

SUMMARY

INVESTIGATION OF EPSTEIN-BARR VIRUS ANTIBODIES AMONG DIFFERENT AGES BY IFA METHOD

EBV is a member of the family of the human herpes viruses family usually affects during childhood, causing asymptomatic infections and stay latent in human body. The virus is important because of potential oncogenic feature and especially causing severe clinical outcomes among immunocompromised patients. Publications announcing the virus as an ethologic agent are increasing. Researchs declare that the antibodies of EBV are frequently identified even among isolated populations. EBV infects groups in different countries, at different ages and socioeconomical levels and this condition affects the clinical population. In this study, it was planned to examine the specific antibody profiles among the sera of patients who were clinically suspected as affected by EBV. For this aim;

1. EBV-VCA IgG and IgM, EA, EBNA antibodies and VCA-IgG avidity among individuals at different ages
2. The relation between antibody positivity rates and sex and age
3. Different EBV serological profiles investigated according to detected type of infection.

This study conducted in Microbiology and Clinical Microbiology Department of Dicle University during two years period. The existence of antibodies in patients' sera were investigated by IFA method in the same department of the same faculty. A total number of 522 individuals attended to the study and 200 of them were female, 322 of them were male.

A total number of 428 (81.99%) of 522 patients were seropositive, 94 (18%) of them were seronegative. The most frequent rate of seropositivity was among 6-12 (40.89%) ages. The rate was 64.48%, among the children especially between 3 and 12 years of age. The antibody frequency were growing through 12 years of age, decreased to 7.71%, between 13-17 of ages and among the group of older than 17 years the rate has found as 25.7%. It was found that the antibody frequency has changed by age. Defining the reactions against to the different antigene classes has lead to determine the EBV's serological profiles.

The rate of past infection was 50.76% (n=265), the primer infection rate was 22.2%(n=116) and the reactivation or chronic infection rate was found as 9%(n=47).

Using the EBV serology, may assist to diverse the primary infection, past infection, reactivation and individuals sensitive to EBV. By knowing the epidemiologic factors, the studies for preventing against the potentially oncogenic virus will become more clear.

ÖZET

EBV, çocukluk yaşlarında sık görülen ve genellikle asemptomatik infeksiyon yaparak vücutta latent kalan herpesvirüs ailesinin bir üyesidir. Virus potansiyel onkojenik özellikleri ve özellikle immünyetmezlikli hastalarda ağır klinik tablolar oluşturmaya da önemlidir. Literatürlerde virüsün çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol alabileceğine dair yayınlar gittikçe artmaktadır. Araştırmalarda izole toplumlarda bile EBV antikorlarına sıklıkla rastlandığı bildirilmektedir. EBV infeksiyonları farklı ülkelerde ve farklı sosyoekonomik düzeylerdeki gruplarda farklı yaşlarda kazanılmakta ve bu durum klinik prezentasyonu etkilemektedir. Bu çalışmada EBV infeksiyon şüpheli hasta serumlarında spesifik antikorların serolojik profillerinin incelenmesi planlandı. Bu amaçla;

1. Değişik yaşlardaki bireylerde EBV-VCA IgG ve IgM, EA, EBNA antikorları ve VCA-IgG avidite
2. Antikor pozitiflik oranlarının cinsiyet ve yaşla ilişkisi
3. İnfeksiyon şekline göre saptanmış farklı EBV serolojik profilleri incelendi.

Çalışma iki yıllık periyot içinde Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yürütüldü. Hasta serumlarındaki antikorların varlığı İFA yöntemi ile araştırıldı. Çalışmaya 200 kız, 322 erkek olmak üzere, 0-17 yaş ve 17 yaş üstü toplam 522 birey alındı.

522 hastanın 428'i (%81,99) seropozitif, 94'ü (%18,0) seronegatif bulundu. En çok seropozitiflik oranı 6-12 yaş (% 40,89) arasındaydı. Özellikle 3-12 yaş aralığındaki çocuklarda % 64,48 olarak bulundu. 12 yaş grubuna kadar antikor sıklığının tedricen arttığı, 13-17 yaş aralığında % 7,71'e düştüğü ve 17 yaş üstü bireylerde seropozitiflik oranının % 25,7'ye çıktığı görüldü. Yaşa göre antikor sıklığının değiştiği saptandı. Farklı antijen sınıflarına karşı oluşan reaksiyonların belirlenmesi farklı EBV serolojik profillerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Hastaların 265'inde (%50,8) geçirilmiş infeksiyon, 116'sında (%22,2) primer infeksiyon, 94'ünde (%18) EBV'ye duyarlılık, 47'sinde (%9) reaktivasyon veya kronik infeksiyon bulundu.

EBV serolojisinin kullanılması primer, geçirilmiş, reaktif ve EBV'ye hassas bireyleri ayırmada yardımcı olur. Epidemiyolojik faktörlerin bilinmesiyle potansiyel onkojen virusun önlenmesi yönündeki çalışmalar aydınlatılacaktır.

GİRİŞ

Epstein-Barr Virus (EBV) tüm dünyada erişkinlerin %90'ını infekte eden insan herpesvirüs ailesinin bir üyesidir. Virüs kişiden kişiye tükürük ve boğaz salgıları aracılığıyla çıkarılarak, yakın temas, kan ve kontamine eşyalarla bulaşır. Lenfadenopati, ateş, hepatosplenomegali ve farenjitin eşlik ettiği infeksiyöz mononükleozisin (İM) etiyolojik ajanıdır. Nazofaringeal karsinom, Burkitt lenfoma ve immün yetmezliği olan hastalarda görülen lenfoproliferatif hastalıklarla da yakından ilgilidir (1). Bu virusa ilişkin infeksiyonlar genellikle çocukluk döneminde gelişip asemptomatik seyreder. Sitomegalovirus, Rubella, Toxoplasma gondii infeksiyonları ve bazı hematolojik malignansiler EBV infeksiyonlarına benzer bulgular oluşturabilir. Ayrıca immünsüprese hastalarda primer infeksiyon sıklıkla şiddetli olur ve ölümcül olabilir. Bu nedenlerle EBV infeksiyon tanısı önem taşımaktadır (1,2). Bu ajanlar arasındaki etyolojik fark tedavi bakımından önemli etkilere sahip olabilir. Birçok diğer incelemeyi gereksiz kılacağından tanının doğrulanması maliyetide düşürerebilir.

Virus infeksiyonunda atipik lenfositler ve heterofil antikorlar bulunur. İnfeksiyon sırasında EBV majör antijenlerine karşı oluşan antikorların varlığının belirlenmesi oldukça yararlıdır ve özellikle atipik lenfositoz ve heterofil antikorların bulunmadığı ancak EBV infeksiyonundan kuşku edilen hastaların belirlenmesinde önem taşır (3). EBV serolojisi aynı zamanda akut infeksiyonu geçirilmiş infeksiyondan veya reaktivasyondan ayırmak için de gereklidir.

EBV serolojisini belirlemeyi amaçlayan çeşitli testler mevcuttur. Heterofil antikorlar İM'u tespit etmede %90 sensitiviteye sahiptir. Ancak nonspesifik olduğundan benzer hastalıklarda da oluşabildiği, ayrıca 2-5 yaş arası çocuklarda %50 etkili olduğu bildirilmektedir (4,5). Otoimmün hastalıklarda da % 2-3 oranında yanlış pozitiflik saptanmıştır (4).

Günümüzde spesifik EBV antijenlerine karşı oluşmuş antikorları tespit eden testler tercih edilmektedir. Virusun majör antijenleri EBV nükleer antijeni (EBNA), erken membran antijeni (EA) ve viral kapsit antijenidir (VCA). Bu antijenlere karşı oluşmuş antikorları belirlemeye yönelik olarak İndirekt Floresan Antikor testi (IFA), Enzim İmmunoassay (EIA) ve Western Blot analiz testleri ticari olarak mevcuttur. Bunlar içinde Western Blot daha çok doğrulama amaçlı kullanılırken IFA, EIA ve avidite testleri yaygın olarak teşhis amaçlı kullanılmaktadır. Son zamanlarda klinik örneklerde özellikle immünsüprese bireylerde EBV DNA yükünü ölçen çeşitli PCR teknikleri geliştirilmiştir. Ancak henüz standardizasyonun

sağlanamadığı, ayrıca viral yükün bu hastalıkların patogeneziindeki rolü tam olarak aydınlatılamadığı bildirilmektedir (6).

EIA teknolojileri günümüzde sensitivite ve spesifite alternatifleri sunmasına rağmen IFA tekniği halen primer EBV enfeksiyonunun tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir (7,8). Bu yöntem EBV-VCA, EBV-EA ve EBNA antijenlerine karşı oluşan antikorların paralel olarak belirlenmesi ile akut ve geçirilmiş enfeksiyonları birbirinden ayırt ederken aynı zamanda reaktivasyon ve kronik enfeksiyonların belirlenmesini sağlar.

Çalışmamızda laboratuvarımıza EBV enfeksiyon şüphesi ile gönderilen hasta serumlarında EBV spesifik antikorları araştırdık. EBV VCA IgG, IgM, EA, EBNA antikorlarını ve VCA IgG aviditeyi IFA yöntemiyle araştırarak enfeksiyonun serolojik profillerini belirledik. Ayrıca bölgemizde farklı yaş gruplarındaki bireylerde EBV prevalansını saptamayı amaçladık.

EBV enfeksiyonu tanısında kullanılan spesifik testler özellikle heterofil antikorların bulunmadığı veya atipik lenfositozun bulunmadığı EBV enfeksiyonundan kuşkuyla karşılaşılan durumlarda tanı konmasında ve immünsüpresif kişilerde, transplantasyon yapılmış hastalarda akut enfeksiyon ile reaktivasyonun ayrılmasında kullanışlı, hızlı ve uygulanması kolay testlerdir.

Pek çok idiyopatik hastalığın ve nasofaringeal kanser ve Burkitt Lenfoma gibi malignitelerin etiyolojisinden sorumlu olduğu bilinen viral enfeksiyonun tanısında bu testlerin kullanılarak, etiyolojisinin aydınlatılması ve risk altında bulunan kişilerin belirlenmesi yararlı olacaktır. Bu nedenle, EBV enfeksiyonundan kuşkuyla karşılaşılan hastalarda bu virusa ait majör antijenlere karşı gelişmiş antikorların bakılmasının gerekli olduğu ve bu şekilde toplumda seroprevalansının doğru olarak belirlenmesinin mümkün olacağı düşünülmektedir. Seroprevalans konusundaki bilgiler özellikle organ nakli olan hastalar ve immünosupresif hastalarda reaktivasyon ve primer EBV enfeksiyonunu tanımlamak amacıyla yapılacak çalışmalarda da yararlı olacaktır.

Sonuç olarak serolojik testlerin ve EBV viral yükünün tespiti için kullanılan testlerin standardizasyonu gelecekteki başlıca hedef olmalıdır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan testler, anamnestik yönleriyle birlikte, klinik semptomlara dayanarak klinik tanıyı destekler.

GENEL BİLGİLER

EPSTEİN-BARR VİRÜS

Epstein-Barr Virüsü (EBV), infeksiyöz mononükleozisin (İM) etiyolojik ajanıdır. Neredeyse herkes hayatının bir döneminde bu virüsle enfekte olur. Primer infeksiyonlar, kalabalık ve kötü hijyen koşulları bulunan bölgelerde, hayatın ilk on yılında gerçekleşir. Sanayileşmiş ülkelerde, nüfusun en az %50'si puberteden önce virüse karşı seropozitif olurlar. Çocukluktaki primer infeksiyonlar çoğunlukla asemptomatiktir. Genç erişkinlerde ise primer infeksiyonların %50-70'i klasik İM ile benzer tabloda, klinik şiddeti değişkenlik gösteren ve kendini sınırlayan bir lenfoproliferatif hastalıktır (2).

Tarihçe

Yorgunluk, ateş, farenjit, lenfadenopati, splenomegali ve mononükleer lökositozla karakterize olan hastalık ilk olarak 1889'da Pfeiffer tarafından Glanduler Ateş ve 1920'de Sprunt-Evans tarafından infeksiyöz mononükleoz (İM) olarak tanımlanmıştır (9).

1932'de Paul ve Bunnell, İM ile heterofil antikorların birlikteliğine dikkat çekmişlerdir. 1964'de Epstein ve arkadaşları, Burkitt lenfoma, tümör örneklerinin hücre kültürlerinde ve elektron mikroskobu (EM) ile yaptıkları incelemelerde, bazı lenfoblastlarda herpesvirüs ailesine benzer viral partiküller saptamışlardır. 1966'da Gertrude ve Henle, EBV olarak adlandırılan bu virüse karşı antikorların saptanması için İFA testini geliştirmiş, 1968'de Henle, İM ve EBV' nin ilişkisini öne sürmüş ve bu daha sonraki birçok araştırmacı tarafından da desteklenmiştir (9).

Viroloji

Fiziksel Özellikler

EBV, gama herpesvirüs grubundan olup diğer herpesvirüslerin karakteristik morfolojisini gösterir (10,11). Viryonlar 180-200 nm çapında olup üç komponentten oluşurlar. Bunlar; çift sarmallı DNA içeren santral, kor kısım (nükleotid), ikozahedral kapsid ve konak hücre membranından kaynaklanan dış zarftır (9,11,12).

Viryonda genom lineer yapıdayken, latent olarak enfekte hücredeyse sirküler yapıda, ektrakromozomal plazmid görünümündedir. Bazı hücrelerde EBV-DNA, konak hücre kromozomuna dahil olur (12).

EBV Epstein-Barr virüs nükleer antijeni-2 (EBNA-2) geninin sekans farklılığına göre A ve B (veya 1 ve 2) olmak üzere ikiye ayrılır. Her bir tip coğrafik davranışı, doku tropizmi ve biyolojik davranış açısından da farklılık gösterir. A tipi daha yaygın olarak görülmektedir (13).

EBV B lenfositlere, tükürük bezi hücrelerine ve faringeal epitel hücrelerine tropizm gösterir (14). EBV nükleik asit dizileri; neoplastik dokularda (nazofaringeal karsinom (NPC), BL, timoma, immünoşüpresif hastalardaki B hücreli lenfomalarda), orofaringeal epitel hücrelerinde, parotis bezi kanalı epitelinde, servikal epitelde ve dolaşan B lenfositlerinde saptanmıştır (15).

EBV B lenfositlerini ve muhtemelen diğer hücreleri CD21 (CR2 veya C3d) reseptörleri aracılığıyla enfekte eder (11,16,17). Enfekte hücrelerde litik veya latent enfeksiyonla sonlanan olayları başlatır.

Litik döngü şeması

Litik (prodüktif) siklusda B lenfositlerinin EBV ile enfeksiyonu hücre ölümüyle sonlanır. Enfekte hücrede eksprese olan ilk antijenler Epstein-Barr virüs nükleer antijeni (EBNA) ve erken membran antijeni (EMA) olup lenfosit-detected membran antijeni (LYDMA) de bunlar arasındadır. Bundan sonra iki erken antijen (EA) oluşur ki bunlar viral DNA sentezine neden olurlar. Viral DNA, viral kapsid antijeni (VCA) ve geç membran antijeni (LMA) oluşumunu yönetir. Sonunda virüs toplamı oluşarak hücre lizisine yol açar.

Latent döngü şeması

latent (nonprodüktif) enfeksiyon ise daha sık görülen formudur. Virüs ile enfekte B lenfositleri in vitro uygun koşullarda sınırsız replikasyona izin verirler ve bu lenfositler "transforme (veya ölümsüz)" olarak adlandırılırlar. Transforme lenfositlerde, plazmitler veya hücre DNA'sına lineer olarak integre olmuş şekilde birçok viral DNA kopyaları bulunur (9). Eksprese edilen proteinlerse EBNA 1,2,3, LMP-1 ve Terminal Protein (= TP-2 veya LMP-2) dir (18,16). Transforme hücrelerin bir kısmı yaşam boyu dolaşımda kalırken, bir kısmı T lenfositlerince parçalanır, bir kısmı da spontan litik siklusa girer. Parçalanan transforme lenfositlerden salınan antijenler, antikor yanıtına neden olur (9).

Latent kalan EBV, konak B hücrelerinin bazı kimyasal maddelerle veya yüzey immünoglobulinlerine (Ig) karşı olan antikorlarla karşılaşması sonucunda uyarılır. Bu uyarıdan sonra EBV'nin çok erken geni (EBV-BZLF-1= ZEBRA protein) aktive olur (11,19). Bu proteinin ekspresyonu; Viral replikasyondan sorumlu olan EA ve VCA üretimine yol

açarak hücreyi, yeni virionlar üretimi ve konak hücre yıkımıyla sonuçlanacak olan litik siklusa sokar. Latent olarak enfekte hücrenin yeniden litik siklusa girmesi EBV enfeksiyonunun reaktivasyonu ile sonuçlanır (11). Transforme B lenfositlerinde viral antijenler yanında Ig' ler de sentezlenip salgılır. Bu olay T hücrelerinden bağımsız olup başlıca IgM, ayrıca IgG ve IgA üretilir. Heterofil antikorların oluş mekanizmasının bu olay olduğu düşünülmektedir (11,14,20).

EBV-transforme lenfoblastik hücre serilerinin, B hücre büyüme faktörü aktivitesi gösterdiği ve böylece B hücrelerinin otokrin olarak proliferasyonuna izin verdiği saptanmıştır. Bu bağımsız büyüme için gereken majör büyüme faktörlerinden birisi CD23/Blast-2 molekülüdür (19). Ayrıca son yıllarda gösterilen ve insan interlekin-10 (IL-10)'a çok benzeyen, transforme hücrelerde erken dönemde eksprese edilen viral BCRF-1 (veya viral IL-10) güçlü bir B hücre büyüme faktörüdür. Viral IL-10' un B hücre transformasyonunun başlangıcı ve devamında kritik bir rolü olduğu düşünülmektedir (16,21).

Asiklovir ve diğer antiviral nükleotid analoglarına duyarlı olan enfeksiyon evresi, litik evre olup; bunun nedeni timidin kinaz ve viral DNA polimerazın sadece bu evrede eksprese edilmesidir (21).

Patogenez ve Immünite

EBV enfeksiyonunun muhtemel giriş yolu orofarinkstir. Bulaşmada tükürük önemlidir (9,11). EBV enfeksiyonuna karşı savunma mekanizmaları; mukus, epitelyal dokular, enfekte hücreden İNF salgınımı, “naturel killer” (NK) hücre aktivitesi, sitotoksik T hücreleri, nötralizan ve diğer antikorlar olarak sıralanabilir (17).

Orofarinkse gelen virüs, buradaki lenfoid dokularda bulunan B lenfositlerini aynı anda yada daha sonra enfekte eder. 30-50 günlük kuluçka döneminde lenforetiküler sistemde viral replikasyon ve disseminasyon olur (11). Enfeksiyonun hiçbir döneminde viremi saptanmamıştır, ancak EBNA eksprese eden enfekte B hücreleri akut ve reaktif enfeksiyonda kanda saptanabilirler. Ayrıca nazofarinksten serviks kadar birçok yerde virüs ekskresyonu saptanmıştır (19). EBV enfeksiyonuna karşı immün yanıt karışık olup hem humoral, hem de hücresel mekanizmaları kapsamaktadır (11).

Humoral Immünite

İnfeksiyonun 4-6 haftası içinde anti VCA antikorları belirir. Genellikle anti VCA IgM ve IgG aynı zamanda oluşursa da bazen IgM antikorları birkaç gün daha erken görülür. IgM antikorlar birkaç haftada kaybolurken anti VCA IgG yaşamboyu saptanabilen titrede kalır. Akut EBV enfeksiyonlu hastaların üçte ikisinde geçici olarak anti VCA IgA antikorları üretilir. Hastaların yaklaşık %85'inde EA kompleksine (genellikle D komponentine) karşı IgG bulunmaktadır. Anti EA-D nadiren 1-2 yıl persiste ederken, anti EA-R birkaç ay sonra ve geçici olarak üretilir. Anti EBNA antikorlar ise genellikle, başlangıçtan haftalar veya aylar sonra ortaya çıkar ve düşük titrede birçok hastada persiste eder (9).

EBV'le oluşan İM'de viral antijenlere karşı dolaşan antikorlar sentezlenmesi dışında, koyun, at ve sığır eritrositlerinde bulunan antijenlere karşı da antikorlar saptanır. Heterofil antikorlar olarak adlandırılan bu antikorlar başlıca IgM tipinde olup hastalığın patogenezi ve seyirindeki rolleri bilinmemektedir. Spesifik EBV antijenlerine karşı oluşan antikorlarla çapraz reaksiyon göstermezler. Ayrıca heterofil antikor titresiyle hastalığın ağırlığı arasında korelasyon saptanmamıştır.

Primer EBV enfeksiyonunda başka antikorlar da saptanır. Bunlar arasında trombosit, nötrofil, lenfosit, nükleer antijene karşı ve ampisilin bağlayan antikorlar bulunur. Bunlar bazı İM komplikasyonlarında rol alıyor olabilirler (11).

İM'de ayrıca protein 542'ye karşı IgM otoantikorları oluşur. Protein 542, EBNA-1 ile çapraz reaksiyon verir. Normal kişilerde anti-p542 bulunması çok nadirken progressif sistemik skleroz ve ülseratif kolit başta olmak üzere birçok kollajen doku hastalığında anti-p542 IgG düzeyi yüksektir. Yüksek anti-p542 antikor düzeyleri, bu hastalarda EBV'nin indükleyici rolünü gösteriyor olabilir (22).

Hücrel Immünite

Akut EBV enfeksiyonunda oluşan humoral yanıtla beraber veya daha önce hücrel immün reaksiyonlar olur (14). Hastalığın ilk birkaç haftasında mononükleer lökositoz vardır (11). Periferik kanda görülen atipik lenfositler başlıca T hücre proliferasyonuna bağlıdır. Hem helper (yardımcı), hem de supresör (sitotoksik=baskılayıcı) T lenfositler artmış olup supresör T lenfositlerdeki artış daha fazla olduğundan T helper/T supresör oranında geçici bir ters dönmeye olur (14). Atipik lenfositoz da supresör (CD8⁺) T hücre artışını yansıtmaktadır (19,23). İM'de supresör T hücrelerindeki (CD8⁺) artış normalin 100 katına kadar olabilmektedir. Hematolojik malignitelerde, viral enfeksiyonlarda ve kollajen doku hastalıklarında da CD8

artışı olursa da İM'deki seviyeye genellikle erişilmez (24). T hücrelerindeki artışın nedeni, EBV ile oluşan B hücre proliferasyonunu ve poliklonal aktivasyonu durdurmaktır. Akut enfeksiyonda supresör T hücreleri, Ig sekresyonunu da inhibe ederler (14). Hücrel immünitedeki fonksiyonel değişiklikler nedeniyle tüberkülin testi ve Candida albicans'da kutanöz yanıt negatifleşir ve bu 6 hafta kadar sürebilir (9,25). İn vitro olarak da mitojenlere yanıt azalır (9, 11,14).

Hastalığın kontrolünde NK hücre aktivitesi de önemli rol almaktadır. X'e bağlı Lenfoproliferatif Sendromda (XLPS) bu hücrelerin eksikliği nedeniyle EBV enfeksiyonundan sonra lenfoproliferatif malignite gelişir (9).

Klinik iyileşme olmasına ve hücrel-humoral immünitinin varlığına karşın EBV konaktan elimine edilemez; latent olarak kalır. İM'den iyileştikten 12-18 ay sonra dahi orofarinksten virüs izole edilebilir, sağlıklı ve immünyetmezlikli kişilerde reaktivasyon görülebilir (11). Virüsün konaktan tamamen elimine edilmemesi şeklindeki virüs-konak dengesinin nasıl kontrol edildiği bilinmemektedir. Ancak uzun süre immünosupressif tedavi olan böbrek transplant alıcılarında yapılan çalışmalarda EBV replikasyonunun kontrolünün büyük oranda hücrel immüniteyle olduğu görülür. Bu hastalarda orofaringeal virüs salınımı artmakta olup, EBV-litik siklus antijenlerine karşı yüksek antikor titreleri saptanır. Ayrıca dolaşan EBV enfekte B lenfositlerin sayısında da artma olması immün denetim mekanizmasında bir azalmaya bağlıdır. İmmünosupressif olan bu hastalarda EBV ile ilgili B hücrelerinin lenfoproliferatif hastalığı ve lenfoma insidansı da yüksektir. Bu da hücrel immünite eksikliğinde olan B lenfosit proliferasyonu ve poliklonal aktivasyonu ile açıklanmaktadır. Bu vakalarda, düzensiz ekspresyonlu c-myc onkojeni olduğu ve kromozomal translokasyon taşıyan B hücrelerinin EBV enfeksiyonu ile tamamen malign potansiyel taşıyan bir hücre klonuna dönüştükleri ileri sürülmektedir (26).

Epidemiyoloji

Yayılım Yolu

En muhtemel bulaşma yolu çocuklarda oral-tükürük yoluyla ve genç erişkinlerde yakın (oral) temasladır. İnfeksiyöz virüs tükürükte taşınır. Akut İM'de tükürükte virüs salınımı %100 olup bu 18 aya kadar sürebilir (11,12). EBV enfeksiyonu geçiren seropozitif kişilerde tükürükte viral ekskresyon oranı %15 iken, immünosupressiflerde oran %50'den fazladır. İnfeksiyon ayrıca, EBV enfekte lenfositler yoluyla kanla da bulaşır (27). EBV geni ve antijenleri parotis

kanalı ve serviks epitelinde de gösterilmiştir, ancak bunların bulaşmadaki rolleri henüz bilinmemektedir.

EBV nisbeten labil bir virüstür, bu nedenle bulaştırıcılığı az olan bir virüs olup gerçek İM epidemileri pek mümkün görünmemektedir (11).

Serum Antikor Prevalansı

EBV, çalışılan tüm popülasyonlarda antikorları sıkça saptanan bir virüstür. Topluluğun yaşama şartlarına ve sosyoekonomik durumuna (SED) bağlı olarak EBV enfeksiyonunun seroepidemiolojik şekilleri saptanmıştır (9). Gelişmiş ülkelerde ve kalabalık toplumlarda (Çin, Japonya) çocukların %90'ından fazlasında 3.yaşta EBV antikorları saptanır. Gelişmiş ülkelerde ve özellikle SED'i yüksek olan ailelerde enfeksiyon, sıklıkla, geç çocukluk ve puberte döneminde görülmektedir. İngiltere ve ABD'de 5 yaş altında antikor sıklığı %50 olup ikinci pik ise 2.dekatta görülür (9,11).

Yüksek SED'li kişiler arasında enfeksiyon kazanımı eğrisi bifazik olup yaşamın ilk iki yılında ve geç puberte-geç erişkinlik dönemlerinde pik yapar (9). Genellikle genç erişkinlerde antikor sıklığı %50-90 olup, SED'e bakmaksızın 3. dekatın sonunda yaklaşık %100'dür (11,12).

İnfeksiyon insidansı

İM, en sık primer EBV enfeksiyonuna maruz kalma yaşının 2. dekata kadar geciktiği toplumlarda görülür. En sık, gelişmiş ülkelerdeki yüksek SED'li adolesanlardadır. ABD'de İM insidansı 45,2 vaka/100.000 /yıl olup en sık 15-24 yaşlarındadır. Kız ve erkeklerde insidanslar benzerdir, ancak pik görülme yaşı kızlarda 2 yıl daha erkendir (11).

Epidemiolojik Faktörler

EBV enfeksiyonunun insidansı ve yayılımını etkileyen faktörler klinik İM'a neden olanlardan farklıdır. İnfeksiyon olasılığı tükrüğe maruz kalmaya neden olan hijyen şartları ve kültür düzeyiyle ilgilidir. Klinik İM'da rol alan faktörlerse, enfeksiyona maruz kalma yaşı, immün durum, genetik ve psiko-sosyal etkenlerdir. EBV enfeksiyonu düşük SED'de yaşamın erken dönemlerinde ve genellikle asemptomatik olurken, klinik İM daha çok gelişmiş ülkelerde ve yüksek SED koşullarında görülür (20).

Kalabalık ve kötü hijyen koşullarında bulunan çocuklarda enfeksiyon sık olmakla beraber genç erişkinlerde bulaşıcılık azdır, İM'li vakanın oda arkadaşlarında sekonder vakalar nadirdir (11,21). Aile içi bulaşıcılığa dair yayınlarda farklı sonuçlar bildirilmektedir. Aile

içinde serokonversiyon oranının %10-20 civarında olduğu ileri sürülmektedir (28,29). Bir çalışmada ise İM'li çocuğun erişkin aile bireylerinde orofaringeal ekskresyon oranında ve serum antikor titrelerinde yükselme saptanmış, reaktivasyon olarak yorumlanmış ve aile içindeki seronegatif çocuk için bu erişkinlerin önemli bir kaynak olabileceği bildirilmiştir. Aynı nedenle İM'li çocuğun kardeşlerinde de primer infeksiyonda İM gelişme riskinin yüksek olduğu öne sürülmüştür (30).

Yapılan çalışmalarda en yüksek İM oranı kolejlerde ve askeri kışlalarda saptanmıştır. Seronegatif kolej öğrencilerinde serokonversiyon oranı yılda %12'dir ve çoğu subklinik infeksiyondur (11,31,32). Memurlarda da İM oranı yüksektir. Bu gruplardaki yükseklik, SED'nin ve hijyen koşullarının etkisi şeklinde yorumlanmaktadır (21). Hastane koşullarında ise bulaşıcılık oranı normal popülasyondan fazla değildir (33).

Bir ailenin 3 üyesinde fatal İM bildirilmiştir ve bu vakalarda virüse konak yanıtında genetik bir defekt olduğu düşünülmüştür (34). Genetik olarak immün yanıt kontrolü, klinik hastalığın ağırlığını, virüs persistansını ve onkolojik sonuç oluşumunu (XLPS'da olduğu gibi) etkilemektedir (21).

İM'in siyahlarda daha sık olması da SED'in, hijyen ve kültürel faktörlerin etkisi gibi görünmektedir (11,21).

Her 2 cinste İM oranı aynı olup ilk dekatta erkeklerde daha sık olduğu, ancak kızlarda pik görülme yaşının 16, erkeklerdeyse 18 olduğu bildirilmektedir (20,35).

Yapılan çalışmalarda infeksiyon sıklığının mevsimlerle direkt olarak ilişkisi olmadığı söylenmekle birlikte, en yüksek oranlar yaz mevsimi sonunda ve ilkbaharda verilmektedir (36).

EBV infeksiyonu izole adalar ve Afrika kabileleri dahil her toplumda sıklıkla görülür (37). İki tip EBV, coğrafik davranış açısından farklılıklar gösterir. Tip A sıklıkla karşılaşılan infeksiyon nedeni iken, Tip B'nin daha çok Afrika'nın endemik bölgelerinde görüldüğü bildirilmektedir. Ayrıca Tip B enfeksiyonu AIDS'li hastalarda ve immüno-suprese hastalarda sıktır (38).

Sonuç olarak anlamlı epidemiyolojik faktörler yaş, sosyo-ekonomik düzey ve coğrafik yerleşim olarak sıralanabilir (12).

Klinik

EBV'nin geniş bir hastalık spektrumu olmakla birlikte başlıca 6 farklı grupta inceleyebiliriz.

1.Klasik Infeksiyöz Mononükleoz

Primer EBV enfeksiyonu, erken çocukluk çağında sık görülmekte olup genellikle asemptomatiktir veya hafif faringeal semptomlar yapar. Enfekte olmamış adolesan ve genç erişkinlerin %30-45'i EBV ile karşılaştıklarında İM tablosu görülür (39).

İM, klinik olarak boğaz ağrısı, ateş ve lenfadenopatiyle karakterize, serolojik olarak heterofil antikorların geçici oluşumu ve hematolojik olarak atipik lenfositöz ve mononükleer lökositözla birlikte olan, kendi kendini sınırlayan lenfoproliferatif bir hastalıktır. Bütün belirtiler her hastada birlikte görülme de belirtilerin çoğu görülebilir. Belirtilerin görülmesi hastanın yaşı ile önemli ölçüde ilişkilidir (11,39).

Hastalığın kuluçka dönemi 30-50 gün arasındadır. Bulaşma tükürük veya kan yoluyla (9). Hastalığın akut döneminin 3 hafta kadar sürdüğü, nekahat döneminin 4-8 hafta, geç döneminin ise 9-28 hafta arasında olduğu kabul edilmektedir (35).

Semptomlar

Baş ağrısı, ateş, titreme, iştahsızlık ve halsizliği takiben lenfadenopati ve ağır boğaz ağrısıyla sinsi veya aniden başlar (12). Baş ağrısı retroorbital karakterdedir, miyalji ve karında doluluk hissi diğer sık prodromal belirtilerdir. Birçok hastada ateş, boğaz ağrısı ve lenfadenopati triadı vardır. Boğaz ağrısı en sık şikayet olup hastanın daha önce yaşadıklarının en şiddetlisidir. Nadiren hastalığın ilk belirtisi komplikasyonlardan biridir (11). Hastalarda %3-19 sıklıkta, genellikle gövde ve kollarda görülen, maküler, peteşiyal, skarlatiniform, ürtikeriyal veya eritema multiforme benzeri bir döküntü belirir. Döküntü ilk birkaç günde başlar ve 1-6 gün sürer. İM'li hastalarda ampisilin verilmesiyle %90-100 oranında kaşıntılı, makülopapüler bir döküntü olduğu ve bunun ilacın veriminden 5-10 gün sonra görülüp ayak tabanı ve ayalar dahil vücuda yayıldığı bildirilmektedir (11,12).

Komplikasyonlar

- 1) Hematolojik: Otoimmün hemolitik anemi (%0,5-3) (11), hafif trombopeni sıklıkla (Komplike olmayan İM'li hastalarda da %50 oranında 140.000/mm' 'ün altında trombosit sayısı bildirilmektedir) (9,11), Aplastik anemi, agranülositoz, agamaglobulinemi ve sekonder bakteriyel infeksiyonlar sonucu ölüm görülebilir (11,12). EBV, virüsle birlikte olan hemofagositik sendromun da sık bir nedenidir.
- 2) Splenik rüptür: Nadir olmakla birlikte ağır bir tablodur (9,11).
- 3) Nörolojik: Sıklığı %1'den azdır. Ancak bazen ilk ve tek belirti olabilir. Ensefalit, sıklıkla serebellit şeklindedir, aseptik menenjit şeklinde de görülebilir. Primer EBV enfeksiyonunda Guillian Barre Sendromu, Bell paralizi, transvers miyelit, nöropati, uzun süren depresyonda görülebilir (11,21,42). Nörolojik komplikasyonlar %85 oranında tamamen düzelerse de İM'den ölümün en sık sebebidir (9,11,43).
- 4) Hepatik: Hastaların %80-90'ında karaciğer enzimleri yükselir. Hiperbilirubinemi sıklığı %25 olarak bildirilirse de sarılık oranı %5'dir. Nadiren siroza ve diğer kronik sekillere ilerleyen vakalar bildirilir (12).
- 5) Kardiak: EKG bozukluğu genellikle ST-T değişiklikleri şeklinde olup bir seride vakaların %6'sında bildirilmektedir. Nadiren perikardit ve fatal miyokardit görülür (9,11).
- 6) Pulmoner: Az sayıda hastada paroksizmal öksürük gelişir, yaygın adenopatili hastalarda hiler lenfadenopati bulunabilir. Vakaların %3-5'nde interstisyel infiltratlar bildirildiyse de diğer sebepler de araştırılmalıdır (11,12).
- 7) Diğer komplikasyonlar: EBV'e bağlı Reye sendromu, pankreatit, glomerulonefrit, hemolitik üremik sendrom, orşit, göz komplikasyonları ve üst havayolu obstrüksiyonu bildirilmiştir (9,43).

2.Küçük Çocuklarda İM

Küçük çocuklarda da primer EBV enfeksiyonunun klasik İM ile beraber olabildiğine dair yayınlar vardır. Ancak klinik belirtilerin sıklığı farklı olabilir (11,38,44). Laboratuvar bulguları açısından da farklılıklar gösterir. Atipik lenfosit oranı nisbeten daha düşük olup lökositoz daha yüksek olabilir ve lenfosit hakimiyeti daha belirgindir. Nötropeni insidansı da erişkinlere göre fazladır. Heterofil antikor yanıtı daha nadirdir (yaklaşık olarak %50) (11,38,43), küçük çocuklarda anti VCA IgM antikoruna daha az oranda saptanmaktadır. Ayrıca

küçük çocuklarda anti EA-R antikor yanıtı erişkinlerden daha sık ve anti EBNA antikor yanıtıysa daha erken olmaktadır (28,45,46).

3. Kronik veya Persistan EBV Enfeksiyonu

Kronik veya Persistan EBV Enfeksiyonu deyimi, bir yıldan fazla bu semptomları olan, önceden İM geçiren ve semptomlarının başka bir sebebi olmayan hastalar için kullanılmıştır. Hastalığın başlıca semptomları ateş, yorgunluk, baş ağrısı ve depresyon olarak tanımlanmıştır (39). Daha sonraları İM geçirmemiş olan hastalarda da görülebileceği ve bunun latent EBV enfeksiyonun reaktivasyonuna bağlı olabileceği bildirilmiştir. Anti VCA ve anti EA antikor titrelerinde artma saptanması reaktif EBV enfeksiyonunu gösteren parametrelerdir (14,39, 40,41,45).

