

-CANSU NUR DEMİRCİ

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2019

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**BÖBREK TRANSPLANTASYONU OLMUŞ ÇOCUKLARDA
EBV ENFEKSİYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

CANSU NUR DEMİRCİ

**DANIŞMAN
PROF. DR. ALİ AĞAÇFİDAN**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

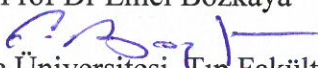
21.06.2019

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikrobiyoloji Programında Yüksek Lisans Öğrencisi Cansu Nur Demirci tarafından Prof Dr Ali Ağaçfıdan'ın danışmanlığında hazırlanan "*Böbrek Transplantasyonu Olmuş Çocuklarda EBV Enfeksiyonlarının Değerlendirilmesi*" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 21/06/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

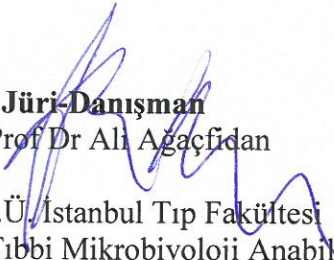
Jüri Başkanı

Prof Dr Emel Bozkaya


Haliç Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

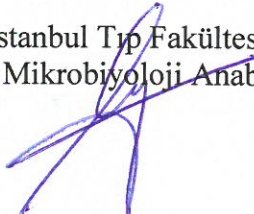
Jüri-Danışman

Prof Dr Ali Ağaçfıdan


İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jür

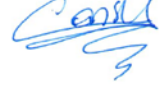
Prof Dr Dilek Şatana


İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Cansu Nur Demirci (İmza)



İTHAF

Bu tezi tüm eğitim hayatım boyunca bana desteklerini esirgemeyen aileme ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında büyük emekleri olan İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve danışmanım Prof. Dr. Ali Ağaçfıdan başta olmak üzere, yüksek lisans eğitimim süresince yetişmemde emek harcayan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri, Prof. Dr. Betigül ÖNGEN, Prof. Dr. Arif KAYGUSUZ, Prof. Dr. Meltem UZUN, Prof. Dr. Zayre ERTURAN, Prof. Dr. Özden BÜYÜKBABA BORAL, Prof. Dr. Zerrin AKTAŞ, Prof. Dr. Dilek ŞATANA, Doç. Dr. Yaşar NAKİPOĞLU, Doç. Dr. Gülseren AKTAŞ, Doç. Dr. Lütfiye ÖKSÜZ, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD Çocuk Nefroloji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ahmet Nayır'a, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD Çocuk Nefroloji Bilim Dalında görevli Uzm. Dr. Özde Nisa Türkkan'a, benden sevgi ve desteklerini esirgemeyen tüm laboratuvar çalışanlarına, bu tezin hazırlanmasında her aşamada bana büyük destekleri olan her zaman yanımda olan Doç. Dr. Sevim Meşe, Dr. Mustafa Önel ve Uzman Biyolog Derya Önel'e ve beni her daim destekleyen aileme teşekkür ederim.

Ayrıca İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Endüstriyel Mikrobiyoloji Bilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğretim Üyesi Nazmiye Özlem Şanlı hocama ve Emre Yürekli arkadaşşıma bana olan destekleri için teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 30387

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SEMBOLLER/ KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Viroloji.....	3
2.2.1. Sınıflandırma.....	3
2.2.2. Fiziksel Özellikleri.....	4
2.2.3. EBV Proteinleri.....	5
2.2.3.1. Laten Proteinler ve Özellikleri	5
2.2.3.2. Litik proteinler ve Özellikleri.....	6
2.2.4. EBV Genomu	7
2.3. Litik Döngü.....	7
2.4. Latent Döngü	8
2.5. Patogenez	8
2.6. İmmünite	9
2.6.1. Hücresel İmmünite	9
2.6.1.1. İmmün Sistemi Baskılanmış Hastalarda Yanıt	10
2.6.2. Hümorale İmmünite	10
2.7. Epidemiyoloji.....	11
2.8. Klinik	12
2.8.1. Enfeksiyöz Mononükleoz	12

2.8.2. Kronik Aktif Enfeksiyon.....	13
2.8.3. Burkitt Lenfoma (Bl)	13
2.8.4. Hodgkin Lenfoma (Hl).....	13
2.8.5. Nazofaringeal Karsinom	13
2.8.6. Post Transplant Lenfoproliferatif Hastalık (Ptlh)	14
2.8.7. X'e Bağlı Lenfoproliferatif Sendrom (Xlps)	14
2.9. Tanı	15
2.9.1. Kullanılan Klinik Örnekler	15
2.9.2. Virüs İzolasyonu	15
2.9.3. Serolojik Tanı.....	15
2.9.3.1. Heterofil Antikor Testleri.....	15
2.9.3.2. EBV'ye Spesifik Antikor Testleri.....	16
2.9.4. Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri (NAAT)	17
2.10. Tedavi	17
2.11. Korunma	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1. Serolojik Tanı.....	19
3.1.1. Kullanılan Malzemeler.....	19
3.1.2. Test Prosedürü.....	20
3.1.3. Değerlendirme.....	21
3.2. EBV DNA Viral Yük Belirlenmesi	22
3.2.1. Kullanılan Malzemeler.....	22
3.2.2. EBV DNA İzolasyon Test Prosedürü	22
3.2.3. RT-PCR Test Prosedürü.....	24
3.2.4. Değerlendirme.....	25
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA	33
KAYNAKLAR	38
ETİK KURUL KARARI.....	38
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	45
ÖZGEÇMİŞ	46

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: Herpesviridae Ailesinin Sınıflandırılması	3
Tablo 2: Popülasyona Göre EBV Görülme Sıklığı	11
Tablo 3: EBV’ne ait Antikorların Serolojik Açıdan Yorumlanması	16
Tablo 4: İmmünblot Kiti Sonuç Yorumlama Tablosu	21
Tablo 5: PCR Karışımı ve Hasta Örneği Hazırlama Miktarları.....	24
Tablo 6: Rotor Gene Cihazında Denatürasyon ve Amplifikasyon Döngü ve Isi Değerleri	25
Tablo 7: Katılımcıların Cinsiyete Göre EBV-DNA Yüzdeleri.....	27
Tablo 8: EBV-DNA Kantitatif Yük Sonuçları	28
Tablo 9: Hastaların Serolojik Profilleri.....	28
Tablo 10: Serolojik sonuçlar ve EBV DNA pozitiflik oranlarının karşılaştırılması.....	31
Tablo 11 : Akut enfeksiyon ve geçirilmiş enfeksiyon EBV DNA ortalamalarının karşılaştırılması	31
Tablo 12: İmmün Profil ve RT-PCR Sonuçlarının Değerlendirme Tablosu	32

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Epstein Barr Virüs Yapısı	4
Şekil 2: EBV Genom Yapısı	7
Şekil 3: EBV Patogenezi	9
Şekil 4: Negatif İmmünblot Çalışması	21
Şekil 5: Akut Enfeksiyon İmmünblot Çalışması	21
Şekil 6: Geçirilmiş Enfeksiyon İmmünblot Çalışması	21
Şekil 7: Reaktivasyon İmmünblot Çalışması	21
Şekil 8: EBV DNA Kantitatif Viral Yük Sonuçlarının Değerlendirilmesi	26
Şekil 9: Akut Enfeksiyon Hasta Oranı	28
Şekil 10: Geçirilmiş Enfeksiyon Hasta Oranı	29
Şekil 11: Reaktivasyon Oranı	29
Şekil 12: Negatif Hasta Sayısı Oranı	30

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

EBV:	Epstein-Barr Virus
EM:	Enfeksiyöz mononükleoz
PTLH:	Posttransplant lenfoproliferatif hastalık
PBT:	Paul-Bunnell Testi
HHV-4:	Human Herpes Virüs-4
VZV:	Varicella zoster virüs
CMV:	Cytomegalovirüs
HSV:	Herpes simplex virüs
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
EBNA:	Epstein-Barr Virus Nükleer Antijen
RBPJk:	İmmünoglobulin Kappa J bölgesi için rekombinasyon sinyali bağlama protein
EBNA-LP:	EBNA Lider Proteini
LMP:	Latent Membran Protein
TNFR:	Tümör Nekroz Faktör
EA:	Erken Antijen
VCA:	Viral Kapsit Antijeni
MA:	Membran Antijeni
ORF:	Açık Okuma Penceresi
CTL:	Sitotoksik T hücreleri
NK:	Natural Killer (doğal öldürücü)
XLPS:	X'e bağlı lenfoproliferatif sendrom
NPC:	Nazofaringeal karsinoma
HL:	Hodgkin Lenfoma
NHL:	Non-Hodgkin Lenfoma
BOS:	Beyin Omurilik Sıvısı
NAAT:	Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri
BL:	Burkitt Lenfoma
RT-PCR:	Real-Time PCR

ÖZET

Demirci, C.N. Böbrek transplantasyonu olmuş çocuklarda EBV enfeksiyonlarının değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Dünya nüfusunun % 95' i yetişkinlik dönemine kadar Epstein-Barr virüsü (EBV) ile karşılaşmıştır. Latent enfeksiyonlara yol açan EBV, enfeksiyöz mononükleoz (EM), lenfomalar ve posttransplant lenfoproliferatif hastalığın (PTLD) etiolojisinden sorumlu tutulmaktadır. Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Nefroloji polikliniğine başvurmuş böbrek transplantasyonu olmuş çocuklarda EBV DNA viral yükünün saptanması ve EBV'ye özgül serolojik testler ile birlikte değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Böbrek nakli olmuş 0-18 yaş grubunda 22 çocuk hastadan alınan plazma örneklerinde EBV immünblot testi ile VCA gp125, VCA p19, EBNA-1, p22 ve EA-D antijenlerine karşı oluşan IgM ve IgG antikorları ve EBV DNA kantitatif viral yükleri Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi ile çalışılmıştır. Hastalara ait immün profil sonuçları değerlendirildiğinde 8 hastada akut enfeksiyon, 12 hastada geçirilmiş enfeksiyon, 1 hastada reaktivasyon ve 1 hastada da negatif serolojik sonuç elde edilmiştir. EBV DNA kantitatif viral yük sonuçları değerlendirildiğinde 22 hastanın 12'sinde pozitiflik saptanmış, 10 hasta ise negatif olarak bulunmuştur. Erkek hastaların 8'inde (% 57,14) , kadın hastaların ise 4 tanesinde (% 50) pozitiflik saptanmıştır. Bu nedenle akut enfeksiyon ve reaktivasyonun belirlenmesi transplantasyon hastaları açısından önem taşımaktadır. İmmünsüprese hastalarda serolojinin yetersiz kalması nedeniyle PCR testleri ile birlikte değerlendirilmesi ve nakil öncesi serolojik profilin nakil sonrası kantitatif yükün seroloji ile birlikte değerlendirilmesinin önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: EBV, İmmünblot, RT-PCR, Renal Transplantasyon, Pediatri

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 30387

ABSTRACT

Demirci, C.N. Evaluation of EBV infections in children with renal transplantation. İstanbul University, Institute of Health Science, Microbiology Department Master's Thesis. İstanbul. 2019

95% of the world population had faced the Epstein-Barr virus (EBV) until their adulthood stage. EBV, which leads to latent infections, is held responsible for infectious mononucleosis (EM), lymphomas and post transplant lymphoproliferative diseases (PTLD) etiology. Determining EBV DNA viral load in children, who applied to İstanbul University Medical Faculty Pediatrics Nephrology polyclinic and kidney transplant, evaluating along with serologic experiments is aimed in our survey. In 22 children between 0-18 years of age who had kidney transplants, the presence of antibodies against the IgA and IgG VCA gp125, VCA p19, EBNA-1, p22 and EA-D antigens in the immunoblot kit were examined and the EBV DNA quantitative viral load was quantitatively analyzed by Real Time Polimerase Chain Reaction (RT-PCR) method. When the immune profile results of the patients were evaluated, 8 patients had acute infection, 12 patients had previous infections, 1 patient had reactivation and 1 patient had negative serological results. When EBV DNA quantitative viral load results were evaluated, in 12 out of 22 patients positivity is detected, 12 patients are found as negative. 8 (57,14%) of male patients; 4 (50%) of female patients are detected as positive. Therefore; determination of acute infection and reactivation is significant with regards of transplantation patients. Due to inadequate serology in immunocompromised patients, it is important to evaluate together with PCR tests and to evaluate the serological profile after transplantation together with serology.

Key Words: EBV, Immunoblot, RT-PCR, Renal Transplantation, Pediatrics

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University.
Project No. 30387

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Epstein-Barr virüs (EBV), öncelikle enfeksiyöz mononükleoz (EM), çeşitli lenfomalar ve posttransplant lenfoproliferatif hastalığın (PTLH) etiolojisinden sorumlu, latent enfeksiyon oluşturan bir herpes virüstür. EBV enfeksiyonlarının tanısı; atipik lenfositlerin, heterofil antikorların, virüsün kapsid antijeni (VCA), Epstein Barr Virüs nükleer antijeni (EBNA) ve erken antijeni (EA)'ne karşı oluşan özgül antikorların ve viral DNA'nın kantitatif olarak saptanması esasına dayanmaktadır. Ülkemiz açısından değerlendirildiğinde yetişkin popülasyondaki seropozitiflik oranının çok yüksek (% 80-95) olması nedeniyle, transplant alıcıları veya onkoloji hastaları gibi özellikle immünsüpresif hasta gruplarında EBV reaktivasyonunun belirlenmesinde rutin serolojik testler yetersiz kalabilir. Bu klinik tabloların daha ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmesi için laboratuvarı VCA IgG avidite testi ve moleküler yöntemlerden yararlanılmaktadır (1).

Paul-Bunnell testi (PBT), heterofil antikorların gösterilmesinde kullanılan bir hemagglütinasyon testidir. Heterofil antikorların saptanamadığı durumlarda EBV'nün antijenik yapılarına özgül olarak geliştirilmiş serolojik testlerden yararlanılarak virüsün majör antijenleri olan VCA, EBNA, EA'ne karşı oluşan IgG ve/veya IgM antikorları araştırılmaktadır. Enfeksiyonun başlangıç aşamasında olan hastaların % 20-30'unda anti-EA antikorları saptanamamakta ve anti-EBNA ise antikorları konvalesan dönemde oluşmaktadır. Anti-VCA antikorları, olguların büyük bir kısmında saptanabilmekte ve enfeksiyon döneminin belirlenmesinde katkı sağlamaktadır (1).

