dalak palpasyonu dikkatli yapılmalıdır. Kabızlık varsa laksatif önerilebilir. Kortikosteroidlerin tedavideki rolü tartışmalıdır. İM'da kortikosteroidlerin ateş süresini kısalttığı ve semptomların hafiflemesini sağladığı saptanmışsa da, immünolojik denge hastalığın sınırlandırılmasında çok önemli olduğu için önerilmez. Ancak hava yolu obstrüksiyonu, ciddi trombositopeni, hemolitik anemi, MSS tutulumu, miyokardit, perikardit gibi hayatı tehdit eden bazı durumlarda prednizolon 60-80 mg/gün dozunda 1-2 hafta süre ile verilebilir. Fosfonoasetikasit, adenin arabinozid, asiklovir, desiklovir, gansiklovir, sorivudine, interferon alfa ve interferon gamanın EBV replikasyonunu invitro inhibe ettiği saptanmıştır. Ancak klinik araştırmalarda bu ajanların yararı saptanamamıştır.

## **Korunma**

İnsandan insana bulaş için çok yakın temas gerektiğinden İM'lu hastaların izole edilmelerine gerek yoktur. Ancak virusun İM sonrası aylarca kanda bulunabileceği düşünülerek hastaların en az 6 ay süre ile kan vermemesi önerilmektedir.

## **Aşı çalışmaları**

Virusun bir yüzey proteini olan gp 350 ile aşı çalışmaları yapılmaktadır ve bununla hayvanlarda lenfomaya karşı korunma sağlanmıştır. Rekombinan DNA teknolojisi kullanılarak aşı geliştirme çalışmaları sürmektedir (48).

## MATERYAL VE METOD

Mart 2003-Haziran 2003 tarihleri arasında SSKB Göztepe Eğitim Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğine boğaz ağrısı, servikal lenfadenopati ve ateş şikayetiyle başvuranlardan rastgele seçilen 65 çocuktan kan örnekleri alındı. Ayrıca yakınması olmayanlardan rastgele seçilen 35 çocuktan da kontrol grubunu oluşturmak üzere kan örnekleri alındı. Alınan kanların serumları aynı gün ayrılarak, çalışma gününe kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Böylece, 0-18 yaş aralığında olan toplam 100 çocuk çalışmaya alındı.

Alınan serum örnekleri monospot test kullanılarak heterofil antikorlar yönünden, ELISA ve IFA yöntemleri kullanılarak spesifik EBV VCA IgG ve IgM antikorları açısından değerlendirildi.



# **İNFEKSİYÖZ MONONÜKLEOZ LATEX TEST (TECO DIAGNOSTICS)**

İM lateks test İM'a eşlik eden insan heterofil antikorlarının kantitatif ve semi kantitatif tayininde kullanılır.

## **PRENSİPLER**

İM lateks test sığır eritrositlerinden parsiyel olarak pürifiye edilmiş, glikoprotein ile kaplı polistiren lateks partiküllerinin bir süspansiyonudur.

İM ile ilişkili olan heterofil antikorlar lateks üzerine kaplanmış olan glikoproteindeki antijenik determinantlara bağlanır. Sığır eritrositleri glikoprotein pürifikasyonunun bir sonucu olarak kaplı lateks partikülleri Forssman veya serum hastalığı antikorları ile aglutine olmaz. Böylece farklı bir absorpsiyon gerektirmez.

## **Kitin içeriği**

- 1- İM lateks test sığır eritrositlerinden parsiyel olarak pürifiye edilmiş, glikoprotein ile kaplı polistiren lateks partiküllerinin süspansiyonudur.
- 2- İM pozitif kontrol
- 3- İM negatif kontrol
- 4- Damlalık
- 5- Cam lam

### **Testin yapılışı**

- 1- Serum örnekleri ve reaktifler oda ısısına getirildi.
- 2- Lam üzerinde ayrı bölgelere birer damla pozitif ve negatif kontrollerden damlatıldı. Bu damlaların üzerine birer damla resüspanse edilmiş İM lateksten eklendi.
- 3- Hasta serumları lam üzerine ayrı bölgelere birer damla damlatıldı. Üzerlerine İM lateks'ten birer damla damlatıldı.
- 4- Her bir karışım için ayrı bir çubuk yardımıyla karışımlar lam üzerine yaydırılıp karıştırıldı.
- 5- Lam 3 dakika rotatorda çevrildi ve hemen sonra direk güneş ışığında okundu.
- 6- Aglütinasyon varlığı pozitif, yokluğu negatif sonuç olarak değerlendirildi.

### **ELISA yöntemi ile anti EBV VCA IgM tayini**

(ELISA IgM, 96 test, Equipar Diagnostici)

Kitte bulunan mikrokuyucuklar sentetik EBV VCA antijenleri ile kaplanmıştır. Solid fazda bulunan bu antijenler, hasta serumunda eğer bu antijenlere spesifik antikorlar varsa, bunlarla birleşir ve solid faza bağlı bir antijen-antikor kompleksi meydana gelir. Yıkama işleminden sonra ortama konjugat ilave edilir. Konjugat solid faza bağlı bulunan antijen antikor kompleksine bağlanır. Yıkama işlemi yapıldıktan sonra ortama substrat/kromojen solüsyonu eklenir. Substrat/kromojen katı fazda fikse olmuş antijen-antikor-konjugat üçlüsündeki konjugata bağlanır. Sonuçta sarı renk meydana gelir. Oluşan renklenme ELISA spektrofotometresinde okunur.

Eğer serumda spesifik antikor yoksa antijen-antikor kompleksi oluşmaz ve ortama konan konjugat ve substrat/kromojen katı faza bağlanamayarak yıkama işlemiyle ortamdaki atılır. Renklenme meydana gelmez.

## **Kitte Bulunanlar**

- 1- Sentetik EBV VCA IgM ile kaplı mikrokuyucukları içeren stripler
- 2- Enzim konjugat: HRP (horseradish peroksidaz) bağlanmış, IgM antikoruna karşı oluşmuş spesifik anti insan immünglobulini
- 3- Konjugat dilüenti
- 4- Yıkama solüsyonu: PBS/Tween içerir.
- 5- Kromojen: Aktivatörler ve stabilizatörlerle birlikte tetrametibenzidin (TMB) içerir.
- 6- Substrat: Fosfat sitrat ile dilüe edilmiş hidrojen peroksit içerir.
- 7- Stop solüsyonu: 1 N HCL içerir.
- 8- Negatif kontrol: Anti EBV VCA IgM antikoruna içermeyen, kullanıma hazır insan serumu
- 9- Pozitif kontrol: Anti EBV VCA IgM antikoruna içeren, kullanıma hazır insan serumu
- 10- Serum dilüenti
- 11- Nötralizan reaktif: RF pozitif serumları nötralize etmek için kullanılır.
- 12- Streç film: İnkübasyon sırasında çukurların üzerini kapatmak için kullanılır.

## **Testin Yapılışı**

- 1- Reaktiflerin sulandırılması

Yıkama solüsyonu: Distile su ile 1:20 oranında sulandırıldı.

Konjugat: Konsantre konjugat vortekste karıştırıldı ve 1:20 oranında konjugat dilüent ile dilüe edildi. Kullanımdan önce vortekste karıştırıldı.

Kromojen/substrat: Kromojen ve substrat eşit miktarlarda plastik bir tüp içinde karıştırıldı.



- 2- Oda ısısına getirilmiş olan hasta serumları 1:101 oranında serum dilüenti ile dilüe edildi.
- 3- Blank A1 dışındaki tüm kuyucuklara 50 µl n trolizan reaktifi kondu.
- 4- Kuyucuklardan ilki boş bırakıldı. İkinci ve  c nc  kuyucuğa pozitif ve negatif kontrol serumları, diğer kuyucuklara da hasta serumları 100'er µl kondu.
- 5- Kuyucukların  zeri film tabakasıyla kaplandı ve 60 dakika 37°C'de inkübe edildi.
- 6- Otomatik yıkama sistemi ile kuyucuklar 4-5 defa yıkandı.
- 7- Blank A2 dışındaki tüm kuyucuklara dilüe edilmiş konjugattan 100'er µl kondu.
- 8- Kuyucukların  zeri film tabakasıyla kaplandı ve 60 dakika 37°C'de inkübe edildi.
- 9- Otomatik yıkama sistemi ile kuyucuklar 4-5 defa yıkandı.
- 10- 1:1 oranında karıştırılmış olan kromojen/substrat reaktifinden tüm kuyucuklara 100'er µl kondu.
- 11- Kuyucukların  zeri film tabakasıyla kaplandı ve karanlıkta, oda ısısında, 20 dakika inkübe edildi.
- 12- Tüm kuyucuklara 100'er µl stop solüsyonu kondu.
- 13- Meydana gelen renklenme spektrofotometrede 450 nm'de okundu.