Bu hastalarda orofaringeal EBV ekskresyonu ise normal veya artmış sıklıkla saptanabilir (14,48,49). Daha çok kadınlarda ve 25-45 yaşları arasında görülen hastalık sporadik nörosteni olarak da adlandırılır (14). Daha yeni yayınlarda kronik EBV enfeksiyonu olarak tanımlanan hastalarda viral replikasyonu gösteren EBV-DNA ve DNA polimeraza karşı da artmış antikor yanıtı olduğu saptandı ve bu kişilerde lenfoma riskinin arttığı bildirilmiştir (50).

Bununla birlikte hastalarda CMV, HSV ve kızamık antikor titrelerinde de yükseklik saptanması ve bazı immünolojik bozukluklar bulunması, EBV'nin hastalığın sebebi olduğuna dair kuşkulara yol açmıştır (14,47). Objektif kriterleri olmayan bu sendrom için son yıllardaki eğilim, sendromun esas özelliği olarak EBV'nin değil, yorgunluğun temel alınması şeklindedir ve bu nedenle sendrom genellikle Kronik Yorgunluk Sendromu (CFS) olarak adlandırılmaktadır (51). CFS'li birçok hastada ayrıca, EBV antikor titreleri normaldir ve hatta bazılarında negatiftir (48). CFS'de suçlanan diğer ajanlar HHV-6 coxsackie virüs, Brusella , Borrelia ve Candida'dır (52)

4. Atipik Primer EBV Enfeksiyonu

Herhangi bir organda belirti verir. En sık görülen belirti hepatittir. Heterofil antikor negatifliği ve atipik lenfositlerin düşük veya hiç olmaması ile karakterizedir. Tanı spesifik serolojik testlerle konur (38).

5.EBV ve Lenfoproliferatif Hastalıklar

1) X'e bağılı Lenfoproliferatif Sendrom (Duncan Hastalığı): Sitotoksik T hücreleri ve NK hücre aktivitesinde bozukluk dahil birçok immünolojik bozukluk olan ve bir ailenin birden fazla erkek çocuğunda görülebilen bir hastalıktır (20). Hastalarda EBV dışındaki enfeksiyonlarda genellikle önemli bir sorun olmaz ve EBV enfeksiyonuna kadar normal görünürler (9,14). Hastalar primer EBV enfeksiyonunda genelde fatal İM geliştirirler. EBV'ye karşı immünolojik yanıt yetersiz olduğundan kontrolsüz B hücre proliferasyonu görülür (9,17). Primer EBV enfeksiyonundan sonra yaşayan hastalarda ise akkiz hipogammaglobulinemi ve genelde ileoçekal bölge yerleşimli lenfoma oluşur (17).

2) Akkiz İmmünyetmezliği olan hastalarda EBV enfeksiyonu: Böbrek, kalp, kemik iliği, karaciğer, timus nakli yapılan ve immünosupressif tedavi gören hastalarda selim seyirli İM benzeri sendromdan, fatal yaygın lenfoproliferatif hastalığa ve belirgin lenfomaya kadar değişen birçok EBV ile ilişkili hastalık bildirilmiştir .

3) Burkitt Lenfoma (BL): B hücre lenfoblastik tümörü olup bir virüse bağlanan ilk insan tümörüdür (43). Endemik alanlarda çocukluk çağı malignitelerinin en sık olanıdır ve sıklığı yılda 8-10/100.000'e ulaşır. Tedavi edilmezse 1 yılda ölüm oranı %80'dir. Ancak kemoterapiye duyarlıdır ve 1 yıllık ölüm oranı %20'ye inmiştir. Özellikle Doğu Afrika ve Yeni Gine'de sıktır. Malaryanın da endemik olduğu bölgelerde görülmesi nedeniyle, malarya enfeksiyonu sonucu EBV-infekte hücrelere karşı T hücre yanıtının baskılandığı ve tümör oluşumundan sorumlu olduğu öne sürülmüşse de ispatlanamamıştır (12,20). BL'nin endemik bölgelerde görülme yaşı ortalama 7.7–9.2 yaş olup sporadik olanlarda yaş biraz daha fazladır.

Hastalığın EBV ile birlikteliği iki bulguya dayanır: a)Endemik (Afrika) tipi birçok BL'da (%90-96 oranında) EBV genomunun gösterilmesi, b)Serolojik bulgular: BL gelişiminden aylar-yıllar önce bu çocuklarda EBV enfeksiyonu ve anti VCA antikor titresinin yüksek olduğu saptanmıştır. Hastalık belirince de anti VCA ve anti EA antikorları yaklaşık 10 kat artmaktadır (12,20). Endemik bölge dışındaki BLde ise EBV-DNA sıklığı %20 civarındadır (12). Ayrıca endemik BL'da tedaviyle tümör kitlesi azaldıkça EBV antikor titreleri de azalmaktadır (9).

BL'da immünglobulin genleri içeren ve c myc protoonkojen lokusu taşıyan kromozom 8q24'de translokasyon vardır ve endemik veya sporadik olsun tüm BL'da saptanabilir. %75 vakada t(8; 14) olup 8. kromozomun uzun koluyla 14. kromozomun uzun kolu arasında resiprokal translokasyon vardır (12,20). EBV'nin bir kofaktör olarak etki ettiği

düşünülmektedir. BL'da eksprese edilen tek EBV proteini EBNA-1'dir. EBNA-1 sitotoksik T hücrelerince tanınmaz. Ayrıca EBNA-1 spesifik olarak c myc gen ekspresyonunun artmasında da rol alabilir (11).

4) Nazofaringeal Karsinoma (NPC): Özellikle Güney Asya'da, Çin'de sık olan epiteliyal hücreli anaplastik NPC'da EBV ile birliktelik sıklıdır. Diferansiye olmamış NPC'li hastaların tümünde, diferansiye olanlarınsa bazılarında EBV-DNA saptanır (12,38). Tümör gelişiminden yıllarca önce bu hastalarda anti VCA IgG ve sağlıklılarda nadir rastlanan IgA antikorları 10–15 kat yüksek olup, yüksek anti VCA IgA antikor olanlarda da % 20 oranında biopside NPC saptanmıştır (11,12,39,53).

Etiyolojisinde BL gibi immünolojik, genetik ve çevresel (EBV) faktörler sorumlu tutulmakta olup remisyondayken, daha önce yüksek olan EBV antikor titrelerinde azalma görülmektedir (11,43).

5) Diğer Tümörler ve EBV: Hodgkin hastalarında % 20–40 oranında EBV-DNA ve EBNA-1'in gösterilmesi, EBV'nin Hodgkin lenfomanın patogenezeine de katkıda bulunabileceğini göstermiştir (11). Oranın daha az gelişmiş olan ülkelerde daha fazla olduğu bildirilmiştir (21). Yapılan çalışmalarda özellikle pediatrik hastalarda ve mikst sellüler tip histolojisi gösteren vakalarda önemli oranda birliktelik saptanmıştır. EBV DNA'nın başlıca Reed Steinberg hücrelerinde bulunduğu bildirilmiştir (11).

Periferik T hücreli lenfomalar da bazen EBV ile birliktedir. Özellikle lenfomatoid granülomatozis ve burundaki T hücreli lenfomalarda kuvvetli birliktelik saptanmıştır. Aynı şekilde erişkinlerin T hücreli lösemi-lenfomasının da EBV ile ilişkili olabileceği söylenmiştir (21).

NPC gibi primitif farinks orijinli olan timus Ca ve parotis Ca'da da yüksek düzeyde EBV-DNA ve EBNA saptanmıştır. Ayrıca anti VCA IgA ve anti EA-D antikorlarının yüksek bulunduğu bildirilmiştir (21, 53,54).

Özellikle Japonya'da görülen diferansiye olmamış mide Ca'da da hemen daima EBV ile birliktelik saptanmaktadır (21).

6. Konjenital EBV Enfeksiyonu

Gebelikte persistan EBV enfeksiyonunun reaktivasyonu sık olmakla birlikte genellikle bunun fetusu etkilemediği düşünülmektedir (55). Gebelikte primer EBV enfeksiyonu geçiren anne çocuklarındaysa veriler değişkendir. Genellikle EBV ile intrauterin enfeksiyon

saptanmamakla birlikte, bu çocuklarda konjenital kalp hastalığı ve katarakt sıklığının arttığını bildiren yayınlar da vardır (56,57). Ayrıca yenidoğan döneminde anti VCA IgM pozitif olan, lenfosit kültüründe ilk 3 ay boyunca EBNA saptanan ve persistan monositozu olan multipl konjenital anomalili bir bebek bildirilmiştir. Özellikle persistan atipik lenfositozu mevcut ve diğer sebepler saptanmayan konjenital anomalili yenidoğanlarda intrauterin EBV enfeksiyonunun da düşünülmesi gerektiği vurgulanmaktadır (58).

Laboratuvar

Hematolojik Bulgular

İM'de başlıca hematolojik bulgu lenfositozdur. Lökosit sayısı sıklıkla 12.000–18.000/mm³ olup %60-70'ini monosit ve lenfositler oluşturur. %20 hastada ise başlangıçta lökopeni vardır. Lenfositoz 2. ve 3. haftada maksimum olur (9,11).

En az %10, genellikle %20'den fazla atipik lenfosit görülür. Ancak patognomik değildir. CMV, toksoplazmoz, akut hepatit, rubella, roseola, kabakulak, ilaç reaksiyonları, primer atipik pnömoni, allerjik rinit ve astımda da görülebilir. Ancak en fazla oran İM'dedir (9,11, 12,15). Atipik lenfositler genellikle olgun lenfositlerden daha büyük, sitoplazmaları vakuollü ve bazofilik olup nüveleri lobüle ve ekzantirik yerleşimlidir (11,12). Trombopeni sıktır. Anemi görülebilir (9,11).

Hafif İM vakalarında lökositlerde benzer değişiklikler olsa da, İM kliniği olmayan hastalarda atipik lenfositoz görülmez (9).

Heterofil Antikorlar

İM'de koyun, sığır, keçi ve at eritrosit aglütinimleri görülür. Genellikle kobay serumuyla absorpsiyondan sonra >1/40 titrede heterofil antikor varlığı, klinikle beraber. İM'nin bir göstergesidir. Günümüzde spesifik ve sensitif spot kitlerle saptanabilmektedir. Monospot testlerde yanlış pozitiflik, lenfoma ve hepatit durumlarında bildirilmiştir (11).

Heterofil antikorlar genellikle başlangıçta, bazense 1–4 hafta sonra ortaya çıkarlar. Geç çıkması, daha uzun bir nekahate işaret edebilir. Genellikle IgM sınıfından olup 3-6 ayda kaybolurlar. Bazen de 2 yıla kadar pozitif bulunurlar (9,12). Hastalığın 2–3. haftasında pik yaparlar (59).

Erişkin hastalarda %80–90 oranında saptanan heterofil antikorların 5 yaş altındaki çocukların %20-50'sinde negatif olduğu bildirilmektedir (11,17,19). Ancak son yıllardaki çalışmalarda yanıtın düşük sıklıkta olmasından çok, düşük titrede olduğu ve immünadherens

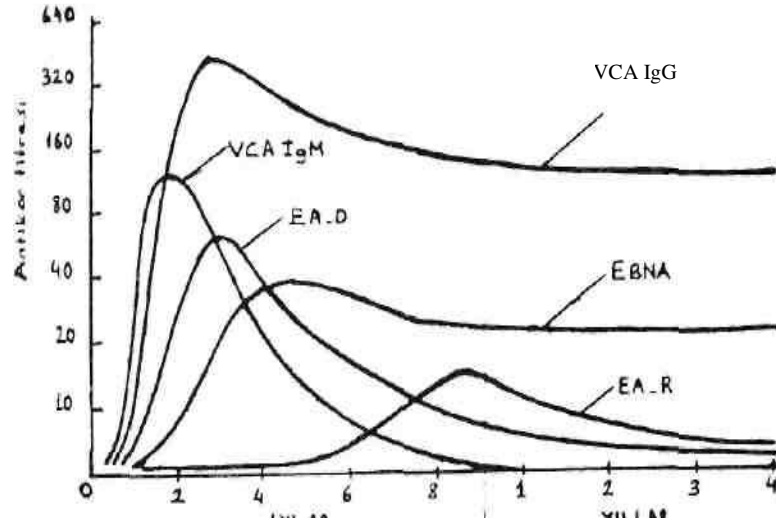
hemaglütinin (IAHA) gibi duyarlı testlerle erişkinlerdeki oranlarda saptanabildiği bildirilmiştir (9).

Diğer

Birçok hastada immünolojik değişiklik olur. Soğuk aglütininler, Weil-Felix litresinde ve febril aglütininlerde artış, sifiliz serolojisinde yanlış pozitiflik saptanır. Tüm immünglobulin sınıfları artmıştır (9,11).

%80-90 vakada karaciğer enzimleri (SGOT,SGPT, LDH) 2-3 kat artar ve genellikle 3-5 haftada normale döner. ALP artışı %60 oranında görülür, genellikle 10 mg/dl altında olan hiperbilirubinemi sıklığı %25-45 olarak bildirilmektedir (9,11,14).

Orofarinksten virüs ekskresyonu akut İM'da %100 olup, daha sonra da devam edebilir (9). Özellikle heterofil antikor negatif ve atipik vakalarda tanı, EBV-spesifik antikorlarla konur (Şekil1).



Şekil 1: EBV infeksiyonundan sonra EBV-VCA, EA-D, EA-R ve EBNA'ya karşı antikor yanıtları

Anti VCA antikorlar: Anti VCA IgG birçok vakada başvuru anında pik düzeydedir ve bu nedenle 3-4 hafta sonra alınan 2.serum örneğinde antikor düzeyinde beklenen 4 kat artış vakaların ancak %20'sinde saptanabilir. Sıklıkla anti VCA IgG düzeyi 1/320-1/1280 arasındadır. Daha sonra düzeyi azalarak yaşam boyu saptanabilen titrede kalır. Genellikle

aynı anda anti VCA IgM de belirir ve 6-12 haftada azalarak kaybolur. Vakaların üçte ikisinde ise geçici anti VCA IgA antikorları saptanır (9,11,59).

Anti EA antikorlar: Boyanma karakterlerine göre EA'lar diffüz (D) ve sınırlı (R) olmak üzere ikiye ayrılırlar. Akut İM'de %70 oranında saptanan anti EA-D antikorları genellikle anti VCA antikorlarından sonra, 1/20-1/80 titrelerinde belirir ve iyileşmeden 3-6 ay sonra kaybolur. Nadiren 1-2 yıl pozitif kalır (9,11,19,59). Anti VCA IgG ve anti EA-D antikorları varlığı akut EBV infeksiyonunu gösterir. Anti EA-D antikor varlığı ve titresi, klinik hastalığın süresi ve ağırlığı ile ilişkilidir (11,48). Anti EA-R antikorları genellikle uzamış veya atipik vakalarda ve daha geç olarak çıkar. Yaklaşık 2 yıl sonra kaybolur. Reaktifte infeksiyonda anti EA-D veya R tekrar ortaya çıkarlar (11).

Anti EBNA antikorlar: EBNA'nın 6 komponenti vardır. İM başlangıcından sonraki üç ayda anti EBNA-2 ve 6 antikorları yükselir. Vakaların yaklaşık üçte ikisinde saptanabilen anti EBNA-2 titresi azalırken, anti EBNA-1 antikorları ortaya çıkarak 6-12 ayda pik düzeye ulaşır. İlk 6-12 ay içinde genellikle anti EBNA 1/2 titreleri oranı <1.0 olur. Genellikle anti EBNA-1 titresi yaşam boyu saptanabilen düzeyde kalır (18,60). Önceden anti VCA antikorları pozitif ve anti EBNA antikorları negatif olan kimsede EBNA antikorlarının ortaya çıkışı yeni EBV infeksiyonunu gösterir (11,23). Kronik EBV infeksiyonunda ise anti EBNA 1/2 titresinin ≤1.0 olarak persiste ettiği bildirilmektedir (19).

EBV membran antijenlerine karşı oluşan antikorlar (anti MA) genellikle kısa sürede belirirler ve hayat boyu persiste ederler, ancak yanlış pozitif test sonuçları sıktır (9). EBV nötralizan antikorlar geç görülür ve başlangıçtan 6-7 hafta sonra pik yaparak, yaşam boyu persiste ederler, rutinde kullanılmazlar (11,18).

Solübl antijenlere karşı oluşan anti S antikorları EBNA antikorlarıyla aynı zamanda ortaya çıkarlar ve yaşam boyu kalırlar (11).

Özetlemek gerekirse: İM'de ilk olarak anti VCA IgM ve IgG, anti EA-D ve heterofil antikorlar, daha sonra anti MA ve nötralizan antikorlar ve en son da anti S ve anti-EBNA antikorları ortaya çıkarlar.

EBV serolojisi için ideal olarak anti VCA IgG, anti EA IgG ve anti EBNA antikorları ölçülmelidir. Tek bir serumda bunlara bakılarak hastaların %90-95'inde doğru sınıflama yapılabilir, anti EBNA antikorları sayesinde primer infeksiyon 2-3. ayındayken de tanınabilir. Primer infeksiyon için mutlaka anti VCA IgM bakılması gerekmez. Ayrıca IgM antikorları,

serumda romatoid faktör (RF) varlığında yanlış pozitif ve serumun geç alınmasında yanlış negatif sonuç verebilir (18).

Serolojik Testlerin Yorumu

Anti VCA, EA ve EBNA antikorlarına göre hastalar ayrılırlar:

- 1) Anti VCA (-) ise duyarlıdır.
- 2) Anti VCA (+) ve anti EBNA (-) ise primer infeksiyondur.
- 3) Anti VCA ve anti EBNA (+) ise önceden geçirilmiş infeksiyondur.
- 4) Yeni veya reaktif infeksiyon tanısında anti EA-D çok yararlıdır. Anti EBNA negatif iken anti EA varlığı primer infeksiyonu; anti EBNA (+) iken anti EA'nın da (+) olması ise reaktif olmuş eski infeksiyonu gösterir.

İM'de anti VCA IgM pozitifliği %85-90 arasındadır. Kalan %10-15 hastada genellikle ilk serum örneğinde anti EBNA antikorları negatif olup 4-6 hafta sonra test edilen ikinci örnekte anti EBNA'nın pozitif bulunmasıyla primer EBV infeksiyonu tanısı konabilir.

EBV ile ilişkili tümörlerde antikor düzeylerinde değişiklik oldukça yavaş olduğundan 3-4 aydan kısa sürelerde antikor titrelerini kontrol etmek anlamsızdır (18).

Bu bilgiler ışığında EBV ile ilişkili hastalıkların serolojik özellikleri şu şekilde özetlenebilir (Tablo 1).

Tablo 1: EBV ile ilişkili durumlarda serolojik profiller

Antikorlar		Antikor varlığı						
		Nonimmün	İnfeksiyon			Reaktivasyon	BL	NPC
			Akut primer	Yeni geçirilmiş	Eski infeksiyon			
VCA	IgM	-	+	-	-	-	-	-
	IgG	-	+	+	+	+	++	++
	IgA	-	+/-	-	-	-	-	++
EA/D	IgG	-	+ ^a	+	-	+/-	-	++
	IgA	-	-	-	-	?	-	++
EA/R	IgG	-	+/- ^b	+/-	-	+/-	++	+/-
Anti-EBNA		-	-	Düşük +	+	+	+	++

a: EA/D IgG antikorları genellikle İM'de görülür

b: EAR IgG antikorları genellikle sessiz primer EBV infeksiyonunda görülür.

1) İM: Yukarıda özetlenen antikor profilleri göz önüne alınarak İM'nin serolojik tanısı için şu kriterler ileri sürülmüştür:

- a) Erken dönemde anti VCA IgM'in (+) olup daha sonra kaybolması,
- b) Anti VCA IgG antikor titresinde 4 kat veya daha fazla artış saptanması,
- c) Anti EA-D (+) liği,
- d) Anti VCA IgG (+) liği yanında anti EBNA antikorunun (-) veya düşük titrede olması ve geç ortaya çıkması (11,35,59).

2) Asemptomatik primer EBV enfeksiyonu: Anti VCA ve anti EBNA antikorlarının gelişimi İM'ye benzer, ancak 1/80'i geçen pik anti VCA IgM titresini nadirdir. İM'de genellikle tanı anında anti EA-D antikorunu bulunurken, asemptomatik primer enfeksiyonda birkaç ay sonra sadece anti EA-R antikorunu ortaya çıkar. Heterofil antikorların saptanabilir düzeyde bulunması da nadirdir (9).

3) Burkitt Lenfoma: Genellikle anti VCA, MA, EA-R ve EBNA IgG antikor titreleri saptanır. Daha az oranda anti VCA IgA da görülebilir. Yüksek titrelerdeki anti VCA IgG ve anti EA-R kuraldır. Anti EA-R antikorunu tedaviyle azalır veya kaybolursa iyi prognoza işaret edebilir. Anti EA-D antikor varlığı ise genellikle kötü prognoz göstergesidir (9,19,48).

4) Nazofaringeal karsinoma: Genellikle yüksek titrelerde anti VCA, MA ve EA-D IgG antikorları vardır. Anti VCA IgA ve anti EA-D IgA da sıklıkla yüksek düzeyde bulunur. Tedaviyle antikor titreleri düşer (9,19). Yapılan çalışmalarda anti DNaz antikor sıklık ve düzeyi de anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (14,47).

EBV'nin Saptanmasına Dair Yöntemler

EBV viryonlarının EM ile saptanması genellikle mümkün değildir. Sadece dildeki lökoplakinin biopsi örneğinde yüksek konsantrasyonda viryonlar gösterilebilmiştir.

Genellikle EBV varlığı, indüklenen proteinler veya viral genomun saptanmasıyla gösterilebilir. Litik enfeksiyonla ilgili EA ve latent enfeksiyonla ilgili EBNA'nın varlığı antikompleman indirekt immünofluoresan boyama teknikleriyle (ACIF) dokularda gösterilebilir (18). Ayrıca DNA hibridizasyonu ve monoklonal antikor tekniklerine dayanan hızlı tanı testleri de geliştirilmiştir (11). Patolojik materyalde EBV gösteriminde en spesifik yöntem nükleik asit hibridizasyonu olup 3 teknik vardır:

- 1) Southern hibridizasyon,
- 2) İn situ hibridizasyon,

3)PCR

PCR ile akut İM'de periferik kanda bulunan EBV-DNA saptanabilir (12). Ayrıca latent EBV enfeksiyonunda bol EBER-RNA eksprese edildiği gösterilmiştir. Daha yeni olarak, EBER-1 saptanması için geliştirilen bir teknikle latent enfekte doku ve tümörün saptanması da kolaylaşmıştır (18,21). EBV'ye spesifik sitotoksik T hücreleri çalışmaları devam etmektedir (11). Virüsle ilişkili hemofagositik sendromda immünomodülasyon tedavisinin (etopozid + IVIG) başarılı bulunduğu bildirilmektedir (61).

Cerrahi Tedavi

İM'de dalak rüptürü durumunda acil cerrahi girişim ve şok tedavisi gerekir. EBV ile ilişkili tümörlerde de cerrahi girişim ve kemoterapinin önemli yeri vardır (12,43).

Önleme

Genel Önlemler

Virüs yayılımı için yakın temas gerektiğinden İM'lilerin izolasyonu gereksizdir. Ancak İM'den sonra en az 6 ay hastaların kan vermemeleri önerilir (11). Enfeksiyon ve hastalığın önlenmesinde hijyen şartlarının ve sosyoekonomik koşulların düzeltilmesi önemlidir (21).

İmmünizasyon

Özellikle seronegatif olup, askerler gibi yüksek riskteki kişileri korumak amacıyla ve daha da önemlisi endemik BL ve NPC alanlarındaki kişilerin aşılınması yoluyla İM ve EBV ile ilişkili tümörlerin önlenmeleri arzulanır (9,11). Virüs üretimi için çok sayıda hücre serisi olması ve immünojen olduğu düşünülen membran antijeni geninin nükleotid sırasının bilinmesi umut vericidir (11,62). Ancak EBV'nin potansiyel onkojenitesi nedeniyle çok dikkatli incelemeler gerekmektedir. Bu nedenle aşıda viral nükleik asit olmamalıdır. Canlı, atenué veya geleneksel olarak inaktive edilmiş viral aşılar da iatrojenik onkojenite ihtimali vardır (9,11).

EBV enfekte virüs yüzeyinde eksprese edilen membran antijenine (MA) karşı oluşan antikorlar virüsü nötralize ederler. MA, hücre membranından gelişen viral zarfın bir kısmını oluşturur. Bu amaçla elde edilen EBV-gp350 glikoproteiniyle aşılanmanın sonucunda nötralizan antikorların geliştiği görülmüştür (9,11,62). EBV gp350 ile aşılanmanın hayvanlarda lenfoma oluşumunu önlediği saptanmış, ayrıca rekombinant DNA teknolojisiyle elde edilen bir aşı üzerinde de çalışmalar devam etmektedir (11).

GEREÇ VE YÖNTEM

GEREÇLER

a. TİCARİ KİTİN SAĞLADIKLARI (100 test için)

1. 10 BIOCHIP slaytı,
2. 10 şişe komplement solüsyonu (liyofilize),
3. 1,5ml floresan işaretli anti-human IgG (evans blue içerir),
4. 1,5ml floresan işaretli anti-human IgM (evans blue içerir),
5. 0,3ml floresan işaretli anti-human C3c (evans blue içerir)
6. 0,1ml pozitif kontrol (EBV-CA IgG için),
7. 0,1ml negatif kontrol (EBV IgG için),
8. 2 paket fosfat buffer (PBS) (her bir paket 1 lt distile su içinde çözündürülerek hazırlanır),
9. 2 tane 2ml' lik Tween 20 (1 lt distile suda çözündürülen PBS içine katılır. 1lt için 2ml lik Tween20 kullanılır),
10. 3,0ml embedding medium,
11. Lamel.

b. DİĞER GEREÇLER:

1. Vacutainer,
2. Jelli biyokimya tüpü,
3. Derin donduruculu buzdolabı,
4. Floresans mikroskopu.

YÖNTEM

Çalışma 01.01.2005–01.01.2007 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. EBV spesifik antikorlarının araştırılması amacıyla gönderilen EBV infeksiyon şüpheli 522 hasta serumu çalışılmıştır. Spesifik EBV antikorlarında; viral kapsit antijeni IgG (VCA-IgG), VCA IgM, EA antikorları, EBNA antikorları ve VCA IgG avidite araştırılmıştır. Spesifik antikorların araştırılmasında İndirekt Fluoresan Antikor tekniği kullanılmıştır(Euroimmun Biochip Sequence EBV avidity determination kiti). Değerlendirmeler hasta yaşı kriter alınarak beş grupta yapılmıştır.

Gruplar:

Grup 1: 0-2 yaş arası olgular,

Grup 2: 3-5 yaş arası olgular,

Grup 3: 6-12 yaş arası olgular,

Grup 4: 13-17 yaş arası olgular,

Grup 5: 17 yaş ve üzeri olgulardır.

TESTİN YAPILIŞI

Çalışmaya başlamadan önce tüm reaktifler oda ısısına getirilir.

1.Solüsyonların hazırlanması

a. PBS-Tween Hazırlanışı:1 lt distile su içine 1 paket PBS katılarak çözündürülüp, Üzerine 2ml Tween20 eklenir. Tween20 eklendiğinde solüsyon yavaşça karıştırılır. PBS Tween yıkama ve serum dilüsyonlarında kullanılır.

b.Komplement Solüsyonunun Hazırlanması: Gerekli miktarda şişe çıkartılır ve şişe etiketinde yazan hacimde distile su (+4°C - +8°C) liyofilizat eklenir.

2. Örneklerin Hazırlanışı: Hasta örnekleri 1:10 oranında PBS-Tween ile dilüe edilerek hazırlanır. (90µl PBS-Tween içine 10 µl hasta örneği konularak dilüsyon yapılır. Daha yüksek hacim istenirse örneğin 180µl PBS-Tween içine 20µl hasta örneği de konularak daha büyük hacimde aynı dilüsyon sağlanabilir.) Alan C’de yani slayt üzerindeki 3.alanda IgM antikorları saptanacağından buradaki örnek EUROSORB solüsyonu ile muamele edilir.

EUROSORB solüsyonu ile muamele edilen örnek 1:10 oranında dilüe hale geldiğinden bir daha ek dilüsyona gerek duyulmaz.

3. IgM test edilecek örneklerin EUROSORB Solüsyonu ile muamelesi: EUROSORB solüsyonunun şişesi ve dilüsyonu yapılacak serum vortekslenir. 45µl EUROSORB alınıp bir tüpe konur (miktar küçük olduğundan eppendorf tüpler en uygundur). 45µl EUROSORB solüsyonu içine ; 5µl serum eklenir. Karışım 15 dakika bekletilir. 2000 rpm’de 5dk santrifuj edilir. Supernatant kısmından gereken miktarda örnek alınır. Elde edilen örnek 1:10 dilüe durumdadır. 1:10 dilüsyon istenilen testlerde örnek gereken hacimde alınıp doğrudan reagent tray’e pipetlenir.

İnkübasyon

1. Örneklerin aktarımı: Reagent tray üzerine sırayla 25µl dilüe örnekler pipetlenir. (Bir örneğin test edildiği 5 alan olduğundan, dilüe edilmiş bir serum örneği 5 alana ayrı ayrı pipetlenir.) 3.alana yani Alan C’ye eurosorbla muamele edilmiş örnek pipetlenir. İlgili slaytlar reagent tray üzerine kapatılır. Slayt üzerindeki girintinin; reagent tray üzerindeki çıkıntıya denk gelmesi dikkat edilerek kapatılır. Slaytların tam oturup oturmadığı, sıvının dağılıp dağılmadığı kontrol edilir.

2. Örnek inkübasyonu: Oda sıcaklığında (+18°C - +25°C) 60dk inkübe edilir.

3.Yıkama: İnkübasyon sonrasında slaytlar kaldırılıp üzerlerinden PBS-Tween geçirilir. (Bu işlem ağzı geniş bir kap yardımı ile yapılmalıdır. Amaç inkübasyonu tamamlanan slayt üzerindeki sıvıyı bir anda bolca PBS-Tween karışımı ile ortamdan uzaklaştırmaktır). Ardından slaytlar PBS-Tween ile dolu yıkama küveti içine yerleştirilir. En az 5 dk küvette bekletilir.

4. PBS,Üre ve kompleman solüsyonu aktarımı: Reagent tray üzerine aşağıda belirtilen şekilde sırayla 20µl ilgili solüsyonlar pipetlenir.

Birinci alana	(A) PBS-Tween	} 20şer µl pipetlenir
İkinci alana	(B) Üre solüsyonu	
Üçüncü alana	(C) PBS-Tween	
Dördüncü alana	(D) PBS-Tween	
Beşinci alana	(E) Yeni hazır Komplement solüsyonu	

5. PBS, Üre ve kompleman solüsyonu inkübasyonu: Pipetleme işleminden sonra yıkama süresi dolan slaytlar küvetten çıkartılır. Ve 5 sn içinde slaytların arka alanı kağıt havlu ile silinerek derhal reagent tray üzerine kapatılır. Oda sıcaklığında (+18°C - +25°C) 30dk inkübe edilir.

6. Yıkama: İnkübasyon sonrasında slaytlar kaldırılıp üzerlerinden PBS-Tween geçirilir. Ardından slaytlar PBS-Tween ile dolu yıkama küveti içine yerleştirilir En az 5 dk küvette bekletilir.

7. Floresan işaretli antihuman globulin ve C3c aktarımı: Reagent tray üzerine aşağıda belirtilen şekilde sırayla 20µl ilgili solüsyonlar pipetlenir.

Birinci alana	(A) FITC-işaretli antihuman IgG	} 20şer µl pipetlenir
İkinci alana	(B) FITC-işaretli antihuman IgG	
Üçüncü alana	(C) FITC-işaretli antihuman IgM	
Dördüncü alana	(D) FITC-işaretli antihuman IgG	
Beşinci alana	(E) FITC-işaretli antihuman C3c	

8. Floresan işaretli antihuman globulin ve C3C inkübasyonu: Pipetleme işleminden sonra yıkama süresi dolan slaytlar küvetten çıkartılır. Ve 5sn içinde slaytların arka alanı kağıt havlu ile silinerek derhal reagent tray üzerine kapatılır. Oda sıcaklığında (+18°C - +25°C) 30dk inkübe edilir.

9. Yıkama: İnkübasyon sonrasında slaytlar kaldırılıp üzerlerinden PBS-Tween geçirilir. Ardından slaytlar PBS-Tween ile dolu yıkama küveti içine yerleştirilir. En az 5 dk küvette bekletilir.

10. Kapatma medyumun (embedding medium) damlatılması: Reagent tray'in altında bulunan üzerinde numaralar içeren beyaz köpük cam kısmından ayrılır. Köpük kısmının üzerine her alana 1 adet gelecek şekilde lamel konur. Her bir lamel üzerine rakamların üzerine denk gelecek şekilde embedding medyum minicik (10µl) damlatılır.

11. Slaytın lamel üzerine kapatılması: Yıkama küvetinden çıkartılan slaytlar yine hızlıca kağıt mendil ile arka yüzeyi ve köşeleri kurularak hazırlanmış lamel üzerine kapatılır. Lamelin slaytın iç yüzeyine tam oturup oturmadığı kontrol edilir. Slaytlar mikroskopta değerlendirilmek üzere hazır hale getirilir.

DEĞERLENDİRME

EBV spesifik antijenlerine karşı oluşan antikorlar, bu antijenleri exprese eden hücrelerin sitoplazma veya nükleuslarında tipik bir fluorensansa neden olurlar. EBV VCA karşı oluşan antikorlar sitoplazmada EBNA nükleusta, EA'a karşı oluşan antikorlar nükleusta ve sitoplazmada tipik flouresans oluşturur.

Avidite değerlendirilmesi:

Antikor aviditesini belirlemek için üre ile işlem görmüş ve üre ile işlem görmemiş inkübe hasta örneklerinin flouresans yoğunluğu karşılaştırılır. Spesifik flouresansın yoğunluğu aşağıdaki skora göre ayrıştırılır.

- 0- Flouresans yok
- 1- Çok zayıf flouresans yoğunluğu
- 2- Zayıf flouresans yoğunluğu
- 3- Orta flouresans yoğunluğu
- 4- Güçlü flouresans yoğunluğu
- 5- Çok güçlü flouresans yoğunluğu

Üre ile işlem görmemiş inkübe serum örneğinin spesifik fluorensansı 0, 1 veya 2 olarak tayin edilmişse avidite saptanması mümkün değildir.

Flouresans yoğunluk skoru arasındaki fark 2'den küçükse genel olarak yüksek avidite antikorları mevcuttur.

Flouresans yoğunluk skoru arasındaki fark 2 veya daha fazla ise genel olarak düşük avidite antikorları mevcuttur.

BULGULAR

Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına iki yıllık periyot içinde spesifik EBV antikorlarını araştırmak üzere gönderilen 522 hasta serumu IFA yöntemiyle çalışıldı. Hasta serum örneklerinde EBV-VCA IgG ve IgM, EA- IgG, EBNA antikorları ile VCA- IgG avidite araştırıldı. Hastaların 200'ü (%38.31) kadın, 322'si (%61.69) erkek bireylerdi. Hasta yaşları 5 gruba ayrılarak incelendi. Yaş grupları ve cinsiyet dağılımı Tablo 1 ve Tablo 2'de gösterildi. Laboratuvarımıza gönderilen hasta serum örneklerinin 94'ünde (%18.1) çalışılan tüm EBV antikorları negatif olarak bulundu ve bu hastalar seronegatif olarak kabul edildi. Bu durumda incelenen örneklerde %81.99(n=428) oranında seropozitiflik belirlendi. EBV seronegatif ve seropozitif bireylerin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 2 ve Tablo 3'te verildi.