Organ transplantasyonu sonrası hastalarda immünsüpresif tedavinin uzun sürelerde uygulanıyor olması, organ alıcılarında immün sistemin baskılanmasına neden olmakta ve meydana gelebilecek enfeksiyonların dışında ileriki dönemlerde malignite riskini de arttırmaktadır. PTLH, genellikle EBV enfeksiyonu ile birlikte görülen ve çok farklı klinik tablolar oluşturabilen enfeksiyon ve neoplazma arasında bir klinik tablo olarak karşımıza çıkmaktadır. PTLH ile ilgili çalışmalar incelendiğinde genellikle tüm organ alıcılarının yaklaşık % 2'sinde görüldüğü bildirilmektedir. Böbrek transplantasyonu açısından değerlendirildiğinde bu oran % 1-5 arasında değişmektedir (2).

Solid organ alıcılarını etkileyen transplantasyon sonrası uygulanan immünsüpresif tedaviyi takiben oluşan PTLH organ reddinde önemli bir sorun teşkil etmektedir. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda serolojik testlerin moleküler testler ile desteklenmesi enfeksiyonun hangi aşamada (akut enfeksiyon, geçirilmiş enfeksiyon, negatif seroloji yada reaktivasyon) olduğunun bilinmesi açısından önem taşımaktadır.

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Nefroloji Polikliniğinde böbrek transplantasyonu yapılmış çocuklarda EBV DNA viral yükünün saptanması ve EBV antijenlerine karşı oluşan özgül antikorların immünblot yöntemi kullanılarak serolojik tablolarının değerlendirilmesi ve bu iki yöntemin birlikte uygulanması sonucunda enfeksiyonun hangi aşamada olduğunun klinik açıdan belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

EM ilk olarak 19. yüzyılın sonunda Filatov veya Pfeiffer tarafından kırgınlık, ateş, hepatosplenomegali, lenfadenopati ve karın rahatsızlığı belirtileri ile karakterize bir hastalık olarak tanımlanmıştır. Serum hastalığında immünolojik mekanizmaları araştıran Paul ve Bunnell, 1932'de, EM hastalarının serum örneklerinde, kendiliğinden oluşan koyun eritrositlerini aglütine eden antikorları (heterofil antikorları) tanımlamışlardır. EBV'nün identifikasyonunu 1958 yılında Uganda'da çalışan cerrah Dennis Burkitt tarafından çocuklarda oluşan çene ve boyun tümörlerinin tanımlanması takip etmiştir. Michael Anthony Epstein, Yvonne Barr ve Bert Achong 1964 yılında tümör dokusundaki virüs partiküllerini elektron mikroskopi ile göstermiş ve bu virüsü EBV olarak tanımlamışlardır. Bu virüsün EM ile ilişkisi, EM'den iyileşen bir laboratuvar teknisyeninden alınan serumda bulunan, Burkitt Lenfoma (BL) hücrelerini tanıyan antikorun keşfedilmesiyle belirlenmiştir (3, 4, 5).

2.2. Viroloji

2.2.1. Sınıflandırma

Herpes virüs ailesinin morfolojisi, replikasyonu, latent kalabilme özellikleri ve tekrarlayan enfeksiyon yetenekleri birbirine benzerlik göstermektedir. İnsan herpes virüsleri, genom yapıları, doku tropizmi, sitopatolojik etki şekilleri, latent enfeksiyon bölgeleri açısından göstermiş oldukları farklılıkları, hastalığın patogenezi ve hastalık belirtileri gibi özelliklerin kriter olarak alınıp değerlendirilmesi sonucunda Tablo1'de gösterildiği gibi üç alt aileye ayrılmaktadır (6).

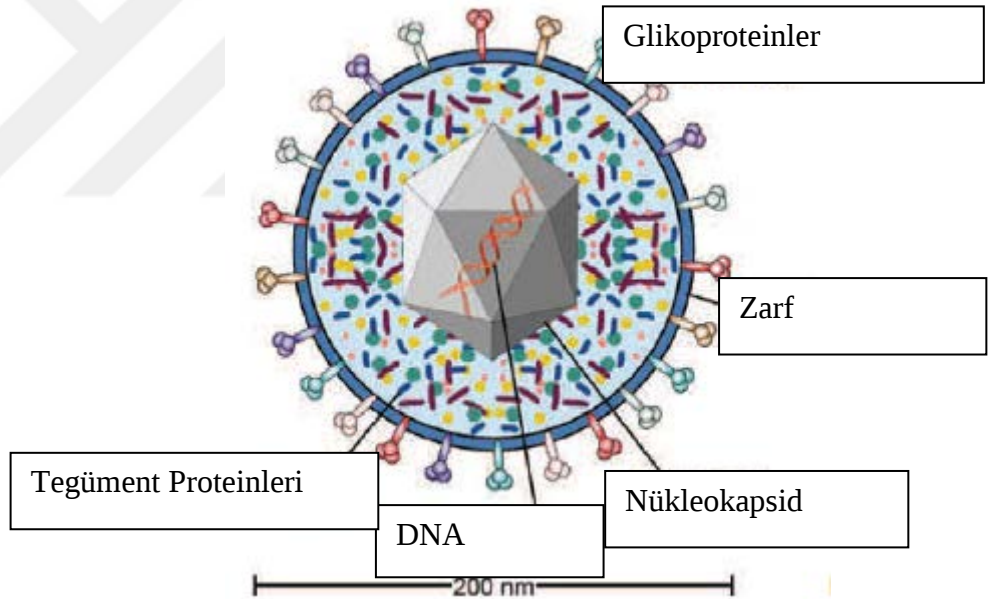
Tablo 1 : Herpesviridae ailesinin sınıflandırılması (7)

Herpesviridae	
Alfa virüsler	Herpes simpleks virüs 1-2 (HSV1,2), Varicella zoster virüs (VZV), Herpes B virüs
Beta virüsler	Cytomegalovirüs (CMV), Human herpesvirüs 6, 7 (HHV 6, 7)
Gamma virüsler	Epstein-Barr virüs (EBV), Human herpesvirüs 8 (HHV 8)

EBV, herpesviridae ailesinin çok sınırlı bir konak özgüllüğüne sahip gammaherpesvirinae alt ailesinde bulunan lenfokriptovirüs cinsinin bir üyesidir (3,6). EBV Human herpes virus-4 (HHV-4) olarak da bilinmektedir (7).

2.2.2. Fiziksel Özellikleri

EBV, çift iplikçikli DNA içeren büyük, zarflı bir virüstür. Pek çok DNA virüsü gibi EBV’de konak hücre nükleusunda replike olmaktadır. Virüsün tomurcuklanması nükleus membranında gerçekleşmektedir. Etere duyarlıdır. Konak hücre içinde intranükleer inklüzyon cisimcikleri (Cowdry-A) oluştururlar. Bilinen tek konağı ve rezervuarı insandır. Viral DNA 184 kb büyüklüğünde ve 162 kapsomer içeren ikosahedral simetri gösteren kapsid ile çevrilidir. Bu kapsid, glikoprotein içeren bir zarf ile çevrelenmiştir (5,8,9).



Şekil 1 : Epstein Barr Virüs Yapısı (6)

EBV’nün EBV1 ve EBV2 olarak adlandırılan iki alt tipi bulunmaktadır. Bu iki tipin farklılığı Epstein Barr Virüs Nükleer Antijenlerini (EBNA) kodlayan latent genlerdeki polimorfizm ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu poliformik noktalar PCR yöntemi ile saptanabilmektedir (10). EBV1’in B hücreleri üzerindeki etkisi EBV2’den daha fazladır (11).

2.2.3. EBV PROTEİNLERİ

2.2.3.1. Latent Proteinler ve Özellikleri

- EBNA

EBNA-1:

EBNA1, epizomal EBV genomunun replikasyonu ve devamı için gerekli olan bir DNA bağlayıcı nükleer fosfoproteindir. Bu, EBNA1'in viral replikasyonun plasmit kökeni olan oriP'ye bağlanmasıyla gerçekleşir (12). EBNA-1 B lenfositlerinin ölümsüzleşmesinde de görev almaktadırlar (13).

EBNA-2:

EBNA-2, viral ve konak genlerinin ekspresyonunu artırıcı transkripsiyonel bir ko-aktivatör olarak rol oynamakta ve EBNA-3C ile etkileşime girerek B hücrelerinin ölümsüzleşmesi aşamasında görev almaktadır (13,14). Viral Laten Membran Proteinlerinin transkripsiyonlarını aktive eder ve transkripsiyonel regülatör olan İmmünoglobulin Kappa J Bölgesi için Rekombinasyon Sinyali Bağlama Protein (RBPJk) transkripsiyon faktörü ile etkileşime girer (15).

EBNA-3A,3B,3C:

EBNA-3 ailesi transkripsiyonel bir düzenleyici olarak görev görürler. EBNA-3A ve EBNA-3C B hücre transformasyonu için gereklidir. EBNA-3 proteinleri, RBPJk transkripsiyon faktörü ile birleşir ve EBNA-2 tarafından aktive edilen genlerin baskılanmasını sağlarlar. EBNA-3B transformasyon aşaması için gerekli bir protein yapısı değildir, bunun yanında vimentin ve CD40 ekspresyonunu indüklemektedir (12).

EBNA Lider Proteini (EBNA-LP):

EBNA-LP mRNA'lar tarafından kodlanır ve belirli bir EBV izolatının içerdiği BamHIW tekrarlarının sayısına bağlı olarak değişken büyüklükte protein kodlar. P53 ve pRb'yi inaktive etmek için EBNA-2 ile etkileşime girer, Notch yolağının transkripsiyon faktörleri ile etkileşime girer, B hücrelerinin ölümsüzleşmesine katkıda bulunur (13). EBNA-2 aracılı transkripsiyonel aktiviteyi arttırmada rol oynadığı düşünülmektedir (12).

- Latent Membran Proteini (LMP) :

LMP1, en önemli EBV proteinlerinden biridir ve hem B hücrelerinde hem de epitel hücrelerinde fenotipik değişiklikleri indükleyebilmektedir. LMP1 ayrıca tümör nekroz faktör (TNF) süper ailesinin bir üyesi olan CD40'ın yerine geçerek dönüşüm için önemli olan büyüme ve farklılaşma sinyallerini oluşturur (16). LMP1, B hücresi transformasyonu için gerekli olan EBV'nün en önemli proteinidir. LMP1, hücrede eksprese edildiğinde hücre yüzeyi adezyon moleküllerinin ve aktivasyon antijenlerinin indüklenmesi, antiapoptotik proteinlerin (Bcl-2, A20) uyarılması ve sitokin üretiminin uyarılması (IL-6, IL-8) ile sonuçlanan pleiotropik etkiye sahiptir (12). LMP2A ve LMP2B virüsün latent kalmasında önemli rol oynar. LMP2A B hücresi reseptörünün sinyal molekülü ile etkileşime girerek sinyal yolağını bloke eder (3,13).

2.2.3.2. Litik Proteinler ve Özellikleri

- Erken başlangıç antijeni (IEA) :

Transkripsiyon aktivatörü olarak işlev görürler.

- Erken antijenler (EA) :

Viral DNA replikasyonu için gerekli enzim fonksiyonu olarak işlev görürler. İki şekilde bulunur.

Yaygın (diffuse; D): Enfekte hücrelerin nükleus ve sitoplazmalarında yaygındır.

Kısıtlı (restricted; R): Yalnızca nükleusta bulunur (8).

- VCA (Viral Kapsid Antijeni):

Yapısal bir proteindir. Litik enfeksiyonun geç döneminde sentezlenerek viriyonların konak hücreden salınmasında görev alırlar (8).

- MA (Membran Antijeni)

Virüsün enfektivitesinden ve yayılmasından sorumlu antijenlerdir (8).

- Glikoproteinler ve Özellikleri

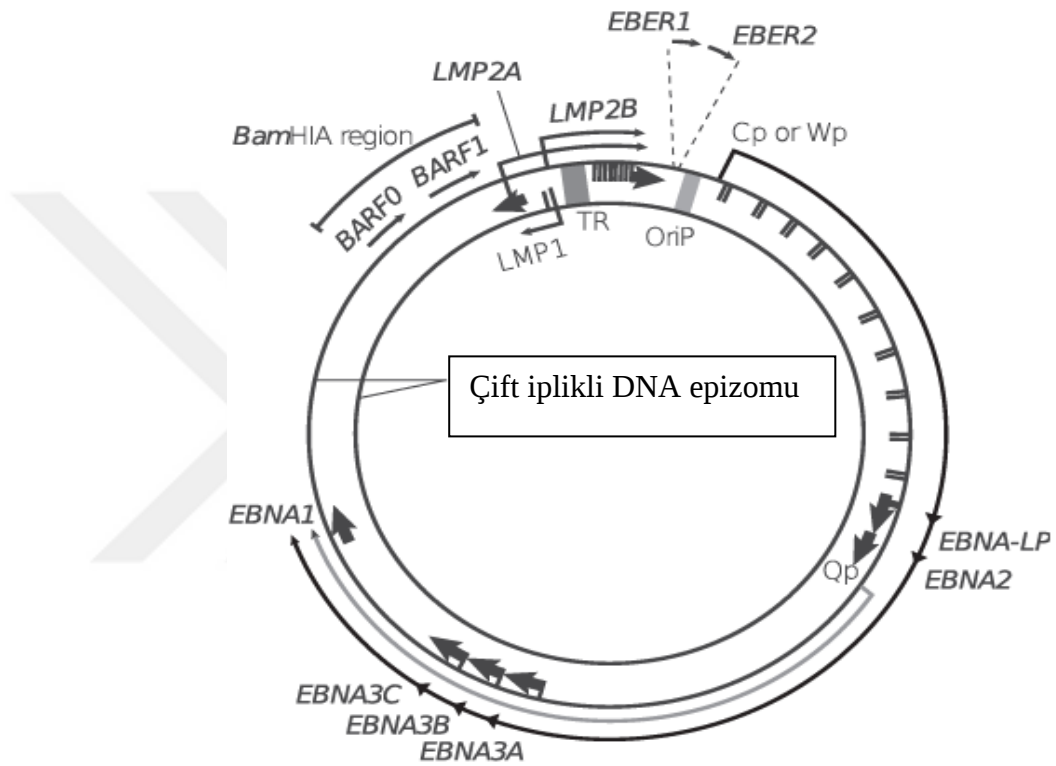
Gp350/220: CD21 molekülüne tutunarak viriyonun hücre içerisine girişini sağlar (6).