## **Kalite Kontrolü**

- 1- A1 Blank 0.100'den düşük olmalıdır.
- 2- 450 nm'de negatif kontrolün ortalama değeri A1 Blank karşı 0.200'ün altında olmalı
- 3- 450nm'de pozitif kontrolün ortalama değeri 0.500'ün üzerinde olmalı.

## **Değerlendirme**

Kitte belirtilen formül ile cutt-off değeri 0.316 olarak belirlendi.

450 nm'de değerlendirilen serumlardan cutt-off'un altında olanlar negatif, üstünde olanlar pozitif olarak kabul edildi.

## **ELISA yöntemi ile EBV VCA IgG tayini**

(ELISA IgG, 96 testlik, EQıpar Diagnostici)

Kitte bulunan mikrokuyucuklar viral kapsid antijeninden derive edilmiş, sentetik EBV VCA antijenleri ile kaplanmıştır. Solid fazda bulunan bu antijenler, 1. inkübasyonda eğer dilüe edilmiş hasta serumunda bu antijenlere spesifik antikorlar (anti VCA IgG) varsa bunlarla birleşir ve solid faza bağlı bir antijen-antikor kompleksi meydana gelir. Yıkama işleminden sonra 2. inkübasyonda bağlı anti VCA IgG peroksidazla işaretlenmiş anti insan IgG'nin eklenmesiyle tespit edilebilir hale gelir. Substrat/kromojen karışımının eklenmesiyle serumdaki anti VCA IgG miktarına göre optik sinyal yayılır.

Eğer serumda spesifik antikor yoksa antijen-antikor kompleksi oluşmaz ve ortama konan konjugat ve substrat/kromojen katı faza bağlanamayarak yıkama işlemiyle ortamdaki atılır. Renklenme meydana gelmez.

### **Kitte bulunanlar**

- 1- Viral kapsid antijeninden saflaştırılarak elde edilmiş sentetik EBV antijeni ile kaplı mikrokuyucuklar
- 2- Enzim konjugat:HRP ile işaretlenmiş spesifik anti insan IgG antikoru içeren proteik buffer solüsyonu
- 3- Konjugat dilüenti
- 4- Yıkama solüsyonu: Fosfat buffer ve Tween 20 içerir.
- 5- Kromojen: Fosfat/sitrat buffer ile dilüe edilmiş, aktivatör ve stabilizatörlerle birlikte tetrametilbenzidin içeren bir solüsyondur.
- 6- Substrat: Fosfat/sitrat buffer ile dilüe edilmiş stabilize hidrojen peroksit içeren bir solüsyondur.
- 7- Stop solüsyonu: 1 N HCl içerir.
- 8- Serum dilüenti:
- 9- Kalibrasyon eğrisi: Arbitrary ünitelerinde kalibre edilmiş, kullanıma hazır standartları içerir: 0-5-10-20-50-100 Uarb/ml.

### **Reaktiflerin Hazırlanması**

- 1- Yıkama solüsyonu: Konsantre haldeki solüsyon kullanımdan önce ELISA grade suyu ile 20 defa dilüe edildi.
- 2- Konjugat: Konjugat dilüenti ile 1:20 oranında dilüe edildi.
- 3- Kromojen/substrat: Kullanımdan yaklaşık 5 dakika önce bir plastik tüpte bir ölçü kromojen, bir ölçü substrat olacak şekilde hazırlandı.



### **Testin yapılışı**

- 1- İlk kuyucuk boş bırakıldı. Sonraki kuyucuklara standartlar kondu. Standartlardan sonraki kuyucuklara 1:101 oranında serum dilüenti ile dilüe edilmiş serumlar kondu.
- 2- Mikroplak kuyucuklarının üzeri yapışkan film ile örtülerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
- 3- Otomatik yıkama sistemi ile kuyucuklar 4-5 defa yıkandı.
- 4- A1 dışındaki tüm kuyucuklara 100µl dilüe edilmiş konjugat eklendi.
- 5- Mikroplak kuyucuklarının üzeri yapışkan film ile örtülerek 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
- 6- A1 ve diğer tüm kuyucuklara 100µl kromojen/substrat karışımı eklendi.
- 7- Mikroplak kuyucuklarının üzeri yapışkan film ile örtülerek, oda ısısında 20 dakika karanlıkta inkübe edildi.
- 8- Enzimatik reaksiyonu durdurmak için A1 ve diğer tüm kuyucuklara 100µl stop solüsyonu eklendi.
- 9- Deney plağı ELISA mikroplak okuyucusunda 450 nm dalga boyunda okundu.

### **Testin değerlendirilmesi**

- 1- 450 nm'de okunan A1 blank 0.100'den düşük olmalıdır.
- 2- 450 nm'de okunan 0 Uarb/ml standart 0.200'den düşük olmalıdır.
- 3- 450 nm'de okunan 100 Uarb/ml standart 1000'in üzerinde olmalıdır.
- 4- 450 nm'de okunan 5 Uarb/ml standardın değeri 0 Uarb/ml standart değerinden daha yüksek olmalıdır.

5 Uarb/ml değerinden (0.210) yüksek değerler pozitif, düşük değerler negatif olarak kabul edildi.

## **İNDİREKT İMMÜNFLORESAN YÖNTEMİ**

**(EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika GmbH)**

### **EBV VCA antikörlerinin belirlenmesi (IgG/IgM)**

Hasta serumunda bulunan antikörleri saptamak üzere planlanmış bir yöntemdir. Standardize antijen (mikroorganizma ile infekte hücre kültürü) lama fikse edilir. Hasta serumu sulandırılır ve lam üzerine tabaka halinde konarak inkübe edilir. Bağlanmamış antikörler yıkama ile uzaklaştırıldıktan sonra floresan konjugat (FITC ile işaretli anti insan IgG/IgM) ile inkübe edilir. Hasta serumunda antikör mevcut ise konjugat, antikör antijen kompleksi ile birleşir ve floresan mikroskobu altında floresans verir.

EBV'nun VCA IgG/IgM antikörlerinin saptanmasında kullanılan kitin zellikleri: Lam zerinde HR1 Burkitt lenfositik hücreleri kaplanmış olup, optimal kontrast ve kolay değerlendirilebilme açısından hücrelerin yaklaşık %10-20'si viral antijeni eksprese edebilmektedir. Her alandaki hücrelerin %10-20'si yeşilimsi-sarı floresans verdiğinde reaksiyon pozitif kabul edilir.

### **Testin Prensipleri**

EBV'nu eksprese eden seçilmiş bir hücre serisi Biochip slide'ın reaksiyon bölgesiyle kaplanmıştır ve dilüe edilmiş serum örnekleri ile inkübe edilirler. Eğer serum EBV'a karşı spesifik IgG/IgM sınıfı antikörler varsa antijenlere bağlanır.

2. basamakta, yakalanmış olan antikörler floresan ile işaretli anti insan antikörleri ile renkli hale gelir ve floresan mikroskobunda görülebilir.

## **Kitte bulunanlar**

- 1- Biochip lamları: Her biri EBV virusu ile infekte hücrelerle kaplıdır.
- 2- Floresan ile işaretli, Evans mavili anti insan IgG/IgM antikoru: Konsantre haldedir. 1:5 oranında dilüe edilmelidir.
- 3- Pozitif kontrol: Kullanıma hazırdır.
- 4- Negatif kontrol: Kullanıma hazırdır.
- 5- Fosfat buffer: 2 paket. Her bir paket 1 litre distile suda çözülür.
- 6- Mounting medium

## **Testin yapılışı**

Serumlar, serum dilüenti ile 1:10 ve katları oranlarında takip eden dilüsyonlar şeklinde PBS-Tween solüsyonu ile dilüe edildi.

- 1- Reagent support kontrol edildi.
- 2- Serumlar PBS-Tween solüsyonu ile dilüe edildi.
- 3- Reagent supporttaki her reaksiyon alanına 25 µl dilüe edilmiş serum kondu.
- 4- Biochip lamları reagent support üzerine koyduğumuz zaman reaksiyon başlar.  
Karşılıklı gelip gelmedikleri kontrol edildi.
- 5- Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
- 6- Biochip lamlar PBS-Tween solüsyonu ile dolu küvette 5 dakika bekletildi.  
Rotator ile karıştırıldı.
- 7- Temiz bir reagent supporttaki her bir reaksiyon alanına 20 µl floresan ile işaretlenmiş anti insan IgG'si eklendi.
- 8- Biochip lamlar 5 dakika beklettiğimiz PBS-Tween solüsyonu ile dolu küvetten alındı. Floresan ile işaretlenmiş anti insan IgG'nin bulunduğu reagent support ile birleştirildi ve oda ısısında karanlıkta 30 dakika inkübe edildi.