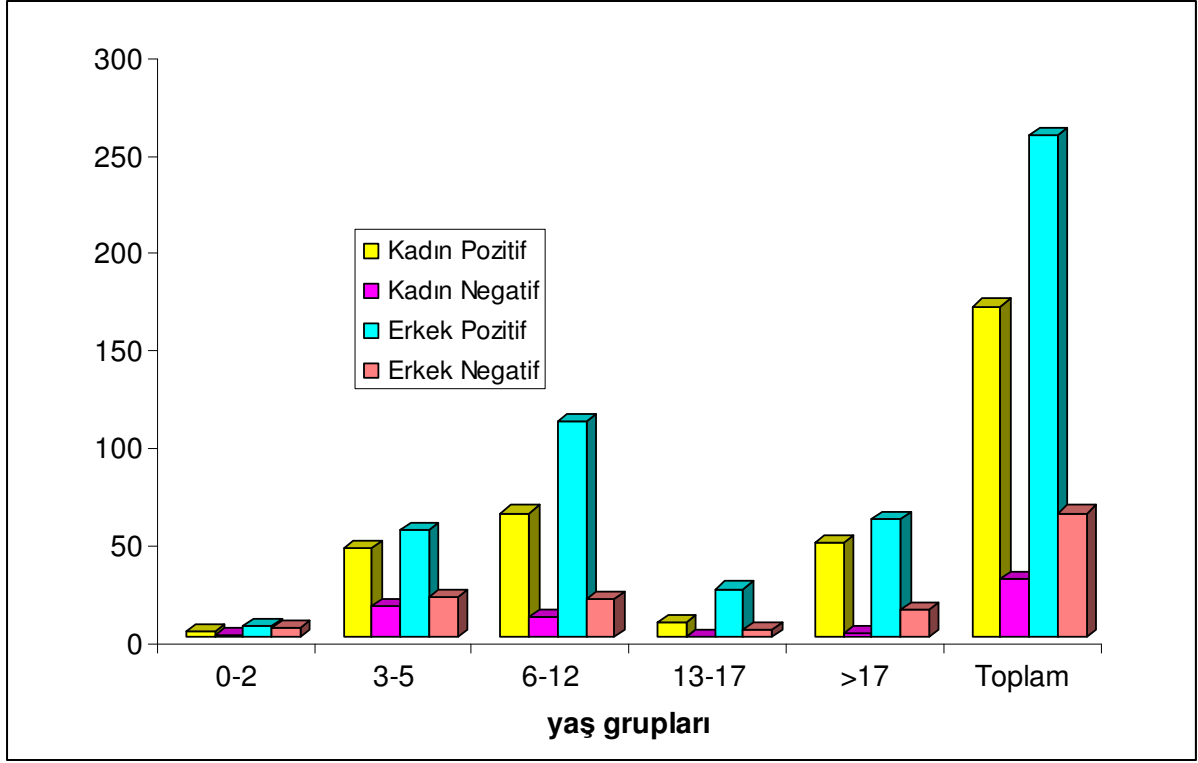
TABLO 2. EBV spesifik antikor seropozitifliğinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Kadın		Erkek		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-2	3	0,70	6	1,40	9	2,10
3-5	46	10,75	55	12,85	101	23,60
6-12	64	14,95	111	25,93	175	40,89
13-17	8	1,87	25	5,84	33	7,71
>17	49	11,45	61	14,25	110	25,70
Toplam	170	39,72	258	60,28	428	100

TABLO 3. EBV spesifik antikor seronegatifliğinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Kadın		Erkek		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-2	1	1,06	5	5,32	6	6,38
3-5	16	17,02	21	22,34	37	39,36
6-12	11	11,70	20	21,28	31	32,98
13-17	0	0,00	4	4,26	4	4,26
>17	2	2,13	14	14,89	16	17,02
Toplam	30	31,91	64	68,09	94	100

Seropozitif bireylerin 170'i kadın(%39.71), 258'i erkek(%60.29) hastalardı. Kadın ve erkeklerde en yüksek seropozitiflik oranları 6-12 yaş arasında olup sırasıyla %37.64 ve %43.02 olarak bulundu.



GRAFİK I. EBV seropozitif ve seronegatif hasta antikorlarının yaş gruplarına göre dağılımı

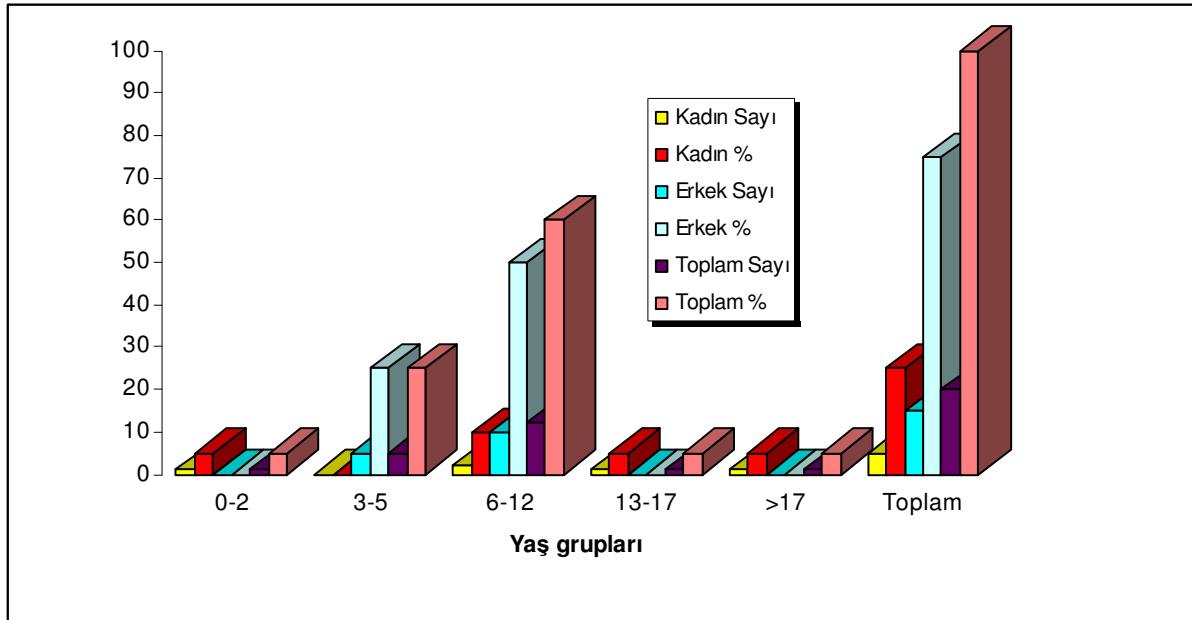
EBV seropozitif ve seronegatif hasta antikorlarının yaş gruplarına göre dağılımı grafik 1'de gösterildi. Buna göre en sık seropozitiflik oranı 6 ile 12 yaşları arasında saptandı (%40.88). 12 yaş grubuna kadar antikor sıklığı tedricen artmakta (özellikle 3-12 yaş aralığındaki çocuklarda %64.48), daha sonra azalarak 13-17 yaş aralığında %7.71'e düşmektedir. Geri kalan >17 yaş bireylerde EBV ile karşılaşma oranı tekrar artarak %25.7 olarak bulundu.

Çalıştığımız 522 hasta serumunun 126'sı 17 yaş üstü bireylere aitti. 126 bireyin %12.69'u (n=16) seronegatif olarak saptandı. Toplam seronegatifler içerisinde 17 yaş üstü bireylerin seronegatiflik oranı %17.0 olarak tespit edildi.

Viral kapsit antijenine karşı oluşan IgM antikorları genel olarak akut infeksiyon göstergesi olarak kabul edilir ve klinik belirtilerle birlikte organizmada oluşmaya başlar (7,8). Ancak kısa ömürlüdür(4 ila 6 hafta). EBV VCA IgM seropozitifliğinin yaş ve cinsiyete göre dağılımı tablo 4’te verildi. Çalışılan 522 hasta serumundan 20 tanesinde (%3.8) EBV VCA IgM seropozitifliği bulundu.

TABLO 4. EBV IgM seropozitifliğinin yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Yaş Grupları	Kadın		Erkek		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-2	1	5	0	0	1	5
3-May	0	0	5	25	5	25
6-Ara	2	10	10	50	12	60
13-17	1	5	0	0	1	5
>17	1	5	0	0	1	5
Toplam	5	25	15	75	20	100



GRAFİK II. IgM seropozitifliğinin yaş ve cinsiyet dağılımı

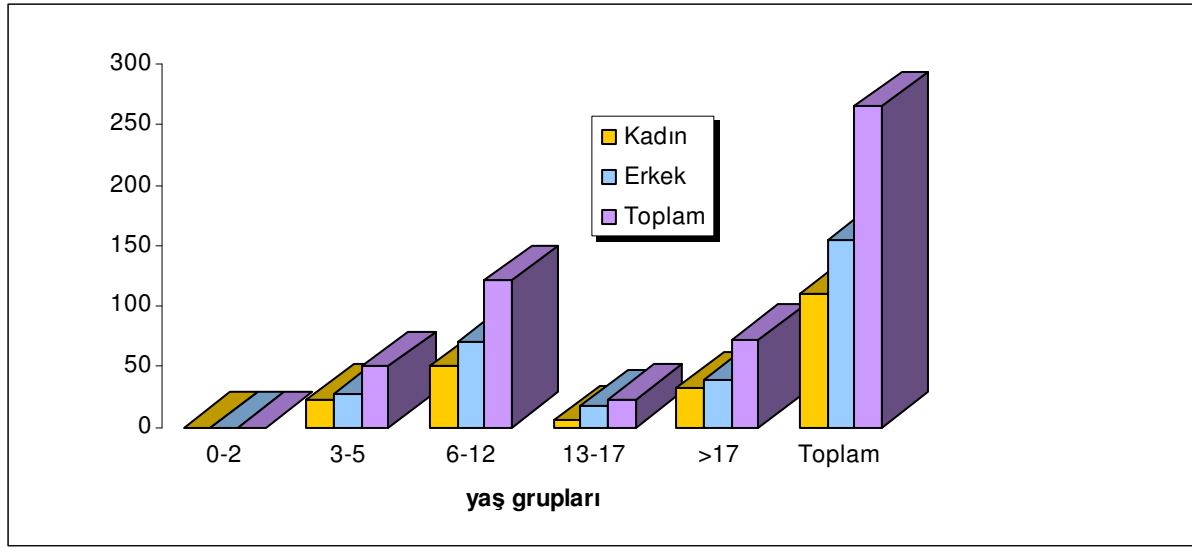
VCA IgM ve VCA IgG'nin seropozitif olduğu 20 bireyin 7 tanesine EA antikorları eşlik ederken 1 tanesinde VCA IgG düşük avidite saptandı. Bu parametrelerle birlikte 20 birey primer infeksiyonlu olarak değerlendirildi. Primer infeksiyonlu bu bireylerin %60'ını 6-12 yaş grubundaki çocuklar oluştururken %25'ini 3-5 yaş arası çocuklar oluşturdu.

Yaşa göre en sık EBV VCA IgM seropozitifliği 6-12 yaş grubunda saptandı. Bu gruptaki erkek çocukların VCA IgM seropozitiflik oranı toplam oranın %50'sini oluşturuyordu.

Geçirilmiş infeksiyon göstergesi olarak değerlendirilen VCA IgG ve EBNA antikorlarının birlikte seropozitif olduğu bireylerin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı tablo 5'te verildi. Bu bireylerde VCA IgM ve EA antikorları seronegatif olup VCA IgG avidite yüksek bulundu.

TABLO 5. VCA-IgG ve EBNA seropozitifliğinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş Grupları	Kadın		Erkek		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-2	0	0,00	0	0,00	0	0,00
3-May	22	8,30	28	10,56	50	18,86
6-Ara	50	18,86	71	26,79	121	45,66
13-17	5	1,88	17	6,41	22	8,31
>17	33	12,45	39	14,71	72	27,17
Toplam	110	41,50	155	58,50	265	100,00



GRAFİK III. IgG ve EBNA seropozitifliğinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

Normal rutin klinik laboratuvarlarında test edilen serumların yaklaşık %70'inde geçirilmiş infeksiyonlu bireyler tespit edilmektedir (8). Çalıştığımız toplam 428 seropozitif bireyde %61.91 oranında geçirilmiş infeksiyon serolojik profili görüldü.

Serolojik olarak yorumlanması güç durumlarda örneğin dirençli anti EBV VCA IgM antikorlarının varlığı veya yeni infeksiyonlarda anti EBV VCA IgM antikorlarının yokluğunda ya da immünsuprese kişilerde EBNA'nın kaybolduğu durumlarda, anti EBV VCA IgG antikorlarının aviditesinin ölçülmesinden yararlanılır. Akut EBV infeksiyonlu bireyler hastalığın başlangıcından itibaren 10 gün içinde %90'ından fazlasında düşük avidite saptanırken 30 gün sonra bu oran %50'ye düşer. Ancak, antikorların olgunlaşmasının kişiden kişiye değişiklik gösterdiği ve bu sürenin 3 aya kadar çıkabildiği bildirilmiştir (7).

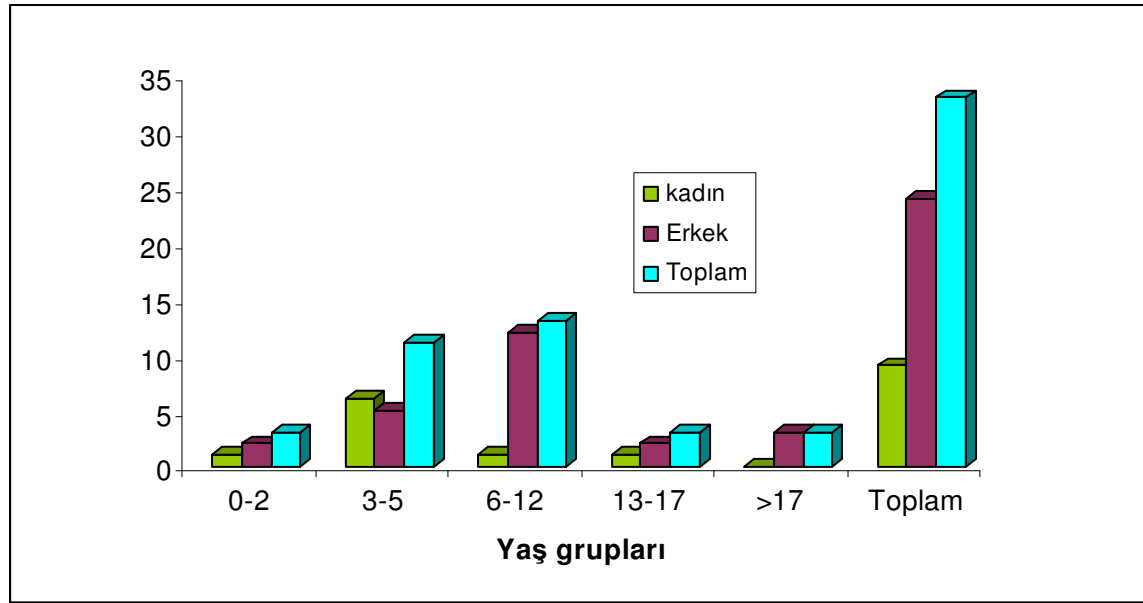
Çalışılan hasta serumlarında düşük (low) avidite saptanmış bireylerin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı tablo 4'te gösterildi. EBV VCA IgG düşük avidite saptanmış hastalardan bir tanesinde VCA IgM seropozitif olarak değerlendirildi.

VCA IgG düşük avidite saptanmış tüm bireylerde EBNA antikorları seronegatif olarak bulunmuştur. Düşük aviditeli serumlardan bir tanesinde VCA IgM, 6 tanesinde de EA antikorları seropozitif olarak bulundu. Düşük avidite saptanmış bireylerden 3 tanesi 0-2 yaş grubunda, 11 birey 3-5 yaş grubunda, 13 birey 6-12 yaş grubunda, 3 tanesi 13-17 yaş grubunda, 3 bireyde 17 yaş üstü grubunda yer aldı. VCA IgG düşük avidite saptanmış bireyler

primer infeksiyonlu olarak değerlendirildi. Çalıştığımız hastalarda yüksek aviditeye sahip VCA IgM seropozitifliği saptanmadı.

TABLO 6. VCA-IgG avidite seropozitifliğinin yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Yaş Grupları	Kadın		Erkek		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-2	1	3,03	2	6,06	3	9,09
3-5	6	18,18	5	15,15	11	33,33
6-12	1	3,03	12	36,36	13	39,39
13-17	1	3,03	2	6,06	3	9,09
>17	0	0,00	3	9,09	3	9,09
Toplam	9	27,27	24	72,73	33	100,00



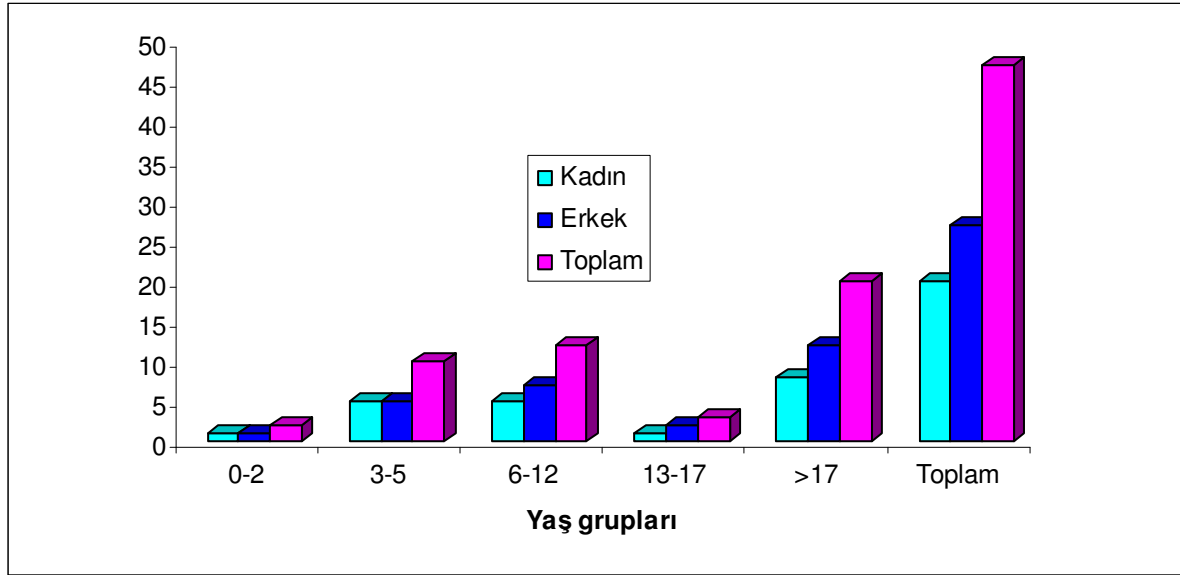
GRAFİK IV. Avidite seropozitifliğinin kadın ve erkeklerde yaşlara göre dağılımı

EBV EA IgG antikorları, EBV geçirilmiş infeksiyon, kronik infeksiyon, reaktivasyon ya da iyileşme döneminde EBV VCA IgG ve EBNA antikorlarına eşlik edebilir (7,8). Özellikle EBV-EA IgG antikor titresinin yüksek olması reaktivasyon veya kronik infeksiyon lehine değerlendirilir. Çalıştığımız 522 hasta serumundan 47(%9.0) serum örneğinde spesifik üç antikor birlikte seropozitif olarak saptandı. Tablo 7’de ve grafik V ‘te EBV VCA-IgG,

EBNA ve EA antikorlarının birlikte seropozitif bireylerdeki cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı gösterildi.

TABLO 7. EBV VCA-IgG, EBNA ve EA antikorlarının birlikte seropozitif bireylerdeki cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Kadın		Erkek		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-2	1	2,13	1	2,13	2	4,26
3-5	5	10,64	5	10,64	10	21,28
6-12	5	10,64	7	14,89	12	25,53
13-17	1	2,13	2	4,26	3	6,38
>17	8	17,02	12	25,53	20	42,55
Toplam	20	42,55	27	57,45	47	100



GRAFİK V. EBV VCA IgG, EBNA ve EA antikorlarının birlikte seropozitif olduğu bireylerde cinsiyet ve yaş gruplarının dağılımı.

Farklı antijen sınıflarına karşı oluşan reaksiyonlar EBV infeksiyon profillerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Primer EBV infeksiyonlu bireylerde akut faz serum örneğinde değişik serolojik reaksiyonlar görülebilir. Genel olarak primer yada akut infeksiyon olarak değerlendirilebilen seropozitif reaksiyonların başlıcaları ve antikor gruplarına karşı seropozitiflik saptanmış hasta serumlarının yaş gruplarına ve cinsiyete göre dağılımı tablo 8’de verildi. Bu şekilde değerlendirildiğinde çalışılan 522 hastadan 116’sı(%22.2) primer ya da akut infeksiyonlu hasta olarak değerlendirildi.

TABLO 8. Primer infeksiyon serolojik profillerinin yaş ve cinsiyete göre dağılımı

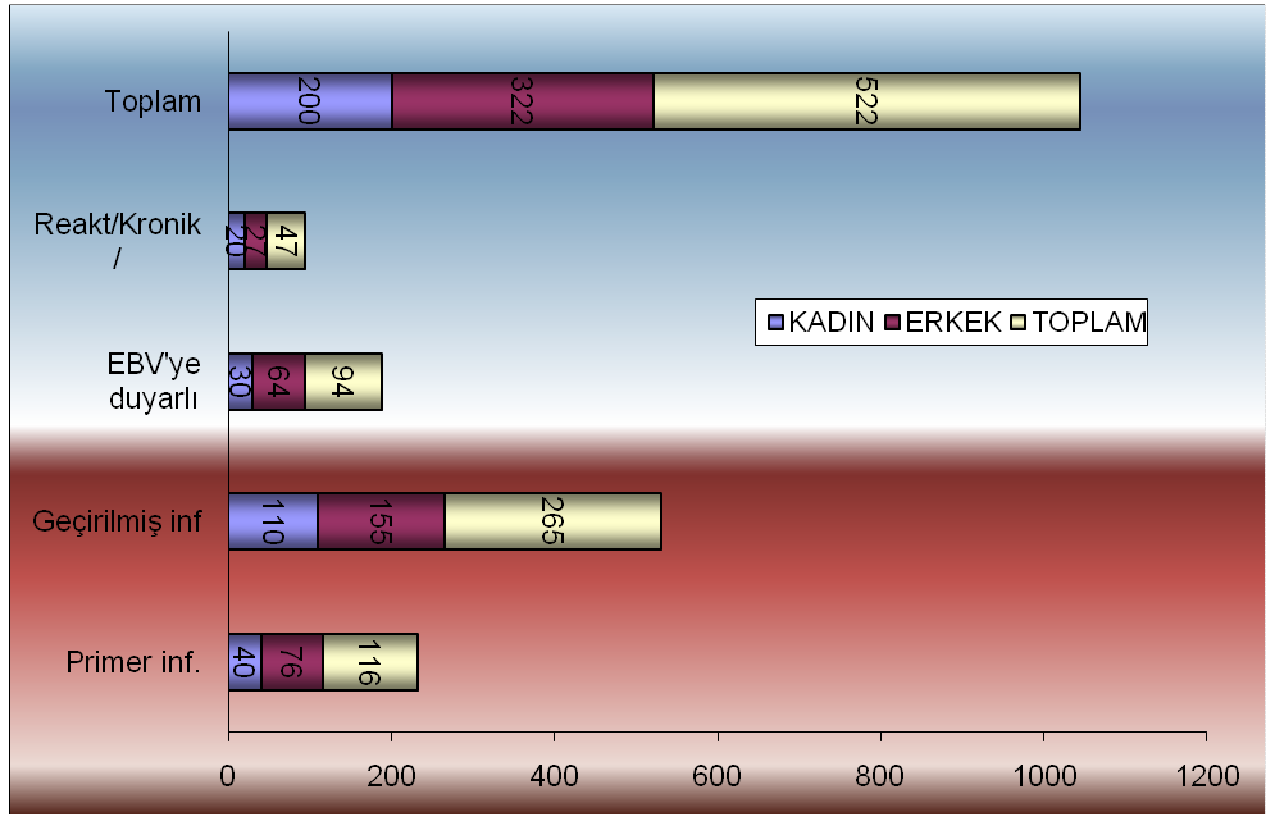
Serolojik profiller				0-2 YAŞ		3-5 YAŞ		6-12 YAŞ		13-17 YAŞ		>17 YAŞ		TOPLAM
				K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	
EBV CA IgG+	VCA IgM +	EA IgG +	EBNA -	1	0	0	1	0	4	1	0	0	0	7
EBV CA IgG+	VCA IgM -	EA IgG +	EBNA -	0	2	9	4	4	9	1	1	3	2	35
EBV CA IgG+	VCA IgM -	EA IgG -	EBNA -	1	3	10	13	3	14	0	5	4	8	61
EBV CA IgG+	VCA IgM+	EA IgG -	EBNA -	0	0	0	4	2	6	0	0	1	0	13
TOPLAM				2	5	19	22	9	33	2	6	8	10	116

Tabloya göre en fazla saptadığımız primer infeksiyon serolojik profili, pozitif VCA IgG, negatif VCA IgM , negatif EA ve negatif EBNA oldu. Buradaki toplam birey sayısı 61 olup, bunlardan 26'sında (%42.62) düşük aviditeli VCA IgG saptandı. Ancak, genel olarak EBNA antikorları geçirilmiş infeksiyonlarda pozitif olarak değerlendirildiğinden (8) ve nadiren immünsuprese bireylerde kaybolabildiğinden bu serolojik profildeki bireylerin hepsi primer infeksiyon olarak değerlendirilerek, iki hafta sonra tekrar incelenmesi talebinde bulunuldu. İnfeksiyöz mononukleozis, klinik olarak sitomegalovirus, toksoplasmozis ve hepatitle kolayca karışabilir.

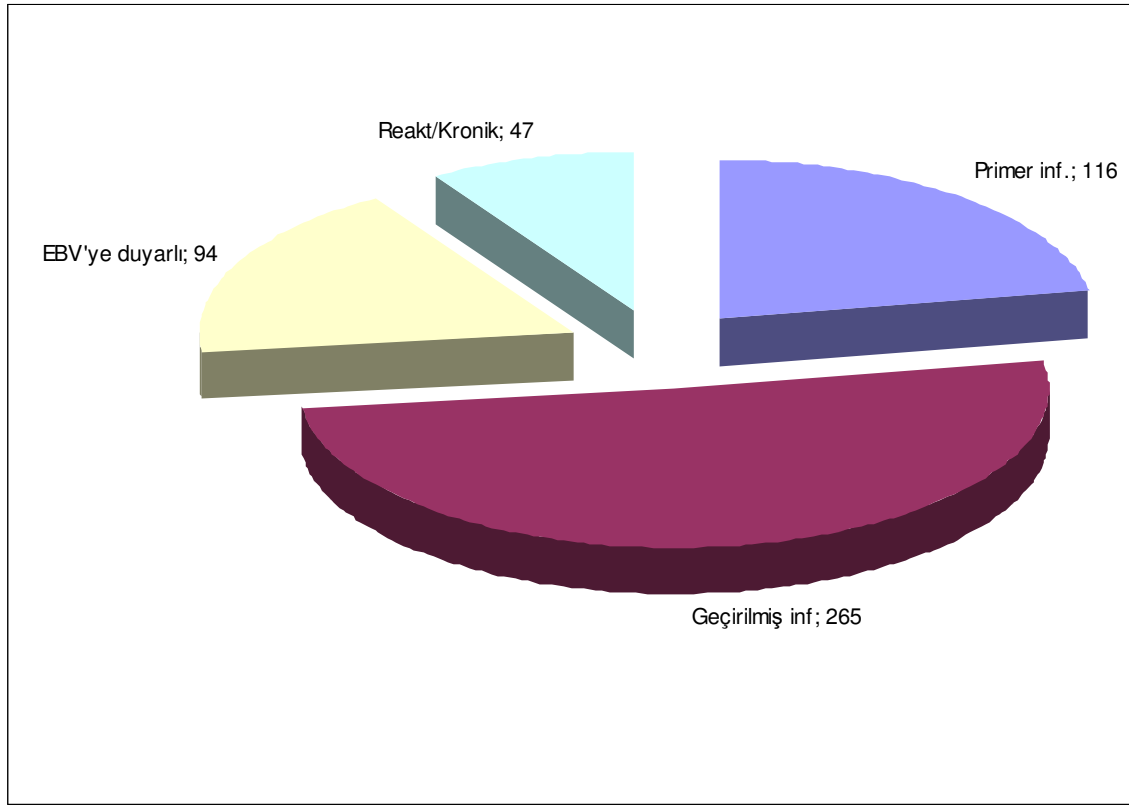
Direkt kanıtı olarak virüsü elde etmek zor olduğundan teşhis belirteci olarak rutinde serolojik parametrelerden yararlanılır. EBV VCA, EBV-EA ve EBNA'ya karşı oluşan antikorların paralel belirlenmesi sadece akut, geçirilmiş infeksiyonu belirlemez aynı zamanda kronik ve reaktivasyonun olup olmadığını da belirler. Verilerimizi toplu olarak değerlendirdiğimizde %22.2 oranında primer infeksiyonlu, %50.8 geçirilmiş infeksiyonlu, %18 EBV'ye duyarlı ve %9 reaktivasyon/kronik saptandı. Tablo 9 ve grafik 6'da serolojik profile göre EBV infeksiyonu şeklinin dağılımı verildi.

TABLO 9. Serolojik profile göre Epstein_Barr Virus infeksiyonunun şekli

	KADIN		ERKEK		TOPLAM	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
Primer infeksiyon	40	20	76	23.6	116	22.2
Geçirilmiş infeksiyon	110	55	155	48.2	265	50.8
EBV'ye duyarlı	30	15	64	19.8	94	18
Reaktivasyon/kronik/ yeni geçirilmiş inf.	20	10	27	8.4	47	9
TOPLAM	200		322		522	



GRAFİK 6 . Serolojik profile göre Epstein_Barr Virus enfeksiyonunun şekli



GRAFİK 7. Serolojik profile göre Epstein-Barr Virus infeksiyonunun pasta dilimi şekli.

TARTIŞMA

1968’de infeksiyöz mononükleozun majör sebebi olarak bulunan Epstein-Barr Virus (EBV: Günümüzde Human Herpes Virus 4) onkojenik bir herpesvirusudur. Virus genel olarak çocuklar arasında tükürük salgıları ile yayılır ve daha çok adolesan ya da genç erişkinlerde gecikmiş primer infeksiyonlara neden olur. İmmünopatolojik durumlarda vakaların yaklaşık %50’sinde infeksiyöz mononükleoz (İM) semptomlarına yol açar. Dünya popülasyonunun %90’ından fazlası B lenfositlerinin latent infeksiyonu olarak yaşamı boyunca EBV’yi taşır. EBV’nin B hücre antijen aktivasyon yollarını takip ederek, B lenfositlerinin içine girdiği, B lenfositleri içinde, kendi gen ekspresyonunu sınırlamak yoluyla immün eliminasyondan kaçtığı bildirilmektedir. B hücrelerinin yaşamsal mekanizmalarını etkileyerek, B lenfoproliferatif hastalık, hodgkin gibi tümör hastalıklarını indüklediği ortaya konmuştur. Aşılar bu koşulların tedavi ve/veya önlenmesi için geliştirilmeye başlanmıştır. Ancak henüz rasyonel bir aşı stratejisi yoktur, bunun için bir hayvan modelinde patogenezi çalışmaları gereklidir (8).

EBV’ye ilişkin infeksiyonlar genellikle çocukluk döneminde gelişip asemptomatik seyreder. Sitomegalovirus, rubella, toxoplasma infeksiyonları ve bazı hematolojik malignansiler, EBV infeksiyonlarına benzer bulgular oluşturabilir. Bu nedenle EBV infeksiyon tanısı önem taşımaktadır (7,8,63). Virusun infeksiyonunda atipik lenfositler ve heterofil antikorlar bulunur. İnfeksiyon sırasında EBV majör antijenlerine karşı oluşan antikorların belirlenmesi oldukça yararlıdır ve özellikle atipik lenfositoz ve heterofil antikorların bulunmadığı, ancak EBV infeksiyonundan kuşkulanan hastaların belirlenmesinde önem taşır. Epstein-Barr Virus serolojisi aynı zamanda, akut infeksiyonu geçirilmiş infeksiyondan veya reaktivasyondan ayırmak için de gereklidir. EBV infeksiyonlarında reaktivasyon siktir ve tükürük aracılığıyla virusun zaman zaman atılımıyla sonuçlanır. Serolojik olarak infeksiyon reaktivasyonu, majör antijenlere karşı oluşmuş antikorların varlığıyla belirlenebilir. Özellikle immünsüpresif hastalarda, AIDS’de reaktivasyonun belirlenmesi önemlidir. Ayrıca bazı malignansilerle EBV infeksiyonu arasında ilişki olması ve onkojenik bir virüs olarak nitelendirilmesi nedeniyle risk altında olan hastaların belirlenmesi önem taşımaktadır (7,8,63).

Epstein-Barr virüsü için serolojik testler iki gruptur. Bunlardan bir tanesi Paul ve Bunnell tarafından tanımlanmış (64) olan ve heterofil antikorları tespit etmeyi amaçlayan testlerdir. Bu testin infeksiyöz mononükleozlu erişkinlerde EBV infeksiyonunu tespit etmede % 90 sensitiviteye sahip olduğu (65) bildirilmiştir. Ancak (66) poliklonal stimülasyonu

sonucu oluştuğu, dolayısıyla kros reaksiyonlarının görüldüğu bildirilmektedir (8). Ayrıca diğer İM'a benzer hastalıklarda oluşabildiği ve 6-12 aya kadar pozitif kaldığı, bu nedenle yanlış pozitif sonuçlara yol açtığı da bildirilmiştir. Yetişkin ve adolesan akut hastaların %85-90'ında pozitif sonuç verirken 2 ila 5 yaş arası çocuklarda %50 etkili olduğu saptanmıştır (67,68). Otoimmün hastalarda da % 2-3 oranında yanlış pozitiflik saptanmıştır (67). Bu nedenlerden dolayı ikinci grup testler olan spesifik EBV antijenlerine karşı oluşmuş antikörleri tespit eden testler tercih edilmektedir (67,69). Virus çok sayıda yapısal ve yapısal olmayan farklı gen kodonlarına sahiptir. Bunlar içinde teşhis açısından en önemli genler viral kapsit antijenleri (VCAs), early antijenleri (EAs) ve nükleer antijenler (EBNAs) olan EBNA-1 ve EBNA-2'yi kodlayan genlerdir (8).

EBV serolojisini belirlemeyi amaçlayan İndirekt Fluoresan Antikör testi (IFAT), Enzim İmmunoassay(EIA), Western Blot analysis testi gibi ticari olarak bulunan çeşitli testler mevcuttur. Bunlar içinde Western Blot daha çok doğrulama amaçlı kullanılırken, günümüzde IFAT, EIA ve avidite testleri yaygın olarak teşhis amaçlı kullanılmaktadır (7,8,70).

Son zamanlarda klinik örneklerde EBV DNA yükünü ölçen çeşitli PCR teknikleri geliştirilmiştir. Örneğin semiquantitative PCR (71,72), quantitative-computative PCR (73,74,75,76), Tap man PCR (77,78,79,80) ve light cycler PCR (81). Ancak tüm bu testlerin verilen klinik durum için teşhis değerlerinin doğru olmasına rağmen, EBV DNA yükü açısından laboratuvarlar arasında standardizasyonu göstermede henüz yetersiz olduğu bildirilmektedir.(81) Bu tekniklerin geliştirilmesi özellikle sağlıklı kan donörleri ve transplant alıcı ve vericilerinde oldukça önemlidir.

Çalışmamızda son iki yıllık periyot içerisinde, EBV spesifik antikörlerinin araştırılması amacıyla laboratuvarımıza gönderilen çeşitli hasta serumlarında, saptanmış olan EBV spesifik antikör profillerini değerlendirmeyi amaçladık. Değerlendirmeyi yaparken günümüzde altın standart olarak kabul edilen İndirekt Floresan Antikör (IFA) yöntemini kullandık (82). IFA testinde genellikle burkitt lenfomalı hastalardan alınan insan EBV transform B hücre dizileri kullanılır. Bunlara örnek olarak P3HR-1 hücre dizisi veya IFA'nın ilk substratı olan raji hücre dizisidir. P3HR-1 hücreleri EBNA-1'i üretirken, hücrelerin yaklaşık %5-20'si çekirdek içinde ayrıca VCA üretir. Raji hücre dizisinin EBV spesifik protein modeli özellikle çekirdekteki EBNA-1 ve EBNA-2 üretimi olmak üzere EBNA'larla sınırlıdır. Raji hücre dizisi VCA üretmez. Antikomplement immünofloresans prosedürü anti EBNA-1 antikörlerini IFA ile tesbit etmek için gereklidir. Bu prosedür ile, EBV spesifik antikörler P3HR-1 hücrelerine bağlanırlar ve EBNA-1'e karşı komplement sabitleyici

antikorlar komplement eklenerek boyanırlar. Bunun sonucu olarak antikomplement fluoresans verir (8).