Gp85: Hücresel ve viral membran arasında füzyonun düzenlenmesi ve tetiklenmesi için görev alır (17).

Gp42: İnsan lökosit antijeni (HLA) ile etkileşime girerek viriyonun hücre içine geçişini kolaylaştırır (6).

2.2.4. EBV Genomu

Enfekte hücrelerde viral genom, temel olarak bir ekstra-kromozomal epizom olarak devam eder. Viral genom, potansiyel olarak 100'den fazla açık okuma çerçevesi (ORF) içermektedir. ORF'lerin isimlendirilmeleri, bulundukları BamHI-kısıtlama parçasına göre almaktadır. Örneğin, BARF1 ORF BamHI A parçasında bulunur. ORF'ler latent ve litik gen bölgelerine ayrılmıştır (18, 19).



Şekil 2 : EBV Genom yapısı (19)

2.3. Litik Döngü

Litik döngü sırasında viral olarak kodlanmış genlerin çoğu eksprese edilir. Litik genlerin ürünleri, viral genomun amplifikasyonuna, viral yapısal proteinlerin sentezine, viral kapsid oluşumuna ve diğer kişilere bulaşmak için tükürük yoluyla yayılan yeni virüs parçacıklarının üretilmesine aracılık eder (20). Litik döngü EBV'nün B lenfositlerini enfekte etmesi ile başlayıp viral genomun oluşup paketlenerek hücre dışına çıkması ve bunun sonucunda hücre ölümü ile sonlanmaktadır. Litik döngü proteinleri IEA, VCA, EA ve MA'dır (21).

2.4. Latent Döngü

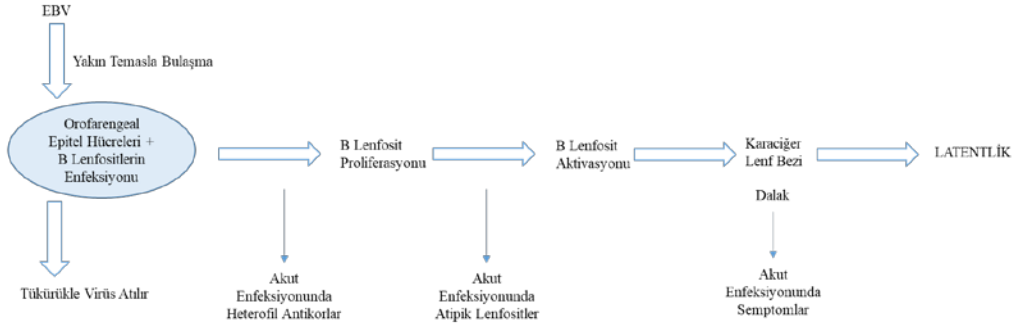
Latent EBV genomu beş EBNA proteini ve iki latent membran proteinini eksprese etmektedir (22). B lenfositleri virüs ile enfekte olduktan sonra transforme olurlar ve virüs genomu hücre genomuna entegre olur. B lenfositlerinin bir kısmı litik siklusa girerken bir kısmı yaşam boyunca kalır (23). Latent genlerin ekspresyonuna göre 3 tip latentlik tanımlanmaktadır. Birinci tip latentlikte EBNA-1 eksprese edilir ve BL ilişkili hastalık olarak bildirilmektedir. İkinci tip latentlikte EBNA-1, LMP-1, LMP-2A, LMP-2B eksprese edilmektedir. Üçüncü tip latentlikte ise tüm latent faz proteinlerinin ekspresyonu gerçekleşmektedir. Latent fazda bulunan enfekte bir hücrenin tekrar litik döngüye girmesi reaktivasyon ile sonuçlanmaktadır (24).

2.5. Patogenez

EBV ile bulaş, yineleyen asemptomatik döküntüler ve primer enfeksiyon sırasında virüs partiküllerini içeren tükürük ile temas yoluyla gerçekleşir ve enfeksiyon ilk olarak orofarengial epitelyumda başlar (25, 26). Enfeksiyon, kan nakli, organ transplantasyonu ve cinsel temas ile de bulaşabilmektedir (8).

EBV insan B hücresine uyum sağlamış bir virüs olup yaşam boyu enfeksiyon oluşturmak için farklı B hücresi gelişim aşamalarına etki etmektedir (5). Virüs hücre etkileşiminin ilk adımı, virüsün ana zarf glikoproteini olan gp350'nin, B hücresinin yüzeyinde bulunan CD21 molekülüne bağlanması ile gerçekleşir (26). B lenfositleri enfekte olduktan sonra 30-50 günlük inkübasyon periyodunu takiben viral replikasyon başlar. B lenfositlerinde virüs çoğalır ve hücreyi parçalayarak dış ortama salınır. Açığa çıkan virüsler retikuloendotelyal sisteme (RES) ulaşarak hücresel ve humoral immüniteyi aktif hale getirirler (21).

Hastaların bazılarında enfeksiyondan haftalar hatta aylar sonra bile virüs saptanabilmektedir (27).



Şekil 3 : EBV patogenezi (8)

2.6. İmmünite

EBV ile enfekte transforme lenfositlere karşı oluşan immün cevap karmaşıktır ve hem humoral hem de hücrel immün mekanizmaları içermektedir (3).

2.6.1. Hücrel İmmünite

EBV'ye karşı oluşan hücrel immün yanıt $CD8^+$, $CD4^+$, sitotoksik T lenfositlerini (CTL) ve doğal öldürücü (NK) hücreleri içermektedir (3).

Hücrel immünite hastalığın sınırlandırılmasında rol oynayan önemli bir faktördür. B hücre proliferasyonunun erken kontrolü, NK hücre aktivitesi ile sağlanmaktadır. Latent proteinlerden EBNA-2 ve LMP-1, çoğalan B hücrelerine karşı yönlendirilen EBV'ye özgü CTL'ler için hedef antijenlerdir ve kontrolsüz çoğalan B hücrelerinin kontrolünü sağlayan CTL'lerdir. Enfekte B lenfositlerinde sentezlenen öncül antijenler $CD4^+$ T lenfositlerini uyarır. $CD4^+$ T lenfositlerinin, $CD8^+$ T lenfositlerini bu antijenlere karşı uyarması sonucunda, enfekte B lenfositlerini hedefleyen çok sayıda CTL geliştirilmiş olmakta ve enfekte hücreler bu CTL'ler tarafından öldürülmektedir. CTL'leri; hastalığın laboratuvar tanısında da önemli yeri bulunan, vakuollü sitoplazmalı, lobüler, koyu bazofilik nükleuslu atipik lenfositlerdir. Bu hücrelere Downey hücresi adı verilmektedir. Total lökosit sayısının % 10-80'ı atipik hücre özelliği gösterir. EM tablosundan $CD8^+$ T hücreleri başta olmak üzere $CD4^+$ T hücreleri ve NK hücrelerinin sitokin üretimi sorumlu tutulmaktadır.

Virüs B lenfositlerinin bir bölümünde yaşam boyu latent olarak kalmaktadır. Aralıklar ile virus ağız mukozasında reaktif olur ve viriyonlar tükürük ile atılır bunun sonucunda dönemsel aralıklar ile kişilerde EBV DNA saptanabilir (3,8,26).

2.6.1.1. İmmün Sistemi Baskılanmış Hastalarda Yanıt

Hastalarda immün sistem kontrolünde bir yetersizlik söz konusu ise EBV B hücre çoğalmasını uyarır ve özellikle transplantasyon hastalarında uygulanan immünsüpresif tedavi aşamasında EBV, PTLH oluşturmaktadır (5). Bu hastalar immün sistemin yetersizliğinin sonucunda EBV ile enfekte olmuş B hücrelerinin çoğalmasını kontrol edememektedir (28).

EBV DNA viral yük, çoğu PTLH geçiren kişilerde tespit edilmiş ve kandaki yüksek düzeyde EBV'nin EM ve PTLH gelişme riski ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Ayrıca, EBV DNA viral yükündeki düşüşün hastalık regresyonu ile korele olduğu da bilinmektedir (29).

X'e bağlı lenfoproliferatif sendrom ve Wiscott-Aldrich sendromu gibi immün yetersizliği bulunan kişilerde ise B hücre proliferasyonunun tetiklenmesi ile malignite oluşumları da gözlenmektedir (30).

2.6.2. Hümorale İmmünite

Primer enfeksiyonda klinik bulguların ortaya çıkması ile beraber viral antijenlere karşı IgM ve IgG yapısında özgül antikorlar oluşmaktadır. İlk kez Paul ve Bunnell'in heterofil antikor olarak adlandırdıkları, koyun eritrositlerini aglütine eden ve IgM yapısında olan antikorlar enfeksiyonun 2.-3. haftasında Paul-Bunnell testi ile saptanabilmektedir (8,21,31).

Viral kapsit antijenine karşı oluşan IgM antikorları akut enfeksiyon göstergesidir ve klinik belirtilerin ortaya çıkması ile 4-8 hafta boyunca pozitif kalmaktadır. Bazı olgularda 4 aydan daha uzun süren pozitiflikler de belirlenmiştir. Viral kapsit antijenine karşı oluşmuş IgG antikorları ise semptomların başlamasını takiben 4-7 gün sonra ortaya çıkar ve ömür boyu saptanabilmektedir. EBNA IgG antikorları akut enfeksiyondan konvelesan döneme geçişin göstergesi olmakla birlikte primer enfeksiyondan 3-4 hafta sonra ortaya çıkıp ömür boyu kalmaktadır. EA-D IgG antikorları 3-4 haftada pozitifleşir ve 3-6 ay sonra saptanamayan düzeylere ulaşmaktadır. EA-R antikorları ise iyileşme döneminde görülmektedir (31,32).

2.7. Epidemiyoloji

EBV tükürük yoluyla bulaşmasına karşılık, kan nakli, kemik iliği ve organ transplantasyonları ile de bulaşabilmektedir (33). EBV, dünyada yaygın olarak bulunmakta ve yetişkinlerde % 90'nın üzerinde görülmektedir. EBV ile enfekte olmuş kişiler, tamamen asemptomatik olsalar bile, yaşam boyu aralıklı olarak virüsün yayılmasında önemli rol oynarlar (3,6,8).

Enfeksiyon en sık 2-4 yaşları ile 15 yaşları arasında görülmektedir. Bebeklerde ve küçük çocuklarda EBV ile primer enfeksiyon genellikle semptomatiktir veya spesifik olmayan semptomlarla sonuçlanır (6). Ergenler ve genç yetişkinler arasında tükürük paylaşımı sıklıkla öpüşme sırasında meydana gelmekte ve bu nedenle EBV mononükleozisi “öpücük hastalığı” ismiyle de bilinmektedir (5).

Primer enfeksiyon yaşı, virüse maruz kalmaya etki eden sosyo-demografik faktörler nedeniyle önemli farklılıklar gösterir. Kötü hijyenik ve yoğun yaşam koşullarına sahip gelişmekte olan birçok ülkede, primer enfeksiyon erken yaşta görülmektedir (33). Gelişmiş ülkelerde ise EBV ile karşılaşma daha ileriki yaşlarda görülmektedir. Türkiyede erişkin yaş seropozitiflik oranları %70-99,4 arasında bulunmaktadır (8).

Tablo 2: Popülasyona göre EBV görülme sıklığı (34)

Popülasyona göre EBV görülme sıklığı	
Seropozitif sağlıklı yetişkinler	% 12-25
Solid tümör hastaları	% 27
HIV-1– enfekte bireyler	% 50
Böbrek transplant alıcıları	% 56-70
Enfeksiyöz mononükleoz hastaları	% 50-100
Lösemi veya lenfoma hastaları	% 74-92

EBV ile ilişkili bazı neoplazmaların coğrafi dağılımında kofaktörlerin etkisi olduğu düşünülmektedir. Örneğin sıtma enfeksiyonunun, Afrikada görülen BL'larda bağışıklık sistemini baskılaması buna örnek verilebilir (5, 8).

EBV, EBNA-2, -3A, -3B ve -3C'deki sekans polimorfizmlerine dayanarak 1 ve 2 olarak iki tipte sınıflandırılır. Tip 1 EBV izolatları, in vitro B hücresi dönüşümünde, tip 2 izolatlardan daha etkili olmaktadır, ancak EBV tiplerindeki farklılıklar insanda oluşan hastalıklarla ilişkili bulunmamaktadır ve çalışılan tüm popülasyonlarda her iki tip de saptanmaktadır (6).

2.8. Klinik

2.8.1. Enfeksiyöz Mononükleoz

Bebeklerin ve çocukların EBV enfeksiyonlarının çoğu asemptomatiktir veya spesifik olmayan semptomlara sahipken, ergenlerin ve yetişkinlerin enfeksiyonları sıklıkla EM ile sonuçlanmaktadır (35, 36).

EM hastalarının yüzde 50'den fazlası ateş, lenfadenopati (LAP) ve farenjit (klasik triad) semptomlarını gösterirken; hastaların % 10'undan fazlasında splenomegali, palatal peteşi ve hepatomegali görülmektedir. Daha az görülen komplikasyonlar arasında hemolitik anemi, trombositopeni, aplastik anemi, miyokardit, hepatit, genital ülserler, splenik rüptür, döküntü ve Guillain-Barré sendromu, ensefalit ve menenjit gibi nörolojik komplikasyonlar söylenebilir (8, 37).

EM boğaz ağrısı, ateş ve boyunda ağrılı lenf bezleri ile karakterizedir. İnkübasyon periyodu 30 gün civarındadır (38).