9- Biochip lamlar ikinci defa PBS-Tween solüsyonu ile dolu küvette 5 dakika bekletildi. Her bir 150 ml fosfat buffer için 10 damla Evans mavisi damlatıldı.

10-Her bir reaksiyon alanına 10 µl gliserol-PBS damlatıldı. Biochip lamlar küvetten çıkarılıp tüm kenarları kurulanır. Reaksiyon alanına dokunulmadı. Biochip lamların yüzü yukarı gelecek şekilde kondu. Üzeri lamel ile kapatıldı ve Mounting medium damlatıldı..

11-Floresan mikroskobu ile okundu.

12-1:10 dilüsyonda reaksiyon veren serumlar negatif, 1:10 dilüsyonun üzerindeki pozitif kabul edildi.

## **İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Tüm istatistiki değerlendirmeler, Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows 10.0 programı ile yapıldı. İstatistiki analizde Student t testi, ki-kare testi, Mc Nemar ki-kare testi ve Pearson korelasyon testi kullanıldı. Sonuçlar,  $p < 0,05$  ise istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Yaşları 0-18 yaş arasında değişmekte olan 100 vakanın kronolojik yaş ortalaması  $7.11 \pm 4.7$  yıl idi. 36'sı kadın, 64'ü erkekti. Vakaların 65'i boğaz ağrısı, ateş, servikal lenfadenopati gibi semptomlarının varlığı nedeniyle semptom pozitif grubu oluşturdu. Hiçbir yakınması olmayan 35 vaka ise semptom negatif (kontrol) grubunu oluşturdu. Semptom pozitif grubun 19'u kadın, 46'sı erkekti. Semptom negatif grubun 17'si kadın, 18'i erkekti. Semptom pozitif grubun yaş ortalaması  $8.03 \pm 5.0$  yıl, semptom negatif grubun yaş ortalaması  $6.34 \pm 4.3$  yıl idi ( $p > 0.05$ ) (Tablo 9).

**Tablo 9 - Çalışmaya alınan vakaların genel karakteristik özellikleri**

	Semptom (+) grup	Semptom (-) grup	Toplam
<b>n</b>	<b>65</b>	<b>35</b>	<b>100</b>
<b>Kronolojik yaş (yıl)</b>	<b>8.03±5.0</b>	<b>6.34±4.3</b>	<b>7.11±4.7</b>
<b>Cinsiyet (K/E)</b>	<b>19/46</b>	<b>17/18</b>	<b>36/64</b>

Semptom pozitif vakaların 1'inde Monotest pozitif bulundu. EBV VCA IgM, IFA yöntemiyle 2 vakada ve ELISA yöntemiyle ise 3 vakada pozitif olarak bulundu. Semptom negatif grupta ise bu testlerde pozitiflik saptanmadı (Tablo 10).

Toplam 1 vakada Monotest ile, 2 vakada IFA ile, 3 vakada ELISA ile IgM pozitifliği saptandı. Monotest ile pozitif bulunan vakanın EBV VCA IgM'i IFA ve ELISA yöntemleriyle pozitif bulunmuştur. IFA ve ELISA ile IgM'i pozitif bulunan vakaların Monotesti negatif saptanmıştır.



**Tablo 10 – Monotest ve EBV VCA Ig M pozitifliği açısından semptom (+) ve kontrol gruplarının karşılaştırılması**

	Semptom (+) grup	Semptom (-) grup	p	Toplam
<b>Monotest pozitifliği</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>&gt; 0.05</b>	<b>1 (%1)</b>
<b>IFA IgM pozitifliği</b>	<b>2</b>	<b>-</b>	<b>&gt; 0.05</b>	<b>2 (%2)</b>
<b>ELISA IgM pozitifliği</b>	<b>3</b>	<b>-</b>	<b>&gt; 0.05</b>	<b>3 (%3)</b>

**Tablo 11 – EBV VCA Ig G pozitifliği açısından semptom (+) ve kontrol gruplarının karşılaştırılması**

	Semptom (+) grup	Semptom (-) grup	p	Toplam
<b>IFA IgG pozitifliği</b>	<b>54 (%83.1)</b>	<b>29 (%82.9)</b>	<b>&gt; 0.05</b>	<b>83 (%83)</b>
<b>ELISA IgG pozitifliği</b>	<b>51 (%78.5)</b>	<b>23 (%65.7)</b>	<b>&gt; 0.05</b>	<b>74 (%74)</b>

EBV VCA IgG, vakaların 83'ninde (%83) IFA yöntemiyle, 74'sinde (%74) ELISA yöntemiyle pozitif bulundu. IFA yöntemiyle semptom pozitif grubun 54'ünde (%83.1), semptom negatif grubun 29'unda (%82.9) EBV VCA IgG pozitifliği saptandı ( $p>0.05$ ). ELISA yöntemiyle semptom pozitif grubun 51'inde (%78.5), semptom negatif grubun ise 23'ünde (%65.7) EBV VCA IgG pozitif bulundu ( $p>0.05$ ) (Tablo 11).

**Tablo 12-** IFA ve ELISA yöntemlerine göre EBV VCA IgG sonuçlarının karşılaştırılması

	IFA IgG (-)	IFA IgG (+)	Toplam
<b>ELISA IgG (-)</b>	16	10	26 (%26)
<b>ELISA IgG (+)</b>	1	73	74 (%74)
<b>Toplam</b>	17 (%17)	83 (%83)	100 (%100)

IFA yöntemiyle EBV VCA IgG 83 (%83) vakada pozitif bulunurken, ELISA yöntemiyle EBV VCA IgG 74 (%74) vakada pozitif bulundu. İki yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p<0.05$ ). EBV VCA IgG, 10 vakada IFA yöntemiyle pozitif bulunduğu halde ELISA yöntemiyle negatif bulundu. Ayrıca 1 vakada da ELISA yöntemiyle pozitif bulunmuş iken IFA yöntemiyle negatif bulundu.

IFA yöntemine göre ELISA yönteminin duyarlılığının %88 ve özgüllüğünün % 94 olduğunu saptadık (Tablo 12).

**Tablo 13-** IFA ve ELISA yöntemlerine göre EBV VCA IgM sonuçlarının karşılaştırılması

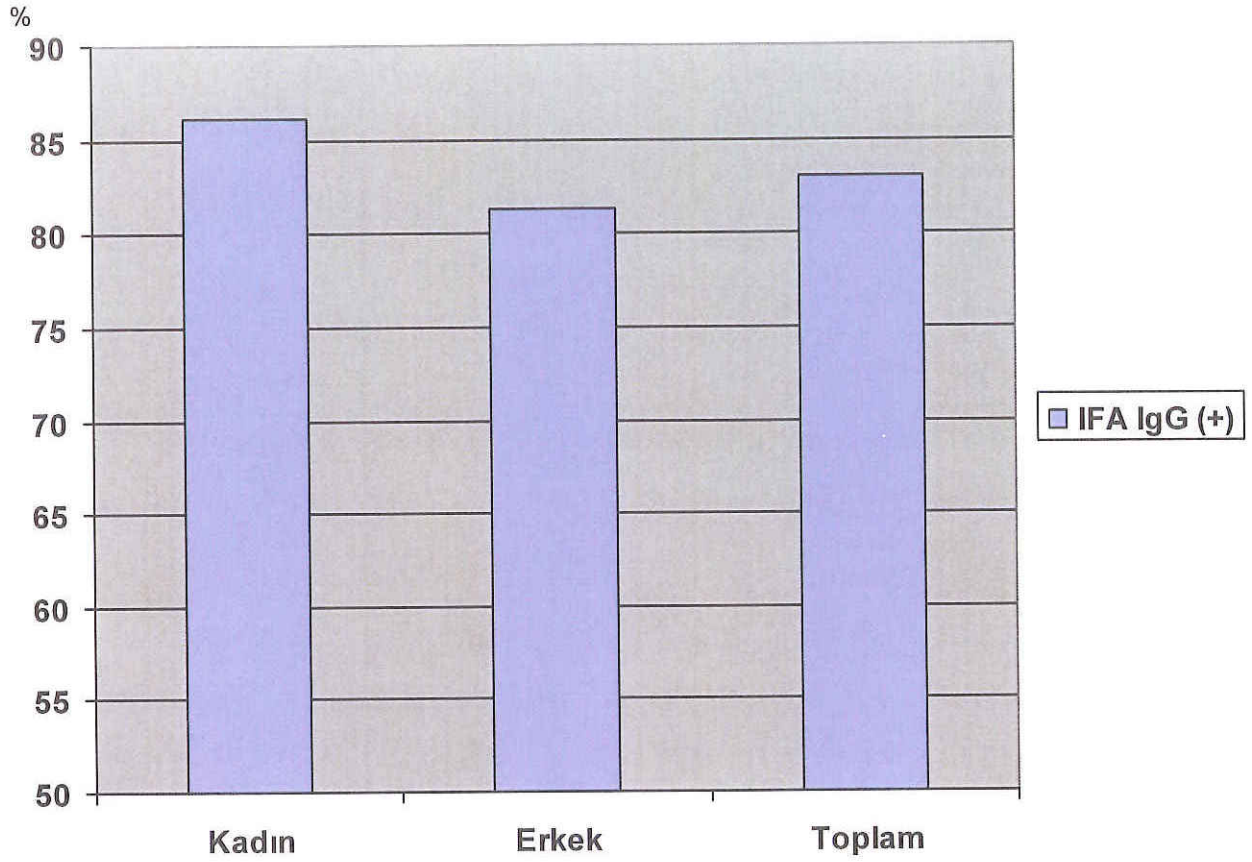
	IFA IgM (-)	IFA IgM (+)	Toplam
ELISA IgM (-)	97	-	97 (%97)
ELISA IgM (+)	1	2	3 (%3)
Toplam	98 (%98)	2 (%2)	100 (%100)