IFA testi EBV spesifik antikorları tespit eden ilk testtir (82). Daha sonra çeşitli EIA testleri geliştirilmiştir (83). Bazı araştırmacılar EIA testini IFA'dan daha sensitif bulurken (83); bazıları IFA ile aynı sensitiviteye sahip olduğunu, kimisi de IFA'nın daha sensitif bulunduğunu bildirmiştir (84,85). 1980'li yılların ortalarında birinci jenerasyon EIA ile IFA test performanslarının VCA ve EBNA antikorlarını tespit etmede iyi korelasyon gösterdiğini açıklamışlardır (86). IFA, EIA testlerinde farklı antijenler, substratlar, farklı fiksasyon teknikleri kullanılması, testler arasında tipik performans farklılıklarını ortaya çıkarır (spesifite, sensitivite, prediktive değer gibi). Bu da farklı test yorumlarına neden olur. Maalesef günümüzde EBV spesifik antikorlarını tespit eden testler tam olarak standardize edilememiştir. Temel olarak tanı testleri için EIA'nın IFA'dan daha sensitif fakat IFA'nın da EIA'dan çok daha spesifik olduğu (87,88) sonucuna varılmıştır. IFA'da nonspesifik reaksiyonlar belirginken uzman, deneyimli personel, zaman, çalışma kuralları gibi dezavantajları vardır. EIA testi daha objektif, daha kolay ve çalışan tasarrufu gibi avantajlara sahiptir (87,88). Çalışmamızda sonuçların okunması iki ayrı değerlendirmeci tarafından birbirinden habersiz olarak sağlanmıştır. Şüphe duyulan örnekler tekrar çalışılmıştır. Sonuçta bu yöntem için değerlendirmeler arası korelasyon yüksek düzeyde bulunmuştur. IFA çeşitli çalışmalarda da referans yöntem olarak kullanılmıştır (87). Örneğin 1997'de yapılan bir çalışma da Debyser ve arkadaşları EBV'nin serolojik teşhisi amacıyla gönderilen 324 örneği üç ELISA sistemi ve IFA yöntemiyle çalışmışlardır. Geçirilmiş EBV ve primer akut EBV enfeksiyonunun serolojik teşhisinde ELISA sistemleri ve IFA yönteminin aynı performansı gösterdiğini saptamışlardır (88).

Pumannova M ve arkadaşları çeşitli hasta gruplarında EBV VCA IgM'i araştırmak üzere 854 serumu 4 bağımsız laboratuvarında çalışmışlardır. Yöntem olarak IFA, İndirect ELISA, Revers ELISA ve ELISA VIDITEST adı verilen ELISA yöntemlerini kullanmışlardır. Bu yöntemlerden IFA ve Revers ELISA testlerini referans yöntem olarak kullanmışlardır. Üç ELISA testinin infeksiyöz mononükleoz'lu hasta serumlarında güvenilirliğinin benzer olduğu viditestin sensitivitesinin %94.7, spesifikliğin %96.1 olduğu bildirilirken, IFA yönteminin EBV reaktivasyonlu hastalarda IgM antikorlarının ortaya konmasında ELISA'dan açık bir üstünlüğünün olduğunu bildirmişlerdir (89).

Primer EBV enfeksiyonu genellikle çocukluk çağında subklinik olarak geçirilir ancak genç erişkin ya da yetişkinlerde %30–70 oranında IM'a yol açar. EBV enfeksiyonunun insidansı ve yayılımını etkileyen faktörler klinik IM'a neden olanlardan farklıdır. Enfeksiyon

olasılığı tükürüğe maruz kalmaya neden olan hijyen şartları ve kültür düzeyi ile ilgilidir. Klinik IM'da rol alan faktörler ise enfeksiyona maruz kalma yaşı, immün durum, genetik ve psiko-sosyal etkenlerdir (90,91,92).

EBV enfeksiyonu düşük sosyoekonomik durumdaki toplumlarda yaşamın erken dönemlerinde ve genellikle asemptomatik olurken, klinik IM daha çok gelişmiş ülkelerde ve yüksek sosyo-ekonomik koşullarda görülür. (93)

Çalıştığımız toplam 522 hasta serumunun 153'ü (%29.31) 6 yaş grubu altında, 243'ü (%46.55) 6-17 yaş arası ve 126'sı (%24.13) 17 yaş üstünde idi. 6 yaş grubu altındaki çocukların 110'u (%71.89) seropozitif, 6-17 yaş grubu 208'i %85.59 seropozitif ve 17 yaş ve üstü bireylerdeki seropozitiflik oranı 110 (%87.30) olarak bulundu. Toplam seropozitiflik oranı %81.89 olarak bulundu. Yaşla birlikte seropozitiflik oranında artmıştı.

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) ve İngiltere'de yapılan çalışmalarda EBV serokonversiyonunun beş yaşından önce ilk dört yaşta %50'ye yakın olduğu bildirilmiştir. (96,97). Amerika'da kırsal alanda yapılan başka bir çalışmada prevalans ilk beş yaşta %84.3 olup yaş ile, prevalans artarak 30 yaşında %94.5 olarak saptanmıştır (94).

Yeni Hebridlerde bir yaşına kadar hemen hemen tüm bebeklerde EBV serokonversiyonu bildirilirken (95), Afrika'nın Batı Nil bölgesinde yaşayanların %81'i iki yaşına kadar primer EBV enfeksiyonu geçirmiştir (96). Uganda ve Meksika'da bir yaşından küçük bebeklerin %80'den fazlasında EBV antikorları saptanmıştır (97). Çalışmamızda 0-2 yaş grubunda 15 çocuğun %60'ı (n=9) seropozitif saptanmıştır.

Japonya'da yapılan çalışmalarda, %80 oranı ancak iki ile beş yaş grubunda bulunmaktadır. Çin'de de bir yaşına kadar tüm olgularda %80 oranında antikor saptanırken, bazı bölgelerde, %90 ile %100'lük seropozitiflik oranına üç ila beş yaşlarında, Çin genelinde ise 10 yaşında erişilmektedir (98).

İtalya'nın güneyindeki Bari bölgesinde ilk 10 yaştaki sağlıklı çocuklarda EBV ile karşılaşma oranı %81.9 bulunmuştur. Etiyopya'da bu oran beş yaşın altında %82, 10 yaşın altında ise %94 olarak bulunmuştur (99). Greenland Eskimo çocuklarında yapılan bir çalışmada bölge popülasyonunda nazofaringeal karsinom riskinin olduğu ve primer EBV enfeksiyonu ile çok erken yaşlarda karşılaşıldığı bildirilmektedir.(100) güney Hindistan'da ilk 5 yaşta karşılaşma oranı %90 bulunurken (101), Küba'da üç-dört yaş grubunda bu oran %73'tür (102). Türkiye'de yarı kırsal alanda yapılan bir çalışmada (103) ilk dört yaş için EBV antikor pozitifliği %67.9, ilk 30 yaş için %84.4 oranında saptamışlardır.

Ankara’da Fidan ve arkadaşları tarafından yapılan 2005 yılı çalışmada (3) yaş ortalaması 31.5 olan 70 bireyde EBV seropozitifliği %91.4 olarak belirlenmiş, seronegatif altı örneğin beşi 3-10 yaş grubundaki hastalara ait olan örnekler olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda olduğu gibi bütün araştırmalarda seropozitifliğin yaşla birlikte arttığına vurgu yapılmıştır.

Türk toplumunda da erişkin yaş grubunda %80-86 oranında pozitiflik bulunmuştur (106). Çalışmamızda laboratuvarımıza gönderilen serum örneklerinin %75.86’sı 0-17 yaş (n=396) , %24.13’ü (n=126) 17 yaş ve üstü bireyler oluşturmuyordu. 17 yaş ve üstü grubunun EBV’ye maruz kalma oranı %87.30 iken yaş ortalaması 0-16 yaş grubunda EBV ile karşılaşma oranı %80.30 olarak saptanmış olup, 0-2 yaş grubundaki bireylerin %60’ı seropozitif idi.

Çalışmamızda olduğu gibi yapılan tüm çalışmalarda EBV enfeksiyonu ile karşılaşma yaşında farklılıklar olduğu görülmektedir. Coğrafi ve sosyo-ekonomik faktörler EBV enfeksiyonunun prevalansındaki farklılıklardan sorumludur (96,99,101,104).

Figueira-Silva ve Pereira (105) Brezilya’da yaptıkları çalışmada EBV seropozitifliğini %71 olarak saptamışlar ve düşük sosyoekonomik düzeydeki bölgelerde kötü yaşam koşullarına bağlı olarak antikor prevalansının daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Fung ve arkadaşları Çin’de seropozitiflik oranlarını %75 olarak bildirirken (106), Şili’de 2 yaşındaki sağlıklı çocuklarda bu prevalansı; sosyo-ekonomik düzeyi düşükse %50, yüksek ise %5.9 olarak saptamışlardır. Her iki grubun 20 yaşındaki bireylerinde seroprevalans %90 bulunmuştur (98). İspanya’da Cour ve arkadaşları (107) aynı yaş grubunda şehir ve kırsal alanda EBV enfeksiyon prevalansında istatistiksel bir fark saptamamış, fark sosyo-ekonomik yönden anlamlı bulunmuştur.

Gelişmekte olan ülkelerde EBV enfeksiyonu genellikle yaşamın erken dönemlerinde asemptomatik olurken, klinik IM daha çok gelişmiş ülkelerde görülür. Fransa’da 2006 yılında yapılan bir çalışmada EBV ile ilişkili IM insidansında dikkat çekici bir artış olduğu vurgulanmaktadır. 1990 – 2004 yılları arasını değerlendiren çalışmada, yaş ortalaması 22.6 olan 38 hasta grubundan ikisinin öldüğü ve yıllık insidansın anlamlı ölçüde artmış olduğu bildirilmektedir (108).

Yine İngiltere’de 2002’de aynı konuya dikkat çekilirken, (109) 2003’te İsrail’de 5 yıllık periyotta 590 genç erişkinin %85’nin klinik olarak IM şüpheli olduğu ve hastaneye yatırıldığı bildirilmektedir (110,111). Endüstrileşmiş şehirlerdeki genç erişkin ve yetişkinlerdeki IM’un daha iyi kişisel hijyen, iyileştirilmiş halk sanitasyonu ve aile fert sayısının azlığı gibi faktörlerin etkisiyle bu bölgelerdeki çocuklarda EBV enfeksiyonu için

dezavantaj olduğu dolayısıyla, delikanlıların EBV'ye daha duyarlı hale geldiği sonucuna varılmıştır (109). Çalışmamızda 13 yaş ve üstü bireylerde primer infeksiyon görülme oranı %15.95 olarak bulundu.

EBV'nin yayılımı insandan insana yakın temas sonucu ağız yoluyla olur. Ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde hijyenik koşulların düşük olması, kalabalık yaşam ortamları, , çocuklar arasında tükürükle infekte oyuncak ve ortak eşyaların kullanılması infeksiyonun yayılmasından sorumludur. Akut EBV infeksiyonunda virus salınımı %100 olup bu 18 ay kadar sürebilmektedir (16). EBV infeksiyonu geçiren seropozitif kişilerde tükürükte viral ekskresyon oranı %15 iken immüsupressif bireylerde oran %50'den fazladır (112).

Çalışmamızda laboratuvarımıza başvuran ve çoğunu 0-16 yaş grubundakilerin oluşturduğu hastaların 322'si erkek 200'ü bayandır. Az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde kadınlar ekonomik üretim sürecinde etkin olarak yer alamamaktadırlar. Bu nedenle küçük yaşlardan itibaren kız çocukları zaten sınırlı olan ekonomik kaynaklardan daha az yararlanmakta ve dolayısıyla hem sağlık, hem eğitim, hem de sosyal faaliyetlerden erkek çocuklarına kıyasla daha az faydalanabilmektedir. Bu da çalışmamızda erkeklerdeki seropozitiflik oranının sayıya paralel olarak daha yüksek bulunmasının nedeni olarak düşünülmüştür. Ancak yapılan çalışmaların çoğunda EBV infeksiyon seroprevalansında cinsiyet farkı bulunmamıştır. Çalışmamızda en yüksek EBV seropozitiflik oranı 6-12 yaş arası çocuklarda saptanmıştır. Antikor pozitifliği 2 yaşından itibaren yükselmeye başlamış 6-12 yaş grubunda pik yapmıştır. 6-12 yaş, çocukların okula başlama ve kalabalık gruplarla birlikte olma yaşıdır. Yapılan çalışmalarda da en yüksek EBV infeksiyon oranı okul ve askeri kışla gibi toplu bulunulan yerlerde saptanmıştır (11,32,33).

1964 yılında Burkitt Lenfoma hücre kültürlerinde üretildiğinden beri EBV'nin epitelyum ve lenfoid orjinli; hem malign hem de benign birçok hastalığa neden olduğu gösterilmiştir. Bütün herpesvirüsler gibi EBV'nde latent ve litik yaşam siklusu vardır. Tek bir latent gen serisi EBV'ye in vitro B lenfositlerinin immortalizasyonu indüklemeye yeteneği ve onkojenik potansiyel kazandırır. Buna rağmen EBV dünyada çok sayıda konakta zararsız bir yaşam sürer ve konak-virus dengesi bozulduğunda hastalık yapar. Sık ve tekrarlayan infeksiyonların, immun sistemde malign dönüşüme yol açtığı kabul edilmektedir. Reaktivasyon olarak değerlendirilen 47 hastanın 22 tanesi 5-12 yaş, 20 tanesi 17 yaş ve üstü, 2 tanesi 0-2 yaş ve 3 tanesi 13-17 yaş grubu bireylerdi. EBV'nin gelişmekte olan ülkelerde daha genç yaşta Hodgkin Lenfomaya (HL) yol açtığı da bildirilmiştir. Ülkemizde HL vakalarının yaklaşık %15'i 0-5 yaş arasındadır (99). Lenfoma etiyolojisinde infeksiyonun ortaya konulmasından sonra viral nedenler arasında EBV ve İnsan T hücrelerine karşı

hassasiyeti olan viruslar (HTLV) ön plana çıkmıştır. Afrika ve Latin Amerika ülkelerinde EBV, Uzakdoğu’da ise HTLV etiyojide önemli rol oynamaktadır. Ülkemizde lenfomalarda EBV serolojisi çalışmaları da aynı bulgulara paralellik göstermektedir (99). EBV ve lenfoma ilişkisi gelişmekte olan ülkelerde %50-90 arasında bulunurken, Avrupa ve ABD’de ise bu oran %25-50 arasında bildirilmektedir (113,114).

EBV infeksiyonlarını teşhis etmek için kullanılan antijenler, yaygın olarak EBV kapsit antijeni (VCA) ve nükleer antijenlerdir (EBNA1). Viral kapsit antijenine karşı oluşan IgM antikorları genel olarak primer infeksiyon göstergesidir (66) . Klinik bulguların belirmesiyle oluşmaya başlar . 4- 6 hafta kadar serumda saptanabilir. Vakaların çoğunda başvuru anında IgM antikorları saptanamayacak düzeyde VCA IgG ise pik düzeydedir. VCA IgG antikorları, yaşam boyu sürerken IgM tipi antikorlar geçici olarak üretilir ayrıca primer infeksiyonlu tüm bireylerde oluşma zorunluluğu da göstermez (68,115). Primer EBV infeksiyonlu normal bireylerde viral kapsit antijeni IgM’i yakalama prevalansı IFA, EIA ve Western Blot teknikleriyle %70-100 arasında değişmektedir (68,69,88,116,117,118,119). Bu hastalarda VCA IgG aynı tekniklerle %98-100 arasındadır (8). Çalışmamızda 428 seropozitif hasta serumunda VCA IgM antikorları 20 hasta serumunda saptanmıştır. Bu da % 4.67’ye tekabül etmektedir. Fidan ve arkadaşları (3) 70 hastada IgM oranını %10 bildirirken, Fung ve arkadaşları (106) çeşitli yaş gruplarında 152 serum örneğinde bu oranı %21 olarak bildirmişlerdir. Aydemir ve arkadaşları (104) 180 serum örneğinde %3.88 oranında EBV VCA IgM seropozitifliği bildirmişlerdir. Mats ve arkadaşları (116) yaş ortalaması 19 olan İM şüpheli 108 hastada 46 tanesinin serumunda IFA yöntemiyle %42.59 seropozitiflik bulmuşlardır.

Her ne kadar VCA IgM antikorları primer infeksiyonu gösteriyorsa da yapılan çalışmalarda EBV infeksiyonlarının serolojik cevabında farklılıklar olduğu da bildirilmektedir (66). Erişkinlerde primer EBV infeksiyonlu hastaların az bir kısmında IgM oluşmayabilir ya da geç oluşabilir (120). Bazı hastalarda infeksiyondan uzun süre sonra persistan olarak kalabilir (66) ya da immünsüpressif hastalarda yeniden reaktif olup görülebilir (120). Bu nedenlerle bir serum örneğinde spesifik IgM pozitifliği tespit edildiğinde persistan IgM veya reaktivasyon/reinfeksiyon şeklinde sekonder infeksiyon varlığı yönünden karar verebilmek zordur. Ayrıca kan örneğinin uygun zamanda alınıp alınamaması gibi nedenler sonucunda görülen spesifik IgM negatifliği de veya immün sistemin baskılanmasıyla EBNA antikorlarının kaybı primer infeksiyon tanısından uzaklaştırabilir (117,118,119,120) ya da yanlış sonuçlara yol açabilir. Böyle durumlarda serolojik sonuçların doğru yorumlanabilmesi için IgG aviditesinin çalışılmasının uygun olduğu bildirilmektedir (117,118,119). Genel

olarak avidite matürasyon kinetiğinin ortaya çıkışı birkaç hafta içinde olabilirse de semptomların ortaya çıkışından sonra üç aya kadar olabildiği bildirilmektedir (7). Aviditedeki bu değişiklikler EBV gibi birçok infeksiyonda da tanımlanmıştır. Örneğin rubella, toksoplazmozis, hepatit B gibi (7).

İlk kez 1996'da EBV VCA'ya karşı oluşan avidite değişimi Grey tarafından ortaya konmuştur (7). Hastalık semptomlarının başlamasından sonra ilk 10 gün içinde primer infeksiyonlu bireylerin %90'ında düşük aviditeli antikorlar görülür. Ancak infeksiyondan 30 gün sonra ise %50 hastada düşük avidite antikorları tespit edilebilir. Andersson ve arkadaşları 105 primer EBV infeksiyonlu hastanın VCA IgG aviditesinin olgunlaşma kinetiğini İndirekt Flouresan tekniğiyle araştırmışlardır. Hastaların %90'dan fazlasının hastalığın başlangıcında ilk 10 günde düşük avidite indeksi gösterdiği (0.25) ; %50'sinin klinik semptomların başlamasından 20-30 gün sonraya kadar yine düşük indeks sergilediğini saptamışlardır. İnfeksiyonu geçirmiş kişilerde avidite indeksinin (0.5-1) yükseldiğini gözlemlemişlerdir. Böylece aviditenin EBV infeksiyonlarında akut veya eski infeksiyon olduğunu belirleme de önemli serolojik belirteç olduğunu vurgulamışlardır (121)

Robertson ve arkadaşları da primer EBV infeksiyonunun güvenilir teşhisinde aviditeye vurgu yapmışlardır. Çalışmalarında 28 primer EBV infeksiyonlu hasta serumu ve 35 geçirilmiş EBV infeksiyonlu hastada VCA IgG avidite çalışmışlardır (ELİSA ile).

IgG aviditenin primer infeksiyon teşhisinde duyarlılığı %93-100 arasında arttırdığını bildirmişlerdir (sensitivite özellikle EBNA-, IgG + 'lerde %100'dür). (122)

Çalışmamızda seropozitif hastaların 33 tanesinde (%7.71) düşük aviditeli IgG antikorları saptandı. Düşük avidite saptanmış bireylerde EBNA antikorları seronegatif olarak bulundu. Düşük aviditeli serumlardan bir tanesinde VCA IgM, 6 tanesinde de EA antikorları seropozitif.

IgM varlığında yüksek avidite reaktivasyon olarak değerlendirilir. Norveçten bildirilen basım aşamasındaki bir prevalans çalışmasında 43 primer EBV şüpheli hastada ELİSA yöntemiyle VCA IgG, VCA IgM ve EBNA-1 antikorları ve İmmunoblot tekniğiyle IgG avidite çalışılmıştır. 43 hastanın 18'inde (%42) geç primer infeksiyon, 21'inden (%49) 10'unda yüksek aviditeye rağmen IgM antikorları bulunmuş, bunlarda reaktivasyon olarak değerlendirilmiştir. Bizim çalışmamızda yüksek aviditeye rağmen IgM seropozitifliği saptanmamıştır (123).

EA IgG antikorları genellikle litik replikasyonun erken fazı boyunca üretilir. Bu antikorlar primer EBV infeksiyonlu kişilerin %60-80'ninde IFA, EIA, Western Blot ile teşhis edilebilir (68,69,88,119,120,121). Negatif EBNA IgG, pozitif VCA IgG ve VCA IgM üçlüsü

ve/veya pozitif EA antikorları primer EBV infeksiyonu için tanısaldır. Ayrıca EBV ile infekte sağlıklı bireylerin %20'sinde EA antikorları tespit edilebilir (68). EBV ile infekte bireylerde gelişen immunsupresyon durumlarında EBV reaktivasyonu görülebilir. Özellikle bu kişilerde EA antikorlarının kantitatif ölçülmesi önerilir. Reaktivasyonlarda EA antikorlarının titresinde artış meydana gelir. EA antikorlarının tek başına değerlendirilmesi spesifik teşhis aşamasını doğrulamaz fakat diğer parametrelerle birlikte bir fikir verir (8). Çalışmamızda 47 (%9) hasta serumunda EBNA antikorları ile birlikte EA antikorları pozitif bulundu. Fidan ve arkadaşları (3) EA antikorlarını %24.2 olarak verirken, Aydemir ve arkadaşları (104) % 7.2 olarak bildirmişlerdir.

VCA'ya karşı oluşan IgM antikorları, genel olarak primer infeksiyon göstergesi olarak kabul edilirken (66) EBNA antijen cevabı da primer infeksiyonun geç belirteci olarak ifade edilir (83) ve yaşam boyu da dirençlidir. Ancak immunsuprese bireylerde zamanla kaybolabilir (114). Genel olarak EBNA IgG antikorlarının bulunmadığı, VCA IgG ve IgM pozitifliği tipik primer infeksiyon göstergesidir. VCA IgM'in bulunmadığı EBNA ve VCA IgG antikorlarının varlığı geçmiş infeksiyonun göstergesidir. Çalışmamızda 428 seropozitif serum örneğinin 312(%72.89)'sinde EBNA seropozitifliği saptandı. EBNA pozitif bireylerin 265 (% 50.8) geçirilmiş infeksiyon olarak değerlendirildi. Figueira- Silva ve Pereira (105) anti VCA IgG antikorlarını %71 , EBNA antikorlarını %54 olarak saptamışlardır. Fidan ve arkadaşları (3) EBNA antikorlarını %78.6 olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda test edilen örneklerin mevcut serolojik profillere göre infeksiyon durumları; 94 (%18) örnek seronegatif, 116 (%22.2) örnek akut yada primer infeksiyon 265 (%50.8) örnek geçirilmiş infeksiyon, 47 (%9) örnekte reaktivasyon, kronik veya yeni geçirilmiş infeksiyon olarak değerlendirilmiştir. Rutin klinik laboratuvarlarda test edilen serumların yaklaşık %70'ini geçirilmiş infeksiyon serolojik profili oluşturmaktadır. Çalışmamızda toplam test serumlarının %50,8'inde geçirilmiş infeksiyon saptanmıştır. Ayrıca EBV infeksiyonlarında reaktivasyon saptanması özellikle immunsupressif hastalarda önemlidir. Reaktivasyonlarda her zaman IgM oluşmadığından özellikle EA antikorlarının araştırılması gereklidir. Yine primer infeksiyonların kronik infeksiyonlarından ya da geçirilmiş infeksiyonlardan ayırt edilmesi de önem taşımaktadır. Epstein-Barr Virus infeksiyonunun serolojik tanısında kullanılan IFA testleri özellikle heterofil antikorlarının veya atipik lenfositözün bulunmadığı, EBV infeksiyonunun dan kuşkulandığı durumlarda tanı konulmasında ve immunosupressif kişilerde ve transplantasyon yapılmış hastalarda akut infeksiyon ile reaktivasyonun ayırımında oldukça kullanışlı, hızlı, uygulanması kolay

testlerdir. Günümüzde altın standart olarak kabul edilmektedir. Araştırma biyasını engellemek için değerlendiriciler arası koordinasyon araştırılmalıdır.

Pek çok idiyopatik hastalığın ve nasofaringeal kanser ve Burkitt Lenfoma gibi malignitelerin etiyolojisinden sorumlu olduğu bilinen viral infeksiyonun tanısında bu testlerin kullanılarak, etiyolojisinin aydınlatılması ve risk altında bulunan kişilerin belirlenmesi yararlı olacaktır. Bu nedenle, EBV infeksiyonundan kuşku edilen hastalarda bu virusa ait majör antijenlere karşı gelişmiş antikorların bakılmasının gerekli olduğu ve bu şekilde toplumda seroprevalansının doğru olarak belirlenmesinin mümkün olacağı düşünülmektedir. Seroprevalans konusundaki bilgiler özellikle organ nakli olan hastalar ve immunosupresif hastalarda reaktivasyon ve primer EBV infeksiyonunu tanımlamak amacıyla yapılacak çalışmalarda da yararlı olacaktır.

ÖZET

EBV, çocukluk yaşlarında sık görülen ve genellikle asemptomatik infeksiyon yaparak vücutta latent kalan herpesvirüs ailesinin bir üyesidir. Virus potansiyel onkojenik özellikleri ve özellikle immünyetmezlikli hastalarda ağır klinik tablolar oluşturmalarıyla da önemlidir. Literatürlerde virüsün çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol alabileceğine dair yayınlar gittikçe artmaktadır. Araştırmalarda izole toplumlarada bile EBV antikorlarına sıklıkla rastlandığı bildirilmektedir. EBV infeksiyonları farklı ülkelerde ve farklı sosyoekonomik düzeylerdeki gruplarda farklı yaşlarda kazanılmakta ve bu durum klinik prezentasyonu etkilemektedir. Bu çalışmada EBV infeksiyon şüpheli hasta serumlarında spesifik antikorların serolojik profillerinin incelenmesi planlandı. Bu amaçla;

1. Değişik yaşlardaki bireylerde EBV-VCA IgG ve IgM, EA, EBNA antikorları ve VCA-IgG avidite
2. Antikor pozitiflik oranlarının cinsiyet ve yaşla ilişkisi
3. İnfeksiyon şekline göre saptanmış farklı EBV serolojik profilleri incelendi.

Çalışma iki yıllık periyot içinde Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yürütüldü. Hasta serumlarındaki antikorların varlığı İFA yöntemi ile araştırıldı. Çalışmaya 200 kız, 322 erkek olmak üzere, 0-17 yaş ve 17 yaş üstü toplam 522 birey alındı.

522 hastanın 428'i (%81,99) seropozitif, 94'ü (%18,0) seronegatif bulundu. En çok seropozitiflik oranı 6-12 yaş (% 40,89) arasındaydı. Özellikle 3-12 yaş aralığındaki çocuklarda % 64,48 olarak bulundu. 12 yaş grubuna kadar antikor sıklığının tedricen arttığı, 13-17 yaş aralığında % 7,71'e düştüğü ve 17 yaş üstü bireylerde seropozitiflik oranının % 25,7' ye çıktığı görüldü. Yaşa göre antikor sıklığının değiştiği saptandı. Farklı antijen sınıflarına karşı oluşan reaksiyonların belirlenmesi farklı EBV serolojik profillerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Hastaların 265'inde (%50,8) geçirilmiş infeksiyon, 116'sında (%22,2) primer infeksiyon, 94'ünde (%18) EBV' ye duyarlılık, 47'sinde (%9) reaktivasyon veya kronik infeksiyon bulundu.

EBV serolojisinin kullanılması primer, geçirilmiş, reaktif ve EBV'ye hassas bireyleri ayırmada yardımcı olur. Epidemiyolojik faktörlerin bilinmesiyle potansiyel onkojen virusun önlenmesi yönündeki çalışmalar aydınlatılacaktır.

SUMMARY

EBV is a member of the family of the human herpes viruses family usually affects during childhood, causing asymptomatic infections and stay latent in human body. The virus is important because of potential oncogenic feature and especially causing severe clinical outcomes among immunocompromised patients. Publications announcing the virus as an ethologic agent are increasing. Researchs declare that the antibodies of EBV are frequently identified even among isolated populations. EBV infects groups in different countries, at different ages and socioeconomical levels and this condition affects the clinical population. In this study, it was planned to examine the specific antibody profiles among the sera of patients who were clinically suspected as affected by EBV. For this aim;

1. EBV-VCA IgG and IgM, EA, EBNA antibodies and VCA-IgG avidity among individuals at different ages
2. The relation between antibody positivity rates and sex and age
3. Different EBV serological profiles investigated according to detected type of infection.

This study conducted in Microbiology and Clinical Microbiology Department of Dicle University during two years period. The existence of antibodies in patients' sera were investigated by IFA method in the same department of the same faculty. A total number of 522 individuals attended to the study and 200 of them were female, 322 of them were male.

A total number of 428 (81.99%) of 522 patients were seropositive, 94 (18%) of them were seronegative. The most frequent rate of seropositivity was among 6-12 (40.89%) ages. The rate was 64.48%, among the children especially between 3 and 12 years of age. The antibody frequency were growing through 12 years of age, decreased to 7.71%, between 13-17 of ages and among the group of older than 17 years the rate has found as 25.7%. It was found that the antibody frequency has changed by age. Defining the reactions against to the different antigene classes has lead to determine the EBV's serological profiles.

The rate of past infection was 50.76% (n=265), the primer infection rate was 22.2%(n=116) and the reactivation or chronic infection rate was found as 9%(n=47).

Using the EBV serology, may asist to diverse the primary infection, past infection, reactivation and individuals sensitive to EBV. By knowing the epidemiologic factors, the studies for preventing against the potentially oncogenic virus will become more clear.

KAYNAKLAR

1. Klutts JS, Liao RS, Dunne WM, Jr., and Gronowski AM. Evaluation of a Multiplex Bead Assay for Assesment of Epstein-Barr Virus Immunologic Status. *J. Clin. Microbiol.* p. 4996-5000. Nov. 2004.
2. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover RH. *Manual of Clinical Microbiology* 8th ed. Vol II. ASM Press, Washington, D.C. p. 1331-1332. 2003.
3. Fidan I, Yüksel Ş, İmir T. Değişik yaş gruplarında Epstein-Barr virüs antikorlarının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*.19(4):453-456. 2005.
4. Lennette ET. Epstein-Barr Virus (EBV). p.299-312. In EH Lennette, DA Lennette and ET Lennette (ed). *Diagnostic procedures for Viral, rickettsial and chlamydial infections*, 7th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 1995.
5. Lennette , E.T. Epstein-Barr virus(EBV) in PR Murray, EJ Baron, MA Pfaller, FC Tenover, and RH Yolken(ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. ASM Press, Washington, D.C. p.905-910. 1995.
6. Servi J. C. Stevens, Sandra A. W. M. Verkuijlen, Adriaan J. C. van den Brule, and Jaap M. Middeldorp. Comparison of Quantitative Competitive PCR with Light Cycler Based PCR for Measuring Epstein-Barr Virus DNA Load in Clinical Specimens. *J. Clin. Microbiol.* , p. 3986–3992. Nov. 2002
7. Robertson P, Beynon S, Whybin R, Brennan C, Vollmer Conna V, Hickie I, Lloyd A. Measurement of EBV-IgG anti VCA avidity aids the early and reliable diagnosis of primary EBV infection. *J. Med. Virol.*70(4) 617-23. Aug. 2003.
8. Karen F Macsween and Dorothy H Crawford. Epstein-Barr virus-recent advances. *The Lancet infec. Dis.* Vol 3 March 2003.
9. Fleisher GR. Epstein-Barr virüs, in Belske RB ed. *Textbook of human virology*. second edition, USA. pp 862-88, 1991.
10. Littler E, Hallibunon IW, et al. Immunological conservation betvveen EBV and herpes simplex virüs. *J Gen Virol* 69:2021-31. 1988.
11. Schooley RT. Epstein-Barr virüs (infectious Mononucleosis). in Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases, fourth edition, volume II. USA. p. 1364-73. 1995. Miller G, Katz BZ. Niederman JC. EBV infections. in Krugman S ed. *infectious disease of children*. ninth edition, USA. pp 87-104. 1992.

12. Miller G, Katz BZ, Niederman JC. EBV infections. in Krugman S ed. infectious disease of children. ninth edition, USA. pp 87-104, 1992.
13. Frank D, Cesarman E, Liu YF, et al. Posttransplantation lymphoproliferative disorders frequently contain type A and not type B EBV. *Blood* 85 (5): 1396-1403. 1995.
14. Jones JF. Chronic EBV infection. *Ann Rev Med* 38: 195-209, 1987.
15. Crouse CA, Pflugfelder SC, Cleary T, et al. Detection of EBV genomes in normal human lacrimal glands. *J Clin Microbiol* 28 (5): 1026-32, 1990.
16. Miyazaki I, Chong RK, Dosch HM. Viral interleukin 10 is critical for the induction of B cell growth transformation by EBV. *J Exp Med* 178: 437-47. 1993.
17. Purtilo DT. EBV: The spectrum of its manifestations in human beings. *South Med J* 80 (8): 943-47. 1987.
18. Lennette ET. Epstein-Barr virus, in Murray PR ed. *Manual of clinical microbiology*, sixth edition, USA. p 905-910, 1995.
19. Thorley-Lawson DA. Immunological responses to EBV infection and the pathogenesis of EBV-induced diseases. *Biochim et Biophys Acta* 948:263-86, 1988.
20. Evans AS, Niederman JC. Epstein-Barr virus, in Evans AS ed. *Viral infections of humans*, second edition, New York. p 265-92, 1988.
21. Ambinder RF, Mann RB. Detection and characterization of EBV in clinical specimens. *Am J Pathol* 145 (2): 239-52, 1994.
22. Turner AR, MacDonald RN, Cooper BA. Transmission of 'infectious mononucleosis' by transfusion of preillness plasma. *Ann Intern Med* 77:751-53, 1972.
23. Royston I. EBV and infectious mononucleosis. *Lancet* Nov 17: 1152, 1973.
24. Haider S, Coutinho ML, Emond RTD, Sutton RNP. Tuberculin anergy and infectious mononucleosis. *Lancet* July 14: 74, 1973.
25. Taber LH, Frank AL, Yow MD, Bagley A. Acquisition of CMV infections in families with young children: A serological study. *J Infect Dis* 151 (5): 948-52, 1985.
26. Allday MJ, Crawford DH. Role of epithelium in persistence and pathogenesis of B cell tumours. *Lancet* Apr 16: 855-57, 1988.
27. Turner AR, MacDonald RN, Cooper BA. Transmission of 'infectious mononucleosis' by transfusion of preillness plasma. *Ann Intern Med* 77:751-53, 1972.
28. Fleisher GR, Pasquarillo PS, et al. Intrafamilial transmission of EBV infections. *J Pediatr* 98(1): 16-19, 1981.
29. Joncas J, Mitnyar C. Serological response of the EBV antibodies in pediatric cases of infectious mononucleosis and in their contacts. *CMA Journal* 102:1260-63, 1970.