EM iki klinik formda kendini göstermektedir. Birinci form akut olarak başlayan boğaz ağrısı ve takibinde servikal lenf nodu büyümesiyle kendini göstermektedir. Diğer formu ise yavaş gelişen yorgunluk ve miyalji ile seyretmektedir. Semptomların çoğu 10 gün içerisinde sonlanır veya azalmaya başlar fakat servikal LAP üç hafta boyunca devam etmektedir (39).

Primer EBV enfeksiyonu sonrası görülen EM tablosunda litik antijenlere karşı oluşan antikorlar serumda yüksek titrasayonlarda bulunur ve aynı şekilde EBV DNA viral yükde yüksektir. Tanı klinik bulgular ile birlikte atipik lenfositler ve heterofil antikorların saptanması ile konulmaktadır. Heterofil antikorlar 6-12 ay kadar pozitif kalabilmektedirler (8).

2.8.2. Kronik Aktif Enfeksiyon

Kronik aktif EBV enfeksiyonu nadir görülen bir hastalık olmakla birlikte primer EBV enfeksiyonu olarak başlayan ve 6 aydan uzun süren hastalık tablosu yada anormal antikor titreleri olan, organ hastalıklarına ait histopatolojik bulgusu bulunan ve EBV antikorlarının ve dokuda EBV DNA viral yükün gösterilmesi ile tanımlanır (37).

Konak virüs dengesinin bozulması ile kronik aktif EBV enfeksiyonu (KAEBV) gelişmektedir. Genel olarak, KAEBV kronik veya tekrarlayan enfeksiyöz mononükleoz benzeri semptomlarla, yüksek VCave EA titresi, düşük EBNA titresi ile karakterize bir tablo olarak karşımıza çıkmaktadır (40).

2.8.3. Burkitt Lenfoma (BL)

Sahra altı Afrika'da, endemik BL, küçük çocuklarda en sık görülen malignite tablosudur ve görülme sıklığı yılda 100.000 kişide 8-10'dur. Endemik BL hemen hemen her zaman EBV ile ilişkilidir. Sıtma görülme sıklığının yüksek olduğu Ekvator Afrika'da BL riski en fazladır (9). Endemik bölgelerde EBV litik antijenlerine karşı yüksek titreleri olan kişiler BL için yüksek risk altındadır (41). BL riski yüksek endemik bir bölgedeki çocukların, yaşamlarında daha önce EBV ile enfekte oldukları ve bebeklik döneminde nonendemik olmayan bölgelere kıyasla daha yüksek EBV DNA viral yüklerinin olduğu gösterilmiştir (42).

2.8.4. Hodgkin Lenfoma (HL)

MacMahon 1966 yılında, HL'nin bulaşıcı bir ajandan kaynaklanabileceğini öne sürmüştür. Bu ajanın EBV olabileceğine dair ilk kanıt, HL hastalarında diğer lenfoma hastalarına kıyasla EBV antijenlerine karşı oluşan yüksek antikor titrelerinin tespit edilmesi ve ayrıca bu antikor titrelerinin birkaç yıl boyunca HL gelişimini devam ettirmesiyle gösterilmiştir (12,43).

Klasik HL 1) Nodüler skleroz; 2) Karışık hücreli; 3) Lenfositten az tip; 4) Lenfosit predominant (LP) tip olmak üzere dört histolojik alt tipten oluşmaktadır (6,39)

HL hastaları, lenfoma başlamadan önce sıklıkla EBV yapısal proteinlerine karşı yüksek antikor titrelerine sahiptir (37).

2.8.5. Nazofaringeal Karsinom

Nazofaringeal karsinomlar Güney Çin, Kuzey Afrika ve Amerikan Eskimoları arasında coğrafik ve etnik olarak daha sıklıkla görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü

(DSÖ) tarafından Nazofaringeal karsinomlar Tip 1 skuamöz (iyi diferansiye, keratinize); Tip 2 keratinize olmayan; Tip 3 indiferansiye (kötü diferansiye) olmak üzere üç histopatolojik tipe ayrılmaktadır (44).

Bu klinik tabloda VCA'ya ve EA'ya ait IgA titreleri tanı için oldukça önem taşımaktadır. IgA titrelerindeki artış, farklılaşmamış nazofaringeal karsinomunun gelişiminden birkaç yıl önce ortaya çıkabilmektedir. Periferik mononükleer hücrelerde EBNA-1 DNA'sının tespiti, metastaz gelişmesi ihtimalinin oldukça yüksek olduğunu gösteren önemli bir risk faktörüdür (45).

2.8.6. Post Transplant Lenfoproliferatif Hastalık (PTLH)

PTLH organ transplantasyonu sonrası uygulanan immünsüpresif tedaviye bağlı olarak lenfositlerin kontrolsüz çoğalması sonucu gelişen ciddi bir komplikasyondur. PTLH DSÖ tarafından plazma hücre hiperplazisi / erken lezyon PTLH, polimorfik PTLH (poliklonal veya monoklonal) ve monomorfik PTLH olarak sınıflandırılmaktadır (46).

İmmün sistemi baskılanmış hastalarda hastalarda, virüsle enfekte olmuş bellek B hücrelerinin sayısı, sağlıklı insanlara göre 50 kat daha fazla olabilmektedir. T hücrelerinin sayısının ve fonksiyonunun azalması nedeniyle, enfekte hücreler EBV'ye özgü CTL'ler tarafından kontrol edilememekte ve virüs ile enfekte hücrelerin kontrol edilemeyen çoğalması PTLH tablosu görülmektedir. Bununla birlikte, her EBV-seropozitif transplant alıcısında PTLH gelişmez. Bunun nedeni olarak enfekte olmuş lenfoblastların çoğunun bellek hücrelerine dönüşmesi ve sadece bu dönüşümü gerçekleştiremeyen hücrelerin serbestçe çoğalmaya başlaması olduğu düşünülmektedir (47).

PTLH geçiren hastalarda EM'a benzer semptomlar veya ateş ve lenf nodlarının lenfomatöz infiltrasyonu görülmektedir. İnsidansı böbrek nakli sonrası % 1 ile % 2 ve kalp-akciğer nakli sonrası % 5 ile % 9 olarak bildirilmektedir. Primer enfeksiyon geçiren hastalar reaktivasyon geçiren hastalardan daha fazla risk altındadır (3,9).

2.8.7. X'e Bağlı Lenfoproliferatif Sendrom (XLPS)

Çoğunlukla 5 yaşın altındaki erkek çocuklarda görülen bir klinik tablodur. Genetik açıdan incelendiğinde bu hastalarda, X kromozomunun uzun kolunda, 25. pozisyonunda meydana gelen bir mutasyondur (Xq25). Bunun sonucu olarak, IFN-

gamma sentezi için gerekli, lenfositlerin yüzeyinde bulunan bir reseptör olan Signaling Lymphocytic Activation Molecule (SLAM) ile ilişkili protein, (SAP) SAP protein gereğince sentezlenemez. Bu mutasyonu bulunan çocuklarda primer EBV enfeksiyonu gelişmesi halinde IFN-gamma yapımı düzenlenemez. B lenfositlerin kontrolsüzce çoğalır. Dolayısıyla EBV enfeksiyonu çok ağır bir şekilde geçirilmekte ve çoğunlukla 10 yaşından önce mortalite ile sonuçlanmaktadır (48).

2.9. Tanı

2.9.1. Kullanılan Klinik Örnekler

EBV enfeksiyonlarının tanısında kullanılan uygun klinik örnekler, beyin omurilik sıvısı (BOS), tam kan, serum, plazma, parafinlenmiş doku ve taze dondurulmuş doku örnekleridir. Serum veya plazma örnekleri +4°C'de birkaç gün saklanabilmektedir. Alınan örnekler hemen çalışılmayacak ise çalışma zamanına kadar -86°C'de saklanmalıdır (24,39).

2.9.2. Virus İzolasyonu

Tükürük, perifer kanı veya lenfoid dokudan izolasyon yapılabilmektedir. Enfekte ettiği hücrelerde sitopatik etki göstermemektedir. Orofarengeal veya genital sekresyonlar, periferik kan (10 ila 30 mL) veya tümör dokusundan alınan klinik örnekler, özellikle EBV enfeksiyonuna duyarlı olan tam tabaka insan göbek kordonu lenfositlerinden oluşan hücre kültürü ortamına ekilir ve hücre transformasyonunun gözlemlenmesi için 4-6 hafta süre ile inkübe edilir (49). Emek isteyen ve zaman alıcı bir yöntem olması nedeniyle rutinde kullanılmamaktadır (24,27).

2.9.3. Serolojik Tanı

2.9.3.1. Heterofil Antikor Testleri

Paul ve Bunnell tarafından koyun eritrositlerini aglütine eden antikorlar olarak tanımlanan heterofil antikorlar, vakaların % 90'ında hastalığın bir döneminde görülmektedir (3). Titrimetrik heterofil antikor testi olarak geçen Paul-Bunnell testi kullanılmaktadır (8).

Semptomların başlangıcından 2-5 hafta sonra en yüksek seviyelerine ulaşırlar daha sonra hızla düşerler nadiren 6-12 ay boyunca pozitif kalabilirler. 2-5 yaş arası çocukların % 50'sinde enfeksiyonun herhangi bir döneminde, 2 yaşından küçüklerde ise % 10 ila % 30'u pozitif olarak bulunmuştur. Bu nedenle, yanlış negatif sonuçların

oranı küçük çocuklarda yüksek olabilmektedir. Günümüzde monospot testi gibi ticari spot kitler mevcuttur ve genellikle spesifik ve heterofil antikorlar için oldukça duyarlıdır (50).

2.9.3.2. EBV'ye Spesifik Antikor Testleri

İmmün floresan antikor testi, İmmünblot ve EBNA, EA, VCA antijenlerine karşı antikorların araştırıldığı testleri kapsamaktadır (8).

Enfeksiyon sırasında EBV major antijenlerine karşı oluşan antikorların varlığının belirlenmesi özellikle atipik lenfositöz ve heterofil antikorların bulunmadığı, ancak EBV enfeksiyonundan şüphelenilen hastalarda oldukça önem taşımaktadır. EBV serolojisi akut enfeksiyonun geçirilmiş enfeksiyondan ya da reaktivasyondan ayırımında önem taşımaktadır (32).

VCA IgM antikorları akut enfeksiyon göstergesi olup klinik semptomlarla birlikte üç ay saptanabilmektedir. VCA IgG antikorları ise semptomların başlamasından 4-7 gün sonra ortaya çıkar ömür boyu varlığını sürdürür. EBNA IgG antikorları konvelasan dönemde ortaya çıkmaktadırlar ve ömür boyu kalabilmektedir. EA-D IgG antikorları üçüncü haftada en yüksek seviyelere ulaşmakta ve üç ayda saptanamayan düzeylere düşer. EA'nin R komponentine karşı oluşmuş antikorlar ise iyileşme döneminde görülmektedir (8,32,50). EA ve EBNA için IgM testlerinin güvenilirliği tartışılmakta ve tanı aşamasında önerilmemektedir (51).

Tablo 3: EBV'ne ait antikorların serolojik açıdan yorumlanması (31)

	ANTI-VCA IgG	ANTI-VCA IgM	ANTI-EA	ANTI-EBNA
EBV Enfeksiyonu Geçirmemiş	-	-	-	-
Akut Enfeksiyon	+/++	+/++	+	-
Yeni Geçirilmiş Enfeksiyon	++	+/-	+/++	+/-
Geçmişte Geçirilmiş Enfeksiyon	+	-	-	+
Kronik/ Reaktif Enfeksiyon	+	-	+/-	+

İndirekt immüno Floresan teknikleri, VCA IgG ve IgM'in tespiti için "altın standart" olarak kabul edilmektedir (51). Genellikle BL'lı hastalarda EBV'nin transforme ettiği B hücre hatları için kullanılmaktadır (50). Ticari olarak hazırlanmış P3HR-1 ve Raji hücre dizileri kaplı lamalar bulunmaktadır (8).

Klinik tablonun başlangıcında VCA IgM antikorları VCA IgG antikorlarından önce oluşmayabilir. Bu nedenle IgG olgunlaşma derecesini değerlendiren IgG avidite testi kullanılmaktadır (50, 52). VCA IgG avidite testi, anti-EBNA-1-negatif hastalarda primer enfeksiyon ile geçmiş enfeksiyonun ayırımında önem taşımaktadır (53).

Yüksek özgüllüğü nedeniyle immüno blot testleri doğrulama yöntemi olarak önerilmektedir (8). EBV immüno blot testlerinde EBNA-1 (p72), VCA (p18 ve p23), EA (p54 ve p138) ve MA (gp 350/250) rekombinant antijenleri kullanılmaktadır (50).

2.9.4. Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri (NAAT)

EBV DNA, EM'nin seyri sırasında lenfositlerde ve plazmada tespit edilebilmektedir. EBV DNA'nın kopya sayısını belirlemek için real-time PCR yöntemi kullanılmaktadır (3). Özellikle transplantasyon sonrasında PTLH gelişiminin takip edilebilmesi açısından önem taşımaktadır. EBV enfeksiyonlarında kantitatif testler ile sağlıklı dönemdeki latent virüs yüküne göre 3-4 katlık bir artış anlamlı kabul edilmektedir. EBV DNA testlerinde hastalık riskini belirten eşik değerin kesin olmaması, klinik uygulamada sorun teşkil etmektedir (8). Özellikle pediatrik gruplarda PTLH gelişiminin takibi açısından viral yük seviyelerinin devamlı bir şekilde kontrolünün yapılması önerilmektedir (21).

Bağışıklık sistemi baskılanmış gruplarda ve EBV ile ilişkili maligniteleri olan hastalarda PCR testleri ile EBV DNA viral yükünün belirlenmesi daha anlamlı olmaktadır. Günümüzde bu konu ile ilgili olarak tanıda kullanılan çok sayıda ticari PCR testleri bulunmaktadır. Yüksek virüs saptama duyarlılığı isteniyorsa, viral genom başına 7 ila 11 kez bulunan internal viral BamHI W-tekrarlarının PCR hedefi olarak kullanımı tercih edilmelidir (54).