EBV VCA IgM, IFA yöntemiyle 2 vakada ve ELISA yöntemiyle ise 3 vakada pozitif bulundu ( $p>0.05$ ). 2 vaka her iki yöntemle de pozitif saptanırken, 1 vaka ELISA yöntemi ile pozitif, IFA yöntemi ile negatif bulundu. 97 vaka her iki yöntemle negatif bulundu. ELISA yöntemiyle negatif bulunup IFA yöntemiyle pozitif bulunan vaka yoktu (Tablo 13).

IFA yöntemiyle EBV VCA IgG'nin negatif olduğu vakaların 5'i kadın, 14'si erkekti. Aynı yöntemle pozitif bulunan vakaların 31'i kadın, 52'si erkekti ( $p>0.05$ ) (Şekil 3).

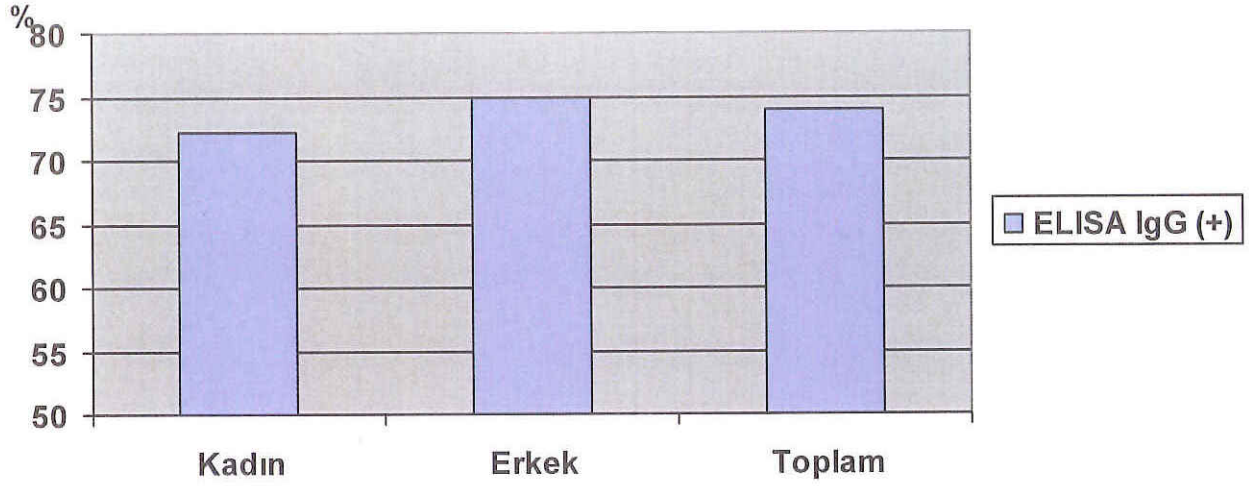
ELISA yöntemiyle EBV VCA IgG'nin negatif olduğu vakaların 10'u kadın, 16'sı erkekti. Aynı yöntemle pozitif bulunan vakaların 26'sı kadın, 48'i erkekti ( $p>0.05$ ) (Şekil 4).



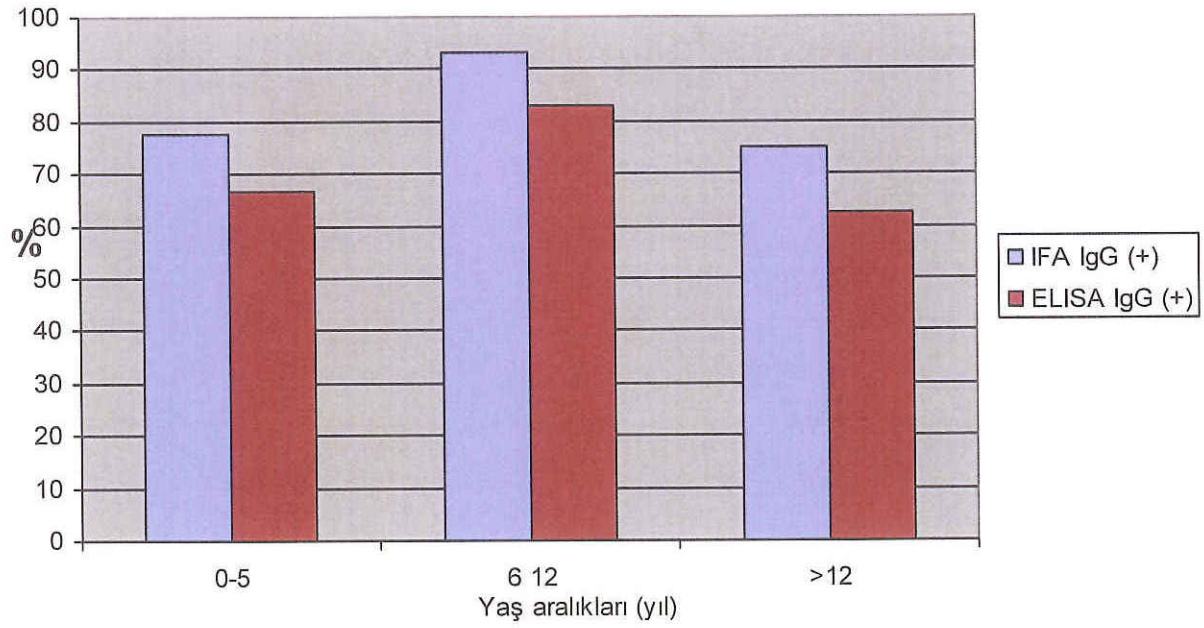


**Şekil 3-** IFA yöntemiyle cinsiyete göre EBV VCA IgG seropozitiflik oranları

IFA yöntemiyle EBV VCA IgG, 0-5 yaş arasında 21 (%77.8) vakada, 6-12 yaş arasında 27 (%93.1) vakada, 12 yaş üzerinde 6 (%75) vakada pozitif bulundu. ELISA yöntemiyle EBV VCA IgG, 0-5 yaş arasında 18 (%66.7) vakada, 6-12 yaş arasında 24 vakada (%82.8), 12 yaş üzerinde 5 (%62.5) vakada pozitif bulundu. Kategorik yaş grupları arasında IgG seropozitifliği açısından her iki yöntemde de istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ) (Şekil 5).