30. Sumaya CV, Ench Y. EBV infections in families: The role of children with 'infectious mononucleosis. *J Infect Dis* 154 (5): 842-50, 1986.
31. Evans AS, Niederman JC. Epstein-Barr virüs, in Evans AS ed. *Viral infections of humans*, second edition, New York. p. 265-92, 1988.
32. Lehane DE. A seroepidemiologic study of infectious mononucleosis: The development of E3V antibody in a military population. *JAMA* 212 (13): 2240-42, 1970.
33. Hoagland CRJ. The transmission of infectious mononucleosis. *Am J Med Sci* 229:262-72, 1955.
34. Bar RS, Delor CJ, Clausen KP, et al. Fatal infectious mononucleosis in a family. *N Engl J Med* Feb 14: 363-67, 1974.
35. Sumaya CV, Ench Y. EBV Infectious mononucleosis in children-I: Clinical and general laboratory findings. *Pediatrics* 75 (6): 1003-10, 1985.
36. Evans AS, Robinton ED. An epidemiologic study of infectious mononucleosis in a New England college. *N Engl J Med* 242 (13): 492-96, 1950.
37. Black FL, Woodall JP, et al. Prevalence of antibody against viruses in the Tiriyo, an isolated Amazon Tribe. *Am J Epidemiol* 91 (4): 430-38, 1970.
38. Frank D, Cesarman E, Liu YF, et al. Posttransplantation lymphoproliferative disorders frequently contain type A and not type B EBV. *Blood* 85 (5): 1396-1403. 1995.
39. Andersson J, Ernberg I. Management of EBV infections. *Am J Med* 85 (Suppl2A):107-14, 1988.
40. Baranski B, Young N. Hematologic consequences of viral infections. *Hematol-Oncol Clin North Am* 1 (2): 167-83, 1987.
41. Chen RL, Lin KH, Un DT, et al. Immunomodulation treatment for childhood virus-associated haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol* 89: 282-90, 1995.
42. Grose C, Henle W, Henle G, Feorino PM. Primary EBV infections in acute neurologic diseases. *N Engl J Med* Feb 20: 392-95, 1975.
43. Englund JA. The many faces of EBV. *Postgraduate Med.* 83 (2): 167-80. 1988.
44. Tischendorf P, Shramek GJ, et al. Development and persistence of immunity to EBV in man. *J Infect Dis* 122 (5): 401-9, 1970.
45. Ambinder RF, Mann RB. Detection and characterization of EBV in clinical specimens. *Am J Pathol* 145 (2): 239-52, 1994.
46. Turner AR, MacDonald RN, Cooper BA. Transmission of 'infectious mononucleosis by transfusion of preillness plasma. *Ann Intern Med* 77:751-53, 1972.
47. Allday MJ, Crauford DH. Role of epithelium in persistence and pathogenesis of B cell

- tumours. *Lancet* Apr 16: 855-57, 1988.
48. Honvitz CA, Henle W, Henle G, et al. Long term serological follow up of patients for EBV after recovery from infectious mononucleosis. *J Infect Dis* 151 (6): 1150-52, 1985.
 49. Seigneurin JM, Lavoue MF, et al. Antibody response against the EBNA 2 in different groups of individuals. *Int J Cancer* 40: 349-53, 1987.
 50. Jones JF, Williams M, et al. Antibodies to EBV specific DNase and DNA polymerase in the chronic fatigue syndrome. *Arch Intern Med* 148:1957-60, 1988.
 51. Kumar ML, Nankervis GA, et al. Postnatally acquired CMV infections in infants of CMV-excreting mothers. *J Pediatr* 104 (5): 669-73, 1984.
 52. Krueger GRF, Sander C: What's new in human herpes virus-6? *Path Res Pract* 185:915-29, 1989.
 53. Pagano JS. EBV: Culprit or consort ? *N Engl J Med* Dec 10: 1750-51, 1992.
 54. Leyvraz S, Henle W, Chahinian AP, et al. Association of EBV with thymic carcinoma. *N Engl J Med* 321 (20): 1296-99, 1985.
 55. Fleisher G, Bolognese R. Persistent EBV infection and pregnancy. *J Infect Dis* 147 (6): 982-86, 1983.
 56. Brown ZA, Stenchever MA. infectious mononucleosis and congenital anomalies. *Am J Obstet Gynecol* 131 (1): 108-9, 1978.
 57. Fleisher G, Bolognese R. EBV infections in pregnancy: A prospective study. *J Pediatr* 104 (3): 374-79, 1984.
 58. Goldberg GN, Fulginiti VA, et al. in utero EBV (infectious mononucleosis) infection. *JAMA* 246 (14): 1579-81, 1981.
 59. Ho DWT, Field PR, Cunningham AL. Rapid diagnosis of acute EBV infection by an indirect ELISA for specific IgM antibody without rheumatoid factor and specific IgG interference. *J Clin Microbiol* 27 (5): 952-58, 1989.
 60. Henle W, Henle G, Andersson J, et al. Antibody response to EBNA 1 and EBNA 2 in acute and chronic EBV infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:570-74, 1987.
 61. Chen RL, Lin KH, Un DT, et al. Immunomodulation treatment for childhood virus-associated haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol* 89: 282-90, 1995.
 62. Epstein MA. Vaccination against EBV: Current progress and future strategies. *Lancet* June 21: 1425-27, 1986.
 63. Gatner BC, Hess RD, Bandt D, et al. Evaluation of four commercially available Epstein-Barr virus enzyme immunoassay as the reference method. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 10:78-82. 2003.

64. Paul JR, Bunnell WW. The presence of heterophile antibodies in infectious mononucleosis. *Am J Med Sci* 183:80-104. 1932.
65. Evans AS, Niederman JC, Cenabre LC, West B, Richards VA. A prospective evaluation of heterophile and Epstein Barr virus specific IgM antibody tests in clinical and subclinical infectious mononucleosis-specificity and sensitivity of the tests and persistence of antibody. *J Infect Dis* 132:546-554. 1975.
66. Paul JR, and WW Bunnell. The presence of heterophile antibodies in infectious mononucleosis. *Am J Med Sci.* 267:178-188.1974.
67. Svahn A,M. Magnusson, L. Jägdahl, L. Schlass, G. Kahlmeter, and A. Linde. evaluation of three commercial enzyme-linked immunosorbent assays and two latex agglutination assays for diagnosis of primary Epstein-Barr virus infection. *J. Clin. Microbiol.* 35:2728-2732. 1997.
68. Gorgievski-Hrisoho M, Hinderer W, Nebel-Schickel H, Horn J, Vornhagen R, Sonneborn HH, Wolf H, Siegl G. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme linked immunosorbent assay technology. *J. Clin. Microbiol* 28:2305-2311. 1990.
69. Lucas KG, F. Filo, DK Heilman, CH Lee and DJ Emanuel. Semiquantitative Epstein-Barr virus polymerase chain reaction analysis of peripheral blood from organ transplant patients and risk for the development of lymphoproliferative disease. *Blood* 92:3977-3978. 1998.
70. Silins SL, MA Sherritt, JM Silleri, SM Cross, SL Elliott, M Bharadway, TT Le, LE Morrison, R. Khanna, DJ Moss, A Suhrbier and IS Misko. Asymptomatic primary Epstein-Barr virus infection occurs in the absence of blood T-cell repertoire perturbations despite high level of systemic viral load. *Blood* 98:3739-3744. 2001.
71. Bai X, G Hasler, BB Rogers, DB Dawson and RH Scheuermann. Quantitative polymerase chain reaction for human herpesvirus diagnosis and measurement of Epstein-Barr virus burden in posttransplant lymphoproliferative disorder. *Clin Chem* 43:1843-1849. 1997.
72. Baldanti F, P Grossi, M Furione, L Simoncini, A Sarasini, P Comoli, R Maccario, R Fiocchi and G Gerna. High levels of Epstein-Barr virus DNA in blood of solid organ transplant recipients and their value in predicting posttransplant lymphoproliferative disorders. *J Clin Microbiol.* 38:613-619. 2000.
73. Rowe DT, L Qu, J Reyes, N Jabbour, E Yunis, P Putnam and S Todo. Use of quantitative competitive PCR to measure Epstein-Barr virus genome load in the

- peripheral blood of pediatric transplant recipients with lymphoproliferative disorders. *J Clin Microbiol* 35:1612-1615. 1997.
74. Stevens SJC, MBHJ Vervoort, AJC van den Brule, PL Meenhorst, CJ Meijer and JM Middeldorp. Monitoring of Epstein-Barr virus DNA load in peripheral blood by quantitative competitive PCR. *J Clin Mikrobiol.* 37:2852-2857. 1999.
 75. Gallagher A, AA Armstrong, J MacKenzie, L Shield, G Kahn, A Lake, S Proctor, P Taylor, GB Clements and RF Jarrett. Detection of Epstein-Barr virus(EBV) genomes in the serum of patients with EBV-associated Hodgkin's disease. *Int J Cancer* 84:442-448. 1999.
 76. Jabs WJ, Hennig H, Kittel M, Pethig K, Smets F, Bucsky P, Kirchner H, and Wagner HJ. Normalized quantification by real-time PCR of Epstein-Barr virus load in patients at risk for posttransplant lymphoproliferative disorders. *J. Clin. Microbiol.* 39:564–569. 2001.
 77. Kimura H, Morita M, Yabuta Y, Kuzushima K, Kato K, Kojima S, Matsuyama T, and Morishima T. Quantitative analysis of Epstein-Barr virus load by using a real-time PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 37:132–136. 1999.
 78. Niesters HG, J. van Esser, Fries E, Wolthers KC, Cornelissen J, and Osterhaus AD. Development of a real-time quantitative assay for detection of Epstein-Barr virus. *J. Clin. Microbiol.* 38:712–715. 2000.
 79. Henle G, Henle W. Immunofluorescence in cells derived from Burkitt's lymphoma. *J Bacteriol* 91:1248–1256. 1966.
 80. Linde A, Kallin B, Dillner J, Andersson J, Jägdahl L, Lindvall A, and Wahren B. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay with two synthetic peptides of Epstein-Barr virus for diagnosis of infectious mononucleosis. *J. Infect. Dis.* 161:903–909. 1990.
 81. Luka, J, Chase RC, and Pearson GR. A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. *J. Immunol. Methods* 67:145–156. 1984.
 82. Rea, TD, Ashley RL, Russo JE, and Buchwald DS. A systematic study of Epstein-Barr virus serologic assay following acute infection. *Am. J. Clin. Pathol.* 17:156–161. 2002.
 83. Gärtner BC, Hess RD, Bandt D, Kruse A, Rethwilm A, Roemer K, and Mueller-Lantzsch N. Evaluation of four commercially available Epstein-Barr virus enzyme

- immunoassays with an immunofluorescence assay as the reference method. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 10:78–82. 2003.
84. Buisson M, Fleurent B, Mak M, Morand P, Chan L, Guan A Ng M, Chin D, and Seigneurin JM. Novel immunoblot assay using four recombinant antigens for diagnosis of Epstein-Barr virus primary infection and reactivation. *J. Clin. Microbiol.* 37:2709–2714. 1999.
 85. Ziegelmaier R, Bieker R, Behrens F, and Vermeer H. Diagnosis of acute infections: IgM-antibody determination without rheumatoid factor interference. *Laboratoriumsblatter* 33: 2-8. 1983.
 86. Tischendorf P, Shramek GJ, et al. Development and persistence of immunity to EBV in man. *J Infect Dis* 122 (5): 401-9, 1970.
 87. Fleisher GR, Pasquarillo PS, et al. Intrafamilial transmission of EBV infections. *J Pediatr* 98(1): 16-19, 1981.
 88. 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. *Clin Diagn. Virol.* 8(1):71-81. May.1997.
 89. Pumannova M, rezbova M, Svecova M, Hrbackova H, Novotna M, Ochotna J, Roubalova K. Comparison of the detection of IgM antibodies against the viral capsid antigen(VCA) of EBV in various groups of patients, using indirect immunofluorescence, indirect ELISA-VIDITEST kit. *Klin. Microbiol. Infect. Lek.*10(4):186-90).30. Aug.2004.
 90. Auwaerter PG. Infectious mononucleosis in middle age. *JAMA* 281:454-459
 91. Cohen JJ. 2003. Benign and malignant Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphoproliferative disease. *Semin. Hematol.* 40:116-123.1999.
 92. Johannsen EC, RT Schooley and KM Kaye. Epstein-Barr virus (Infectious mononucleosis), p.1801-1821. In R. Dolin (ed.)*Principles and practice of infectious diseases*, 6th ed.,vol. 2. Churchill Livingstone, Philadelphia, Pa. 2005.
 93. Pereira MS, Blake JM, Mac Rae AD. EB virus antibody at different ages. *Br. Med. J.* 4:526-7. 1969
 94. Sumaya CV, Henle W, Henle G, Smith MHD, LeBlanc D. Seroepidemiologic study of Epstein-Barr virus infections in rural community. *J. Infect. Dis.*131:403-8. 1975.
 95. Tomkinson BE, Sullivan JL. Epstein-Barr virus(infectious mononucleosis). In:Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, eds. *Infectious Diseases*. Philadelphia: WB Saunders Co.1701-9. 1992.

96. Wang PS, Evans AS. Prevalence of antibodies to Epstein-Barr virus and cytomegalovirus in sera from a group of children in the People's Republic of China. *J. Infect. Dis.* 153:150-2. 1986.
97. Yenen OŞ, Mete Z. Epstein-Barr virus(EBV) spesifik serolojisi üzerine bir çalışma. *Infek Derg.* 2:233.1988.
98. Venkiramatan AR, Lenoir GM, John TJ. The seroepidemiology of infection due to Epstein-Barr virus in southern India. *J. Med. Virol.* 15:11-6. 1985.
99. Tsega E, Mengesha B, y Hansson BG, Nordenfelt E, Lindberg J. Serological and demographic survey of Epstein-Barr virus infection in Ethiopia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 81:677-80. 1987.
100. Albeck H, Bille T, Fenger HJ, et al. Epstein-Barr virus infection and serological profile in Greenland Eskimo children. *Acta Paediatr. Scand.* 74:691-96. 1985.
101. Rosenthal KS. Human herpesvirus. In: Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS, eds. *Medical Microbiology*. 2nd ed. London: Mosby Year Book, Inc. 571-95. 1994.
102. Aydemir Ş, Erensoy S. Epstein-Barr virüs infeksiyonunun seroprevalansı. *Infeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*. 13(2):275-280. 1999.
103. Gursevich V, Le Rivered E., Ruiz R. Seroepidemiologic study of the Epstein-Barr virus infectivity in a healthy Cuban population. *Infect. Immun.* 41:418-9. 1983.
104. Fung MK, Mordarski KT, Bader SA, Gronowski AM. Evaluation of the Wampole Laboratories ELISA-based assay for Epstein-Barr virus serology. *Clin Chimica Acta.* 319: 43-8. 2002.
105. Figueira-Silva CM, Pereira FEL. Prevalence of Epstein-Barr virus antibodies in healthy children and adolescents in Vitoria, State of Espirito Santo, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 37: 409-12. 2004.
106. Debyser, Z., M. Reynders, P. Goubau, and J. Desmyter. Comparative evaluation of three ELISA techniques and an indirect immunofluorescence assay for the serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection. *Clin. Diagn. Virol.* 8:71–81. 1997.
107. Cour MI, Gimenez A, Martinez JA, et al. Prevalence of the Epstein-Barr virus among different populations in the central area. *Ann. Med. Interna.* 529-32. 1991.
108. Gray J J, Caldwell J, and Sillis M. The rapid serological diagnosis of infectious mononucleosis. *J. Infect.* 25:39-46. 1992.

109. Debyser, Z., M. Reynders, P. Goubau, and J. Desmyter. 1997. Comparative evaluation of three ELISA techniques and an indirect immunofluorescence assay for the serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection. *Clin. Diagn. Virol.* 8:71–81.
110. Karen FM and Crawford DH. Epstein-Barr virus-recent advances. *Lancet infect Dis.* 3:131-40. 2003.
111. Linderholm M, Boman J, Juto P, and Linde A. Comparative Evaluation of Nine Kits for Rapid Diagnosis of Infectious Mononucleosis and Epstein Barr Virus-Specific Serology. *J. Clin. Microbiol.* p. 259-261 Jan. 1994.
112. Henle W, Henle G, and Horwitz CA. Epstein-Barr virus specific diagnostic tests in infectious mononucleosis. *Hum. Pathol.* 5:551-565. 1974.
113. Schillinger M, Kampmann M, Murray G, Hanselmann I, and G Bauer. Variability of humoral immune response to acute Epstein-Barr virus (EBV) infection: evaluation of the significance of serological markers. *Med. Microbiol. Lett.* 2:296–303. 1993.
114. Bauer G. Simplicity through complexity: immunoblot with recombinant antigens as the new gold standard in Epstein-Barr virus serology. *Clin. Lab.* 47:223–230. 2001.
115. Evans AS, and Niederman JC. Epstein-Barr virus, p. 253–281. In A. S. Evans (ed.), *Viral infection of humans, epidemiology and control*, 2nd ed. Plenum Medical Book Company, New York, N.Y. 1982.
116. Weber B, Brunner M, Preiser W, and Doerr H W. Evaluation of 11 enzyme immunoassays for the detection of immunoglobulin M antibodies to Epstein-Barr virus. *J. Virol. Methods* 57:87–93. 1996.
117. Horwitz CA, Henle W, Henle G, Schapiro R, Borken S, Bundtzen R. Infectious mononucleosis in patients aged 40–72 years: report of 27 cases, including 3 without heterophile antibody responses. *Medicine* 62:256–262. 1983.
118. Naveau S, Delfraissy JF, Poitrine A, Poinard T, Chaput JC. Simultaneous detection of IgM antibodies against the hepatitis A virus and the Viral capsid antigen of Epstein Barr virus in acute hepatitis. *Gastroenterol Clin Biol* 9:109 112. 1985.
119. Sensini A, Pasceli S, Marchetti D, Castronori R, Marangi M, Sbaraglia M and Mottola A. IgG avidity in the serodiagnosis of acute *Toxoplasma gondii* infection; a multicenter study. *Clin. Microbiol and Infec.* 2:25-29. 1996.
120. Jenum PA, Pedersen BS and Gundersen AG. Improved Diagnosis of Primary *Toxoplasma Gondii* Infection in Early Pregnancy by Determination of Antitoxoplasma Immunoglobulin G Avidity. *J. Clin. Microbiol.* 35: 1972-1977. 1997.

121. Lappalainen M, Koskela P, Keskinen M, Toxplasmosis Acquired during pregnancy; Improved Serodiagnosis Based on Avidity of IgG. *Infect. Dis* , 1993;167: 691-697.
122. Thomas HI, Chapner PM. Rubella-specific IgG1 avidity:a comparison of methods.J. *Virol Methods*. 31:219-228. 1991.
123. Robertson P, Beynon S, Whybin R, Brennan C, Vollmer Conna V, Hickie I, Lloyd A. Measurement of EBV-IgG anti VCA avidity aids the early and reliable diagnosis of primary EBV infection. *J. Med. Virol.* 70(4) 617-23). Aug. 2003.
124. Tone Wikene Nystad, Helge Myrmel. Prevalance of primary versus reactivated Epstein-Barr virus infection in patients with VCA IgG, VCA IgM and EBNA-1 antibodies and suspected infectious mononucleosis. *Journal of Clinical Virology*. 2007
125. Sumaya CV, Ench Y. EBV Infectious mononucleosis in children-I: Clinical and general laboratory findings. *Pediatrics* 75 (6): 1003-10, 1985.

TARTIŞMA

1968’de infeksiyöz mononükleozun majör sebebi olarak bulunan Epstein-Barr Virus (EBV: Günümüzde Human Herpes Virus 4) onkojenik bir herpesvirusudur. Virus genel olarak çocuklar arasında tükürük salgıları ile yayılır ve daha çok adolesan ya da genç erişkinlerde gecikmiş primer infeksiyonlara neden olur. İmmünopatolojik durumlarda vakaların yaklaşık %50’sinde infeksiyöz mononükleoz (İM) semptomlarına yol açar. Dünya popülasyonunun %90’ından fazlası B lenfositlerinin latent infeksiyonu olarak yaşamı boyunca EBV’yi taşır. EBV’nin B hücre antijen aktivasyon yollarını takip ederek, B lenfositlerinin içine girdiği, B lenfositleri içinde, kendi gen ekspresyonunu sınırlamak yoluyla immün eliminasyondan kaçtığı bildirilmektedir. B hücrelerinin yaşamsal mekanizmalarını etkileyerek, B lenfoproliferatif hastalık, hodgkin gibi tümör hastalıklarını indüklediği ortaya konmuştur. Aşılar bu koşulların tedavi ve/veya önlenmesi için geliştirilmeye başlanmıştır. Ancak henüz rasyonel bir aşı stratejisi yoktur, bunun için bir hayvan modelinde patogenezi çalışmaları gereklidir (8).

EBV’ye ilişkin infeksiyonlar genellikle çocukluk döneminde gelişip asemptomatik seyreder. Sitomegalovirus, rubella, toxoplasma infeksiyonları ve bazı hematolojik malignansiler, EBV infeksiyonlarına benzer bulgular oluşturabilir. Bu nedenle EBV infeksiyon tanısı önem taşımaktadır (7,8,63). Virusun infeksiyonunda atipik lenfositler ve heterofil antikorlar bulunur. İnfeksiyon sırasında EBV majör antijenlerine karşı oluşan antikorların belirlenmesi oldukça yararlıdır ve özellikle atipik lenfositoz ve heterofil antikorların bulunmadığı, ancak EBV infeksiyonundan kuşkulanan hastaların belirlenmesinde önem taşır. Epstein-Barr Virus serolojisi aynı zamanda, akut infeksiyonu geçirilmiş infeksiyondan veya reaktivasyondan ayırmak için de gereklidir. EBV infeksiyonlarında reaktivasyon siktir ve tükürük aracılığıyla virusun zaman zaman atılımıyla sonuçlanır. Serolojik olarak infeksiyon reaktivasyonu, majör antijenlere karşı oluşmuş antikorların varlığıyla belirlenebilir. Özellikle immünsüpressif hastalarda, AIDS’de reaktivasyonun belirlenmesi önemlidir. Ayrıca bazı malignansilerle EBV infeksiyonu arasında ilişki olması ve onkojenik bir virüs olarak nitelendirilmesi nedeniyle risk altında olan hastaların belirlenmesi önem taşımaktadır (7,8,63).

Epstein-Barr virüsü için serolojik testler iki gruptur. Bunlardan bir tanesi Paul ve Bunnell tarafından tanımlanmış (64) olan ve heterofil antikorları tespit etmeyi amaçlayan

testlerdir. Bu testin infeksiyöz mononükleozlu erişkinlerde EBV infeksiyonunu tespit etmede % 90 sensitiviteye sahip olduğu (65) bildirilmiştir. Ancak (66) poliklonal stimülasyonu sonucu oluştuğu, dolayısıyla kros reaksiyonlarının görüldüğü bildirilmektedir (8). Ayrıca diğer İM'a benzer hastalıklarda oluşabildiği ve 6-12 aya kadar pozitif kaldığı, bu nedenle yanlış pozitif sonuçlara yol açtığı da bildirilmiştir. Yetişkin ve adolesan akut hastaların %85-90'ında pozitif sonuç verirken 2 ila 5 yaş arası çocuklarda %50 etkili olduğu saptanmıştır (67,68). Otoimmün hastalarda da % 2-3 oranında yanlış pozitiflik saptanmıştır (67). Bu nedenlerden dolayı ikinci grup testler olan spesifik EBV antijenlerine karşı oluşmuş antikorları tespit eden testler tercih edilmektedir (67,69). Virus çok sayıda yapısal ve yapısal olmayan farklı gen kodonlarına sahiptir. Bunlar içinde teşhis açısından en önemli genler viral kapsit antijenleri (VCAs), early antijenleri (EAs) ve nükleer antijenler (EBNAs) olan EBNA-1 ve EBNA-2'yi kodlayan genlerdir (8).

EBV serolojisini belirlemeyi amaçlayan İndirekt Floresan Antikor testi (IFAT), Enzim İmmunoassay(EIA), Western Blot analysis testi gibi ticari olarak bulunan çeşitli testler mevcuttur. Bunlar içinde Western Blot daha çok doğrulama amaçlı kullanılırken, günümüzde IFAT, EIA ve avidite testleri yaygın olarak teşhis amaçlı kullanılmaktadır (7,8,70).

Son zamanlarda klinik örneklerde EBV DNA yükünü ölçen çeşitli PCR teknikleri geliştirilmiştir. Örneğin semikuantitatif PCR (71,72), quantitative-computative PCR (73,74,75,76), Tap man PCR (77,78,79,80) ve light cycler PCR (81). Ancak tüm bu testlerin verilen klinik durum için teşhis değerlerinin doğru olmasına rağmen, EBV DNA yükü açısından laboratuvarlar arasında standardizasyonu göstermede henüz yetersiz olduğu bildirilmektedir.(81) Bu tekniklerin geliştirilmesi özellikle sağlıklı kan donörleri ve transplant alıcı ve vericilerinde oldukça önemlidir.

Çalışmamızda son iki yıllık periyot içerisinde, EBV spesifik antikorlarının araştırılması amacıyla laboratuvarımıza gönderilen çeşitli hasta serumlarında, saptanmış olan EBV spesifik antikor profillerini değerlendirmeyi amaçladık. Değerlendirmeyi yaparken günümüzde altın standart olarak kabul edilen İndirekt Floresan Antikor (IFA) yöntemini kullandık (82). IFA testinde genellikle burkitt lenfomalı hastalardan alınan insan EBV transform B hücre dizileri kullanılır. Bunlara örnek olarak P3HR-1 hücre dizisi veya IFA'nın ilk substratı olan raji hücre dizisidir. P3HR-1 hücreleri EBNA-1'i üretirken, hücrelerin yaklaşık %5-20'si çekirdek içinde ayrıca VCA üretir. Raji hücre dizisinin EBV spesifik protein modeli özellikle çekirdekteki EBNA-1 ve EBNA-2 üretimi olmak üzere EBNA'larla

sınırlıdır. Raji hücre dizisi VCA üretmez. Antikomplement immüno Floresans prosedürü anti EBNA-1 antikorlarını IFA ile tesbit etmek için gereklidir. Bu prosedür ile, EBV spesifik antikorlar P3HR-1 hücrelerine bağlanırlar ve EBNA-1'e karşı komplement sabitleyici antikorlar komplement eklenerek boyanırlar. Bunun sonucu olarak antikomplement floresans verir (8).

IFA testi EBV spesifik antikorları tespit eden ilk testtir (82). Daha sonra çeşitli EIA testleri geliştirilmiştir (83). Bazı araştırmacılar EIA testini IFA'dan daha sensitif bulurken (83); bazıları IFA ile aynı sensitiviteye sahip olduğunu, kimisi de IFA'nın daha sensitif bulunduğunu bildirmiştir (84,85). 1980'li yılların ortalarında birinci jenerasyon EIA ile IFA test performanslarının VCA ve EBNA antikorlarını tespit etmede iyi korelasyon gösterdiğini açıklamışlardır (86). IFA, EIA testlerinde farklı antijenler, substratlar, farklı fiksasyon teknikleri kullanılması, testler arasında tipik performans farklılıklarını ortaya çıkarır (spesifite, sensitivite, prediktive değer gibi). Bu da farklı test yorumlarına neden olur. Maalesef günümüzde EBV spesifik antikorlarını tespit eden testler tam olarak standardize edilememiştir. Temel olarak tanı testleri için EIA'nın IFA'dan daha sensitif fakat IFA'nın da EIA'dan çok daha spesifik olduğu (87,88) sonucuna varılmıştır. IFA'da nonspesifik reaksiyonlar belirginken uzman, deneyimli personel, zaman, çalışma kuralları gibi dezavantajları vardır. EIA testi daha objektif, daha kolay ve çalışan tasarrufu gibi avantajlara sahiptir (87,88). Çalışmamızda sonuçların okunması iki ayrı değerlendirmeci tarafından birbirinden habersiz olarak sağlanmıştır. Şüphe duyulan örnekler tekrar çalışılmıştır. Sonuçta bu yöntem için değerlendirmeler arası korelasyon yüksek düzeyde bulunmuştur. IFA çeşitli çalışmalarda da referans yöntem olarak kullanılmıştır (87). Örneğin 1997'de yapılan bir çalışma da Debyser ve arkadaşları EBV'nin serolojik teşhisi amacıyla gönderilen 324 örneği üç ELISA sistemi ve IFA yöntemiyle çalışmışlardır. Geçirilmiş EBV ve primer akut EBV infeksiyonunun serolojik teşhisinde ELISA sistemleri ve IFA yönteminin aynı performansı gösterdiğini saptamışlardır (88).

Pumannova M ve arkadaşları çeşitli hasta gruplarında EBV VCA IgM'i araştırmak üzere 854 serumu 4 bağımsız laboratuvarında çalışmışlardır. Yöntem olarak IFA, İndirect ELISA, Revers ELISA ve ELISA VIDITEST adı verilen ELISA yöntemlerini kullanmışlardır. Bu yöntemlerden IFA ve Revers ELISA testlerini referans yöntem olarak kullanmışlardır. Üç ELISA testinin infeksiyöz mononükleoz'lu hasta serumlarında güvenilirliğinin benzer olduğu viditestin sensitivitesinin %94.7, spesifikliğin %96.1 olduğu bildirilirken, IFA yönteminin

EBV reaktivasyonlu hastalarda IgM antikorlarının ortaya konmasında ELISA'dan açık bir üstünlüğünün olduğunu bildirmişlerdir (89).

Primer EBV enfeksiyonu genellikle çocukluk çağında subklinik olarak geçirilir ancak genç erişkin ya da yetişkinlerde %30–70 oranında IM'a yol açar. EBV enfeksiyonunun insidansı ve yayılımını etkileyen faktörler klinik IM'a neden olanlardan farklıdır. Enfeksiyon olasılığı tükürüğe maruz kalmaya neden olan hijyen şartları ve kültür düzeyi ile ilgilidir. Klinik IM'da rol alan faktörler ise enfeksiyona maruz kalma yaşı, immün durum, genetik ve psiko-sosyal etkenlerdir (90,91,92).

EBV enfeksiyonu düşük sosyoekonomik durumdaki toplumlarda yaşamın erken dönemlerinde ve genellikle asemptomatik olurken, klinik IM daha çok gelişmiş ülkelerde ve yüksek sosyo-ekonomik koşullarda görülür. (93)

Çalıştığımız toplam 522 hasta serumunun 153'ü (%29.31) 6 yaş grubu altında, 243'ü (%46.55) 6-17 yaş arası ve 126'sı (%24.13) 17 yaş üstünde idi. 6 yaş grubu altındaki çocukların 110'u (%71.89) seropozitif, 6-17 yaş grubu 208'i %85.59 seropozitif ve 17 yaş ve üstü bireylerdeki seropozitiflik oranı 110 (%87.30) olarak bulundu. Toplam seropozitiflik oranı %81.89 olarak bulundu. Yaşla birlikte seropozitiflik oranında artmıştı.

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) ve İngiltere'de yapılan çalışmalarda EBV serokonversiyonunun beş yaşından önce ilk dört yaşta %50'ye yakın olduğu bildirilmiştir. (96,97). Amerika'da kırsal alanda yapılan başka bir çalışmada prevalans ilk beş yaşta %84.3 olup yaş ile, prevalans artarak 30 yaşında %94.5 olarak saptanmıştır (94).

Yeni Hebridlerde bir yaşına kadar hemen hemen tüm bebeklerde EBV serokonversiyonu bildirilirken (95), Afrika'nın Batı Nil bölgesinde yaşayanların %81'i iki yaşına kadar primer EBV enfeksiyonu geçirmiştir (96). Uganda ve Meksika'da bir yaşından küçük bebeklerin %80'den fazlasında EBV antikorları saptanmıştır (97). Çalışmamızda 0-2 yaş grubunda 15 çocuğun %60'ı (n=9) seropozitif saptanmıştır.

Japonya'da yapılan çalışmalarda, %80 oranı ancak iki ile beş yaş grubunda bulunmaktadır. Çin'de de bir yaşına kadar tüm olgularda %80 oranında antikor saptanırken, bazı bölgelerde, %90 ile %100'lük seropozitiflik oranına üç ila beş yaşlarında, Çin genelinde ise 10 yaşında erişilmektedir (98).

İtalya'nın güneyindeki Bari bölgesinde ilk 10 yaştaki sağlıklı çocuklarda EBV ile karşılaşma oranı %81.9 bulunmuştur. Etiyopya'da bu oran beş yaşın altında %82, 10 yaşın altında ise %94 olarak bulunmuştur (99). Greenland Eskimo çocuklarında yapılan bir çalışmada bölge popülasyonunda nazofaringeal karsinom riskinin olduğu ve primer EBV enfeksiyonu ile çok erken yaşlarda karşılaşıldığı bildirilmektedir.(100) güney Hindistan'da ilk 5 yaşta karşılaşma oranı %90 bulunurken (101), Küba'da üç-dört yaş grubunda bu oran %73'tür (102). Türkiye'de yarı kırsal alanda yapılan bir çalışmada (103) ilk dört yaş için EBV antikor pozitifliği %67.9, ilk 30 yaş için %84.4 oranında saptamışlardır.

Ankara'da Fidan ve arkadaşları tarafından yapılan 2005 yılı çalışmada (3) yaş ortalaması 31.5 olan 70 bireyde EBV seropozitifliği %91.4 olarak belirlenmiş, seronegatif altı örneğin beşi 3-10 yaş grubundaki hastalara ait olan örnekler olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda olduğu gibi bütün araştırmalarda seropozitifliğin yaşla birlikte arttığına vurgu yapılmıştır.

Türk toplumunda da erişkin yaş grubunda %80-86 oranında pozitiflik bulunmuştur (106). Çalışmamızda laboratuvarımıza gönderilen serum örneklerinin %75.86'sı 0-17 yaş (n=396) , %24.13'ü (n=126) 17 yaş ve üstü bireyler oluşturuyordu. 17 yaş ve üstü grubunun EBV'ye maruz kalma oranı %87.30 iken yaş ortalaması 0-16 yaş grubunda EBV ile karşılaşma oranı %80.30 olarak saptanmış olup, 0-2 yaş grubundaki bireylerin %60'ı seropozitif idi.

Çalışmamızda olduğu gibi yapılan tüm çalışmalarda EBV enfeksiyonu ile karşılaşma yaşında farklılıklar olduğu görülmektedir. Coğrafi ve sosyo-ekonomik faktörler EBV enfeksiyonunun prevalansındaki farklılıklardan sorumludur (96,99,101,104).

Figueira-Silva ve Pereira (105) Brezilya'da yaptıkları çalışmada EBV seropozitifliğini %71 olarak saptamışlar ve düşük sosyoekonomik düzeydeki bölgelerde kötü yaşam koşullarına bağlı olarak antikor prevalansının daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Fung ve arkadaşları Çin'de seropozitiflik oranlarını %75 olarak bildirirken (106), Şili'de 2 yaşındaki sağlıklı çocuklarda bu prevalansı; sosyo-ekonomik düzeyi düşükse %50, yüksek ise %5.9 olarak saptamışlardır. Her iki grubun 20 yaşındaki bireylerinde seroprevalans %90 bulunmuştur (98). İspanya'da Cour ve arkadaşları (107) aynı yaş grubunda şehir ve kırsal alanda EBV enfeksiyon prevalansında istatistiksel bir fark saptamamış, fark sosyo-ekonomik yönden anlamlı bulunmuştur.

Gelişmekte olan ülkelerde EBV enfeksiyonu genellikle yaşamın erken dönemlerinde asemptomatik olurken, klinik IM daha çok gelişmiş ülkelerde görülür. Fransa’da 2006 yılında yapılan bir çalışmada EBV ile ilişkili IM insidansında dikkat çekici bir artış olduğu vurgulanmaktadır. 1990 – 2004 yılları arasını değerlendiren çalışmada, yaş ortalaması 22.6 olan 38 hasta grubundan ikisinin öldüğü ve yıllık insidansın anlamlı ölçüde artmış olduğu bildirilmektedir (108).

Yine İngiltere’de 2002’de aynı konuya dikkat çekilirken, (109) 2003’te İsrail’de 5 yıllık periyotta 590 genç erişkinin %85’nin klinik olarak IM şüpheli olduğu ve hastaneye yatırıldığı bildirilmektedir (110,111). Endüstrileşmiş şehirlerdeki genç erişkin ve yetişkinlerdeki IM’un daha iyi kişisel hijyen, iyileştirilmiş halk sanitasyonu ve aile fert sayısının azlığı gibi faktörlerin etkisiyle bu bölgelerdeki çocuklarda EBV enfeksiyonu için dezavantaj olduğu dolayısıyla, delikanlıların EBV’ye daha duyarlı hale geldiği sonucuna varılmıştır (109). Çalışmamızda 13 yaş ve üstü bireylerde primer enfeksiyon görülme oranı %15.95 olarak bulundu.

EBV’nin yayılımı insandan insana yakın temas sonucu ağız yoluyla olur. Ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde hijyenik koşulların düşük olması, kalabalık yaşam ortamları, , çocuklar arasında tükürükle enfekte oyuncak ve ortak eşyaların kullanılması enfeksiyonun yayılmasından sorumludur. Akut EBV enfeksiyonunda virus salınımı %100 olup bu 18 ay kadar sürebilmektedir (16). EBV enfeksiyonu geçiren seropozitif kişilerde tükürükte viral ekskresyon oranı %15 iken immünsupressif bireylerde oran %50’den fazladır (112).

Çalışmamızda laboratuvarımıza başvuran ve çoğunu 0-16 yaş grubundakilerin oluşturduğu hastaların 322’si erkek 200’ü bayandır. Az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde kadınlar ekonomik üretim sürecinde etkin olarak yer alamamaktadırlar. Bu nedenle küçük yaşlardan itibaren kız çocukları zaten sınırlı olan ekonomik kaynaklardan daha az yararlanmakta ve dolayısıyla hem sağlık, hem eğitim, hem de sosyal faaliyetlerden erkek çocuklarına kıyasla daha az faydalanabilmektedir. Bu da çalışmamızda erkeklerdeki seropozitiflik oranının sayıya paralel olarak daha yüksek bulunmasının nedeni olarak düşünülmüştür. Ancak yapılan çalışmaların çoğunda EBV enfeksiyon seroprevalansında cinsiyet farkı bulunmamıştır. Çalışmamızda en yüksek EBV seropozitiflik oranı 6-12 yaş arası çocuklarda saptanmıştır. Antikor pozitifliği 2 yaşından itibaren yükselmeye başlamış 6-12 yaş grubunda pik yapmıştır. 6-12 yaş, çocukların okula başlama ve kalabalık gruplarla birlikte

olma yaşıdır. Yapılan çalışmalarda da en yüksek EBV infeksiyon oranı okul ve askeri kışla gibi toplu bulunulan yerlerde saptanmıştır (11,32,33).