2.10. Tedavi

EBV hastalığı için etkili bir tedavi veya aşı bulunmamaktadır. Virüsün her yerde bulunması ve asemptomatik yayılım potansiyeli enfeksiyonun kontrolünü

zorlaştırmaktadır. EM'nin önlenmesinin en iyi yolu, hastalığın çocuklarda daha hafif geçirilmesi ve ömür boyu bağışıklık sağlaması nedeniyle yaşamın erken dönemlerinde virüse maruz kalmaktır (5).

EM tedavisi ile hastaların % 95'inden fazlası spesifik bir tedavi olmadan sorunsuzca iyileştiğinden büyük oranda destekleyicidir. Asiklovir, gansiklovir ve foskarnet gibi antiviral ajanlar *in vitro* olarak EBV replikasyonunu inhibe eder. Bununla birlikte, bu ajanlar sadece litik enfeksiyon sırasında eksprese edilen viral DNA polimerazı hedeflemektedir (3).

Kortikosteroidler ateş ve boğaz ağrısını azaltmaktadır; ancak, hücresel bağışıklık gelişimini engelleme olasılıkları yüksek olabileceğinden çoğu EM vakası için önerilmez (6).

PTLH hastalarında immünsüpresyondaki azalma, virüsle enfekte olmuş B hücrelerine karşı EBV'ye özgü T hücre aktivitesini arttırabilir ve mevcut olan tümörün gerilemesine neden olabilir (6).

2.11. Korunma

Virüs yakın temas ile bulaşmaktadır bu nedenle hijyen kurallarına dikkat edilmesi gerekmektedir (8).

EBV enfeksiyonunu veya hastalığını önlemek için aşılama, nakil alıcıları dahil olmak üzere bazı yüksek riskli gruplarda önemli olacaktır. Günümüzde yapılan aşı çalışmalarında gp350 nötrleştirici antikoru ana hedefi olduğu için ana immünojendir (6).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 23/03/2018 tarihinde onanmış, ayrıca hastalar bilgilendirilerek, kendilerinden onam alınmıştır. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Nefroloji Polikliniğinde böbrek transplantasyonu yapılmış 18 yaş altı çocuk hastalardan alınan plazma örneklerinde immünblot testi ile EBV serolojilerine bakılmış ve RT-PCR yöntemi ile EBV-DNA viral yükü kantitatif olarak incelenmiştir. Çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı PCR Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Hastalardan EDTA'lı tüplerde gelen kan örnekleri 4000 rpm de 5 dk santrifüj edilmiş ve plazma örnekleri 1.5 ml'lik ependorf tüplerine alınmıştır. Ependorf tüplerine alınan plazma örnekleri 1'den 22'ye kadar numaralandırılarak etiketlenmiş ve çalışma zamanına kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.1. Serolojik Tanı

Serolojik tanı EUROIMMUN (Almanya) EUROLINE Anti-EBV Profile 2 IgG-IgM kiti kullanılarak VCA gp125, VCA p19, EBNA-1, p22 ve EA-D antikorlarına bakılarak gerçekleştirilmiştir.

3.1.1. Kullanılan Malzemeler

- Derin dondurucu (Uğur, Türkiye)
- EDTA'lı tüp
- Santrifüj
- Ependorf tüpü (1.5mL)
- Buzdolabı (Bosh, Almanya)
- Pipet ucu (0-200µL)
- Immunblot EBV IgM profile-2 (Euroimmun, Almanya)
- Immunblot EBV IgG profile-2 (Euroimmun, Almanya)

3.1.2. Test Prosedürü

İlk olarak hastalara ait örnekler 1:51 oranında universal buffer ile dilüe edilmiş ve vortexlenmiştir. Daha sonra inkübasyon kanallarına EBV IgM şeritleri yerleştirilmiş ve her kanala 1.5 ml universal buffer konulmuştur. Çalkalayıcıda 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve kanallardaki sıvılar aspire edilmiştir. Hastalara ait dilüe edilmiş örneklerden 1.5 ml striplerin bulunduğu inkübasyon kanallarına eklenmiş ve 30 dakika çalkalayıcıda inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrasında kanallarda bulunan sıvı aspire edilmiş ve her kanala 1.5 ml universal buffer konularak 3 kere 5'er dakika çalkalayıcıda yıkanmıştır. Kanallardaki sıvı aspire edilmiş ve her kanala 1.5 ml enzim konjuge IgM konulmuş ve 30 dakika süre ile oda sıcaklığında çalkalayıcıda inkübasyona bırakılmıştır. Kanallarda bulunan sıvı pipet yardımı ile aspire edilerek her kanala 1.5 ml universal buffer konulmuş ve 3 defa 5'er dakika çalkalayıcıda yıkama işlemi yapılmıştır. Kanallardaki sıvı aspire edilerek her kanala 1.5 mL substrat ilave edilmiş ve 10 dakika oda sıcaklığında çalkalayıcıda inkübe edilmiştir.

Kanallardaki sıvı aspire edilmiş ve her kanala 1.5 mL distile su eklenerek çalkalayıcıda 3 kere 1'er dakika yıkama işlemi yapılmıştır. Kanallardaki sıvı aspire edildikten sonra şeritler kurutularak değerlendirilmeye alınmıştır.

İmmünblot EBV IgG stripleri ile hasta çalışması yapılırken yukarıdaki çalışma prosedürünün aynısı uygulanmış ve farklı olarak konjüge aşamasında IgG enzim konjüge reaktifi kullanılmıştır.

3.1.3. Değerlendirme

Tablo 4 : İmmünblot testi sonuç yorumlama tablosu

Enfeksiyon Durumu	İlgili Antikorlar				
	Anti-VCA (IgG)	Anti-VCA (IgM)	Anti-EBNA1 (IgG)	Anti-p22 (IgG)	Anti-EA-D (IgG)
Negatif	-	-	-	-	-
Akut Enfeksiyon	+	+	-	-	+
Geçirilmiş Enfeksiyon	+	-	+	+	-

Çalışılan immünblot testlerinin sonuçları kitin prospektüsünde verilen tablo kullanılarak değerlendirilmiştir (Tablo 4).

Negatif immünblot test sonucu Şekil 4’te, akut ve geçirilmiş enfeksiyon immünblot test sonucu sırasıyla Şekil 5 ve 6’da gösterilmiştir.



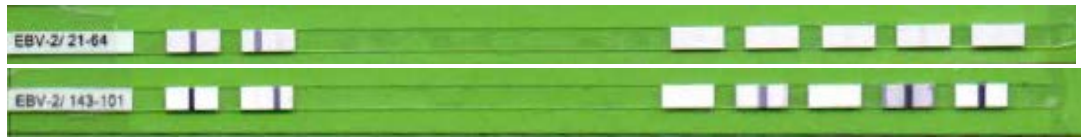
Şekil 4 : Negatif immünblot test sonucu

Akut Enfeksiyon :



Şekil 5 : Akut enfeksiyon immünblot test sonucu

Geçirilmiş Enfeksiyon :



Şekil 6 : Geçirilmiş enfeksiyon immünblot test sonucu

Reaktivasyon immünblot çalışması Şekil 7’de gösterilmiştir.



Şekil 7 : Reaktivasyon immünblot test sonucu

3.2. EBV DNA Viral Yük Belirlenmesi

EBV DNA viral yükü belirlenirken EBV DNA izolasyonu için QIAamp® MinElute® (Almanya) Virus Spin kiti, RT-PCR çalışması için Fluorion Epstein-Barr Virüs QNP 1.0 Real-Time PCR kiti (Almanya) kullanılmıştır.

3.2.1. Kullanılan Malzemeler

- Derin dondurucu (Uğur, Türkiye)
- Buzdolabı (Bosch, Almanya)
- RT-PCR cihazı (Rotor Gene Q Cihazı, Almanya)
- QIAamp MinElute Virus Spin Kit (Qiagen, Almanya)
- Fluorion Epstein-Barr Virüs QNP 1.0 Real-Time PCR Kiti
- EDTA'lı tüp
- Isı bloğu (Techne, İngiltere)
- Santrifüj (Rotuna38)
- Eppendorf tüpü (1.5 mL)
- Pipet ucu (20, 200, 1000 µl)

3.2.2. EBV DNA İzolasyon Test Prosedürü

1- 1.5 ml hacimli 22 adet eppendorf tüplerinin her birine 25 µl QIAGEN proteaz (proteinaz K) eklenmiştir.

2- Daha sonra tüm hasta örneklerinden 200 µl alınarak eppendorf tüplerinin içerisine eklenmiştir.

3- Tüplere 200 µl Buffer AL ilave edilmiş ve tüpler 10 saniye süresince vortekslenmiştir.

4- Tüpler 56 °C derecede 15 dakika inkübe edilmiştir.

5- Tüp kapaklarının iç tarafındaki damlaları tüpün içine alabilmek için quick-spin şeklinde santrifüj yapılmıştır.

6- Örneklerin üzerine 250 µl etanol (% 96) eklenmiş ve 5 dakika oda ısısında inkübe edilmiştir.

7- Tüplerin kapaklarının iç tarafındaki damlaları tüpün içine düşmesi için kısa bir süre santrifüj yapılmıştır.

8- Ependorf tüplerin içinde bulunan karışım QIAGEN spin kolon tüplerine aktarılmıştır.

9- Tüplerin kapağı kapatıldıktan sonra 6000 xg (8000 rpm) hızda 1 dakika santrifüj edilmiştir. QIAamp spin kolon tüplerinin üst kısmındaki filtreli kısım temiz 2 ml hacimli toplama tüplerine yerleştirilmiş ve santrifüj sonrasında içerisinde solüsyon biriken eski toplama tüpleri atılmıştır.

10- Spin kolon tüplerinin kapakları dikkatlice açılmış ve tüplerin içerisine 500 µl Buffer AW1 eklenmiştir.

11- Tüplerin kapağı kapatılmış ve sonra 6000xg (8000 rpm) hızda 1 dakika santrifüj edilmiştir. QIAamp spin kolon tüplerinin filtreli kısmı yeni toplama tüplerine yerleştirilmiş ve santrifüj sonrasında içerisinde solüsyon biriken spin kolon tüpleri atılmıştır.

12- Spin kolon tüplerine 500 µl Buffer AW2 eklenmiştir.

13- Tüplerin kapağı kapatılıp, 6000xg (8000 rpm)'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. QIAamp spin kolon tüplerinin filtreli kısmı yeni toplama tüplerine yerleştirilmiştir. Santrifüj sonunda içerisinde solüsyon biriken eski tüpler atılmıştır.

14- Spin kolon tüplerinin içerisine 500 µl etanol eklenmiştir.

15-Tüplerin kapağı kapatılmış ve sonra 6000xg (8000 rpm) hızda 1 dakika santrifüj edilerek filtreli kısımda bulunan sıvının toplama tüpü içerisinde birikmesi sağlanmıştır. Toplama tüpleri içerisinde biriken sıvı tüp ile birlikte atılmıştır. QIAamp spin kolon tüplerinin filtreli kısmı yeni toplama tüpüne yerleştirilmiştir.

16- Spin kolon tüplerinin içerisine hiçbir şey ilave edilmeden 20.000xg (14.000 rpm) hızda 1 dakika boş olarak santrifüj edilmiş böylece kalan sıvıların filtreden geçmesi sağlanmıştır.

17- QIAamp spin kolon tüplerinin filtreli kısmı yeni 2ml hacimli toplama tüplerine yerleştirilmiş ve membranın tamamen kuruması için 3 dakika 56°C'de inkübe edilmiştir.

18- QIAamp spin kolon tüplerinin filtreli kısmı yeni 1.5 ml hacimli toplama tüpü içine yerleştirilmiş ve tüplerin içerisine 60 µl Buffer AVE eklenmiştir.

19- Tüplerin kapağı kapatılıp 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve daha sonra 6000xg (8000 rpm)'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

20- Santrifüjden sonra QIAGEN spin kolon tüplerinin filtreli kısmı atılarak 1.5 mL'lik ependorf tüplerin içerisinde virus DNA'sı elde edilmiştir.

3.2.3. RT-PCR Test Prosedürü

Tez çalışması kapsamında kullanılan PCR karışımı ve hasta örneği hazırlanışı Tablo 5’te gösterildiği şekilde hazırlanmıştır.

Tablo 5: PCR karışımı ve hasta örneği hazırlama tablosu

Probe PCR Mix	12.5 µl
Deteksiyon Mix 1	3 µl
Deteksiyon Mix 2	1 µl
İnternal Kontrol	1 µl
Örnek DNA/Negatif/Pozitif Kontrol	12.5 µl
Toplam Hacim	30 µl

Ticari olarak temin edilen kit prospektüsü içerisinde bulunan PCR karışımı her bir hasta için belirtilen miktarlarda hazırlanmış, 12.5 µl örnek DNA eklenmiş ve soğuk ısı bloğunda PCR tüplerine örnek DNA eklenen karışımlar dağıtılmıştır. Tüpler Rotor Gene Q cihazına yerleştirilmiş ve standartlar cihaza kaydedilmiştir.