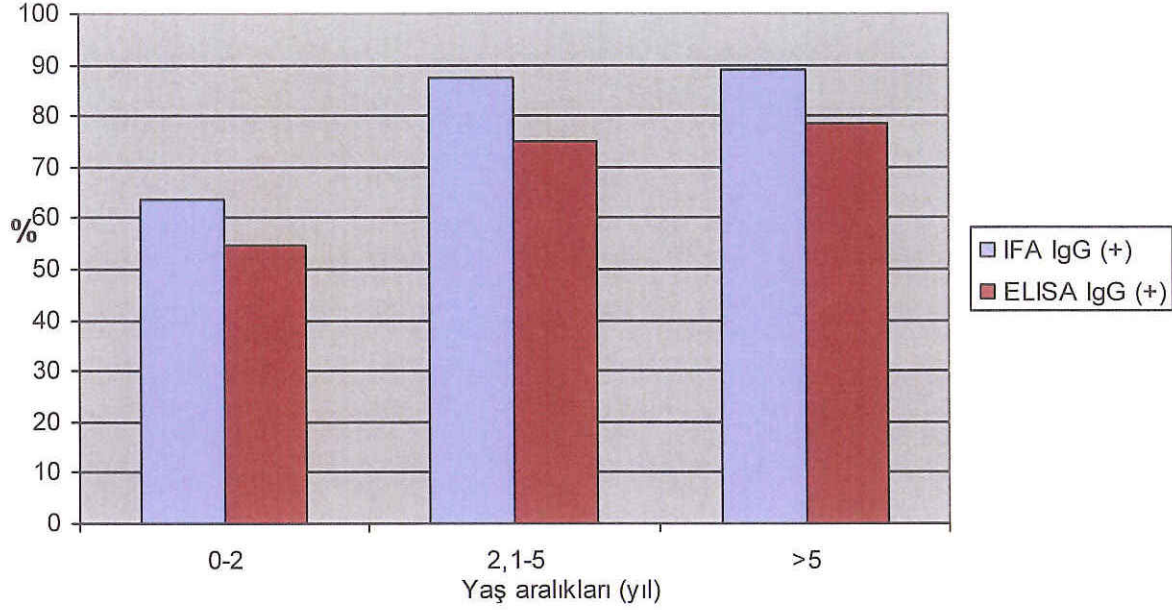


Şekil 4- ELISA yöntemiyle cinsiyete göre EBV VCA IgG seropozitiflik oranları



Şekil 5- Kategorik yaşa göre IFA ve ELISA yöntemleriyle EBV VCA IgG seropozitiflik oranları

IFA yöntemiyle EBV VCA IgG, 0-2 yaş arasında 7 (%63.6) vakada, 2-5 yaş arasında 14 (%87.5) vakada, 5 yaş üzerinde 33 (%89.2) vakada pozitif bulundu. ELISA yöntemiyle EBV VCA IgG, 0-2 yaş arasında 6 (%54.5) vakada, 2-5 yaş arasında 12 (%75) vakada, 5 yaş üzerinde 29 (%78.4) vakada pozitif bulundu (Şekil 6).



**Şekil 6-** Kategorik yaşa göre IFA ve ELISA yöntemleriyle EBV VCA IgG seropozitiflik oranları



## ÇALIŞMA VAKALARININ IFA ve ELISA SONUÇLARI

No	Monotest	EBV VCA IgG		EBV VCA Ig M	
		IFA (Dilüsyonda)	ELISA	IFA (Dilüsyonda)	ELISA
1.	Negatif	1/320	3.878	Negatif	Negatif
2.	Negatif	1/320	3.808	Negatif	Negatif
3.	Negatif	1/40	Negatif	Negatif	Negatif
4.	Negatif	1/320	3.175	Negatif	Negatif
5.	Negatif	1/320	3.002	Negatif	Negatif
6.	Pozitif	Negatif	Negatif	1/160	0.510
7.	Negatif	1/320	2.980	Negatif	Negatif
8.	Negatif	1/160	1.756	Negatif	Negatif
9.	Negatif	1/320	3.875	1/160	0.512
10.	Negatif	1/320	3.575	Negatif	Negatif
11.	Negatif	1/320	3.758	Negatif	Negatif
12.	Negatif	1/80	0.972	Negatif	Negatif
13.	Negatif	1/20	Negatif	Negatif	Negatif
14.	Negatif	1/40	1.119	Negatif	Negatif
15.	Negatif	1/320	3.716	Negatif	Negatif
16.	Negatif	1/40	0.996	Negatif	Negatif
17.	Negatif	1/160	2.109	Negatif	Negatif
18.	Negatif	1/320	3.566	Negatif	Negatif
19.	Negatif	1/320	3.444	Negatif	Negatif
20.	Negatif	1/320	3.466	Negatif	Negatif
21.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
22.	Negatif	1/320	3.495	Negatif	Negatif

No	EBV VCA IgG		EBV VCA Ig M		
	Monotest	IFA (Dilüsyonda)	ELISA	IFA (Dilüsyonda)	ELISA
23.	Negatif	1/80	1.356	Negatif	Negatif
24.	Negatif	1/160	1.829	Negatif	Negatif
25.	Negatif	1/20	0.556	Negatif	Negatif
26.	Negatif	1/20	0.623	Negatif	Negatif
27.	Negatif	1/320	3.089	Negatif	Negatif
28.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
29.	Negatif	1/320	3.526	Negatif	Negatif
30.	Negatif	1/320	3.581	Negatif	Negatif
31.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
32.	Negatif	1/320	3.718	Negatif	Negatif
33.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
34.	Negatif	1/40	0.601	Negatif	Negatif
35.	Negatif	1/20	0.286	Negatif	Negatif
36.	Negatif	1/20	Negatif	Negatif	0.516
37.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
38.	Negatif	1/320	3.414	Negatif	Negatif
39.	Negatif	1/320	3.435	Negatif	Negatif
40.	Negatif	1/320	3.368	Negatif	Negatif
41.	Negatif	1/320	3.413	Negatif	Negatif
42.	Negatif	1/40	0.842	Negatif	Negatif
43.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
44.	Negatif	1/320	3.178	Negatif	Negatif
45.	Negatif	1/320	2.998	Negatif	Negatif

No	EBV VCA IgG		EBV VCA Ig M		
	Monotest	IFA (Dilüsyonda)	ELISA	IFA (Dilüsyonda)	ELISA
46.	Negatif	1/320	2.925	Negatif	Negatif
47.	Negatif	1/320	3.262	Negatif	Negatif
48.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
49.	Negatif	1/160	2.175	Negatif	Negatif
50.	Negatif	1/320	3.646	Negatif	Negatif
51.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
52.	Negatif	1/20	0.412	Negatif	Negatif
53.	Negatif	1/40	1.051	Negatif	Negatif
54.	Negatif	1/320	3.521	Negatif	Negatif
55.	Negatif	1/320	3.412	Negatif	Negatif
56.	Negatif	1/160	1.619	Negatif	Negatif
57.	Negatif	1/160	2.683	Negatif	Negatif
58.	Negatif	1/160	1.895	Negatif	Negatif
59.	Negatif	Negatif	0.316	Negatif	Negatif
60.	Negatif	1/40	0.614	Negatif	Negatif
61.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
62.	Negatif	1/320	3.681	Negatif	Negatif
63.	Negatif	1/320	3.275	Negatif	Negatif
64.	Negatif	1/320	3.314	Negatif	Negatif
65.	Negatif	1/160	Negatif	Negatif	Negatif
66.	Negatif	1/160	2.309	Negatif	Negatif
67.	Negatif	1/320	3.415	Negatif	Negatif
68.	Negatif	1/40	0.889	Negatif	Negatif



<u>No</u>	<u>Monotest</u>	<b>EBV VCA IgG</b>		<b>EBV VCA Ig M</b>	
		<b>IFA (Dilüsyonda)</b>	<b>ELISA</b>	<b>IFA (Dilüsyonda)</b>	<b>ELISA</b>
69.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
70.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
71.	Negatif	1/320	3.258	Negatif	Negatif
72.	Negatif	1/20	Negatif	Negatif	Negatif
73.	Negatif	1/320	3.330	Negatif	Negatif
74.	Negatif	1/320	3.429	Negatif	Negatif
75.	Negatif	1/320	3.214	Negatif	Negatif
76.	Negatif	1/320	3.287	Negatif	Negatif
77.	Negatif	1/320	3.213	Negatif	Negatif
78.	Negatif	1/80	1.486	Negatif	Negatif
79.	Negatif	1/320	3.234	Negatif	Negatif
80.	Negatif	1/320	3.381	Negatif	Negatif
81.	Negatif	1/80	1.083	Negatif	Negatif
82.	Negatif	1/40	0.314	Negatif	Negatif
83.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
84.	Negatif	1/320	3.416	Negatif	Negatif
85.	Negatif	1/80	Negatif	Negatif	Negatif
86.	Negatif	1/320	3.502	Negatif	Negatif
87.	Negatif	1/320	3.485	Negatif	Negatif
88.	Negatif	1/320	3.431	Negatif	Negatif
89.	Negatif	1/20	Negatif	Negatif	Negatif
90.	Negatif	1/20	Negatif	Negatif	Negatif
91.	Negatif	1/320	2.997	Negatif	Negatif