1964 yılında Burkitt Lenfoma hücre kültürlerinde üretildiğinden beri EBV'nin epitelyum ve lenfoid orjinli; hem malign hem de benign birçok hastalığa neden olduğu gösterilmiştir. Bütün herpesvirüsler gibi EBV'ninde latent ve litik yaşam siklusu vardır. Tek bir latent gen serisi EBV'ye in vitro B lenfositlerinin immortalizasyonu indüklemeye yeteneği ve onkojenik potansiyel kazandırır. Buna rağmen EBV dünyada çok sayıda konakta zararsız bir yaşam sürer ve konak-virus dengesi bozulduğunda hastalık yapar. Sık ve tekrarlayan infeksiyonların, immun sistemde malign dönüşüme yol açtığı kabul edilmektedir. Reaktivasyon olarak değerlendirilen 47 hastanın 22 tanesi 5-12 yaş, 20 tanesi 17 yaş ve üstü, 2 tanesi 0-2 yaş ve 3 tanesi 13-17 yaş grubu bireylerdi. EBV'nin gelişmekte olan ülkelerde daha genç yaşta Hodgkin Lenfomaya (HL) yol açtığı da bildirilmiştir. Ülkemizde HL vakalarının yaklaşık %15'i 0-5 yaş arasındadır (99). Lenfoma etiolojisinde infeksiyonun ortaya konulmasından sonra viral nedenler arasında EBV ve İnsan T hücrelerine karşı hassasiyeti olan viruslar (HTLV) ön plana çıkmıştır. Afrika ve Latin Amerika ülkelerinde EBV, Uzakdoğu'da ise HTLV etiolojide önemli rol oynamaktadır. Ülkemizde lenfomalarda EBV serolojisi çalışmaları da aynı bulgulara paralellik göstermektedir (99). EBV ve lenfoma ilişkisi gelişmekte olan ülkelerde %50-90 arasında bulunurken, Avrupa ve ABD'de ise bu oran %25-50 arasında bildirilmektedir (113,114).

EBV infeksiyonlarını teşhis etmek için kullanılan antijenler, yaygın olarak EBV kapsit antijeni (VCA) ve nükleer antijenlerdir (EBNA1). Viral kapsit antijenine karşı oluşan IgM antikorları genel olarak primer infeksiyon göstergesidir (66). Klinik bulguların belirmesiyle oluşmaya başlar. 4- 6 hafta kadar serumda saptanabilir. Vakaların çoğunda başvuru anında IgM antikorları saptanamayacak düzeyde VCA IgG ise pik düzeydedir. VCA IgG antikorları, yaşam boyu sürerken IgM tipi antikorlar geçici olarak üretilir ayrıca primer infeksiyonlu tüm bireylerde oluşma zorunluluğu da göstermez (68,115). Primer EBV infeksiyonlu normal bireylerde viral kapsit antijeni IgM'i yakalama prevalansı IFA, EIA ve Western Blot teknikleriyle %70-100 arasında değişmektedir (68,69,88,116,117,118,119). Bu hastalarda VCA IgG aynı tekniklerle %98-100 arasındadır (8). Çalışmamızda 428 seropozitif hasta serumunda VCA IgM antikorları 20 hasta serumunda saptanmıştır. Bu da % 4.67'ye tekabül etmektedir. Fidan ve arkadaşları (3) 70 hastada IgM oranını %10 bildirirken, Fung ve arkadaşları (106) çeşitli yaş gruplarında 152 serum örneğinde bu oranı %21 olarak bildirmişlerdir. Aydemir ve arkadaşları (104) 180 serum örneğinde %3.88 oranında EBV

VCA IgM seropozitifliği bildirmişlerdir. Mats ve arkadaşları (116) yaş ortalaması 19 olan İM şüpheli 108 hastada 46 tanesinin serumunda IFA yöntemiyle %42.59 seropozitiflik bulmuşlardır.

Her ne kadar VCA IgM antikorları primer infeksiyonu gösteriyorsa da yapılan çalışmalarda EBV infeksiyonlarının serolojik cevabında farklılıklar olduğu da bildirilmektedir (66). Erişkinlerde primer EBV infeksiyonlu hastaların az bir kısmında IgM oluşmayabilir ya da geç oluşabilir (120). Bazı hastalarda infeksiyondan uzun süre sonra persistan olarak kalabilir (66) ya da immünsüpressif hastalarda yeniden reaktive olup görülebilir (120). Bu nedenlerle bir serum örneğinde spesifik IgM pozitifliği tespit edildiğinde persistan IgM veya reaktivasyon/reinfeksiyon şeklinde sekonder infeksiyon varlığı yönünden karar verebilmek zordur. Ayrıca kan örneğinin uygun zamanda alınıp alınamaması gibi nedenler sonucunda görülen spesifik IgM negatifliği de veya immün sistemin baskılanmasıyla EBNA antikorlarının kaybı primer infeksiyon tanısından uzaklaştırabilir (117,118,119,120) ya da yanlış sonuçlara yol açabilir. Böyle durumlarda serolojik sonuçların doğru yorumlanabilmesi için IgG aviditesinin çalışılmasının uygun olduğu bildirilmektedir (117,118,119). Genel olarak avidite matürasyon kinetiğinin ortaya çıkışı birkaç hafta içinde olabilirse de semptomların ortaya çıkışından sonra üç aya kadar olabildiği bildirilmektedir (7). Aviditedeki bu değişiklikler EBV gibi birçok infeksiyonda da tanımlanmıştır. Örneğin rubella, toksoplazmozis, hepatit B gibi (7).

İlk kez 1996'da EBV VCA'ya karşı oluşan avidite değişimi Grey tarafından ortaya konmuştur (7). Hastalık semptomlarının başlamasından sonra ilk 10 gün içinde primer infeksiyonlu bireylerin %90'ında düşük aviditeli antikorlar görülür. Ancak infeksiyondan 30 gün sonra ise %50 hastada düşük avidite antikorları tespit edilebilir. Andersson ve arkadaşları 105 primer EBV infeksiyonlu hastanın VCA IgG aviditesinin olgunlaşma kinetiğini İndirekt Flouresan tekniğiyle araştırmışlardır. Hastaların %90'dan fazlasının hastalığın başlangıcında ilk 10 günde düşük avidite indeksi gösterdiği (0.25) ; %50'sinin klinik semptomların başlamasından 20-30 gün sonraya kadar yine düşük indeks sergilediğini saptamışlardır. İnfeksiyonu geçirmiş kişilerde avidite indeksinin (0.5-1) yükseldiğini gözlemlemişlerdir. Böylece aviditenin EBV infeksiyonlarında akut veya eski infeksiyon olduğunu belirleme de önemli serolojik belirteç olduğunu vurgulamışlardı (121)

Robertson ve arkadaşları da primer EBV infeksiyonunun güvenilir teşhisinde aviditeye vurgu yapmışlardır. Çalışmalarında 28 primer EBV infeksiyonlu hasta serumu ve 35 geçirilmiş EBV infeksiyonlu hastada VCA IgG avidite çalışmışlardır (ELİSA ile).

IgG aviditenin primer infeksiyon teşhisinde duyarlılığı %93-100 arasında arttırdığını bildirmişlerdir (sensitivite özellikle EBNA-, IgG +’lerde %100’dür). (122)

Çalışmamızda seropozitif hastaların 33 tanesinde (%7.71) düşük aviditeli IgG antikorları saptandı. Düşük avidite saptanmış bireylerde EBNA antikorları seronegatif olarak bulundu. Düşük aviditeli serumlardan bir tanesinde VCA IgM, 6 tanesinde de EA antikorları seropozitif.

IgM varlığında yüksek avidite reaktivasyon olarak değerlendirilir. Norveçten bildirilen basım aşamasındaki bir prevalans çalışmasında 43 primer EBV şüpheli hastada ELİSA yöntemiyle VCA IgG, VCA IgM ve EBNA-1 antikorları ve İmmunoblot tekniğiyle IgG avidite çalışılmıştır. 43 hastanın 18’inde (%42) geç primer infeksiyon, 21’inden (%49) 10’unda yüksek aviditeye rağmen IgM antikorları bulunmuş, bunlarda reaktivasyon olarak değerlendirilmiştir. Bizim çalışmamızda yüksek aviditeye rağmen IgM seropozitifliği saptanmamıştır (123).

EA IgG antikorları genellikle litik replikasyonun erken fazı boyunca üretilir. Bu antikorlar primer EBV infeksiyonlu kişilerin %60-80’ninde IFA, EIA, Western Blot ile teşhis edilebilir (68,69,88,119,120,121). Negatif EBNA IgG, pozitif VCA IgG ve VCA IgM üçlüsü ve/veya pozitif EA antikorları primer EBV infeksiyonu için tanısaldır. Ayrıca EBV ile infekte sağlıklı bireylerin %20’sinde EA antikorları tespit edilebilir (68). EBV ile infekte bireylerde gelişen immunsupresyon durumlarında EBV reaktivasyonu görülebilir. Özellikle bu kişilerde EA antikorlarının kantitatif ölçülmesi önerilir. Reaktivasyonlarda EA antikorlarının titresinde artış meydana gelir. EA antikorlarının tek başına değerlendirilmesi spesifik teşhis aşamasını doğrulamaz fakat diğer parametrelerle birlikte bir fikir verir (8). Çalışmamızda 47 (%9) hasta serumunda EBNA antikorları ile birlikte EA antikorları pozitif bulundu. Fidan ve arkadaşları (3) EA antikorlarını %24.2 olarak verirken, Aydemir ve arkadaşları (104) % 7.2 olarak bildirmişlerdir.

VCA’ya karşı oluşan IgM antikorları, genel olarak primer infeksiyon göstergesi olarak kabul edilirken (66) EBNA antijen cevabı da primer infeksiyonun geç belirtici olarak ifade edilir (83) ve yaşam boyu da dirençlidir. Ancak immunsuprese bireylerde zamanla

kaybolabilir (114). Genel olarak EBNA IgG antikorlarının bulunmadığı, VCA IgG ve IgM pozitifliği tipik primer infeksiyon göstergesidir. VCA IgM'in bulunmadığı EBNA ve VCA IgG antikorlarının varlığı geçmiş infeksiyonun göstergesidir. Çalışmamızda 428 seropozitif serum örneğinin 312(%72.89)'sinde EBNA seropozitifliği saptandı. EBNA pozitif bireylerin 265 (% 50.8) geçirilmiş infeksiyon olarak değerlendirildi. Figueira- Silva ve Pereira (105) anti VCA IgG antikorlarını %71 , EBNA antikorlarını %54 olarak saptamışlardır. Fidan ve arkadaşları (3) EBNA antikorlarını %78.6 olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda test edilen örneklerin mevcut serolojik profillere göre infeksiyon durumları; 94 (%18) örnek seronegatif, 116 (%22.2) örnek akut yada primer infeksiyon 265 (%50.8) örnek geçirilmiş infeksiyon, 47 (%9) örnekte reaktivasyon, kronik veya yeni geçirilmiş infeksiyon olarak değerlendirilmiştir. Rutin klinik laboratuvarlarda test edilen serumların yaklaşık %70'ini geçirilmiş infeksiyon serolojik profili oluşturmaktadır. Çalışmamızda toplam test serumlarının %50,8'inde geçirilmiş infeksiyon saptanmıştır. Ayrıca EBV infeksiyonlarında reaktivasyon saptanması özellikle immunsupressif hastalarda önemlidir. Reaktivasyonlarda her zaman IgM oluşmadığından özellikle EA antikorlarının araştırılması gereklidir. Yine primer infeksiyonların kronik infeksiyonlarından ya da geçirilmiş infeksiyonlardan ayırt edilmesi de önem taşımaktadır. Epstein-Barr Virus infeksiyonunun serolojik tanısında kullanılan IFA testleri özellikle heterofil antikorlarının veya atipik lenfositözün bulunmadığı, EBV infeksiyonunun dan kuşkulandığı durumlarda tanı konulmasında ve immunosupressif kişilerde ve transplantasyon yapılmış hastalarda akut infeksiyon ile reaktivasyonun ayırımında oldukça kullanışlı, hızlı, uygulanması kolay testlerdir. Günümüzde altın standart olarak kabul edilmektedir. Araştırma biyasını engellemek için değerlendiriciler arası koordinasyon araştırılmalıdır.

Pek çok idiyopatik hastalığın ve nasofaringeal kanser ve Burkitt Lenfoma gibi malignitelerin etiyolojisinden sorumlu olduğu bilinen viral infeksiyonun tanısında bu testlerin kullanılarak, etiyolojisinin aydınlatılması ve risk altında bulunan kişilerin belirlenmesi yararlı olacaktır. Bu nedenle, EBV infeksiyonundan kuşkulanan hastalarda bu virusa ait majör antijenlere karşı gelişmiş antikorların bakılmasının gerekli olduğu ve bu şekilde toplumda seroprevalansının doğru olarak belirlenmesinin mümkün olacağı düşünülmektedir. Seroprevalans konusundaki bilgiler özellikle organ nakli olan hastalar ve immunosupressif hastalarda reaktivasyon ve primer EBV infeksiyonunu tanımlamak amacıyla yapılacak çalışmalarda da yararlı olacaktır.

GİRİŞ

Epstein-Barr Virus (EBV) tüm dünyada erişkinlerin %90'ını infekte eden insan herpesvirüs ailesinin bir üyesidir. Virüs kişiden kişiye tükürük ve boğaz salgıları aracılığıyla çıkarılarak, yakın temas, kan ve kontamine eşyalarla bulaşır. Lenfadenopati, ateş, hepatosplenomegali ve farenjitin eşlik ettiği infeksiyöz mononükleozisin (İM) etiyolojik ajanıdır. Nazofaringeal karsinom, Burkitt lenfoma ve immün yetmezliği olan hastalarda görülen lenfoproliferatif hastalıklarla da yakından ilgilidir (1). Bu virusa ilişkin infeksiyonlar genellikle çocukluk döneminde gelişip asemptomatik seyreder. Sitomegalovirus, Rubella, Toxoplasma gondii infeksiyonları ve bazı hematolojik malignansiler EBV infeksiyonlarına benzer bulgular oluşturabilir. Ayrıca immünsüprese hastalarda primer infeksiyon sıklıkla şiddetli olur ve ölümcül olabilir. Bu nedenlerle EBV infeksiyon tanısı önem taşımaktadır (1,2). Bu ajanlar arasındaki etyolojik fark tedavi bakımından önemli etkilere sahip olabilir. Birçok diğer incelemeyi gereksiz kılacağından tanının doğrulanması maliyetide düşürerebilir.

Virus infeksiyonunda atipik lenfositler ve heterofil antikorlar bulunur. İnfeksiyon sırasında EBV majör antijenlerine karşı oluşan antikorların varlığının belirlenmesi oldukça yararlıdır ve özellikle atipik lenfositoz ve heterofil antikorların bulunmadığı ancak EBV infeksiyonundan kuşku edilen hastaların belirlenmesinde önem taşır (3). EBV serolojisi aynı zamanda akut infeksiyonu geçirilmiş infeksiyondan veya reaktivasyondan ayırmak için de gereklidir.

EBV serolojisini belirlemeyi amaçlayan çeşitli testler mevcuttur. Heterofil antikorlar İM'u tespit etmede %90 sensitiviteye sahiptir. Ancak nonspesifik olduğundan benzer hastalıklarda da oluşabildiği, ayrıca 2-5 yaş arası çocuklarda %50 etkili olduğu bildirilmektedir (4,5). Otoimmün hastalıklarda da % 2-3 oranında yanlış pozitiflik saptanmıştır (4).

Günümüzde spesifik EBV antijenlerine karşı oluşmuş antikorları tespit eden testler tercih edilmektedir. Virusun majör antijenleri EBV nükleer antijeni (EBNA), erken membran antijeni (EA) ve viral kapsit antijenidir (VCA). Bu antijenlere karşı oluşmuş antikorları belirlemeye yönelik olarak İndirekt Floresan Antikor testi (IFA), Enzim İmmunoassay (EIA) ve Western Blot analiz testleri ticari olarak mevcuttur. Bunlar içinde Western Blot daha çok doğrulama amaçlı kullanılırken IFA, EIA ve avidite testleri yaygın olarak teşhis amaçlı kullanılmaktadır. Son zamanlarda klinik örneklerde özellikle immünsüprese bireylerde EBV DNA yükünü ölçen çeşitli PCR teknikleri geliştirilmiştir. Ancak henüz standardizasyonun

sağlanamadığı, ayrıca viral yükün bu hastalıkların patogeneziindeki rolü tam olarak aydınlatılamadığı bildirilmektedir (6).

EIA teknolojileri günümüzde sensitivite ve spesifite alternatifleri sunmasına rağmen IFA tekniği halen primer EBV enfeksiyonunun tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir (7,8). Bu yöntem EBV-VCA, EBV-EA ve EBNA antijenlerine karşı oluşan antikorların paralel olarak belirlenmesi ile akut ve geçirilmiş enfeksiyonları birbirinden ayırt ederken aynı zamanda reaktivasyon ve kronik enfeksiyonların belirlenmesini sağlar.

Çalışmamızda laboratuvarımıza EBV enfeksiyon şüphesi ile gönderilen hasta serumlarında EBV spesifik antikorları araştırdık. EBV VCA IgG, IgM, EA, EBNA antikorlarını ve VCA IgG aviditeyi IFA yöntemiyle araştırarak enfeksiyonun serolojik profillerini belirledik. Ayrıca bölgemizde farklı yaş gruplarındaki bireylerde EBV prevalansını saptamayı amaçladık.

EBV enfeksiyonu tanısında kullanılan spesifik testler özellikle heterofil antikorların bulunmadığı veya atipik lenfositozun bulunmadığı EBV enfeksiyonundan kuşku lanıldığı durumlarda tanı konmasında ve immünsüpresif kişilerde, transplantasyon yapılmış hastalarda akut enfeksiyon ile reaktivasyonun ayrılmasında kullanışlı, hızlı ve uygulanması kolay testlerdir.

Pek çok idiyopatik hastalığın ve nasofaringeal kanser ve Burkitt Lenfoma gibi malignitelerin etiyolojisinden sorumlu olduğu bilinen viral enfeksiyonun tanısında bu testlerin kullanılarak, etiyolojisinin aydınlatılması ve risk altında bulunan kişilerin belirlenmesi yararlı olacaktır. Bu nedenle, EBV enfeksiyonundan kuşku lanılan hastalarda bu virusa ait majör antijenlere karşı gelişmiş antikorların bakılmasının gerekli olduğu ve bu şekilde toplumda seroprevalansının doğru olarak belirlenmesinin mümkün olacağı düşünülmektedir. Seroprevalans konusundaki bilgiler özellikle organ nakli olan hastalar ve immüno suppressif hastalarda reaktivasyon ve primer EBV enfeksiyonunu tanımlamak amacıyla yapılacak çalışmalarda da yararlı olacaktır.

Sonuç olarak serolojik testlerin ve EBV viral yükünün tespiti için kullanılan testlerin standardizasyonu gelecekteki başlıca hedef olmalıdır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan testler, anamnestik yönleriyle birlikte, klinik semptomlara dayanarak klinik tanıyı destekler.

GENEL BİLGİLER

EPSTEİN-BARR VİRÜS

Epstein-Barr Virüsü (EBV), infeksiyöz mononükleozisin (İM) etiyolojik ajanıdır. Neredeyse herkes hayatının bir döneminde bu virüsle enfekte olur. Primer infeksiyonlar, kalabalık ve kötü hijyen koşulları bulunan bölgelerde, hayatın ilk on yılında gerçekleşir. Sanayileşmiş ülkelerde, nüfusun en az %50'si puberteden önce virüse karşı seropozitif olurlar. Çocukluktaki primer infeksiyonlar çoğunlukla asemptomatiktir. Genç erişkinlerde ise primer infeksiyonların %50-70'i klasik İM ile benzer tabloda, klinik şiddeti değişkenlik gösteren ve kendini sınırlayan bir lenfoproliferatif hastalıktır (2).

Tarihçe

Yorgunluk, ateş, farenjit, lenfadenopati, splenomegali ve mononükleer lökositozla karakterize olan hastalık ilk olarak 1889'da Pfeiffer tarafından Glanduler Ateş ve 1920'de Sprunt-Evans tarafından infeksiyöz mononükleoz (İM) olarak tanımlanmıştır (9).

1932'de Paul ve Bunnell, İM ile heterofil antikorların birlikteliğine dikkat çekmişlerdir. 1964'de Epstein ve arkadaşları, Burkitt lenfoma, tümör örneklerinin hücre kültürlerinde ve elektron mikroskobu (EM) ile yaptıkları incelemelerde, bazı lenfoblastlarda herpesvirüs ailesine benzer viral partiküller saptamışlardır. 1966'da Gertrude ve Henle, EBV olarak adlandırılan bu virüse karşı antikorların saptanması için İFA testini geliştirmiş, 1968'de Henle, İM ve EBV' nin ilişkisini öne sürmüş ve bu daha sonraki birçok araştırmacı tarafından da desteklenmiştir (9).

Viroloji

Fiziksel Özellikler

EBV, gama herpesvirüs grubundan olup diğer herpesvirüslerin karakteristik morfolojisini gösterir (10,11). Viryonlar 180-200 nm çapında olup üç komponentten oluşurlar. Bunlar; çift sarmallı DNA içeren santral, kor kısım (nükleotid), ikozahedral kapsid ve konak hücre membranından kaynaklanan dış zarftır (9,11,12).

Viryonda genom lineer yapıdayken, latent olarak enfekte hücredeyse sirküler yapıda, ekstrakromozomal plazmid görünümündedir. Bazı hücrelerde EBV-DNA, konak hücre kromozomuna dahil olur (12).

EBV Epstein-Barr virüs nükleer antijeni-2 (EBNA-2) geninin sekans farklılığına göre A ve B (veya 1 ve 2) olmak üzere ikiye ayrılır. Her bir tip coğrafik davranışı, doku tropizmi ve biyolojik davranış açısından da farklılık gösterir. A tipi daha yaygın olarak görülmektedir (13).

EBV B lenfositlere, tükürük bezi hücrelerine ve faringeal epitel hücrelerine tropizm gösterir (14). EBV nükleik asit dizileri; neoplastik dokularda (nazofaringeal karsinom (NPC), BL, timoma, immüno-supressif hastalardaki B hücreli lenfomalarda), orofaringeal epitel hücrelerinde, parotis bezi kanalı epitelinde, servikal epitelde ve dolaşan B lenfositlerinde saptanmıştır (15).

EBV B lenfositlerini ve muhtemelen diğer hücreleri CD21 (CR2 veya C3d) reseptörleri aracılığıyla enfekte eder (11,16,17). Enfekte hücrelerde litik veya latent enfeksiyonla sonlanan olayları başlatır.

Litik döngü şeması

Litik (prodüktif) siklusda B lenfositlerinin EBV ile enfeksiyonu hücre ölümüyle sonlanır. Enfekte hücrede eksprese olan ilk antijenler Epstein-Barr virüs nükleer antijeni (EBNA) ve erken membran antijeni (EMA) olup lenfosit-detected membran antijeni (LYDMA) de bunlar arasındadır. Bundan sonra iki erken antijen (EA) oluşur ki bunlar viral DNA sentezine neden olurlar. Viral DNA, viral kapsid antijeni (VCA) ve geç membran antijeni (LMA) oluşumunu yönetir. Sonunda virüs toplamı oluşarak hücre lizisine yol açar.

Latent döngü şeması

latent (nonprodüktif) enfeksiyon ise daha sık görülen formudur. Virüs ile enfekte B lenfositleri in vitro uygun koşullarda sınırsız replikasyona izin verirler ve bu lenfositler "transforme (veya ölümsüz)" olarak adlandırılırlar. Transforme lenfositlerde, plazmitler veya hücre DNA'sına lineer olarak integre olmuş şekilde birçok viral DNA kopyaları bulunur (9). Eksprese edilen proteinlerse EBNA 1,2,3, LMP-1 ve Terminal Protein (= TP-2 veya LMP-2) dir (18,16). Transforme hücrelerin bir kısmı yaşam boyu dolaşımda kalırken, bir kısmı T lenfositlerince parçalanır, bir kısmı da spontan litik siklusa girer. Parçalanan transforme lenfositlerden salınan antijenler, antikor yanıtına neden olur (9).

Latent kalan EBV, konak B hücrelerinin bazı kimyasal maddelerle veya yüzey immünoglobulinlerine (Ig) karşı olan antikorlarla karşılaşması sonucunda uyarılır. Bu uyarıdan sonra EBV'nin çok erken geni (EBV-BZLF-1= ZEBRA protein) aktive olur (11,19). Bu proteinin ekspresyonu; Viral replikasyondan sorumlu olan EA ve VCA üretimine yol

açarak hücreyi, yeni virionlar üretimi ve konak hücre yıkımıyla sonuçlanacak olan litik siklusa sokar. Latent olarak enfekte hücrenin yeniden litik siklusa girmesi EBV enfeksiyonunun reaktivasyonu ile sonuçlanır (11). Transforme B lenfositlerinde viral antijenler yanında Ig' ler de sentezlenip salgılır. Bu olay T hücrelerinden bağımsız olup başlıca IgM, ayrıca IgG ve IgA üretilir. Heterofil antikorların oluş mekanizmasının bu olay olduğu düşünülmektedir (11,14,20).

EBV-transforme lenfoblastik hücre serilerinin, B hücre büyüme faktörü aktivitesi gösterdiği ve böylece B hücrelerinin otokrin olarak proliferasyonuna izin verdiği saptanmıştır. Bu bağımsız büyüme için gereken majör büyüme faktörlerinden birisi CD23/Blast-2 molekülüdür (19). Ayrıca son yıllarda gösterilen ve insan interlekin-10 (IL-10)'a çok benzeyen, transforme hücrelerde erken dönemde eksprese edilen viral BCRF-1 (veya viral IL-10) güçlü bir B hücre büyüme faktörüdür. Viral IL-10' un B hücre transformasyonunun başlangıcı ve devamında kritik bir rolü olduğu düşünülmektedir (16,21).

Asiklovir ve diğer antiviral nükleotid analoglarına duyarlı olan enfeksiyon evresi, litik evre olup; bunun nedeni timidin kinaz ve viral DNA polimerazın sadece bu evrede eksprese edilmesidir (21).

Patogenez ve Immünite

EBV enfeksiyonunun muhtemel giriş yolu orofarinkstir. Bulaşmada tükürük önemlidir (9,11). EBV enfeksiyonuna karşı savunma mekanizmaları; mukus, epitelyal dokular, enfekte hücreden İNF salgınımı, “naturel killer” (NK) hücre aktivitesi, sitotoksik T hücreleri, nötralizan ve diğer antikorlar olarak sıralanabilir (17).

Orofarinkse gelen virüs, buradaki lenfoid dokularda bulunan B lenfositlerini aynı anda yada daha sonra enfekte eder. 30-50 günlük kuluçka döneminde lenforetiküler sistemde viral replikasyon ve disseminasyon olur (11). Enfeksiyonun hiçbir döneminde viremi saptanmamıştır, ancak EBNA eksprese eden enfekte B hücreleri akut ve reaktif enfeksiyonda kanda saptanabilirler. Ayrıca nazofarinksten serviks kadar birçok yerde virüs ekskresyonu saptanmıştır (19). EBV enfeksiyonuna karşı immün yanıt karışık olup hem humoral, hem de hücresel mekanizmaları kapsamaktadır (11).

Humoral Immünite

İnfeksiyonun 4-6 haftası içinde anti VCA antikorları belirir. Genellikle anti VCA IgM ve IgG aynı zamanda oluşursa da bazen IgM antikorları birkaç gün daha erken görülür. IgM antikorlar birkaç haftada kaybolurken anti VCA IgG yaşamboyu saptanabilen titrede kalır. Akut EBV enfeksiyonlu hastaların üçte ikisinde geçici olarak anti VCA IgA antikorı üretilir. Hastaların yaklaşık %85'inde EA kompleksine (genellikle D komponentine) karşı IgG belirmektedir. Anti EA-D nadiren 1-2 yıl persiste ederken, anti EA-R birkaç ay sonra ve geçici olarak üretilir. Anti EBNA antikorlar ise genellikle, başlangıçtan haftalar veya aylar sonra ortaya çıkar ve düşük titrede birçok hastada persiste eder (9).

EBV'le oluşan İM'de viral antijenlere karşı dolaşan antikorlar sentezlenmesi dışında, koyun, at ve sığır eritrositlerinde bulunan antijenlere karşı da antikorlar saptanır. Heterofil antikorlar olarak adlandırılan bu antikorlar başlıca IgM tipinde olup hastalığın patogenezi ve seyirindeki rolleri bilinmemektedir. Spesifik EBV antijenlerine karşı oluşan antikorlarla çapraz reaksiyon göstermezler. Ayrıca heterofil antikor titresiyle hastalığın ağırlığı arasında korelasyon saptanmamıştır.

Primer EBV enfeksiyonunda başka antikorlar da saptanır. Bunlar arasında trombosit, nötrofil, lenfosit, nükleer antijene karşı ve ampisilin bağlayan antikorlar bulunur. Bunlar bazı İM komplikasyonlarında rol alıyor olabilirler (11).

İM'de ayrıca protein 542'ye karşı IgM otoantikorları oluşur. Protein 542, EBNA-1 ile çapraz reaksiyon verir. Normal kişilerde anti-p542 bulunması çok nadirken progressif sistemik skleroz ve ülseratif kolit başta olmak üzere birçok kollajen doku hastalığında anti-p542 IgG düzeyi yüksektir. Yüksek anti-p542 antikor düzeyleri, bu hastalarda EBV'nin indükleyici rolünü gösteriyor olabilir (22).

Hücrel Immünite

Akut EBV enfeksiyonunda oluşan humoral yanıtla beraber veya daha önce hücrel immün reaksiyonlar olur (14). Hastalığın ilk birkaç haftasında mononükleer lökositoz vardır (11). Periferik kanda görülen atipik lenfositler başlıca T hücre proliferasyonuna bağlıdır. Hem helper (yardımcı), hem de supresör (sitotoksik=baskılayıcı) T lenfositler artmış olup supresör T lenfositlerdeki artış daha fazla olduğundan T helper/T supresör oranında geçici bir terse dönme olur (14). Atipik lenfositoz da supresör (CD8⁺) T hücre artışını yansıtmaktadır (19,23). İM'de supresör T hücrelerindeki (CD8⁺) artış normalin 100 katına kadar olabilmektedir. Hematolojik malignitelerde, viral enfeksiyonlarda ve kollajen doku hastalıklarında da CD8

artışı olursa da İM'deki seviyeye genellikle erişilmez (24). T hücrelerindeki artışın nedeni, EBV ile oluşan B hücre proliferasyonunu ve poliklonal aktivasyonu durdurmaktır. Akut enfeksiyonda supresör T hücreleri, Ig sekresyonunu da inhibe ederler (14). Hücrel immünitedeki fonksiyonel değişiklikler nedeniyle tüberkülin testi ve Candida albicans'da kutanöz yanıt negatifleşir ve bu 6 hafta kadar sürebilir (9,25). İn vitro olarak da mitojenlere yanıt azalır (9, 11,14).

Hastalığın kontrolünde NK hücre aktivitesi de önemli rol almaktadır. X'e bağlı Lenfoproliferatif Sendromda (XLPS) bu hücrelerin eksikliği nedeniyle EBV enfeksiyonundan sonra lenfoproliferatif malignite gelişir (9).

Klinik iyileşme olmasına ve hücrel-humoral immünitinin varlığına karşın EBV konaktan elimine edilemez; latent olarak kalır. İM'den iyileştikten 12-18 ay sonra dahi orofarinksten virüs izole edilebilir, sağlıklı ve immünyetmezlikli kişilerde reaktivasyon görülebilir (11). Virüsün konaktan tamamen elimine edilmemesi şeklindeki virüs-konak dengesinin nasıl kontrol edildiği bilinmemektedir. Ancak uzun süre immünosupressif tedavi olan böbrek transplant alıcılarında yapılan çalışmalarda EBV replikasyonunun kontrolünün büyük oranda hücrel immüniteyle olduğu görülür. Bu hastalarda orofaringeal virüs salınımı artmakta olup, EBV-litik siklus antijenlerine karşı yüksek antikor titreleri saptanır. Ayrıca dolaşan EBV enfekte B lenfositlerin sayısında da artma olması immün denetim mekanizmasında bir azalmaya bağlıdır. İmmünosupressif olan bu hastalarda EBV ile ilgili B hücrelerinin lenfoproliferatif hastalığı ve lenfoma insidansı da yüksektir. Bu da hücrel immünite eksikliğinde olan B lenfosit proliferasyonu ve poliklonal aktivasyonu ile açıklanmaktadır. Bu vakalarda, düzensiz ekspresyonlu c-myc onkojeni olduğu ve kromozomal translokasyon taşıyan B hücrelerinin EBV enfeksiyonu ile tamamen malign potansiyel taşıyan bir hücre klonuna dönüştükleri ileri sürülmektedir (26).

Epidemiyoloji

Yayılım Yolu

En muhtemel bulaşma yolu çocuklarda oral-tükürük yoluyla ve genç erişkinlerde yakın (oral) temasladır. İnfeksiyöz virüs tükürükte taşınır. Akut İM'de tükürükte virüs salınımı %100 olup bu 18 aya kadar sürebilir (11,12). EBV enfeksiyonu geçiren seropozitif kişilerde tükürükte viral ekskresyon oranı %15 iken, immünosupressiflerde oran %50'den fazladır. İnfeksiyon ayrıca, EBV enfekte lenfositler yoluyla kanla da bulaşır (27). EBV geni ve antijenleri parotis

kanalı ve serviks epitelinde de gösterilmiştir, ancak bunların bulaşmadaki rolleri henüz bilinmemektedir.

EBV nisbeten labil bir virüstür, bu nedenle bulaştırıcılığı az olan bir virüs olup gerçek İM epidemileri pek mümkün görünmemektedir (11).

Serum Antikor Prevalansı

EBV, çalışılan tüm popülasyonlarda antikorları sıkça saptanan bir virüstür. Topluluğun yaşama şartlarına ve sosyoekonomik durumuna (SED) bağlı olarak EBV enfeksiyonunun seroepidemiolojik şekilleri saptanmıştır (9). Gelişmiş ülkelerde ve kalabalık toplumlarda (Çin, Japonya) çocukların %90'ından fazlasında 3.yaşta EBV antikorları saptanır. Gelişmiş ülkelerde ve özellikle SED'i yüksek olan ailelerde enfeksiyon, sıklıkla, geç çocukluk ve puberte döneminde görülmektedir. İngiltere ve ABD'de 5 yaş altında antikor sıklığı %50 olup ikinci pik ise 2.dekatta görülür (9,11).

Yüksek SED'li kişiler arasında enfeksiyon kazanımı eğrisi bifazik olup yaşamın ilk iki yılında ve geç puberte-geç erişkinlik dönemlerinde pik yapar (9). Genellikle genç erişkinlerde antikor sıklığı %50-90 olup, SED'e bakmaksızın 3. dekatın sonunda yaklaşık %100'dür (11,12).

İnfeksiyon insidansı

İM, en sık primer EBV enfeksiyonuna maruz kalma yaşının 2. dekata kadar geciktiği toplumlarda görülür. En sık, gelişmiş ülkelerdeki yüksek SED'li adolesanlardadır. ABD'de İM insidansı 45,2 vaka/100.000 /yıl olup en sık 15-24 yaşlarındadır. Kız ve erkeklerde insidanslar benzerdir, ancak pik görülme yaşı kızlarda 2 yıl daha erkendir (11).

Epidemiolojik Faktörler

EBV enfeksiyonunun insidansı ve yayılımını etkileyen faktörler klinik İM'a neden olanlardan farklıdır. İnfeksiyon olasılığı tükrüğe maruz kalmaya neden olan hijyen şartları ve kültür düzeyiyle ilgilidir. Klinik İM'da rol alan faktörlerse, enfeksiyona maruz kalma yaşı, immün durum, genetik ve psiko-sosyal etkenlerdir. EBV enfeksiyonu düşük SED'de yaşamın erken dönemlerinde ve genellikle asemptomatik olurken, klinik İM daha çok gelişmiş ülkelerde ve yüksek SED koşullarında görülür (20).

Kalabalık ve kötü hijyen koşullarında bulunan çocuklarda enfeksiyon sık olmakla beraber genç erişkinlerde bulaşıcılık azdır, İM'li vakanın oda arkadaşlarında sekonder vakalar nadirdir (11,21). Aile içi bulaşıcılığa dair yayınlarda farklı sonuçlar bildirilmektedir. Aile

içinde serokonversiyon oranının %10-20 civarında olduğu ileri sürülmektedir (28,29). Bir çalışmada ise İM'li çocuğun erişkin aile bireylerinde orofaringeal ekskresyon oranında ve serum antikor titrelerinde yükselme saptanmış, reaktivasyon olarak yorumlanmış ve aile içindeki seronegatif çocuk için bu erişkinlerin önemli bir kaynak olabileceği bildirilmiştir. Aynı nedenle İM'li çocuğun kardeşlerinde de primer infeksiyonda İM gelişme riskinin yüksek olduğu öne sürülmüştür (30).