Standartlar

Standart 1: 2.000.000 kopya/µl

Standart 2: 200.000 kopya/µl

Standart 3: 20.000 kopya/µl

Standart 4: 2.000 kopya/µl

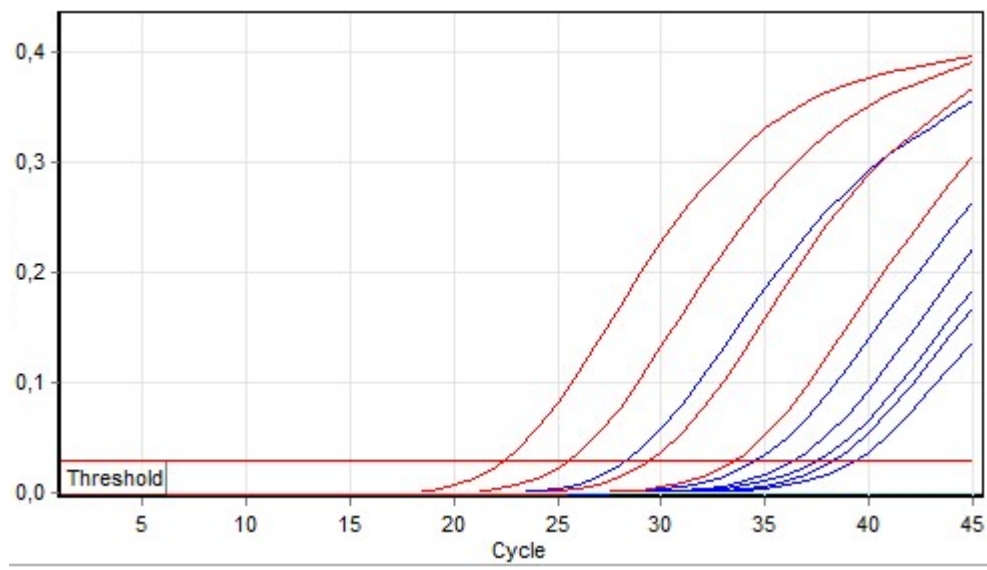
Tablo 6: Rotor Gene cihazında denatürasyon ve amplifikasyon döngü ve ısı tablosu

Aşama	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)	Döngü Sayısı
İk Denatürasyon	95	15:00	1
Denatürasyon	95	00:30	50
Primer Bağlanma ve Sentez	54	01:30	
Sonsuz İnkübasyon	22		

Denatürasyon ve amplifikasyon aşamaları Rotor Gene cihazında Tablo 6’da gösterildiği gibi gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Değerlendirme

Rotor Gene cihazında gerçekleşen prosedürde iki adet boyadan (FAM ve Cy5) yararlanılmıştır. Termal protokol bittiğinde, Fluorion deteksiyon sistemi yazılımı baseline döngülerini ve eşiği otomatik olarak hesaplamaktadır. Baseline döngüleri her bir örnek için ayrı ayrı belirlenir ve eşik, tüm örneklerin baseline döngülerinin üzerindeki standart sapmasının 10 katı olarak hesaplanır. Standart eğri (Eşik Döngüsü-Log Başlangıç Miktarı) tanımlanmış standartlardan elde edilen veriler kullanılarak oluşturulur. Reaksiyonun her döngüsünde, oluşan PCR ürünü ile floresans düzeyinin artışı aracılığıyla, hassas bir ölçüm saptanır. Röportör tarafından yayılan floresans PCR ürünü biriktikçe artar; sinyalin arka plan seviyesinin üzerine çıktığı ve ayırdedilebilir hale geldiği noktaya eşik döngüsü (threshold cycle; CT) adı verilir. Bir DNA kalıbının log başlangıç miktarı ile eşik döngüsü arasında lineer bir ilişki vardır, bu yüzden miktarı bilinmeyen kalıpların başlangıç miktarları, başlangıç miktarı bilinen hedef kalıpların CT değerleri kullanılarak oluşturulan standart eğriler aracılığıyla belirlenmektedir. Çalışmamızda kullanılan standart eğri Şekil 8’de gösterilmektedir.



Şekil 8: EBV DNA kantitatif viral yük sonuçlarının değerlendirilmesi

4. BULGULAR

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Nefroloji Polikliniğinde böbrek transplantasyonu yapılmış 0-18 yaş arası çocuk hastalarda immünblot yöntemiyle serolojilerine bakılmıştır. RT-PCR yöntemi ile EBV-DNA kantitatif olarak incelenmiştir. Araştırmaya katılan toplam 22 hastanın % 36' sı (8 kişi) kadın, % 64'ü (14 kişi) erkektir.

Erkek hastaların 8'inde EBV DNA pozitifliği saptanırken, 6' sında EBV-DNA negative olarak saptanmıştır. Kadın hastaların 4'ünde EBV DNA pozitif bulunmuş, 4'ünde EBV DNA saptanmamıştır. Tablo 7' de çalışmamıza ait EBV-DNA yüzde dağılımları gösterilmektedir.

Cinsiyet	EBV DNA(+)		EBV DNA(-)		Toplam
	Sayı(n)	Yüzde(%)	Sayı(n)	Yüzde(%)	
Erkek (n:14)	8	57,14	6	42,86	14
Kadın (n:8)	4	50	4	50	8

Tablo 7: Katılımcıların Cinsiyete Göre EBV-DNA yüzdeleri

Hastaların, RT-PCR ile bulunan EBV-DNA viral kantitatif yükleri Tablo 8'da verilmiştir.

Tablo 8: EBV-DNA Kantitatif yük sonuçları

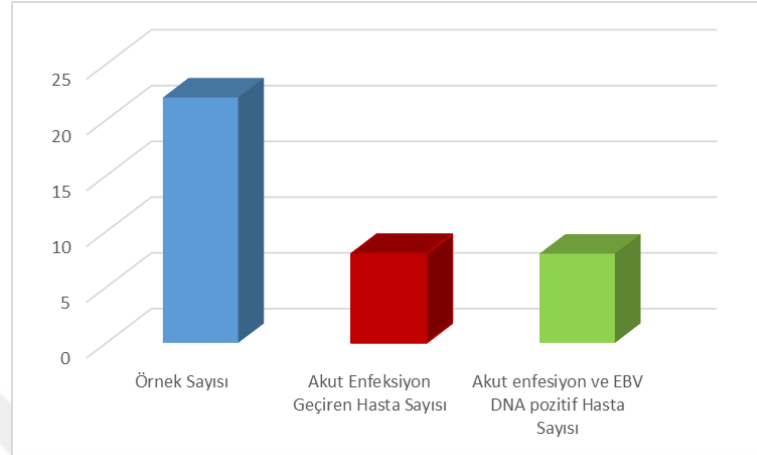
Hastalar	Cinsiyet	PCR
h2	Erkek	NEG
h8	Erkek	
h10	Erkek	
h17	Erkek	
h18	Erkek	
h20	Erkek	
h11	Erkek	3.477
h3	Erkek	1.132
h13	Erkek	551
h9	Erkek	543
h5	Erkek	349
h4	Erkek	208
h19	Erkek	150
h7	Erkek	65
h12	Kadın	NEG
h14	Kadın	
h16	Kadın	
h22	Kadın	
h1	Kadın	169.226
h21	Kadın	594
h15	Kadın	375
h6	Kadın	180

İmmünblot testi ile belirlenen hastaların serolojik profillerinin dağılımları Tablo 9’ da belirtilmiştir.

Tablo 9: Hastaların Serolojik Profilleri

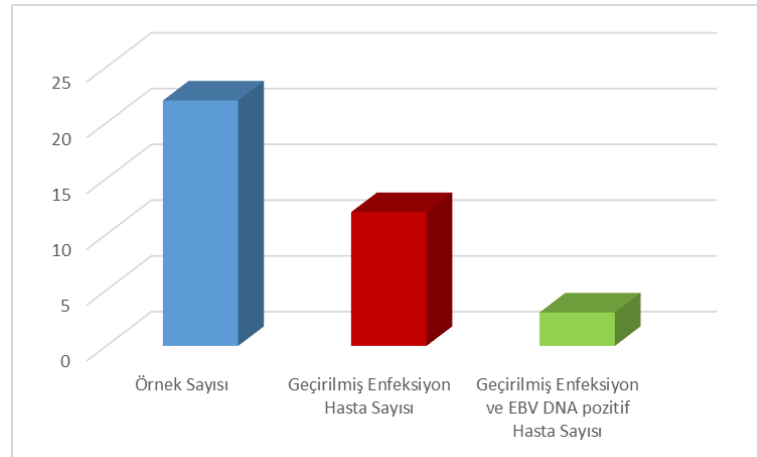
Seroloji	Sayı(n)	Yüzde (%)
Akut Enfeksiyon	8	36
Geçirilmiş Enfeksiyon	12	54
Reaktivasyon	1	5
Negatif	1	5
Toplam	22	100

Hasta grubunu oluşturan 22 örnekten 8 tanesinde akut enfeksiyon serolojisine rastlanmıştır. Tüm hastalar içerisinde akut enfeksiyon geçiren hastaların karşılaştırılması Şekil 9’da verilmiştir.



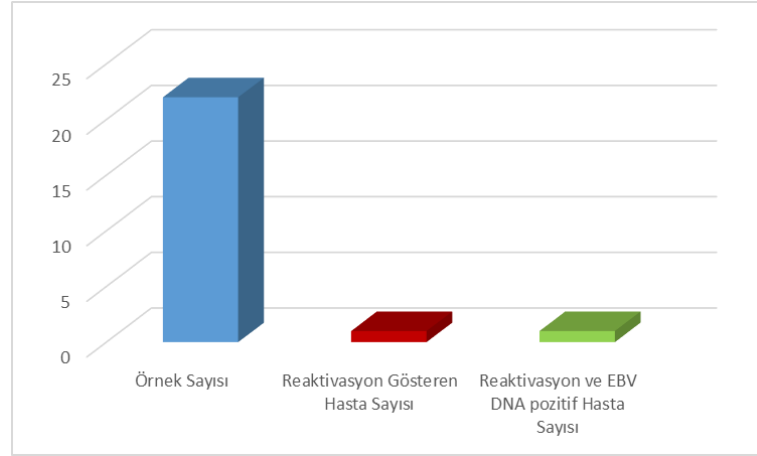
Şekil 9: Akut enfeksiyon geçiren hasta oranı

Hasta grubuna ait 22 örneğin 12’sinde geçirilmiş enfeksiyon serolojisi gözlemlenmiş olup, Şekil 10’da belirtilmiştir.



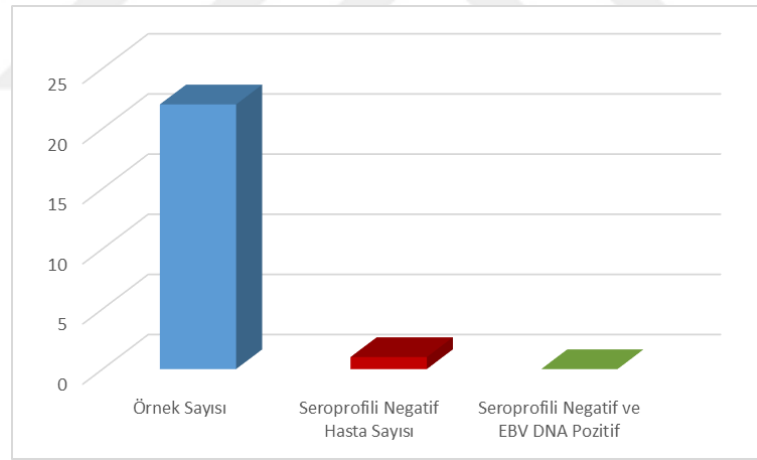
Şekil 10: Geçirilmiş enfeksiyon hasta oranı

Çalışmamızda yer alan hastalara ait reaktivasyon serolojisi verileri şekil 11’de gösterilmiştir. Hasta grubuna ait 22 örneğin 1’inde reaktivasyon serolojisi gözlemlenmiştir.



Şekil 11: Reaktivasyon oranı

Çalışmamızda 22 örnekten sadece 1'inde negatif enfeksiyon serolojisi gözlemlenmiş, RT-PCR sonuçları ile uyumlu bulunmuş ve aşağıdaki grafite gösterilmiştir (Şekil 12).



Şekil 12: Negatif hasta sayısı oranı

Tablo 10: Serolojik sonuçlar ve EBV DNA pozitiflik oranlarının karşılaştırılması

	EBV DNA Pozitifliği	Yüzde
Akut Enfeksiyon (n:8)	8	%100
Geçirilmiş Enfeksiyon (n:12)	3	% 25
Reaktivasyon (n:1)	1	%100

Tablo 11 : Akut enfeksiyon ve geçirilmiş enfeksiyon EBV DNA ortalamalarının karşılaştırılması

	Akut Enfeksiyon	Geçirilmiş Enfeksiyon	p
EBV DNA PCR Ortalaması	14738	496,166	0,0202

* Reaktivasyon hastası 1 hasta olduğu için değerlendirmeye alınmamıştır.

Hastalar	Yaş	Cinsiyet	VCA gp125 IgG	VCA p19 IgG	EBNA 1 IgG	p22 IgG	EAD IgG	EBV DNA	VCA gp125 IgM	VCA p19 IgM	EBNA 1 IgM	p22 IgM	EAD IgM	Sonuç Yorumu
h1	0-18 Yaş	Kadın	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	169.226	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Akut Enfeksiyon
h2	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	NEG	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Geçirilmiş Enfeksiyon
h3	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	1.132	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Geçirilmiş Enfeksiyon
h4	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	208	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Akut Enfeksiyon
h5	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	349	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Reaktivasyon
h6	0-18 Yaş	Kadın	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	180	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Geçirilmiş Enfeksiyon
h7	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	65	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Akut Enfeksiyon
h8	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	NEG	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Geçirilmiş Enfeksiyon
h9	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	543	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Akut Enfeksiyon
h10	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	NEG	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Geçirilmiş Enfeksiyon
h11	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	3.477	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Geçirilmiş Enfeksiyon
h12	0-18 Yaş	Kadın	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	NEG	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
h13	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	551	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Akut Enfeksiyon
h14	0-18 Yaş	Kadın	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	NEG	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Geçirilmiş Enfeksiyon
h15	0-18 Yaş	Kadın	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	375	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Akut Enfeksiyon
h16	0-18 Yaş	Kadın	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	NEG	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Geçirilmiş Enfeksiyon
h17	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	NEG	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Geçirilmiş Enfeksiyon
h18	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	NEG	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Geçirilmiş Enfeksiyon
h19	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	150	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Akut Enfeksiyon
h20	0-18 Yaş	Erkek	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	NEG	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Geçirilmiş Enfeksiyon
h21	0-18 Yaş	Kadın	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	594	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Akut Enfeksiyon
h22	0-18 Yaş	Kadın	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	NEG	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Geçirilmiş Enfeksiyon

Tablo 12: İmmün profil ve RT-PCR sonuçlarının değerlendirme tablosu

5. TARTIŞMA

EBV gamaherpesviridae ailesinde yer alan dünyada insanların % 90'ından fazlasını enfekte eden ve bazı malignitelerden sorumlu virüstür. Çoğunlukla asemptomatik primer enfeksiyonu takiben hayat boyu latent olarak kalmakta ve reaktivasyon sonucu farklı klinik tablolarda hastalıklar oluşturmaktadır. En sık görülen klinik tablo genç ve yetişkin kişilerde gösterilen EM'dir (37, 55). PTLH, EBV organ transplantasyonu sonrası immünsüpresyon kullanımına bağlı olarak lenfositlerin kontrolsüz proliferasyonu ile gelişen ciddi bir komplikasyondur. En yüksek PTLH insidansı çocuklarda görülmektedir (46, 56).