<b>No</b>	<b>Monotest</b>	<b>EBV VCA IgG</b>		<b>EBV VCA Ig M</b>	
		<b>IFA (Dilüsyonda)</b>	<b>ELISA</b>	<b>IFA (Dilüsyonda)</b>	<b>ELISA</b>
92.	Negatif	1/320	2.073	Negatif	Negatif
93.	Negatif	1/320	3.118	Negatif	Negatif
94.	Negatif	1/20	Negatif	Negatif	Negatif
95.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
96.	Negatif	1/320	2.792	Negatif	Negatif
97.	Negatif	1/20	Negatif	Negatif	Negatif
98.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
99.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
100.	Negatif	1/320	3.636	Negatif	Negatif

## TARTIŞMA

EBV tüm dünyada yaygın olarak bulunan bir herpesvirustur. EBV infeksiyonları çeşitli ülkelerde, farklı sosyoekonomik düzeylerdeki gruplarda, değişik yaşlarda kazanılmakta ve bu durum klinik prezentasyonu etkileyebilmektedir (49).

EBV IgG antikor sıklığını etkileyen başlıca faktörler toplumun yaşam koşulları, hijyen şartları ve kültür düzeyidir. Klinik İM sıklığı ise infeksiyona maruz kalma yaşı, bireyin immün sistemi ve genetik durumu ile ilgilidir. EBV infeksiyonu, sosyoekonomik düzeyi düşük kişilerde erken yaşlarda ve genellikle asemptomatik olurken, yüksek sosyoekonomik düzeyli ve gelişmiş toplumlarda daha geç yaşlarda görülmektedir (50).

Çin'de çeşitli hastalıklar nedeniyle çocuk hastanesine başvuran 94 çocuktan alınan serumlarda EBV IgG antikor sıklığı araştırılmış ve 1. yaş sonunda %78.6, 3. yaşta %80.7 oranında bildirilmiştir (49).

Uganda'da 0-1 yaş arasında %83.9, 2-3 yaş arasında %89.4 sıklığında EBV IgG pozitifliği bildirilmiştir (51).

Chan ve arkadaşlarının Hong Kong'ta yaptığı bir çalışmada ilk iki yaştaki serokonversiyon oranı %60.6 bulunmuştur ( 52)

İngiltere'de yapılan bir çalışmada 4 yaş altında ortalama %50 oranında EBV IgG antikor sıklığının daha sonraki yaşlarda azaldığı ve 15-24 yaşlarında tekrar %81'e yükselerek yaşla beraber yavaşça arttığı, cinsiyete göre antikor sıklığının



değişmediği bildirilmektedir (53). Bizim çalışmamızda da EBV IgG pozitifliği açısından cinsiyete göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Crowcroft ve arkadaşlarının Edinburg'ta, okul çağı çocuklarında yaptıkları seroepidemiolojik çalışmada %56 oranında EBV antikorlarına rastlanmıştır (54).

Gelişmiş ülkelerde seroepidemiolojik çalışmalarda genel olarak 4-24 aylar arasında insidansın düşük olduğu, 2-7 yaşları arasında antikor sıklığının hızla arttığı, yüksek sosyoekonomik düzeyli ailelerdeki genç erişkinlerde 2. bir pik yaptığı ve erişkinlerde ortalama %80-90 oranında EBV IgG antikor pozitifliği saptandığı bildirilmiştir (55).

İspanya'da yapılan bir çalışmada Ferres ve arkadaşları iki yaşındaki sağlıklı kişilerde bu prevalansı sosyoekonomik düzeyi düşük ise %50, yüksek ise %5.9, totalde ise %76.7 olarak saptamışlardır. Her iki grubun 20 yaşındaki bireylerinde ise seroprevalansı %90 bulmuşlardır. Yüksek sosyoekonomik düzeydeki kişilerde EBV ile karşılaşmanın daha ileri yaşlara kaydığını belirtmişlerdir (56).

Bizim çalışmamızda 0-18 yaş arasındaki çocuklarda EBV VCA IgG antikor prevalansı IFA ile %83, ELISA ile %74 saptanmıştır. En yüksek pozitiflik oranı 6-12 yaş arasındadır (IFA ile %93.1, ELISA ile %82.8). Yaşla birlikte antikor sıklığının artışında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Çin'de yapılan bir çalışmada incelenen 94 çocuk arasında EBV VCA IgM pozitifliği %7.4 oranında bulunmuştur. Bu çalışmada IgM pozitiflik oranının en sık 3-5 yaşlarında olduğu bildirilmektedir (50). Bizim çalışmamızda Monotest ile 1(%1), IFA ile 2 (%2), ELISA ile 3 (%3) çocukta EBV IgM pozitifliği saptanmıştır. Bu vakaların yaş ortalaması 8.12 olarak bulunmuştur. EBV VCA IgM'i pozitif olan çocukların tamamı polikliniğe boğaz ağrısı, servikal lenfadenopati ve ateş şikayeti ile başvuran yani semptom pozitif olarak tanımladığımız grup arasından tespit edilmiştir. Ancak

çalışmamızda semptom pozitif ve semptom negatif grup arasında EBV VCA IgM pozitifliği açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu da boğaz ağrısı, servikal lenfadenopati ve ateşin IM tanısına götürmeye yeterli semptom ve bulgular olmadığını düşündürtebilir.

Klinik bulgular arasındaki benzerlikler nedeniyle pek çok hastalık, EBV enfeksiyonu ile karıştırılabilmektedir. EBV enfeksiyonuna kesin olarak tanı konulabilmesinde, uygulanmakta olan serolojik testlerin önemi büyüktür (57).

EBV'nun spesifik antikorlarını belirleyen serolojik testlerin gelişimi ile, hem heterofil antikor negatif IM geçiren hastalara tanı konulmakta, hem de heterofil antikor pozitif olup, IM'a benzer klinik semptomda hastalık geçirenleri birbirinden ayırmak mümkün olmaktadır.

EBV genellikle kendiliğinden iyileşen bir hastalıktır. Bunun yanında bazı durumlarda hastalık sırasında ciddi komplikasyonlar gelişebilmektedir. EBV enfeksiyonlarının bazen öldürücü olabilen sonuçları, insan yaşamındaki önemini arttırmaktadır (58). Bu da EBV'nun laboratuvar tanısındaki önemini daha belirgin hale getirmektedir.

Haque ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada IFA ve ELISA arasında %97 oranında uyumluluk saptanırken, ELISA IFA'ya göre daha az duyarlı bulunmuştur (59). Luka ve arkadaşlarının bir çalışmasında ELISA'nın IFA'ya göre daha az duyarlı olduğu (60). Dolken ve arkadaşlarının çalışmasında ise ELISA'nın IFA'dan daha duyarlı olduğu bulunmuştur (61).

EBV'na karşı oluşan antikorlar, konvansiyonel olarak IFA ile ölçülür. EBV enfeksiyonunun serolojik tanısında IFA, "gold standart" olarak kabul edilmektedir (5,57). Ancak nonspesifik immünfloresan boyanma, standardizasyondaki güçlükler, deneyimli eleman gerektirmesi, sonuçların yorumunun subjektif (59,62), zaman alıcı



ve zahmetli olması (çok sayıda serumun değerlendirilmesinde kullanımı pratik değildir ve pahalı ekipman gerektirir) nedeniyle EBV'nun sebep olduğu infeksiyonların tanısı için daha pratik testlerin geliştirilmesi zorunluluğu doğmuştur. Bu sebeplerle ticari olarak hazırlanmış ELISA kitleri ile 1980'li yılların sonlarından beri EBV spesifik antikorlarının tespiti yapılabilmektedir.

Farber ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada EBV VCA IgG ve IgM, ELISA ve IFA ile çalışılarak iki yöntem arasındaki uyuma bakılmış, ELISA yöntemlerinin VCA IgG için %95, VCA IgM için %94.4 oranında IFA ile uyumlu olduğu gösterilmiştir. IFA'ya göre ELISA'nın EBV VCA IgG için duyarlılığı %94, özgüllüğü % 97.8, EBV VCA IgM için duyarlılığı %97.1, özgüllüğü %96.5 bulunmuştur. (63).

IFA referans alınarak yapılan Bangladeş'teki bir çalışmada ELISA yönteminin duyarlılığı %96.3, özgüllüğü %100 bulunmuştur. (59).