Yapılan çalışmalarda en yüksek İM oranı kolejlerde ve askeri kışlalarda saptanmıştır. Seronegatif kolej öğrencilerinde serokonversiyon oranı yılda %12'dir ve çoğu subklinik infeksiyondur (11,31,32). Memurlarda da İM oranı yüksektir. Bu gruplardaki yükseklik, SED'nin ve hijyen koşullarının etkisi şeklinde yorumlanmaktadır (21). Hastane koşullarında ise bulaşıcılık oranı normal popülasyondan fazla değildir (33).

Bir ailenin 3 üyesinde fatal İM bildirilmiştir ve bu vakalarda virüse konak yanıtında genetik bir defekt olduğu düşünülmüştür (34). Genetik olarak immün yanıt kontrolü, klinik hastalığın ağırlığını, virüs persistansını ve onkolojik sonuç oluşumunu (XLPS'da olduğu gibi) etkilemektedir (21).

İM'in siyahlarda daha sık olması da SED'in, hijyen ve kültürel faktörlerin etkisi gibi görünmektedir (11,21).

Her 2 cinste İM oranı aynı olup ilk dekatta erkeklerde daha sık olduğu, ancak kızlarda pik görülme yaşının 16, erkeklerdeyse 18 olduğu bildirilmektedir (20,35).

Yapılan çalışmalarda infeksiyon sıklığının mevsimlerle direkt olarak ilişkisi olmadığı söylenmekle birlikte, en yüksek oranlar yaz mevsimi sonunda ve ilkbaharda verilmektedir (36).

EBV infeksiyonu izole adalar ve Afrika kabileleri dahil her toplumda sıklıkla görülür (37). İki tip EBV, coğrafik davranış açısından farklılıklar gösterir. Tip A sıklıkla karşılaşılan infeksiyon nedeni iken, Tip B'nin daha çok Afrika'nın endemik bölgelerinde görüldüğü bildirilmektedir. Ayrıca Tip B enfeksiyonu AIDS'li hastalarda ve immünosuprese hastalarda sıktır (38).

Sonuç olarak anlamlı epidemiyolojik faktörler yaş, sosyo-ekonomik düzey ve coğrafik yerleşim olarak sıralanabilir (12).

Klinik

EBV'nin geniş bir hastalık spektrumu olmakla birlikte başlıca 6 farklı grupta inceleyebiliriz.

1.Klasik Infeksiyöz Mononükleoz

Primer EBV enfeksiyonu, erken çocukluk çağında sık görülmekte olup genellikle asemptomatiktir veya hafif faringeal semptomlar yapar. Enfekte olmamış adolesan ve genç erişkinlerin %30-45'i EBV ile karşılaştıklarında İM tablosu görülür (39).

İM, klinik olarak boğaz ağrısı, ateş ve lenfadenopatiyle karakterize, serolojik olarak heterofil antikorların geçici oluşumu ve hematolojik olarak atipik lenfositöz ve mononükleer lökositözla birlikte olan, kendi kendini sınırlayan lenfoproliferatif bir hastalıktır. Bütün belirtiler her hastada birlikte görülme de belirtilerin çoğu görülebilir. Belirtilerin görülmesi hastanın yaşı ile önemli ölçüde ilişkilidir (11,39).

Hastalığın kuluçka dönemi 30-50 gün arasındadır. Bulaşma tükürük veya kan yoluyla (9). Hastalığın akut döneminin 3 hafta kadar sürdüğü, nekahat döneminin 4-8 hafta, geç döneminin ise 9-28 hafta arasında olduğu kabul edilmektedir (35).

Semptomlar

Baş ağrısı, ateş, titreme, iştahsızlık ve halsizliği takiben lenfadenopati ve ağır boğaz ağrısıyla sinsi veya aniden başlar (12). Baş ağrısı retroorbital karakterdedir, miyalji ve karında doluluk hissi diğer sık prodromal belirtilerdir. Birçok hastada ateş, boğaz ağrısı ve lenfadenopati triadı vardır. Boğaz ağrısı en sık şikayet olup hastanın daha önce yaşadıklarının en şiddetlisidir. Nadiren hastalığın ilk belirtisi komplikasyonlardan biridir (11). Hastalarda %3-19 sıklıkta, genellikle gövde ve kollarda görülen, maküler, peteşiyal, skarlatiniform, ürtikeriyal veya eritema multiforme benzeri bir döküntü belirir. Döküntü ilk birkaç günde başlar ve 1-6 gün sürer. İM'li hastalarda ampisilin verilmesiyle %90-100 oranında kaşıntılı, makülopapüler bir döküntü olduğu ve bunun ilacın veriminden 5-10 gün sonra görülüp ayak tabanı ve ayalar dahil vücuda yayıldığı bildirilmektedir (11,12).

Komplikasyonlar

- 1) Hematolojik: Otoimmün hemolitik anemi (%0,5-3) (11), hafif trombopeni sıklıkla (Komplike olmayan İM'li hastalarda da %50 oranında $140.000/mm^3$ 'ün altında trombosit sayısı bildirilmektedir) (9,11), Aplastik anemi, agranülositoz, agamaglobulinemi ve sekonder bakteriyel infeksiyonlar sonucu ölüm görülebilir (11,12). EBV, virüsle birlikte olan hemofagositik sendromun da sık bir nedenidir.
- 2) Splenik rüptür: Nadir olmakla birlikte ağır bir tablodur (9,11).
- 3) Nörolojik: Sıklığı %1'den azdır. Ancak bazen ilk ve tek belirti olabilir. Ensefalit, sıklıkla serebellit şeklindedir, aseptik menenjit şeklinde de görülebilir. Primer EBV enfeksiyonunda Guillian Barre Sendromu, Bell paralizi, transvers miyelit, nöropati, uzun süren depresyonda görülebilir (11,21,42). Nörolojik komplikasyonlar %85 oranında tamamen düzelirse de İM'den ölümün en sık sebebidir (9,11,43).
- 4) Hepatik: Hastaların %80-90'ında karaciğer enzimleri yükselir. Hiperbilirubinemi sıklığı %25 olarak bildirilirse de sarılık oranı %5'dir. Nadiren siroza ve diğer kronik sekillere ilerleyen vakalar bildirilir (12).
- 5) Kardiak: EKG bozukluğu genellikle ST-T değişiklikleri şeklinde olup bir seride vakaların %6'sında bildirilmektedir. Nadiren perikardit ve fatal miyokardit görülür (9,11).
- 6) Pulmoner: Az sayıda hastada paroksizmal öksürük gelişir, yaygın adenopatili hastalarda hiler lenfadenopati bulunabilir. Vakaların %3-5'inde interstisyel infiltratlar bildirildiyse de diğer sebepler de araştırılmalıdır (11,12).
- 7) Diğer komplikasyonlar: EBV'e bağlı Reye sendromu, pankreatit, glomerulonefrit, hemolitik üremik sendrom, orşit, göz komplikasyonları ve üst havayolu obstrüksiyonu bildirilmiştir (9,43).

2.Küçük Çocuklarda İM

Küçük çocuklarda da primer EBV enfeksiyonunun klasik İM ile beraber olabildiğine dair yayınlar vardır. Ancak klinik belirtilerin sıklığı farklı olabilir (11,38,44). Laboratuvar bulguları açısından da farklılıklar gösterir. Atipik lenfosit oranı nisbeten daha düşük olup lökositoz daha yüksek olabilir ve lenfosit hakimiyeti daha belirgindir. Nötropeni insidansı da erişkinlere göre fazladır. Heterofil antikor yanıtı daha nadirdir (yaklaşık olarak %50) (11,38,43), küçük çocuklarda anti VCA IgM antikoruna daha az oranda saptanmaktadır. Ayrıca

küçük çocuklarda anti EA-R antikor yanıtı erişkinlerden daha sık ve anti EBNA antikor yanıtıysa daha erken olmaktadır (28,45,46).

3. Kronik veya Persistan EBV Enfeksiyonu

Kronik veya Persistan EBV Enfeksiyonu deyimi, bir yıldan fazla bu semptomları olan, önceden İM geçiren ve semptomlarının başka bir sebebi olmayan hastalar için kullanılmıştır. Hastalığın başlıca semptomları ateş, yorgunluk, baş ağrısı ve depresyon olarak tanımlanmıştır (39). Daha sonraları İM geçirmemiş olan hastalarda da görülebileceği ve bunun latent EBV enfeksiyonun reaktivasyonuna bağlı olabileceği bildirilmiştir. Anti VCA ve anti EA antikor titrelerinde artma saptanması reaktif EBV enfeksiyonunu gösteren parametrelerdir (14,39, 40,41,45).

Bu hastalarda orofaringeal EBV ekskresyonu ise normal veya artmış sıklıkla saptanabilir (14,48,49). Daha çok kadınlarda ve 25-45 yaşları arasında görülen hastalık sporadik nörosteni olarak da adlandırılır (14). Daha yeni yayınlarda kronik EBV enfeksiyonu olarak tanımlanan hastalarda viral replikasyonu gösteren EBV-DNA ve DNA polimeraza karşı da artmış antikor yanıtı olduğu saptandı ve bu kişilerde lenfoma riskinin arttığı bildirilmiştir (50).

Bununla birlikte hastalarda CMV, HSV ve kızamık antikor titrelerinde de yükseklik saptanması ve bazı immünolojik bozukluklar bulunması, EBV'nin hastalığın sebebi olduğuna dair kuşkulara yol açmıştır (14,47). Objektif kriterleri olmayan bu sendrom için son yıllardaki eğilim, sendromun esas özelliği olarak EBV'nin değil, yorgunluğun temel alınması şeklindedir ve bu nedenle sendrom genellikle Kronik Yorgunluk Sendromu (CFS) olarak adlandırılmaktadır (51). CFS'li birçok hastada ayrıca, EBV antikor titreleri normaldir ve hatta bazılarında negatiftir (48). CFS'de suçlanan diğer ajanlar HHV-6 coxsackie virüs, Brusella , Borrelia ve Candida'dır (52)

4. Atipik Primer EBV Enfeksiyonu

Herhangi bir organda belirti verir. En sık görülen belirti hepatittir. Heterofil antikor negatifliği ve atipik lenfositlerin düşük veya hiç olmaması ile karakterizedir. Tanı spesifik serolojik testlerle konur (38).

5.EBV ve Lenfoproliferatif Hastalıklar

1) X'e bağılı Lenfoproliferatif Sendrom (Duncan Hastalığı): Sitotoksik T hücreleri ve NK hücre aktivitesinde bozukluk dahil birçok immünolojik bozukluk olan ve bir ailenin birden fazla erkek çocuğunda görülebilen bir hastalıktır (20). Hastalarda EBV dışındaki enfeksiyonlarda genellikle önemli bir sorun olmaz ve EBV enfeksiyonuna kadar normal görünürler (9,14). Hastalar primer EBV enfeksiyonunda genelde fatal İM geliştirirler. EBV'ye karşı immünolojik yanıt yetersiz olduğundan kontrolsüz B hücre proliferasyonu görülür (9,17). Primer EBV enfeksiyonundan sonra yaşayan hastalarda ise akkiz hipogammaglobulinemi ve genelde ileoçekal bölge yerleşimli lenfoma oluşur (17).

2) Akkiz İmmünyetmezliği olan hastalarda EBV enfeksiyonu: Böbrek, kalp, kemik iliği, karaciğer, timus nakli yapılan ve immünosupressif tedavi gören hastalarda selim seyirli İM benzeri sendromdan, fatal yaygın lenfoproliferatif hastalığa ve belirgin lenfomaya kadar değişen birçok EBV ile ilişkili hastalık bildirilmiştir .

3) Burkitt Lenfoma (BL): B hücre lenfoblastik tümörü olup bir virüse bağlanan ilk insan tümörüdür (43). Endemik alanlarda çocukluk çağı malignitelerinin en sık olanıdır ve sıklığı yılda 8-10/100.000'e ulaşır. Tedavi edilmezse 1 yılda ölüm oranı %80'dir. Ancak kemoterapiye duyarlıdır ve 1 yıllık ölüm oranı %20'ye inmiştir. Özellikle Doğu Afrika ve Yeni Gine'de sıktır. Malaryanın da endemik olduğu bölgelerde görülmesi nedeniyle, malarya enfeksiyonu sonucu EBV-infekte hücrelere karşı T hücre yanıtının baskılandığı ve tümör oluşumundan sorumlu olduğu öne sürülmüşse de ispatlanamamıştır (12,20). BL'nin endemik bölgelerde görülme yaşı ortalama 7.7–9.2 yaş olup sporadik olanlarda yaş biraz daha fazladır.

Hastalığın EBV ile birlikteliği iki bulguya dayanır: a)Endemik (Afrika) tipi birçok BL'da (%90-96 oranında) EBV genomunun gösterilmesi, b)Serolojik bulgular: BL gelişiminden aylar-yıllar önce bu çocuklarda EBV enfeksiyonu ve anti VCA antikor titresinin yüksek olduğu saptanmıştır. Hastalık belirince de anti VCA ve anti EA antikorları yaklaşık 10 kat artmaktadır (12,20). Endemik bölge dışındaki BLde ise EBV-DNA sıklığı %20 civarındadır (12). Ayrıca endemik BL'da tedaviyle tümör kitlesi azaldıkça EBV antikor titreleri de azalmaktadır (9).

BL'da immünglobulin genleri içeren ve c myc protoonkojen lokusu taşıyan kromozom 8q24'de translokasyon vardır ve endemik veya sporadik olsun tüm BL'da saptanabilir. %75 vakada t(8; 14) olup 8. kromozomun uzun koluyla 14. kromozomun uzun kolu arasında resiprokal translokasyon vardır (12,20). EBV'nin bir kofaktör olarak etki ettiği

düşünülmektedir. BL'da eksprese edilen tek EBV proteini EBNA-1'dir. EBNA-1 sitotoksik T hücrelerince tanınmaz. Ayrıca EBNA-1 spesifik olarak c myc gen ekspresyonunun artmasında da rol alabilir (11).

4) Nazofaringeal Karsinoma (NPC): Özellikle Güney Asya'da, Çin'de sık olan epiteliyal hücreli anaplastik NPC'da EBV ile birliktelik sıktır. Diferansiye olmamış NPC'li hastaların tümünde, diferansiye olanlarınsa bazılarında EBV-DNA saptanır (12,38). Tümör gelişiminden yıllarca önce bu hastalarda anti VCA IgG ve sağlıklılarda nadir rastlanan IgA antikorları 10–15 kat yüksek olup, yüksek anti VCA IgA antikor olanlarda da % 20 oranında biopside NPC saptanmıştır (11,12,39,53).

Etiyolojisinde BL gibi immünolojik, genetik ve çevresel (EBV) faktörler sorumlu tutulmakta olup remisyondayken, daha önce yüksek olan EBV antikor titrelerinde azalma görülmektedir (11,43).

5) Diğer Tümörler ve EBV: Hodgkin hastalarında % 20–40 oranında EBV-DNA ve EBNA-1'in gösterilmesi, EBV'nin Hodgkin lenfomanın patogenezeine de katkıda bulunabileceğini göstermiştir (11). Oranın daha az gelişmiş olan ülkelerde daha fazla olduğu bildirilmiştir (21). Yapılan çalışmalarda özellikle pediatrik hastalarda ve mikst sellüler tip histolojisi gösteren vakalarda önemli oranda birliktelik saptanmıştır. EBV DNA'nın başlıca Reed Steinberg hücrelerinde bulunduğu bildirilmiştir (11).

Periferik T hücreli lenfomalar da bazen EBV ile birliktedir. Özellikle lenfomatoid granülomatozis ve burundaki T hücreli lenfomalarda kuvvetli birliktelik saptanmıştır. Aynı şekilde erişkinlerin T hücreli lösemi-lenfomasının da EBV ile ilişkili olabileceği söylenmiştir (21).

NPC gibi primitif farinks orijinli olan timus Ca ve parotis Ca'da da yüksek düzeyde EBV-DNA ve EBNA saptanmıştır. Ayrıca anti VCA IgA ve anti EA-D antikorlarının yüksek bulunduğu bildirilmiştir (21, 53,54).

Özellikle Japonya'da görülen diferansiye olmamış mide Ca'da da hemen daima EBV ile birliktelik saptanmaktadır (21).

6. Konjenital EBV Enfeksiyonu

Gebelikte persistan EBV enfeksiyonunun reaktivasyonu sık olmakla birlikte genellikle bunun fetusu etkilemediği düşünülmektedir (55). Gebelikte primer EBV enfeksiyonu geçiren anne çocuklarındaysa veriler değişkendir. Genellikle EBV ile intrauterin enfeksiyon

saptanmamakla birlikte, bu çocuklarda konjenital kalp hastalığı ve katarakt sıklığının arttığını bildiren yayınlar da vardır (56,57). Ayrıca yenidoğan döneminde anti VCA IgM pozitif olan, lenfosit kültüründe ilk 3 ay boyunca EBNA saptanan ve persistan monositozu olan multipl konjenital anomalili bir bebek bildirilmiştir. Özellikle persistan atipik lenfositozu mevcut ve diğer sebepler saptanmayan konjenital anomalili yenidoğanlarda intrauterin EBV enfeksiyonunun da düşünülmesi gerektiği vurgulanmaktadır (58).

Laboratuvar

Hematolojik Bulgular

İM'de başlıca hematolojik bulgu lenfositozdur. Lökosit sayısı sıklıkla 12.000–18.000/mm³ olup %60-70'ini monosit ve lenfositler oluşturur. %20 hastada ise başlangıçta lökopeni vardır. Lenfositoz 2. ve 3. haftada maksimum olur (9,11).

En az %10, genellikle %20'den fazla atipik lenfosit görülür. Ancak patognomik değildir. CMV, toksoplazmoz, akut hepatit, rubella, roseola, kabakulak, ilaç reaksiyonları, primer atipik pnömoni, allerjik rinit ve astımda da görülebilir. Ancak en fazla oran İM'dedir (9,11, 12,15). Atipik lenfositler genellikle olgun lenfositlerden daha büyük, sitoplazmaları vakuollü ve bazofilik olup nüveleri lobüle ve ekzantirik yerleşimlidir (11,12). Trombopeni sıktır. Anemi görülebilir (9,11).

Hafif İM vakalarında lökositlerde benzer değişiklikler olsa da, İM kliniği olmayan hastalarda atipik lenfositoz görülmez (9).

Heterofil Antikorlar

İM'de koyun, sığır, keçi ve at eritrosit aglütininleri görülür. Genellikle kobay serumuyla absorpsiyondan sonra >1/40 titrede heterofil antikor varlığı, klinikle beraber. İM'nin bir göstergesidir. Günümüzde spesifik ve sensitif spot kitlerle saptanabilmektedir. Monospot testlerde yanlış pozitiflik, lenfoma ve hepatit durumlarında bildirilmiştir (11).

Heterofil antikorlar genellikle başlangıçta, bazense 1–4 hafta sonra ortaya çıkarlar. Geç çıkması, daha uzun bir nekahate işaret edebilir. Genellikle IgM sınıfından olup 3-6 ayda kaybolurlar. Bazen de 2 yıla kadar pozitif bulunurlar (9,12). Hastalığın 2–3. haftasında pik yaparlar (59).

Erişkin hastalarda %80–90 oranında saptanan heterofil antikorların 5 yaş altındaki çocukların %20-50'sinde negatif olduğu bildirilmektedir (11,17,19). Ancak son yıllardaki çalışmalarda yanıtın düşük sıklıkta olmasından çok, düşük titrede olduğu ve immünadherens

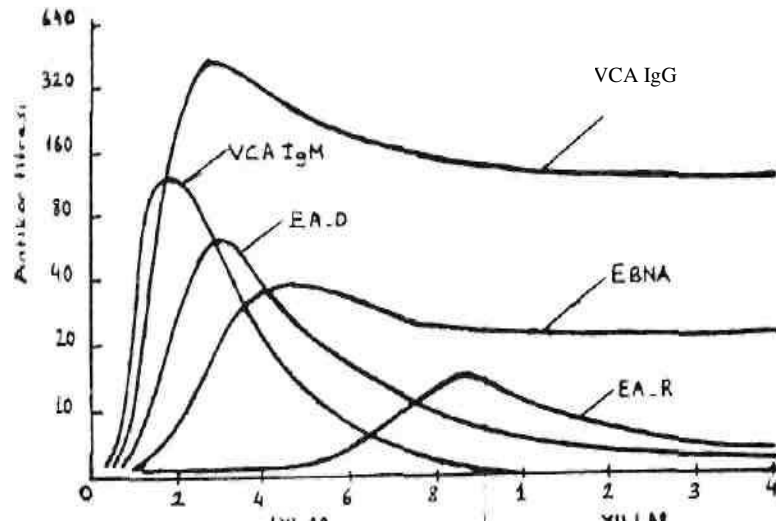
hemaglütinin (IAHA) gibi duyarlı testlerle erişkinlerdeki oranlarda saptanabildiği bildirilmiştir (9).

Diğer

Birçok hastada immünolojik değişiklik olur. Soğuk aglütininler, Weil-Felix litresinde ve febril aglütininlerde artış, sifiliz serolojisinde yanlış pozitiflik saptanır. Tüm immünglobulin sınıfları artmıştır (9,11).

%80-90 vakada karaciğer enzimleri (SGOT,SGPT, LDH) 2-3 kat artar ve genellikle 3-5 haftada normale döner. ALP artışı %60 oranında görülür, genellikle 10 mg/dl altında olan hiperbilirubinemi sıklığı %25-45 olarak bildirilmektedir (9,11,14).

Orofarinksten virüs ekskresyonu akut İM'da %100 olup, daha sonra da devam edebilir (9). Özellikle heterofil antikor negatif ve atipik vakalarda tanı, EBV-spesifik antikorlarla konur (Şekil1).



aynı anda anti VCA IgM de belirir ve 6-12 haftada azalarak kaybolur. Vakaların üçte ikisinde ise geçici anti VCA IgA antikorları saptanır (9,11,59).

Anti EA antikorlar: Boyanma karakterlerine göre EA'lar diffüz (D) ve sınırlı (R) olmak üzere ikiye ayrılırlar. Akut İM'de %70 oranında saptanan anti EA-D antikorları genellikle anti VCA antikorlarından sonra, 1/20-1/80 titrelerinde belirir ve iyileşmeden 3-6 ay sonra kaybolur. Nadiren 1-2 yıl pozitif kalır (9,11,19,59). Anti VCA IgG ve anti EA-D antikorları varlığı akut EBV enfeksiyonunu gösterir. Anti EA-D antikor varlığı ve titresi, klinik hastalığın süresi ve ağırlığı ile ilişkilidir (11,48). Anti EA-R antikorları genellikle uzamış veya atipik vakalarda ve daha geç olarak çıkar. Yaklaşık 2 yıl sonra kaybolur. Reaktif enfeksiyonda anti EA-D veya R tekrar ortaya çıkarlar (11).

Anti EBNA antikorlar: EBNA'nın 6 komponenti vardır. İM başlangıcından sonraki üç ayda anti EBNA-2 ve 6 antikorları yükselir. Vakaların yaklaşık üçte ikisinde saptanabilen anti EBNA-2 titresi azalırken, anti EBNA-1 antikorları ortaya çıkarak 6-12 ayda pik düzeye ulaşır. İlk 6-12 ay içinde genellikle anti EBNA 1/2 titreleri oranı <1.0 olur. Genellikle anti EBNA-1 titresi yaşam boyu saptanabilen düzeyde kalır (18,60). Önceden anti VCA antikorları pozitif ve anti EBNA antikorları negatif olan kimsede EBNA antikorlarının ortaya çıkışı yeni EBV enfeksiyonunu gösterir (11,23). Kronik EBV enfeksiyonunda ise anti EBNA 1/2 titresinin ≤1.0 olarak persiste ettiği bildirilmektedir (19).

EBV membran antijenlerine karşı oluşan antikorlar (anti MA) genellikle kısa sürede belirirler ve hayat boyu persiste ederler, ancak yanlış pozitif test sonuçları sıktır (9). EBV nötralizan antikorlar geç görülür ve başlangıçtan 6-7 hafta sonra pik yaparak, yaşam boyu persiste ederler, rutinde kullanılmazlar (11,18).

Solübl antijenlere karşı oluşan anti S antikorları EBNA antikorlarıyla aynı zamanda ortaya çıkarlar ve yaşam boyu kalırlar (11).

Özetlemek gerekirse: İM'de ilk olarak anti VCA IgM ve IgG, anti EA-D ve heterofil antikorlar, daha sonra anti MA ve nötralizan antikorlar ve en son da anti S ve anti-EBNA antikorları ortaya çıkarlar.

EBV serolojisi için ideal olarak anti VCA IgG, anti EA IgG ve anti EBNA antikorları ölçülmelidir. Tek bir serumda bunlara bakılarak hastaların %90-95'inde doğru sınıflama yapılabilir, anti EBNA antikorları sayesinde primer enfeksiyon 2-3. ayındayken de tanınabilir. Primer enfeksiyon için mutlaka anti VCA IgM bakılması gerekmez. Ayrıca IgM antikorları,

serumda romatoid faktör (RF) varlığında yanlış pozitif ve serumun geç alınmasında yanlış negatif sonuç verebilir (18).

Serolojik Testlerin Yorumu

Anti VCA, EA ve EBNA antikorlarına göre hastalar ayrılırlar:

- 1) Anti VCA (-) ise duyarlıdır.
- 2) Anti VCA (+) ve anti EBNA (-) ise primer infeksiyondur.
- 3) Anti VCA ve anti EBNA (+) ise önceden geçirilmiş infeksiyondur.
- 4) Yeni veya reaktif infeksiyon tanısında anti EA-D çok yararlıdır. Anti EBNA negatif iken anti EA varlığı primer infeksiyonu; anti EBNA (+) iken anti EA'nın da (+) olması ise reaktif olmuş eski infeksiyonu gösterir.

İM'de anti VCA IgM pozitifliği %85-90 arasındadır. Kalan %10-15 hastada genellikle ilk serum örneğinde anti EBNA antikorları negatif olup 4-6 hafta sonra test edilen ikinci örnekte anti EBNA'nın pozitif bulunmasıyla primer EBV infeksiyonu tanısı konabilir.

EBV ile ilişkili tümörlerde antikor düzeylerinde değişiklik oldukça yavaş olduğundan 3-4 aydan kısa sürelerde antikor titrelerini kontrol etmek anlamsızdır (18).

Bu bilgiler ışığında EBV ile ilişkili hastalıkların serolojik özellikleri şu şekilde özetlenebilir (Tablo 1).

Tablo 1: EBV ile ilişkili durumlarda serolojik profiller

Antikorlar		Antikor varlığı						
		Nonimmün	İnfeksiyon			Reaktivasyon	BL	NPC
			Akut primer	Yeni geçirilmiş	Eski infeksiyon			
VCA	IgM	-	+	-	-	-	-	-
	IgG	-	+	+	+	+	++	++
	IgA	-	+/-	-	-	-	-	++
EA/D	IgG	-	+ ^a	+	-	+/-	-	++
	IgA	-	-	-	-	?	-	++
EA/R	IgG	-	+/- ^b	+/-	-	+/-	++	+/-
Anti-EBNA		-	-	Düşük +	+	+	+	++

a: EA/D IgG antikorları genellikle İM'de görülür

b: EAR IgG antikorları genellikle sessiz primer EBV infeksiyonunda görülür.

1) İM: Yukarıda özetlenen antikor profilleri göz önüne alınarak İM'nin serolojik tanısı için şu kriterler ileri sürülmüştür:

- a)Erken dönemde anti VCA IgM'in (+) olup daha sonra kaybolması,
- b)Anti VCA IgG antikor titresinde 4 kat veya daha fazla artış saptanması,
- c)Anti EA-D (+) liği,
- d)Anti VCA IgG (+) liği yanında anti EBNA antikorunun (-) veya düşük titrede olması ve geç ortaya çıkması (11,35,59).

2) Asemptomatik primer EBV enfeksiyonu: Anti VCA ve anti EBNA antikorlarının gelişimi İM'ye benzer, ancak 1/80'i geçen pik anti VCA IgM titresi nadirdir. İM'de genellikle tanı anında anti EA-D antikorunu bulunurken, asemptomatik primer enfeksiyonda birkaç ay sonra sadece anti EA-R antikorunu ortaya çıkar. Heterofil antikorların saptanabilir düzeyde bulunması da nadirdir (9).

3) Burkitt Lenfoma: Genellikle anti VCA, MA, EA-R ve EBNA IgG antikor titreleri saptanır. Daha az oranda anti VCA IgA da görülebilir. Yüksek titrelerdeki anti VCA IgG ve anti EA-R kuraldır. Anti EA-R antikorunu tedaviyle azalır veya kaybolursa iyi prognoza işaret edebilir. Anti EA-D antikor varlığı ise genellikle kötü prognoz göstergesidir (9,19,48).

4) Nazofaringeal karsinoma: Genellikle yüksek titrelerde anti VCA, MA ve EA-D IgG antikorları vardır. Anti VCA IgA ve anti EA-D IgA da sıklıkla yüksek düzeyde bulunur. Tedaviyle antikor titreleri düşer (9,19). Yapılan çalışmalarda anti DNaz antikor sıklık ve düzeyi de anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (14,47).

EBV'nin Saptanmasına Dair Yöntemler

EBV viryonlarının EM ile saptanması genellikle mümkün değildir. Sadece dildeki lökoplakinin biopsi örneğinde yüksek konsantrasyonda viryonlar gösterilebilmiştir.

Genellikle EBV varlığı, indüklenen proteinler veya viral genomun saptanmasıyla gösterilebilir. Litik enfeksiyonla ilgili EA ve latent enfeksiyonla ilgili EBNA'nın varlığı antikompleman indirekt immünofluoresan boyama teknikleriyle (ACIF) dokularda gösterilebilir (18). Ayrıca DNA hibridizasyonu ve monoklonal antikor tekniklerine dayanan hızlı tanı testleri de geliştirilmiştir (11). Patolojik materyalde EBV gösteriminde en spesifik yöntem nükleik asid hibridizasyonu olup 3 teknik vardır:

- 1)Southern hibridizasyon,
- 2)İn situ hibridizasyon,

3)PCR

PCR ile akut İM'de periferik kanda bulunan EBV-DNA saptanabilir (12). Ayrıca latent EBV enfeksiyonunda bol EBER-RNA eksprese edildiği gösterilmiştir. Daha yeni olarak, EBER-1 saptanması için geliştirilen bir teknikle latent enfekte doku ve tümörün saptanması da kolaylaşmıştır (18,21). EBV'ye spesifik sitotoksik T hücreleri çalışmaları devam etmektedir (11). Virüsle ilişkili hemofagositik sendromda immünomodülasyon tedavisinin (etopozid + IVIG) başarılı bulunduğu bildirilmektedir (61).

Cerrahi Tedavi

İM'de dalak rüptürü durumunda acil cerrahi girişim ve şok tedavisi gerekir. EBV ile ilişkili tümörlerde de cerrahi girişim ve kemoterapinin önemli yeri vardır (12,43).

Önleme

Genel Önlemler

Virüs yayılımı için yakın temas gerektiğinden İM'lilerin izolasyonu gereksizdir. Ancak İM'den sonra en az 6 ay hastaların kan vermemeleri önerilir (11). Enfeksiyon ve hastalığın önlenmesinde hijyen şartlarının ve sosyoekonomik koşulların düzeltilmesi önemlidir (21).

İmmünizasyon

Özellikle seronegatif olup, askerler gibi yüksek riskteki kişileri korumak amacıyla ve daha da önemlisi endemik BL ve NPC alanlarındaki kişilerin aşılınması yoluyla İM ve EBV ile ilişkili tümörlerin önlenmeleri arzulanır (9,11). Virüs üretimi için çok sayıda hücre serisi olması ve immünojen olduğu düşünülen membran antijeni geninin nükleotid sırasının bilinmesi umut vericidir (11,62). Ancak EBV'nin potansiyel onkojenitesi nedeniyle çok dikkatli incelemeler gerekmektedir. Bu nedenle aşıda viral nükleik asit olmamalıdır. Canlı, atenué veya geleneksel olarak inaktive edilmiş viral aşılar da iatrojenik onkojenite ihtimali vardır (9,11).

EBV enfekte virüs yüzeyinde eksprese edilen membran antijenine (MA) karşı oluşan antikorlar virüsü nötralize ederler. MA, hücre membranından gelişen viral zarfın bir kısmını oluşturur. Bu amaçla elde edilen EBV-gp350 glikoproteiniyle aşılanmanın sonucunda nötralizan antikorların geliştiği görülmüştür (9,11,62). EBV gp350 ile aşılanmanın hayvanlarda lenfoma oluşumunu önlediği saptanmış, ayrıca rekombinant DNA teknolojisiyle elde edilen bir aşı üzerinde de çalışmalar devam etmektedir (11).

GEREÇ VE YÖNTEM

GEREÇLER

a. TİCARİ KİTİN SAĞLADIKLARI (100 test için)

1. 10 BIOCHIP slaytı,
2. 10 şişe komplement solüsyonu (liyofilize),
3. 1,5ml floresan işaretli anti-human IgG (evans blue içerir),
4. 1,5ml floresan işaretli anti-human IgM (evans blue içerir),
5. 0,3ml floresan işaretli anti-human C3c (evans blue içerir)
6. 0,1ml pozitif kontrol (EBV-CA IgG için),
7. 0,1ml negatif kontrol (EBV IgG için),
8. 2 paket fosfat buffer (PBS) (her bir paket 1 lt distile su içinde çözündürülerek hazırlanır),
9. 2 tane 2ml' lik Tween 20 (1 lt distile suda çözündürülen PBS içine katılır. 1lt için 2ml lik Tween20 kullanılır),
10. 3,0ml embedding medium,
11. Lamel.

b. DİĞER GEREÇLER:

1. Vacutainer,
2. Jelli biyokimya tüpü,
3. Derin donduruculu buzdolabı,
4. Floresans mikroskopu.

YÖNTEM

Çalışma 01.01.2005–01.01.2007 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. EBV spesifik antikorlarının araştırılması amacıyla gönderilen EBV infeksiyon şüpheli 522 hasta serumu çalışılmıştır. Spesifik EBV antikorlarında; viral kapsit antijeni IgG (VCA-IgG), VCA IgM, EA antikorları, EBNA antikorları ve VCA IgG avidite araştırılmıştır. Spesifik antikorların araştırılmasında İndirekt Fluoresan Antikor tekniği kullanılmıştır(Euroimmun Biochip Sequence EBV avidity determination kiti). Değerlendirmeler hasta yaşı kriter alınarak beş grupta yapılmıştır.

Gruplar:

Grup 1: 0-2 yaş arası olgular,

Grup 2: 3-5 yaş arası olgular,

Grup 3: 6-12 yaş arası olgular,

Grup 4: 13-17 yaş arası olgular,

Grup 5: 17 yaş ve üzeri olgulardır.

TESTİN YAPILIŞI

Çalışmaya başlamadan önce tüm reaktifler oda ısısına getirilir.

1.Solüsyonların hazırlanması

a. PBS-Tween Hazırlanışı:1 lt distile su içine 1 paket PBS katılarak çözündürülüp, Üzerine 2ml Tween20 eklenir. Tween20 eklendiğinde solüsyon yavaşça karıştırılır. PBS Tween yıkama ve serum dilüsyonlarında kullanılır.

b.Komplement Solüsyonunun Hazırlanması: Gerekli miktarda şişe çıkartılır ve şişe etiketinde yazan hacimde distile su (+4°C - +8°C) liyofilizat eklenir.

2. Örneklerin Hazırlanışı: Hasta örnekleri 1:10 oranında PBS-Tween ile dilüe edilerek hazırlanır. (90µl PBS-Tween içine 10 µl hasta örneği konularak dilüsyon yapılır. Daha yüksek hacim istenirse örneğin 180µl PBS-Tween içine 20µl hasta örneği de konularak daha büyük hacimde aynı dilüsyon sağlanabilir.) Alan C’de yani slayt üzerindeki 3.alanda IgM antikorları saptanacağından buradaki örnek EUROSORB solüsyonu ile muamele edilir.

EUROSORB solüsyonu ile muamele edilen örnek 1:10 oranında dilüe hale geldiğinden bir daha ek dilüsyona gerek duyulmaz.

3. IgM test edilecek örneklerin EUROSORB Solüsyonu ile muamelesi: EUROSORB solüsyonunun şişesi ve dilüsyonu yapılacak serum vortekslenir. 45µl EUROSORB alınıp bir tüpe konur (miktar küçük olduğundan eppendorf tüpler en uygundur). 45µl EUROSORB solüsyonu içine ; 5µl serum eklenir. Karışım 15 dakika bekletilir. 2000 rpm’de 5dk santrifuj edilir. Supernatant kısmından gereken miktarda örnek alınır. Elde edilen örnek 1:10 dilüe durumdadır. 1:10 dilüsyon istenilen testlerde örnek gereken hacimde alınıp doğrudan reagent tray’e pipetlenir.