EBV, yakın temas ile bulaşan bir virüs olmakla birlikte seropozitiflik oranı yetişkinlerde % 90-95 iken, çocuklarda bu oran % 60-70'tir. Tonsiller virüsün ilk yerleşim yeridir ve aynı zamanda kaynağı durumundadır. EBV nükleer antijenlerinin oluşturmuş olduğu bir takım uyarı sonucu LMP-1 ve LMP-2 ve çeşitli proteinlerini sentezler. Bu proteinlerin işlevleri sonucunda virüs genomu hücre DNA'sına entegre bir şekilde pek çok EBV gen kopyası içeren yeni hücreler oluşmaktadır. Bu şekilde virüs buradaki B lenfositlerinde latent olarak kalmaktadır. Daha sonrasında immün sistemin baskılanması durumunda reaktifte olabilmektedir. Bazı virüsler ve parazitler EBV enfeksiyonlarına benzer klinik tablolar oluşturabilir bu nedenle EBV enfeksiyonunun kesin tanısı önem taşımaktadır (57).

EBV enfeksiyonunun tanısında çeşitli laboratuvar testleri kullanılmaktadır. Spesifik olmayan heterofil antikor testleri, spesifik anti-EBV antikorlarının belirlenmesi ve ayrıca EBV DNA kantitatif viral yükünün tespiti kullanılan yöntemler arasındadır (49). Tanı stratejileri, farklı terapötik müdahalelerin kullanımı nedeniyle immün sistemi baskılanmış ve immün sistem yetersizliği olan bireyler arasında farklılık göstermektedir. Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda müdahale zamanı önem taşıdığı için tanı yöntemlerinin, replikasyonun erken tespiti ve hastalık etkeni için yüksek öngörü değeri olması gerekmektedir (53).

EBV serolojisi yüksek derecede değişkenlik göstermesine rağmen, serolojik sonuçların yorumlanması için kriterler bulunmaktadır. Her ne kadar EBV genomu bir dizi farklı yapısal ve yapısal olmayan genleri kodlarsa da, serolojik tanı için en önemli olanlar VCA, EA ve EBNA kodlayan genlerdir (53).

PTLH'in erken tanımlanması hızlı tedaviye olanak sağlar ve mortaliteyi azaltmaktadır. EBV DNA viral yüküyle birlikte EBV EA IgG gibi bir serolojik testlerin kullanılması, EBV'nin neden olduğu PTLH gelişme riskinin daha iyi öngörülmesinde oldukça önem taşımaktadır (58).

Rekombinant antijenlerle birlikte immüno blot testlerinin (Western blotlar) gelişimi, EBV enfeksiyonlarının tanısında önemli bir yer tutmaktadır. İlk Western blot testlerde p72 (EBNA-1, viral gen BKRF1), p23 (BLRF2, VCA'nın bir bileşeni) ve erken proteinler p54 (BMRF1) ve p138 (BALF2) kullanılmıştır. Daha sonra VCA'nın bir başka bileşeni olan p18 (BFRF3) çeşitli analizlerde eklenmiştir. p18, enfeksiyon durumunda sıklıkla erken saptanan ve spesifik pozitifliği tanımlayan bir belirteç olarak karşımıza çıkmaktadır. İmmüno floresan temelli testlerle immüno blot yöntemi karşılaştırıldığında, immüno blot yönteminin sonuçlar açısından daha avantajlı olduğu görülmektedir. Rekombinant teknolojisinde, yüksek oranda saflaştırılmış antijenler kullanıldığından ve antihücre sel reaktivite problemi ortadan kalktığından immüno blot yönteminin immüno floresansa göre daha avantajlı olduğu görülmektedir. Ayrıca rekombinant antijenlerin kullanımı nedeniyle, immüno blot sistemi daha yüksek antijen konsantrasyonları içermektedir (59).

Nilgün ve ark., (60) ELISA, immüno blot ve Real-time PCR'ı, IFA ile karşılaştırdıkları çalışmada IFA'nın altın standart olduğunu belirtmişler, immüno blot yöntemini ise doğrulayıcı test olarak kullanılabileceğini önermişlerdir. Özellikle immüno sistemi baskılanmış hastalarda vireminin belirlenmesi için RT-PCR önerilmektedir.

Maria ve ark. (61) transplantasyon hastalarında PTLH riski ile ilgili EBV DNA kantitatif viral yükünü belirlemek için dubleks RT-PCR yöntemini kullandıkları çalışmada transplantasyon hastalarında PTLH gelişimini saptamanın en iyi yolunun EBV DNA viral yükünün belirlenmesi olduğunu belirtmişlerdir.

Michelak ve ark. (62) pediatrik onkoloji hastalarında semptomatik EBV enfeksiyonlarının tanısında seroloji ve PCR yöntemlerinin birlikte kullanılmasının sadece serolojik yöntemlerin kullanıldığı tanıdan daha üstün olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda böbrek transplantasyonu olmuş immünsüprese tedavi gören 18 yaş altındaki 14'ü erkek, 8'i kadın çocuk hastalarda immüno blot yöntemi ile serolojik profillerine bakılmış ve elde edilen sonuçlar EBV DNA kantitatif viral yük sonuçları ile birlikte yorumlanmıştır.

Viral replikasyon nedeniyle EBV reaktivasyonu sık olarak görülmektedir ve genellikle klinik olarak semptomsuz seyretmektedir. Ancak tanıda immünsupresif bireylerde reaktivasyonun geçirilmiş enfeksiyondan ayrımı büyük önem taşımaktadır (32).

Çalışmamızdaki hastaların immün profilleri incelendiğinde 22 hastanın 8'inde akut enfeksiyon, 12 hastada ise geçirilmiş enfeksiyon serolojisi gözlemlenmiştir. Hasta grubu içerisinde ki 1 hasta serolojik açıdan negatif olarak bulunmuş, 1 hastada ise reaktivasyon serolojisi gözlemlenmiştir. Reaktivasyon serolojisinin yorumlanması aşamasında EBV DNA kantitatif viral yük değeri dikkate alınarak değerlendirme yapılmıştır.

Tetsuya Sato ve ark. (56) pediatrik böbrek transplantasyonu hastalarında yaptıkları çalışmada viral yük ve seroloji izlemi sonucunda PCR ile viral yük takibinin serolojiye nazaran sürveyans için daha uygun bir yöntem olduğunu ve transplantasyon öncesi EBV yönünden seronegatif olan hastalarda nakil sonrası 6 aya kadar aylık olarak EBV DNA kantitatif testi ile takibinin önemini vurgulamışlardır.

Rosemary ve ark. (63) retrospektif olarak akut enfeksiyon ve geçirilmiş enfeksiyon tanısı konmuş hastalarda yaptıkları çalışmada, akut enfeksiyonlu hastaların % 70'inde ve geçirilmiş enfeksiyon tanısı olan hastaların % 4'ünde EBV DNA'sını saptamışlardır. Akut enfeksiyonu olan hastalar için serolojinin tanıda maliyet açısından da daha kullanılabilir olduğunu, immünsüprese hastalarda ise PCR'ın kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Laurent ve ark. (64) kontrol edilemeyen EBV reaktivasyonu için, viral yükü 10.000 kopya/mL'nin üzerinde yada PTLH gelişme riski bulunan hastalar, risk faktörlerini belirlemeyi amaçladıkları çalışmada pediatrik nakil hastalarında uygun bir EBV viral yük eşiğini belirlemek ve EBV enfeksiyonunun izlenmesini, profilaksisini ve yönetimini iyileştirmek için çok merkezli prospektif çalışmalara ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır.

Çalışmamızda 22 hastanın 10'unda EBV DNA viral yük pozitif olarak saptanmış, 12 hastada ise negatif bulunmuştur. Erkek hastaların 7'sinde (% 50) pozitiflik bulunmuş, kadın hastaların ise 3 tanesinde (%37.5) pozitiflik görülmüştür.

Leung ve ark. (65) yaptıkları çalışmada EBV DNA'yı sağlıklı kontrol grubunda %18, böbrek transplant alıcılarında % 90 ve EM hastalarında % 93 oranında pozitif olarak saptamışlardır. EBV DNA ve serolojisinin EBV enfeksiyonlarının belirlenmesinde kullanılan başlıca laboratuvar testleri olduğunu belirtmişlerdir. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda EBV'ye karşı gelişen hüморal cevabın istenilen seviyelerde olmaması nedeniyle serolojik testlerin klinik tanıya yardımcı olması açısından yetersiz kalacağını belirtilmişlerdir. Bu hastalarda EBV DNA viral yükünün belirlenmesi, klinik olarak EBV enfeksiyonlarının tanısı açısından daha çok önem taşımaktadır. Ayrıca bu çalışmanın sonuçlarına göre yüksek EBV DNA yükleri gösteren immünsüprese hastalar ile akut EBV enfeksiyonu olan grup arasında korelasyon olduğu belirlenmiştir.

Mendogni ve ark. (66) transplantasyon aşamasında vericinin seropozitif, alıcının seronegatif olduğu durumların önemli bir risk faktörü olduğunu bildirmişler ve pre transplantasyon ve posttransplantasyon dönemlerinde özellikle genç yetişkinlerde EBV taraması yapılmasının önemini vurgulamışlardır.

Chen ve ark. (67) EBV enfeksiyonlarının endemik olduğu Tayvan'da pediyatrik karaciğer transplantasyonu alıcılarında EBV viral yük takibi ile PTLH ve risk faktörünü saptamayı amaçladıkları, transplantasyondan 3 ay sonra hayatta kalan ve nakilden 3 ay sonra viral yükü takip edebildikleri hastaları dahil ettikleri çalışmada PTLH insidansını % 9 olarak bulmuşlardır. Viral yükün 3 ay içerisinde 4.100 kopya/μg ve üzerindeki değerde olduğu hastaların EBV ile ilişkili PTLH için risk grubunda olduklarını belirtmişlerdir.

Liu ve ark. (68) böbrek transplantasyonu yapılan 1642 alıcı ile yaptıkları çalışmada 16 hastanın PTLH geliştirdiğini göstermişlerdir. Yüksek riskli grupları belirlemek için böbrek transplantasyonu öncesi donör ve alıcının EBV açısından taramasının önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Sonuç olarak akut enfeksiyon ve reaktivasyonun belirlenmesi transplantasyon hastaları açısından önem taşımakta ancak immünsüprese hastalarda serolojinin yetersiz kalması nedeniyle PCR testleri ile EBV DNA viral yükünün birlikte değerlendirilmesi önem taşımaktadır. Özellikle PTLH gelişiminin takibi açısından kantitatif PCR yöntemleri viral yüklerin artış veya azalışlarının takibi oldukça önem taşımaktadır. Transplantasyon alıcı ve vericilerinde nakil öncesi serolojik değerlendirmenin, alıcılarda

ise nakil sonrası reaktivasyon ve primer enfeksiyon ayrımı için serolojik sonuçlar ile birlikte moleküler yöntemlerin değerlendirilmesi gerektiğini ve immünblot yönteminin ileri dönemlerde transplantasyon hastalarında tanıya yardımcı olması açısından rutin tarama testi olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

- 1) K. Geçgel, S., Alparslan, E., Sevinir, B.B., Sınırtas, M., Göral, G. (2012). Epstein-Barr Virus Enfeksiyonlarının Tanısında PCR Sonuçlarının Değerlendirilmesi. Mikrobiyoloji Bülteni, 46(4): 594-606
- 2) Demircin, G., Öner, A. Posttransplant Lenfoproliferatif Hastalık. (1998).Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal Of The Turkish Nephrology,1:40-43
- 3) Johannsen, E.C., Kaye, K.M. (2015) Epstein-Barr Virus.In: Mandell Gl, Bennett Je, Dolin R (Eds). Infectious Diseases. 8. Baskı. Philadelphia: P.2326-2350
- 4) Molyneux, E.M., Rochford, R., Griffin, B., Newton, R., Jackson, G., Menon, G., Harrison, C.J., Israels, T., Bailey, S. (2012). Lancet ; 379: 1234–44
- 5) Murray, P.R., Rosenthal. K.S., Pfaller, M.A. (2015).Medical Microbiology: Elsevier Health Sciences p.436-442
- 6) David, M., Knipe, P.M.H. (Editors). (2013). Fields Virology. 6th Ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins p. 1898-1959
- 7) Us, D. (2013). Şemsettin Usta Çelebi'nin Genel Viroloji. 3. Baskı. Ankara: Özbaran Ofset Matbaa
- 8) Erensoy, S., Zeytinoğlu, A. (2017). Epstein-Barr Virüs. Wilke Topçu A, Söyletir G.,Doğanay, M.(Editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 4.Baskı. İstanbul: Nobel Kitapevi."
- 9) Kenneth, J., Ryan, C.G.R. (Editors). (2014). Sherris Medical Microbiology Sixth Edition. P. 262-266
- 10) Yao, Q.Y., Croom-Carter, D.G.S.,Tierney, R.J., Habeshaw, G., Wilde, J.T., Hill, F.G.H., Conlon, C., Rickinson, A.B. (1998). Epidemiology Of Infection With Epstein-Barr Virus Types 1 And 2: Lessons From The Study Of A T-Cell-Immunocompromised Hemophilic Cohort. Journal Of Virology,4352–4363"
- 11) Uslu, Y.E., Görmez, A. (2019). Epstein Barr Virüsü Ve Burkitt Lenfoma. Turkish Journal Of Science. Volume 11 Issue I 1-13
- 12) Young, L.S., Murray, P.G. (2003). Ebv And Oncogenesis: From Latent Genes To Tumours. Oncogene,22: 5108-21
- 13) Grywalska, E., Rolinski, J. (2015). Epstein-Barr Virus-Associated Lymphomas. Semin Oncol,42(2): 291-303.