Debyser ve arkadaşlarının IFA'yı altın standart olarak aldığı bir çalışmada; ELISA testlerinin EBV VCA IgM için duyarlılığı %88, özgüllüğü %98, EBV VCA IgG için duyarlılığı %99, özgüllüğü %96 bulunmuştur (40).

Fung ve arkadaşlarının çalışmasında ELISA ve IFA'nın EBV VCA IgM için %88, VCA IgG için %79 uyum gösterdiği saptanmıştır (57).

1996 yılında Weber ve arkadaşları EBV VCA IgM açısından 11 ELISA test kitini değerlendirmiş ve kitler arasında büyük farklar olduğunu bulmuşlardır (64). ELISA'nın performansının ticari kitler arasında farklılıklar gösterdiği çeşitli çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır (41,42).

Bizim çalışmamızda da EBV VCA IgG için IFA referans alınarak, ELISA'nın duyarlılığı %88, özgüllüğü %94 bulunurken, iki test arasındaki uyum %89 olarak saptanmıştır.



Sonuç olarak:

Konvansiyonel ve altın standart olarak kabul edilen bir yöntem olmasına rağmen IFA'yı, özellikle çok sayıda serumun çalışılmasında pratik bir yöntem olarak kabul etmek zordur. Çok sayıda serumun kullanıldığı seroepidemiolojik çalışmalarda ELISA, IFA yönteminin yerine kullanılabilir uygun bir alternatif olarak kabul edilebilir.

## ÖZET

Epstein-Barr virus'un (EBV) etken olduğu İnfeksiyöz mononükleoz (İM) tüm dünyada yaygın olarak görülen bir enfeksiyondur. Semptomatik seyrettiği durumlarda hastalığın başlıca belirtileri ateş, farenjit, lenfadenopati ve splenomegalidir. Ancak bu klinik belirtilerin yalnız İM'a özgü olmaması nedeniyle laboratuvar tanısı oldukça önem taşımaktadır. Çalışmamızda EBV enfeksiyonlarının laboratuvar tanısında kullanılan serolojik yöntemlerden İFA ve ELISA'nın karşılaştırılması olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Mart 2003-Haziran 2003 tarihleri arasında SSKB Göztepe Eğitim Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğine boğaz ağrısı, servikal lenfadenopati ve ateş şikayetiyle başvuranlardan rastgele seçilen 65 çocuktan ve yakınması olmayanlardan rastgele seçilen 35 çocuktan kan örnekleri alınmıştır. Alınan serum örnekleri Monospot test kullanılarak heterofil antikorlar yönünden, ELISA ve İFA yöntemleri kullanılarak spesifik EBV VCA IgG ve IgM antikorları açısından değerlendirilmiştir.

Yaşları 0-18 yaş arasında değişmekte olan ve kronolojik yaş ortalaması  $7.11 \pm 4.7$  yıl olarak bulunan 100 vakanın 36'sının kadın, 64'ünün erkek olduğu saptanmıştır. Vakaların 65'i boğaz ağrısı, ateş, servikal lenfadenopati gibi semptomlarının varlığı nedeniyle semptom pozitif grubu, hiçbir yakınması olmayan 35 vaka ise semptom negatif (kontrol) grubu oluşturmuştur. Semptom pozitif vakaların 1'inde mono test pozitif iken, EBV VCA IgM, İFA yöntemiyle 2 vakada, ELISA yöntemiyle ise 3 vakada pozitif olarak bulunmuştur. Semptom negatif grupta ise bu testlerde pozitiflik saptanmamıştır. EBV VCA IgG, İFA yöntemiyle 83 (%83) vakada

,ELISA yöntemiyle 74 (%74) vakada pozitif bulunurken, 10 vakada IFA yöntemiyle pozitif bulunduğu halde ELISA yöntemiyle negatif bulunmuştur. Ayrıca 1 vakada da ELISA yöntemiyle pozitif bulunmuşken IFA yöntemiyle negatif bulunmuştur. IFA yöntemine göre ELISA yönteminin duyarlılığının %88 ve özgüllüğünün % 94 olduğu saptanmıştır.

Konvansiyonel ve altın standart olarak kabul edilen bir yöntem olmasına rağmen IFA'yi, özellikle çok sayıda serumun çalışılmasında pratik bir yöntem olarak kabul etmek güçtür. Çok sayıda serumun kullanıldığı seroepidemiolojik çalışmalarda ELISA, IFA yönteminin yerine kullanılacak uygun bir alternatif olarak kabul edilebilir.



## KAYNAKLAR

- 1- Aaçfıdan A, Bozacı M, Badur S. Epstein-Barr virusu infeksiyonlarının tanısında kullanılan serolojik yöntemlerin değerlendirilmesi. Klimik Derg 1991;4(3):133-135.
- 2- Okana M, Thiele GM, Davis JR, Grierson HL, Purtilo DT. Epstein-Barr virus and human disease. Recent advances in diagnosis. Clin Microbiol Rev 1988;1:300-312.
- 3- Gallo D, Walen KH, Riggs JL. Improved immunofluorescence antigens for detection of immunoglobulin M antibodies to Epstein-Barr viral capsid antigen and antibodies to Epstein-Barr virus nuclear antigen. J Clin Microbiol 1982;15:243-248.
- 4- Granlund DJ, Levine PH, Fuccilo DA. Enzyme immunoassay for detection of antibody to Epstein-Barr virus spesifik early antigen. J Clin Microbiol 1979;10:747-751.
- 5- Shooley RT. Epstein-Barr virus (Infectious Mononucleosis) In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Churchill Livingstone. New York. 2000;128:1599-1612.
- 6- Özbal Y. Epstein-Barr virusu. In: Ustaçelebi Ő (eds). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi. Ankara 1999;843-848.
- 7- Arman D. İnfeksiyöz mononükleoz. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel tıp kitabevleri. İstanbul 2002;54:696-701.

- 8- Sumaya CV. Epstein-Barr virus. In: Feigin RD, Cherry JD (eds). Pediatric infectious diseases. W.B. Saunders Company. Philadelphia 1992;144:1547-1557.
- 9- Yenen OŞ, Mete Z. Epstein-Barr virus spesifik serolojisi üzerine bir çalışma. *İnfeksiyon Dergisi* 1988;2(2):233-240.
- 10- AAP 2000 Red Book. Epstein-Barr virus infections (Infectious Mononucleosis). Report of the committee on infectious diseases, 25th ed. American academy of pediatrics 2000:239-241.
- 11-Jabs WJ, Wagner HJ, Neustock P, Klüter H, Kirchner H. Immunologic properties of Epstein-Barr virus seronegative adults. *The Journal of Infectious Diseases* 1996;173:1248-1251.
- 12-Onul B. *İnfeksiyon hastalıkları*. Ankara üniversitesi basımevi, Ankara 1980;437-439.
- 13-Porter DD, Wimberly Ira, Benyesh-Melnick M. Prevalence of antibodies to EB virus and other herpesviruses. *JAMA* 1969;208:1675-1679.
- 14-Urbarlı A, Özgenç O, Büyüksu T, Erdenizmenli M. Hemodiyaliz hastalarında ve kan vericilerinde sitomegalovirus ve Epstein-Barr virus antikorlarının araştırılması. *İnfeksiyon dergisi* 1992;6(2):13-142..
- 15-Crawford DH, Swerdlow AJ, Higgins C et al. Sexual History and Epstein-Barr virus infection. *The Journal of Infectious Diseases* 2002;186:731-736.
- 16-Andersson J. Clinical and immunological considerations in Epstein-Barr virus associated diseases. *Scand J Infect Dis* 1996;100:72-86.
- 17-Horwitz CA, Henle WG, et al. Clinical and laboratory evaluation of infants and children with Epstein-Barr virus-induced infectious mononucleosis. Report of 32 patients (aged 10-48 months). *Blood* 1981;57:933-947.