- 14) Evans, A.S., Kaslow, R.A. (Editors). (1997). 4th Ed. Newyork: Plenum Publishing Corporation: P.253-283
- 15) Klein, G., Klein, E., & Kashuba, E. (2010). Interaction Of Epstein-Barr Virus (Ebv) With Human B-Lymphocytes. Biochemical And Biophysical Research Communications, 396(1), 67–73.
- 16) Neves, M., Dias, J.M., Sousa, J.R.H. (2017).Epstein–Barr Virus Strains And Variations:Geographic Or Disease-Specific Variants Journal Of Medical Virology,89:373–387
- 17) Hutt-Fletcher, L. M. (2015). Ebv Glycoproteins: Where Are We Now? Future Virology, 10(10), 1155–1162.
- 18) Niedobitek, G., Meru, N., Delecluse, H.J. (2001).Epstein-Barr Virus İnfection And Human Malignancies. Int J Exp Pathol, 82: 149-70.
- 19) Bouvard, V., Baan, R., Straif, K., Grosse, Y., Secretan, B., Ghissassi, F.E., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Freeman, C., Galichet, L., Cogliano, V. (2012). Biological Agents. Volume 100 B. A Review Of Human Carcinogens. France: International Agency For Research On Cancer (Iarc) Monographs
- 20) Mckenzie, J., & El-Guindy, A. (2015). Epstein-Barr Virus Lytic Cycle Reactivation. Current Topics İn Microbiology And Immunology, 237–261.
- 21) Akgüç T. Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Kliniği Hastalarında İmmünblot Yöntemi İle Epstein-Barr Virus Serolojisi Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul: İstanbul Üniversitesi. 2015.
- 22) Kang, M.S., Kieff, E. (2015). Epstein-Barr Virus Latent Genes Exp. Mol Med., 47(1):E131.
- 23) Gedik M. Değişik Yaş Gruplarında Epstein-Barr Virus Antikorlarının IFA Yöntemiyle Araştırılması (Uzmanlık Tezi). Diyarbakır: Dicle Üniversitesi. 2007.
- 24) Müderris T. Larenks Kanserli Hastaların Tümör Dokularında Epstein-Barr Virüsün Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincirleme Reaksiyonu İle Saptanması (Uzmanlık Tezi). Ankara: Gazi Üniversitesi.2009.
- 25) Anđ Ö (Editör). (2018). Mikrobiyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi: P.255-273
- 26) Holmes, R.D., Sokol, R. J. (2002). Epstein-Barr Virus And Post-Transplant Lymphoproliferative Disease. Pediatric Transplantation,6(6), 456–464.
- 27) Yenen, O.Ş. (Ed.). 2015. Tıbbi Mikrobiyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi

- 28) Toyoda, M., Moudgil, A., Warady, B. A., Puliya, D. P., & Jordan, S. C. (2008). Clinical Significance Of Peripheral Blood Epstein-Barr Viral Load Monitoring Using Polymerase Chain Reaction In Renal Transplant Recipients. *Pediatric Transplantation*, 12(7), 778–784.
- 29) Leung, E., Shenton, B. K., Green, K., Jackson, G., Gould, F. K., Yap, C., & Talbot, D. (2004). Dynamic Ebv Gene Loads In Renal, Hepatic, And Cardiothoracic Transplant Recipients As Determined By Real-Time Pcr Light Cyclers. *Transplant Infectious Disease*, 6(4), 156–164.
- 30) Tamer D. “Epstein-Barr Virüs (Ebv)” Genomunun Periferik Kandan Pcr Ve Real-Time Pcr İle Gösterilmesi Ve Tiplendirilmesi (Yüksek Lisans Tezi). Ankara: Ankara Üniversitesi. 2006.
- 31) www.Centro.Com.Tr/Download/Epstein.Pdf 2009.
- 32) Fidan, I., Yuksel, S., İmir, T. (2005). Değişik Yaş Gruplarında Ebv Antikorlarının Araştırılması. *Turkish Journal Of İnfection*, 19 (4): 453-6
- 33) Hsu, J. L., Glaser, S.L. (2000). Epstein–Barr Virus-Associated Malignancies: Epidemiologic Patterns And Etiologic Implications. *Critical Reviews In Oncology/Hematology*, 34(1), 27–53.
- 34) Masters Br. Mandell, Douglas, And Bennett’s Principles And Practice Of Infectious Diseases, (2015). Eds: John E. Bennett, Raphael Dolin, Martin J. Blaser. Isbn: 13-978-1-4557-4801-3, Elsevier Saunders. Springer; 2016. P. 1764-6.
- 35) Henke, C.E., Kurland, L.T., Elveback, L.R. (1973). Infectious Mononucleosis In Rochester, Minnesota, 1950 Through 1969. *Am J Epidemiol*, 98:483-90.
- 36) Straus, S.E., Cohen, J.I., Tosato, G., Meier, J. (1993). Nih Conference: Epstein-Barr Virus İnfections: Biology, Pathogenesis, And Management. *Ann Intern Med*, 118:45-58.
- 37) Cohen, J. I. (2000). Epstein–Barr Virus İnfection. *New England Journal Of Medicine*, 343(7), 481–492.
- 38) Crawford, D.H. (2001). Biology And Disease Association Of Ebv Review. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.*, 29;356(1408):461-73
- 39) Durmuş Ş. Lenfadenopatili Çocuklarda Epstein-Barr Virus Dna Araştırılması(Uzmanlık Tezi). İstanbul: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi. 2015.

- 40) Lu, G., Xie, Z.D., Zhao, S.Y., Ye, L.J., Wu, R.H., Liu, .C.Y, Yang, S., Jin, Y.K., Shen, K.L. (2009). Clinical Analysis And Follow-Up Study Of Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection In 53 Pediatric Cases Chin Med J (Engl), 5;122(3):262-6.
- 41) De-The, G., Geser, A., Day, N.E., Et Al. (1978). Epidemiological Evidence For Causal Relationship Between Epstein-Barr Virus And Burkitt's Lymphoma From Ugandan Prospective Study. *Nature*, 274:756-761.
- 42) Piriou, E., Asito, A.S., Sumba, P.O., Et Al. (2012). Early Age At Time Of Primary Epstein-Barr Virus Infection Results In Poorly Controlled Viral Infection In Infants From Western Kenya: Clues To The Etiology Of Endemic Burkitt Lymphoma. *J Infect Di.*, 205:906-913.
- 43) Macmahon B. Epidemiology Of Hodgkin's Disease. *Cancer Res.* 1966;26, 1189–1200.
- 44) Tsuchiya, S. (.2002).Diagnosis Of Epstein–Barr Virus-Associated Diseases. Critical Reviews In Oncology/Hematology,44(3), 227–238. Doi:10.1016/S1040-8428(02)00114-2
- 45) Lin, J.C., Chen, K.Y., Wang, W.Y. (2001). Detection Of Epstein/Barr Virus Dna In The Peripheral-Blood Cells Of Patients With Nasopharyngeal Carcinoma: Relationship To Distant Metastasis And Survival. *J Clin Oncol.*, 19:2607/15.
- 46) Colombini, E., Guzzo, I., Moroll, F., Long, G., Russo, C., Lombard, A., Dello Strologo, L. (2017). Viral Load Of Ebv Dnaemia Is A Predictor Of Ebv-Related Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders In Pediatric Renal Transplant Recipients. *Pediatric Nephrology*,32(8), 1433–1442.
- 47) Marieke, L.N., Kersten, M.J., Pals, S.T., Bemelman, F.J., Berge I.J.M. (2016). Epstein-Barr Virus–Positive Posttransplant Lymphoproliferative Disease After Solid Organ Transplantation: Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, And Management *Transplant Direct*, 2(1): E48.
- 48) Robert M, Kliegmann S, Bonita F, Joseph W. Nelson Textbook Of Pediatrics: Elseiver; 2015.
- 49) Jenson, H.B. (2011). Epstein-Barr Virus *Pediatrics In Review*, 32;375
- 50) De Paschale, M., Clerici, P. (2012).Serological Diagnosis Of Epstein-Barr Virus Infection: Problems And Solutions *World J Virol*, 12;1(1):31-43.

- 51) De Ory, F., Guisasola, M. E., Sanz, J. C., García-Bermejo, I. (2010). Evaluation Of Four Commercial Systems For The Diagnosis Of Epstein-Barr Virus Primary Infections. *Clinical And Vaccine Immunology*,18(3), 444–448.
- 52) Sener, A.G., Afsar, İ., Pinar, E. (2009). Evaluation Of Epstein–Barr Virus Antibodies, Anti-Vca Avidity By İmmunofluorescence And İmmunoblot Assays For Assessment Of Epstein–Barr Virus İmmunologic State. *Journal Of Virological Methods*, Volume 159, Issue 2, Pages 300-302
- 53) Hess, R. (2004). Routine Ebv Diagnostics From The Laboratory Perspective: Steel Challenging After 35 Years. *J Clin (Microbiol)*, 42: 3381-7.
- 54) Niller H, Bauer G. (Editors) Epstein-Barr Virus: Clinical Diagnostics Vol. 1532 Springer Science+Business Media New York. 2017; P.33-55
- 55) Özsoy, M., Yılmaz, N., Gökalp, N. (2001). Klinik Yakınmaları Olan Ve Olmayan Bireylerde Epstein-Barr Virus Göstergelerinin Serolojik Olarak Araştırılması. *Mikrobiyoloji Bült*, 35:465-472.
- 56) Sato, T., Fujieda, M., Tanaka, E., Miyamura, M., Chikamoto, H., Hisano, M., Wakiguchi, H. (2008). *Monitoring of Epstein-Barr virus load and antibody in pediatric renal transplant patients. Pediatrics International*, 50(4), 454–458.
- 57) Çağlar, M., Balcı, Yı., Polat, A., Cevahir, N., Çölgeçen, S. (2014).Enfeksiyöz Mononükleoz Tanısı Alan Hastaların Değerlendirilmesi. *Pam Med J*, 7(3):210-213.
- 58) Crowley, A., Connell, J., Schaffer, K., Hall, W., Hassan, J. (2012). Is There Diagnostic Value İn Detection Of Immunoglobulin G Antibodies To The Epstein–Barr Virus Early Antigen? *Biores Open Access*. 1(6): 291–296.
- 59) Niller, H.H., Bauer, G. (2016). Epstein-Barr Virus: Clinical Diagnostics. *Methods İn Molecular Biology*, 33–55.
- 60) Kasifoglu, N., Oz, S., Dinleyici, E.C., Us, T., Bor, O., Durmaz, G., Akgun, Y. (2018). Comparison Of Methods Used For The Diagnosis Of Epstein-Barr Virus Infections İn Children *Polish Journal Of Microbiology*, Vol. 67, No 1, 81–88
- 61) Fellner, M.D., Duranda, K., Rodriguez, M., Irazub, L., Alonio, V., Braz, M.A.P. (2014). Duplex Realtime Pcr Method For Epstein–Barr Virus And Human Dna Quantification: İts Application For Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders Detection *J Infect Dis.*,18(3):271–280
- 62) Michalek, J., Horvath, R. (2002). High İncidence Of Ebv, Cytomegalovirus And Human Herpesvirus 6 İnfections İn Children With Cancer. *Bmc Pediatr*, 2:1

- 63) Rosemary, C., Stevenson, J., Phansalkar, A., Hillyyard, D., Litwin, C., Pett, C. (2007). Limitations Pcr Testing For Diagnosis Acute Ebv Infections. *Diag Microbiol Infect Dis*,58: 333-5.
- 64) Laurent, A., Klich, A., Roy, P., Lina, B., Kassai, B., Bacchetta, J., Cochat, P. (2017). Pediatric Renal Transplantation: A Retrospective Single-Center Study On Epidemiology And Morbidity Due To Ebv Doi: 10.1111/Petr.13151
- 65) Leung, E., Shenton, B.K., Jackson, G., Gould, F.K., Yap, C., Talbot, D. (2002). Use Of Real-Time Pcr To Measure Epstein-Barr Virus Genomes In Whole Blood. *J Immunol Methods*,15;270(2):259-67.
- 66) Mendogni, P., Henchi, S., Morlacchi, L.C., Tosi, D., Nosotti, M., Tarsia, P., Gregorini, A.L., Rosso, L. (2019). Epstein-Barr Virus-Related Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders In Cystic Fibrosis Lung Transplant Recipients: A Case Series. *Transplantation Proceedings*,51(1):194-197
- 67) Chen, H.S., Ho, M.C., Hu, R.H., Wu, J.F., Chen, H.L., Ni, Y.H., Chang, M.H. (2019). Roles Of Epstein–Barr Virus Viral Load Monitoring In The Prediction Of Posttransplant Lymphoproliferative Disorder In Pediatric Liver Transplantation. *Journal Of The Formosan Medical*
- 68) Liu, M., Husain, S., Famure, O., Li, Y., & Kim, S. J. (2019). *Incidence, Risk Factors, Clinical Management, and Outcomes of Posttransplant Lymphoproliferative Disorder in Kidney Transplant Recipients. Progress in Transplantation*, 152692481983583.

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 482

Tarih : 27.03.2018

Konu: Prof. Dr. Ali AĞAÇFİDAN hk.

Sayın Prof. Dr. Ali AĞAÇFİDAN
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İlgi : Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 20/11/2017 gün ve 434081 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Cansu Nur DEMİRCİ' nin yürüteceği 2018/455 dosya numaralı "Böbrek Transplantasyonu Olmuş Çocuklarda EBV Enfeksiyonlarının Değerlendirilmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 23/03/2018 tarih ve 06 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar

Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI**BÖBREK TRANSPLANTASYONU OLMUŞ ÇOCUKLARDA EBV
ENFEKSİYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ****ORIJİNALLIK RAPORU****%8**

BENZERLİK ENDEKSİ

%6İNTERNET
KAYNAKLARI**%5**

YAYINLAR

%3

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	CANSU NUR	Soyadı	DEMİRCİ
Doğ.Yeri	İSTANBUL	Doğ.Tar.	06.02.1993
Uyruğu	T.C	TC Kim No	11365751964
Email	cansunur_demirci@hotmail.com	Tel	05309025412

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ FEN FAKÜLTESİ BİYOLOJİ BÖLÜMÜ	2016
Lise	ÜSKÜDAR BURHAN FELEK LİSESİ	2011

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İYİ	İYİ	İYİ	72,5	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):