- 18-Wilke A. Epstein-Barr virus (EBV) infeksiyonları. Wilke A, Balık İ (eds).  
İnfeksiyon hastalıkları seminerlerde. Güneş kitabevi. Ankara 1992;144-152.
- 19-Sumaya CV, Ench Y. Epstein-Barr virus infectious mononucleosis in children.  
Heterofil antibody and viral spesific responses. Pediatrics 1985;75:1011
- 20-Mayer HB, Wanke CA, Williams M et al. Epstein-Barr virus- induced infectious  
mononucleosis complicated by acute renal failure. Case report and review.  
Clin Infect Dis 1996;22:1009-1018.
- 21-Grierson H, Purtillo DT. Epstein-Barr virus infections in males with the X-linked  
lymphoproliferative syndrome. Ann Intern Med 1987;106:538-545.
- 22-Wilson ER, Malluh A, Stagno s, Crist WM. Fatal Epstein-Barr virus-associated  
hemophagocytic syndrome. J Pediatr 1981;98:260-262.
- 23-Macswen KF, Crawford DH. Epstein-Barr virus-recent advances. Lancet  
Infect Dis 2003;3:131-140.
- 24-Mueller N, Evans A, Haris NL, et al. Hodgkin's disease and Epstein-Barr virus.  
Altered antibody pattern before diagnosis. N Engl J Med 1989;320:689-695.
- 25-Beral V, Peterman T, Berkelman R, Jaffe H. AIDS-associated non-Hodgkin  
lymphoma. Lancet 1991;337:805-809.
- 26-Çavdar AO, Yavuz G, Babacan E, et al. Burkitt's lymphoma in Turkish  
children. Clinical, viral (EBV) and molecular studies. Leuk Lymphoma  
1994;14:323-330.
- 27-Tarr KL, Glaser R. The Epstein-Barr virus and nasopharyngeal carcinoma.  
Microbial pathogenesis 1989;7:11-14.
- 28-Rickinson AB, Chronic symptomatic Epstein-Barr virus infection. Immunology  
Today 1986;7:13-14.



- 29-Straus SE. The chronic mononucleosis syndrome. *J Infect Dis* 1988;157:405-412.
- 30-Kawa K. Epstein-Barr virus-associated diseases in humans. *Int J Hematol* 2000;71:108-117.
- 31-Kimura H, Morishima T, Kanegane H, et al. Prognostic factors for chronic active Epstein-Barr virus infection. *JID* 2003;187:527-533.
- 32-Lennette ET. Epstein-Barr virus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. *Manual of Clinical Microbiology*. 6th edition. ASM Press. Washington D.C. 1995;74:905-910.
- 33-Linderholm M, Boman J, Juto P, Linde A. Comparative evaluation of nine kits for rapid diagnosis of infectious mononucleosis and Epstein-Barr virus specific serology. *J Clin Microbiol* 1994;32:259-261.
- 34-Basson V, Sharp AA. Monospot: a differential slide test for infectious mononucleosis. *J Clin Path* 1969;22:324-325.
- 35-Cook L, Midgett J, Willis D, Clinton B, Folds JD. Evaluation of latex-based heterophile antibody assay for diagnosis of acute infectious mononucleosis. *J Clin Microbiol* 1987;25:2391-2394.
- 36-Fleisher GR, Collins M, Fager S. Limitations of available tests for diagnosis of infectious mononucleosis. *J Clin Microbiol* 1983;17:619-624.
- 37-Schubert J, Zens W, Weissbrich B. Comparative evaluation of the use of immunoblots and of IgG avidity assays as confirmatory tests for the diagnosis of acute EBV infections. *Journal of Clinical Virology* 1998;11:161-172.
- 38-Sheppard C, Cohen B, Andrews N, Surrridge H. Development and evaluation of antibody capture ELISA for detection of IgG to Epstein-Barr virus in oral fluid samples. *Journal of Virological Methods* 2001;93:157-166.

- 39-Debyser Z, Reynders M, Goubau P, Desmyter J. Comparative evaluation of three ELISA techniques and an indirect immunofluorescence assay for the serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection. *Clinical and Diagnostic Virology* 1997;8:71-81.
- 40-Hinderer W, Lang D, Rothe M, et al. Serodiagnosis of Epstein Bar virus infection by using recombinant viral capsid antigen fragments and autologous gene fusion. *Journal of Clinical Microbiology* 1999;37:3239-3244.
- 41-Buisson M, Fleurent B, Mak M, et al. Novel immunoblot assay using four recombinant antigens for diagnosis of Epstein-Barr virus primary infection and reactivation. *Journal of Clinical Microbiology* 1999;37:2709-2714.
- 42-Gartner BC, Hess RD, Bandt D, Kruse A, Rethwilm A, Roemer K, Lantsch NM. Evaluation of four commercially available Epstein-Barr virus enzyme immunoassay as the reference method. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2003;10:78-82.
- 43-Bashir RM, Haris NL, Hochberg FH, Singer RM. Detection of Epstein-Barr virus in CNS lymphomas by in-situ hybridization. *Neurology* 1989;39:813-817.
- 44-Weis LM, Movahed LA. In situ demonstration of Epstein-Barr viral genomes in viral associated B cell lymphoproliferations. *Am J Pathology* 1989;134:651-659.
- 45-Schwab M, Boswald M, Korn k, Ruder H. Epstein-Barr virus in pediatric patients after renal transplantation. *Clin Nephrol* 2000;53:132-139
- 46-Tsuchiya S. Diagnosis of Epstein-Barr virus- associated diseases. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2002;44:227-238.
- 47-Schamader KE, Van der Host CM, Lotman ME. Epstein-Barr virus and the elderly host. *Rev Infect Dis* 1989;11:64-72.



- 48-Khanna R, Moss DJ, Burrows SR. Vaccine strategies against Epstein-Barr virus-associated diseases: Lessons from studies on cytotoxic T-cell mediated immun regulation. *Immunol Rev* 1999;170:49-60.
- 49-Wang PS, Evans AS. Prevalance of antibodies to EBV and CMV in sera from a group of children in the people's Republic of China. *J Infect Dis* 1986;153(1):150-152.
- 50-Evans AS, Niederman JC. Epstein-Barr virus. In: Evans AS (eds). *Viral infections of humans*. Second edition. New York 1988;265-292.
- 51-Kafuka GW, Day NE, Henle G, Morrow RH, Williams EH, et al. EBV antibody levels in children from the West Nile District of Uganda. *Lancet* 1972;1:706-709.
- 52-Chan KH, Tam JSL, Peiris JSM, Seto WH, Ng MH. Epstein-Barr virus (EBV) infection in infancy. *Journal of Clinical Virology* 2001;21:57-62.
- 53-Pereira MS, Blake JM, Macrae AD. EB virus antibody at different ages. *Br Med J*.1969;526-527.
- 54-Crowcroft NS, Vyse A, Brown DWG, Strachan DP. Epidemiology of Epstein-Barr virus infection in pre-adolescent children: Application of a new salivary method in Edinburg, Scotland. *J Epidemiol Community Healt* 1998;52:101-104.
- 55-Tischendorf P, Shramek GJ, et al. Development and persistence of immunity to EBV in man. *J Infect Dis* 1970;122(5)401-409.
- 56-Ferres M, Prado P, Ovalle J, et al. Seroprevalence of Epstein-Barr virus infection in a healthy population of Santiago de Chile. *Rev Med Chil* 1995;123(12)1447-1452.



- 57-Fung MK, Mordarski KT, Bader SA, Gronowski AM. Evaluation of the Wampole laboratories ELISA-based assay for Epstein-Barr virus serology. *Clinica Chimica Acta* 2002;319:43-48.
- 58-Tynell E, Aeurelius E, Brandell A, et al. Acyclovir and Prednisolone Treatment of acute infectious mononucleosis. A multicenter, double blind, placebo-controlled study. *J Infect Dis* 1996;174:324-326.
- 59-Haque T, Iliadou P, Hossain A, Crawford DH. Seroepidemiological study of Epstein-Barr virus infection in Bangladesh. *Journal of Medical Virology* 1996;48:17-21.
- 60-Luka J, Chase RC, Pearson GR. A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. *Journal of Immunology Methods* 1984;67:145-156.
- 61-Dolken G, Weitzmann U, Boldt C, Bitzer M, Brugger W, Lohr GW. Enzyme-linked immunosorbent assay for IgG antibodies to Epstein-Barr virus associated early antigens and viral capsid antigen. *Journal of Immunology Methods* 1984;67:225-233.
- 62-Hotchin NA, Crawford DH. The diagnosis of Epstein-Barr virus associated disease In: Morgan-Capner P (eds). *Current Topics in Clinical Virology*. Laversham Pres. London 1991;115-140.
- 63-Farber I, Hinderer W, Rothe M, et al. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection by novel ELISAs based on recombinant capsid antigens p23 and p18. *J Med Virol* 2001;63(4):271-276.
- 64-Weber B, Brunner M, Preiser W, Doerr HW. Evaluation of 11 enzyme immunoassays for the detection of immunoglobulin M antibodies to Epstein-Barr virus. *J Virol Methods* 1996; 57(1):87-93.