İnkübasyon

1. Örneklerin aktarımı: Reagent tray üzerine sırayla 25µl dilüe örnekler pipetlenir. (Bir örneğin test edildiği 5 alan olduğundan, dilüe edilmiş bir serum örneği 5 alana ayrı ayrı pipetlenir.) 3.alana yani Alan C’ye eurosorbla muamele edilmiş örnek pipetlenir. İlgili slaytlar reagent tray üzerine kapatılır. Slayt üzerindeki girintinin; reagent tray üzerindeki çıkıntıya denk gelmesi dikkat edilerek kapatılır. Slaytların tam oturup oturmadığı, sıvının dağılıp dağılmadığı kontrol edilir.

2. Örnek inkübasyonu: Oda sıcaklığında (+18°C - +25°C) 60dk inkübe edilir.

3.Yıkama: İnkübasyon sonrasında slaytlar kaldırılıp üzerlerinden PBS-Tween geçirilir. (Bu işlem ağzı geniş bir kap yardımı ile yapılmalıdır. Amaç inkübasyonu tamamlanan slayt üzerindeki sıvıyı bir anda bolca PBS-Tween karışımı ile ortamdan uzaklaştırmaktır). Ardından slaytlar PBS-Tween ile dolu yıkama küveti içine yerleştirilir. En az 5 dk küvette bekletilir.

4. PBS,Üre ve kompleman solüsyonu aktarımı: Reagent tray üzerine aşağıda belirtilen şekilde sırayla 20µl ilgili solüsyonlar pipetlenir.

Birinci alana	(A) PBS-Tween	} 20şer µl pipetlenir
İkinci alana	(B) Üre solüsyonu	
Üçüncü alana	(C) PBS-Tween	
Dördüncü alana	(D) PBS-Tween	
Beşinci alana	(E) Yeni hazır Komplement solüsyonu	

5. PBS, Üre ve kompleman solüsyonu inkübasyonu: Pipetleme işleminden sonra yıkama süresi dolan slaytlar küvetten çıkartılır. Ve 5 sn içinde slaytların arka alanı kağıt havlu ile silinerek derhal reagent tray üzerine kapatılır. Oda sıcaklığında (+18°C - +25°C) 30dk inkübe edilir.

6. Yıkama: İnkübasyon sonrasında slaytlar kaldırılıp üzerlerinden PBS-Tween geçirilir. Ardından slaytlar PBS-Tween ile dolu yıkama küveti içine yerleştirilir En az 5 dk küvette bekletilir.

7. Floresan işaretli antihuman globulin ve C3c aktarımı: Reagent tray üzerine aşağıda belirtilen şekilde sırayla 20µl ilgili solüsyonlar pipetlenir.

Birinci alana	(A) FITC-işaretli antihuman IgG	} 20şer µl pipetlenir
İkinci alana	(B) FITC-işaretli antihuman IgG	
Üçüncü alana	(C) FITC-işaretli antihuman IgM	
Dördüncü alana	(D) FITC-işaretli antihuman IgG	
Beşinci alana	(E) FITC-işaretli antihuman C3c	

8. Floresan işaretli antihuman globulin ve C3C inkübasyonu: Pipetleme işleminden sonra yıkama süresi dolan slaytlar küvetten çıkartılır. Ve 5sn içinde slaytların arka alanı kağıt havlu ile silinerek derhal reagent tray üzerine kapatılır. Oda sıcaklığında (+18°C - +25°C) 30dk inkübe edilir.

9. Yıkama: İnkübasyon sonrasında slaytlar kaldırılıp üzerlerinden PBS-Tween geçirilir. Ardından slaytlar PBS-Tween ile dolu yıkama küveti içine yerleştirilir. En az 5 dk küvette bekletilir.

10. Kapatma medyumun (embedding medium) damlatılması: Reagent tray'in altında bulunan üzerinde numaralar içeren beyaz köpük cam kısmından ayrılır. Köpük kısmının üzerine her alana 1 adet gelecek şekilde lamel konur. Her bir lamel üzerine rakamların üzerine denk gelecek şekilde embedding medyum minicik (10µl) damlatılır.

11. Slaytın lamel üzerine kapatılması: Yıkama küvetinden çıkartılan slaytlar yine hızlıca kağıt mendil ile arka yüzeyi ve köşeleri kurularak hazırlanmış lamel üzerine kapatılır. Lamelin slaytın iç yüzeyine tam oturup oturmadığı kontrol edilir. Slaytlar mikroskopta değerlendirilmek üzere hazır hale getirilir.

DEĞERLENDİRME

EBV spesifik antijenlerine karşı oluşan antikorlar, bu antijenleri exprese eden hücrelerin sitoplazma veya nükleuslarında tipik bir fluorensansa neden olurlar. EBV VCA karşı oluşan antikorlar sitoplazmada EBNA nükleusta, EA'a karşı oluşan antikorlar nükleusta ve sitoplazmada tipik flouresans oluşturur.

Avidite değerlendirilmesi:

Antikor aviditesini belirlemek için üre ile işlem görmüş ve üre ile işlem görmemiş inkübe hasta örneklerinin flouresans yoğunluğu karşılaştırılır. Spesifik flouresansın yoğunluğu aşağıdaki skora göre ayrıştırılır.

- 0- Flouresans yok
- 1- Çok zayıf flouresans yoğunluğu
- 2- Zayıf flouresans yoğunluğu
- 3- Orta flouresans yoğunluğu
- 4- Güçlü flouresans yoğunluğu
- 5- Çok güçlü flouresans yoğunluğu

Üre ile işlem görmemiş inkübe serum örneğinin spesifik fluorensansı 0, 1 veya 2 olarak tayin edilmişse avidite saptanması mümkün değildir.

Fluoresans yoğunluk skoru arasındaki fark 2'den küçükse genel olarak yüksek avidite antikorları mevcuttur.

Fluoresans yoğunluk skoru arasındaki fark 2 veya daha fazla ise genel olarak düşük avidite antikorları mevcuttur.

BULGULAR

Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına iki yıllık periyot içinde spesifik EBV antikorlarını araştırmak üzere gönderilen 522 hasta serumu IFA yöntemiyle çalışıldı. Hasta serum örneklerinde EBV-VCA IgG ve IgM, EA- IgG, EBNA antikorları ile VCA- IgG avidite araştırıldı. Hastaların 200'ü (%38.31) kadın, 322'si (%61.69) erkek bireylerdi. Hasta yaşları 5 gruba ayrılarak incelendi. Yaş grupları ve cinsiyet dağılımı Tablo 1 ve Tablo 2'de gösterildi. Laboratuvarımıza gönderilen hasta serum örneklerinin 94'ünde (%18.1) çalışılan tüm EBV antikorları negatif olarak bulundu ve bu hastalar seronegatif olarak kabul edildi. Bu durumda incelenen örneklerde %81.99(n=428) oranında seropozitiflik belirlendi. EBV seronegatif ve seropozitif bireylerin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 2 ve Tablo 3'te verildi.

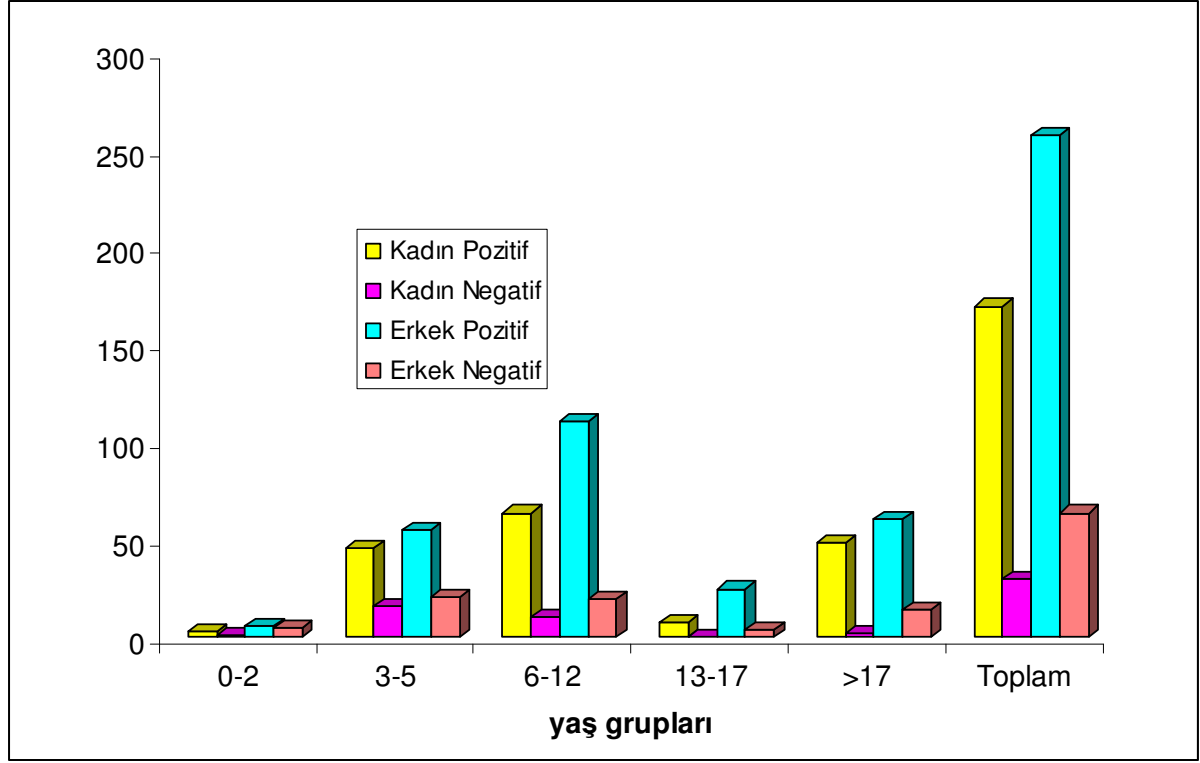
TABLO 2. EBV spesifik antikor seropozitifliğinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Kadın		Erkek		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-2	3	0,70	6	1,40	9	2,10
3-5	46	10,75	55	12,85	101	23,60
6-12	64	14,95	111	25,93	175	40,89
13-17	8	1,87	25	5,84	33	7,71
>17	49	11,45	61	14,25	110	25,70
Toplam	170	39,72	258	60,28	428	100

TABLO 3. EBV spesifik antikor seronegatifliğinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Kadın		Erkek		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-2	1	1,06	5	5,32	6	6,38
3-5	16	17,02	21	22,34	37	39,36
6-12	11	11,70	20	21,28	31	32,98
13-17	0	0,00	4	4,26	4	4,26
>17	2	2,13	14	14,89	16	17,02
Toplam	30	31,91	64	68,09	94	100

Seropozitif bireylerin 170'i kadın(%39.71), 258'i erkek(%60.29) hastalardı. Kadın ve erkeklerde en yüksek seropozitiflik oranları 6-12 yaş arasında olup sırasıyla %37.64 ve %43.02 olarak bulundu.



GRAFİK I. EBV seropozitif ve seronegatif hasta antikorlarının yaş gruplarına göre dağılımı

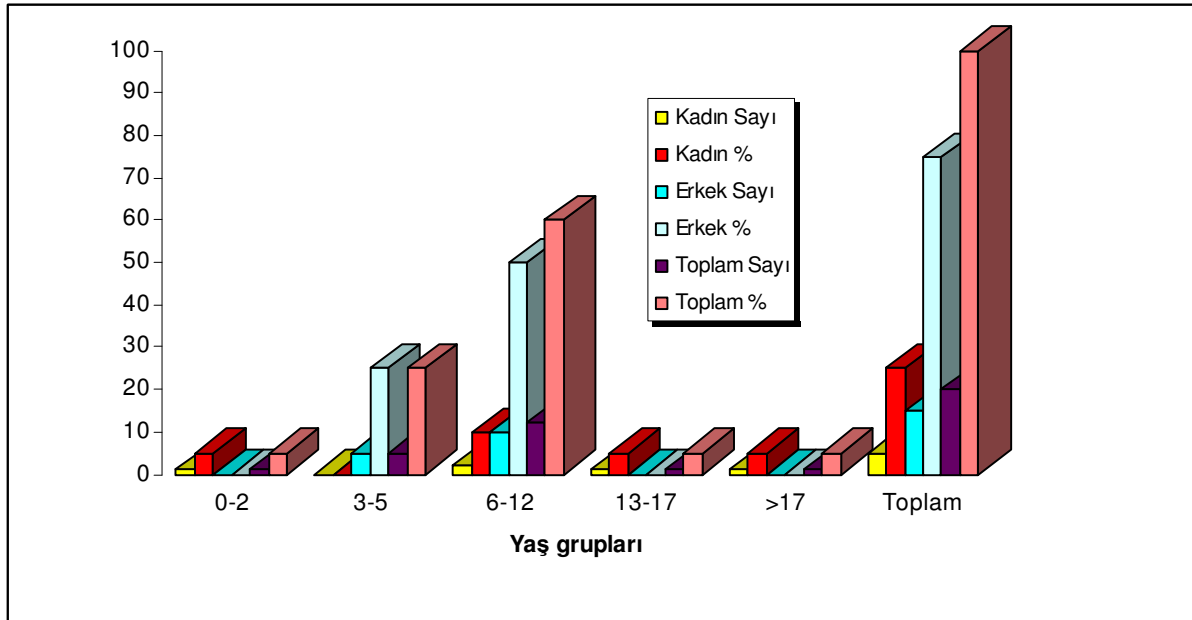
EBV seropozitif ve seronegatif hasta antikorlarının yaş gruplarına göre dağılımı grafik 1'de gösterildi. Buna göre en sık seropozitiflik oranı 6 ile 12 yaşları arasında saptandı (%40.88). 12 yaş grubuna kadar antikor sıklığı tedricen artmakta (özellikle 3-12 yaş aralığındaki çocuklarda %64.48), daha sonra azalarak 13-17 yaş aralığında %7.71'e düşmektedir. Geri kalan >17 yaş bireylerde EBV ile karşılaşma oranı tekrar artarak %25.7 olarak bulundu.

Çalıştığımız 522 hasta serumunun 126'sı 17 yaş üstü bireylere aitti. 126 bireyin %12.69'u (n=16) seronegatif olarak saptandı. Toplam seronegatifler içerisinde 17 yaş üstü bireylerin seronegatiflik oranı %17.0 olarak tespit edildi.

Viral kapsit antijenine karşı oluşan IgM antikorları genel olarak akut infeksiyon göstergesi olarak kabul edilir ve klinik belirtilerle birlikte organizmada oluşmaya başlar (7,8). Ancak kısa ömürlüdür(4 ila 6 hafta). EBV VCA IgM seropozitifliğinin yaş ve cinsiyete göre dağılımı tablo 4’te verildi. Çalışılan 522 hasta serumundan 20 tanesinde (%3.8) EBV VCA IgM seropozitifliği bulundu.

TABLO 4. EBV IgM seropozitifliğinin yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Yaş Grupları	Kadın		Erkek		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-2	1	5	0	0	1	5
3-May	0	0	5	25	5	25
6-Ara	2	10	10	50	12	60
13-17	1	5	0	0	1	5
>17	1	5	0	0	1	5
Toplam	5	25	15	75	20	100



GRAFİK II. IgM seropozitifliğinin yaş ve cinsiyet dağılımı

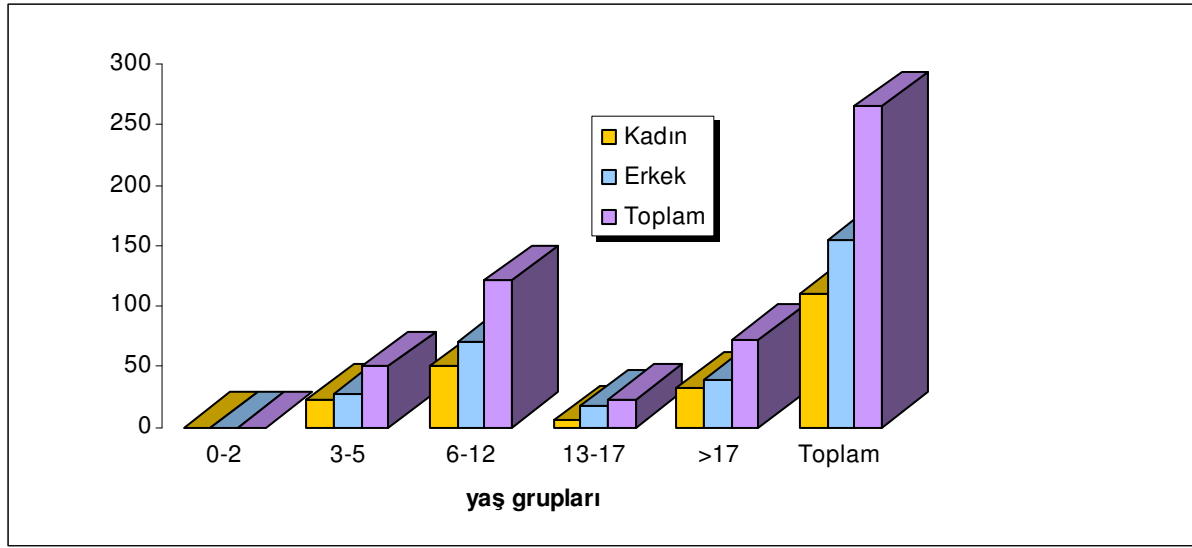
VCA IgM ve VCA IgG'nin seropozitif olduğu 20 bireyin 7 tanesine EA antikorları eşlik ederken 1 tanesinde VCA IgG düşük avidite saptandı. Bu parametrelerle birlikte 20 birey primer infeksiyonlu olarak değerlendirildi. Primer infeksiyonlu bu bireylerin %60'ını 6-12 yaş grubundaki çocuklar oluştururken %25'ini 3-5 yaş arası çocuklar oluşturdu.

Yaşa göre en sık EBV VCA IgM seropozitifliği 6-12 yaş grubunda saptandı. Bu gruptaki erkek çocukların VCA IgM seropozitiflik oranı toplam oranın %50'sini oluşturuyordu.

Geçirilmiş infeksiyon göstergesi olarak değerlendirilen VCA IgG ve EBNA antikorlarının birlikte seropozitif olduğu bireylerin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı tablo 5'te verildi. Bu bireylerde VCA IgM ve EA antikorları seronegatif olup VCA IgG avidite yüksek bulundu.

TABLO 5. VCA-IgG ve EBNA seropozitifliğinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş Grupları	Kadın		Erkek		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-2	0	0,00	0	0,00	0	0,00
3-May	22	8,30	28	10,56	50	18,86
6-Ara	50	18,86	71	26,79	121	45,66
13-17	5	1,88	17	6,41	22	8,31
>17	33	12,45	39	14,71	72	27,17
Toplam	110	41,50	155	58,50	265	100,00



GRAFİK III. IgG ve EBNA seropozitifliğinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

Normal rutin klinik laboratuvarlarında test edilen serumların yaklaşık %70'inde geçirilmiş infeksiyonlu bireyler tespit edilmektedir (8). Çalıştığımız toplam 428 seropozitif bireyde %61.91 oranında geçirilmiş infeksiyon serolojik profili görüldü.

Serolojik olarak yorumlanması güç durumlarda örneğin dirençli anti EBV VCA IgM antikorlarının varlığı veya yeni infeksiyonlarda anti EBV VCA IgM antikorlarının yokluğunda ya da immünsuprese kişilerde EBNA'nın kaybolduğu durumlarda, anti EBV VCA IgG antikorlarının aviditesinin ölçülmesinden yararlanılır. Akut EBV infeksiyonlu bireyler hastalığın başlangıcından itibaren 10 gün içinde %90'ından fazlasında düşük avidite saptanırken 30 gün sonra bu oran %50'ye düşer. Ancak, antikorların olgunlaşmasının kişiden kişiye değişiklik gösterdiği ve bu sürenin 3 aya kadar çıkabildiği bildirilmiştir (7).

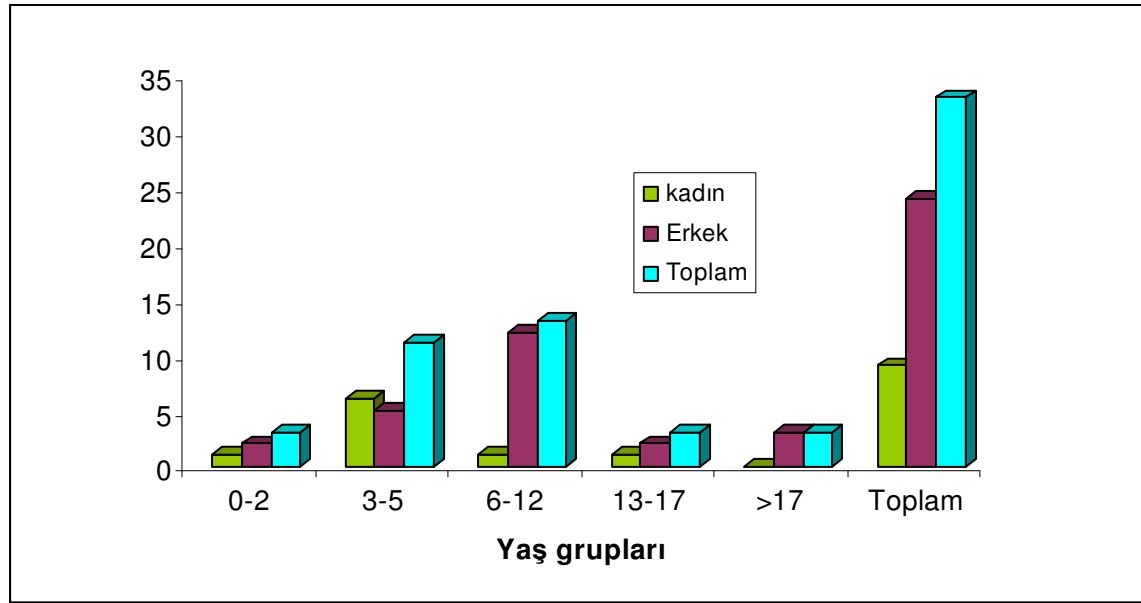
Çalışılan hasta serumlarında düşük (low) avidite saptanmış bireylerin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı tablo 4'te gösterildi. EBV VCA IgG düşük avidite saptanmış hastalardan bir tanesinde VCA IgM seropozitif olarak değerlendirildi.

VCA IgG düşük avidite saptanmış tüm bireylerde EBNA antikorları seronegatif olarak bulunmuştur. Düşük aviditeli serumlardan bir tanesinde VCA IgM, 6 tanesinde de EA antikorları seropozitif olarak bulundu. Düşük avidite saptanmış bireylerden 3 tanesi 0-2 yaş grubunda, 11 birey 3-5 yaş grubunda, 13 birey 6-12 yaş grubunda, 3 tanesi 13-17 yaş grubunda, 3 bireyde 17 yaş üstü grubunda yer aldı. VCA IgG düşük avidite saptanmış bireyler

primer infeksiyonlu olarak değerlendirildi. Çalıştığımız hastalarda yüksek aviditeye sahip VCA IgM seropozitifliği saptanmadı.

TABLO 6. VCA-IgG avidite seropozitifliğinin yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Yaş Grupları	Kadın		Erkek		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-2	1	3,03	2	6,06	3	9,09
3-5	6	18,18	5	15,15	11	33,33
6-12	1	3,03	12	36,36	13	39,39
13-17	1	3,03	2	6,06	3	9,09
>17	0	0,00	3	9,09	3	9,09
Toplam	9	27,27	24	72,73	33	100,00



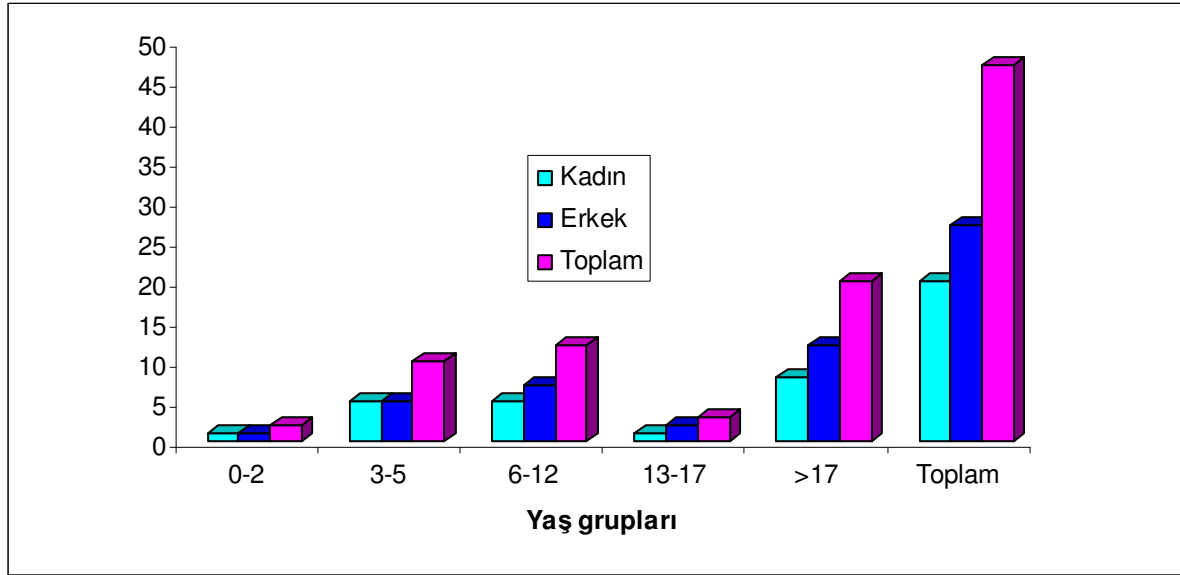
GRAFİK IV. Avidite seropozitifliğinin kadın ve erkeklerde yaşlara göre dağılımı

EBV EA IgG antikorları, EBV geçirilmiş infeksiyon, kronik infeksiyon, reaktivasyon ya da iyileşme döneminde EBV VCA IgG ve EBNA antikorlarına eşlik edebilir (7,8). Özellikle EBV-EA IgG antikor titresinin yüksek olması reaktivasyon veya kronik infeksiyon lehine değerlendirilir. Çalıştığımız 522 hasta serumundan 47(%9.0) serum örneğinde spesifik üç antikor birlikte seropozitif olarak saptandı. Tablo 7’de ve grafik V ‘te EBV VCA-IgG,

EBNA ve EA antikorlarının birlikte seropozitif bireylerdeki cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı gösterildi.

TABLO 7. EBV VCA-IgG, EBNA ve EA antikorlarının birlikte seropozitif bireylerdeki cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Kadın		Erkek		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-2	1	2,13	1	2,13	2	4,26
3-5	5	10,64	5	10,64	10	21,28
6-12	5	10,64	7	14,89	12	25,53
13-17	1	2,13	2	4,26	3	6,38
>17	8	17,02	12	25,53	20	42,55
Toplam	20	42,55	27	57,45	47	100



GRAFİK V. EBV VCA IgG, EBNA ve EA antikorlarının birlikte seropozitif olduğu bireylerde cinsiyet ve yaş gruplarının dağılımı.

Farklı antijen sınıflarına karşı oluşan reaksiyonlar EBV infeksiyon profillerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Primer EBV infeksiyonlu bireylerde akut faz serum örneğinde değişik serolojik reaksiyonlar görülebilir. Genel olarak primer yada akut infeksiyon olarak değerlendirilebilen seropozitif reaksiyonların başlıcaları ve antikor gruplarına karşı seropozitiflik saptanmış hasta serumlarının yaş gruplarına ve cinsiyete göre dağılımı tablo 8’de verildi. Bu şekilde değerlendirildiğinde çalışılan 522 hastadan 116’sı(%22.2) primer ya da akut infeksiyonlu hasta olarak değerlendirildi.

TABLO 8. Primer infeksiyon serolojik profillerinin yaş ve cinsiyete göre dağılımı

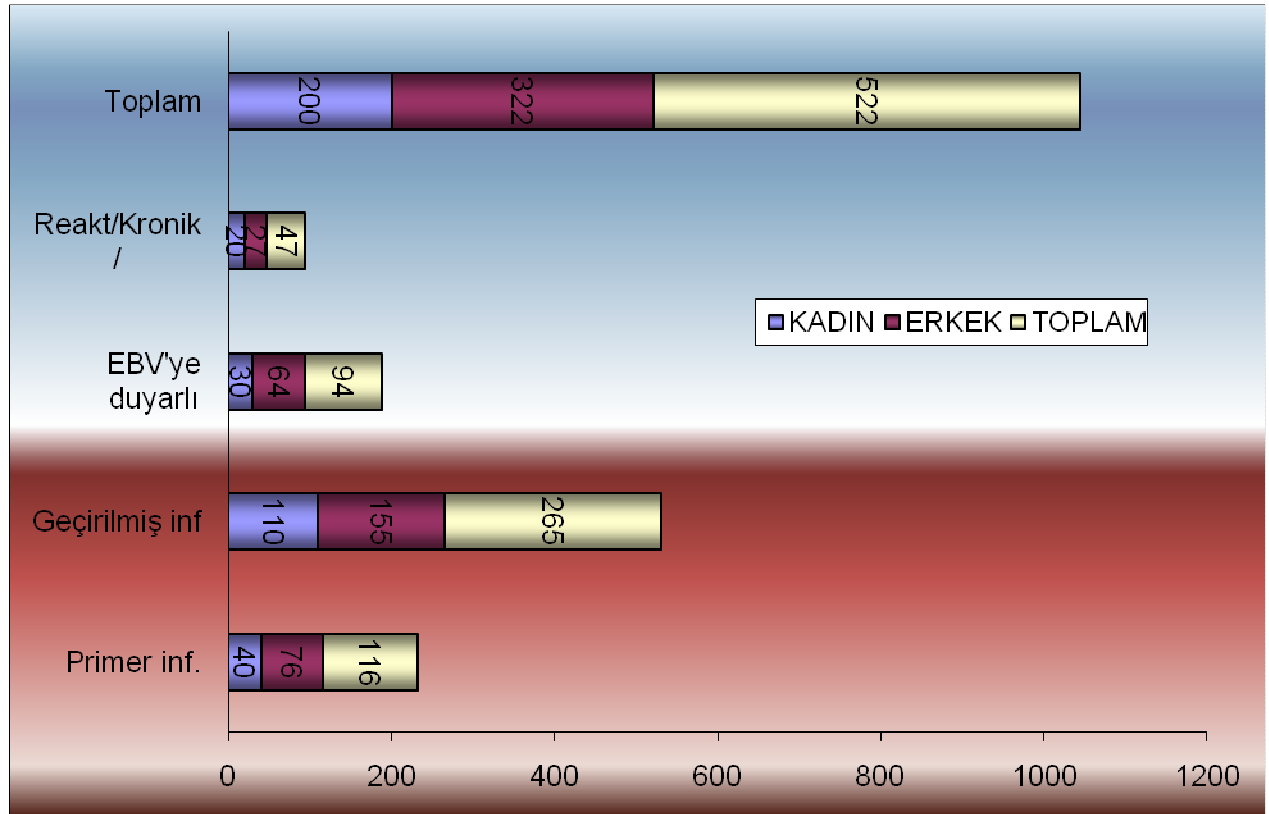
Serolojik profiller				0-2 YAŞ		3-5 YAŞ		6-12 YAŞ		13-17 YAŞ		>17 YAŞ		TOPLAM
				K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	
EBV CA IgG+	VCA IgM +	EA IgG +	EBNA -	1	0	0	1	0	4	1	0	0	0	7
EBV CA IgG+	VCA IgM -	EA IgG +	EBNA -	0	2	9	4	4	9	1	1	3	2	35
EBV CA IgG+	VCA IgM -	EA IgG -	EBNA -	1	3	10	13	3	14	0	5	4	8	61
EBV CA IgG+	VCA IgM+	EA IgG -	EBNA -	0	0	0	4	2	6	0	0	1	0	13
TOPLAM				2	5	19	22	9	33	2	6	8	10	116

Tabloya göre en fazla saptadığımız primer infeksiyon serolojik profili, pozitif VCA IgG, negatif VCA IgM , negatif EA ve negatif EBNA oldu. Buradaki toplam birey sayısı 61 olup, bunlardan 26'sında (%42.62) düşük aviditeli VCA IgG saptandı. Ancak, genel olarak EBNA antikorları geçirilmiş infeksiyonlarda pozitif olarak değerlendirildiğinden (8) ve nadiren immünsuprese bireylerde kaybolabildiğinden bu serolojik profildeki bireylerin hepsi primer infeksiyon olarak değerlendirilerek, iki hafta sonra tekrar incelenmesi talebinde bulunuldu. İnfeksiyöz mononukleozis, klinik olarak sitomegalovirus, toksoplasmozis ve hepatitle kolayca karışabilir.

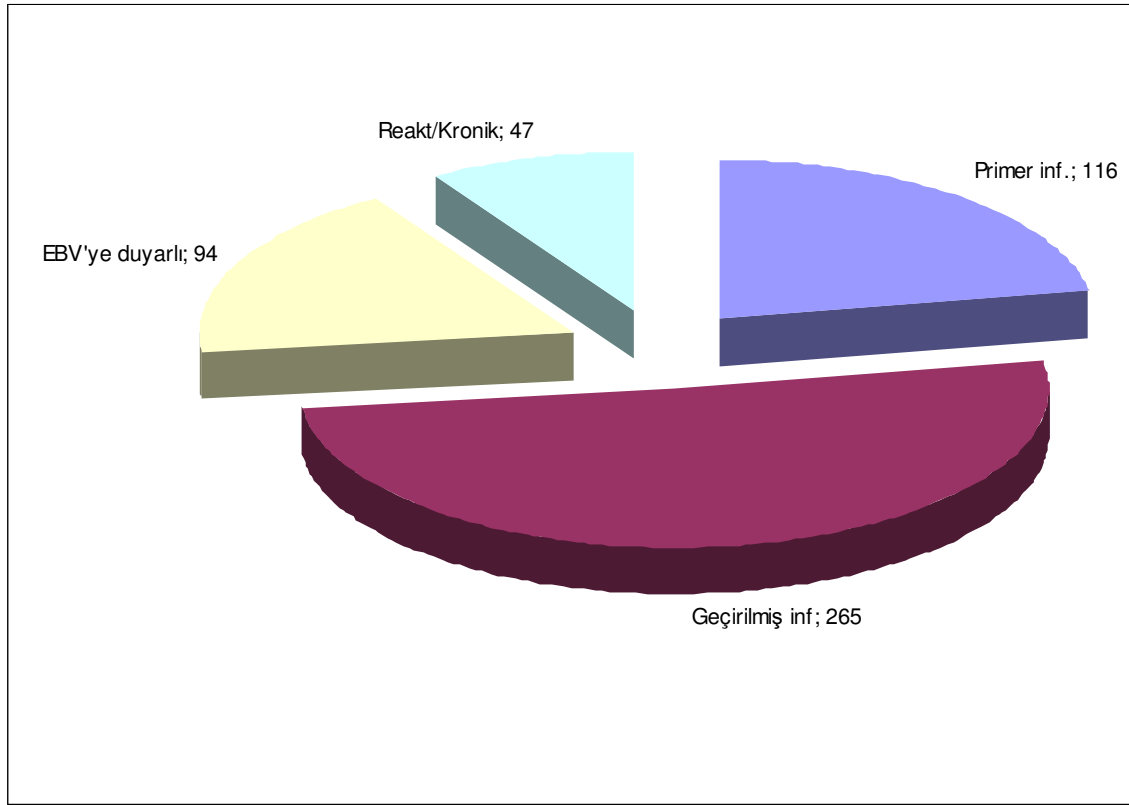
Direkt kanıtı olarak virüsü elde etmek zor olduğundan teşhis belirteci olarak rutinde serolojik parametrelerden yararlanılır. EBV VCA, EBV-EA ve EBNA'ya karşı oluşan antikorların paralel belirlenmesi sadece akut, geçirilmiş infeksiyonu belirlemez aynı zamanda kronik ve reaktivasyonun olup olmadığını da belirler. Verilerimizi toplu olarak değerlendirdiğimizde %22.2 oranında primer infeksiyonlu, %50.8 geçirilmiş infeksiyonlu, %18 EBV'ye duyarlı ve %9 reaktivasyon/kronik saptandı. Tablo 9 ve grafik 6'da serolojik profile göre EBV infeksiyonu şeklinin dağılımı verildi.

TABLO 9. Serolojik profile göre Epstein_Barr Virus infeksiyonunun şekli

	KADIN		ERKEK		TOPLAM	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
Primer infeksiyon	40	20	76	23.6	116	22.2
Geçirilmiş infeksiyon	110	55	155	48.2	265	50.8
EBV'ye duyarlı	30	15	64	19.8	94	18
Reaktivasyon/kronik/ yeni geçirilmiş inf.	20	10	27	8.4	47	9
TOPLAM	200		322		522	



GRAFİK 6 . Serolojik profile göre Epstein_Barr Virus infeksiyonunun şekli



GRAFİK 7. Serolojik profile göre Epstein-Barr Virus infeksiyonunun pasta dilimi şekli.

TARTIŞMA

1968’de infeksiyöz mononükleozun majör sebebi olarak bulunan Epstein-Barr Virus (EBV: Günümüzde Human Herpes Virus 4) onkojenik bir herpesvirusudur. Virus genel olarak çocuklar arasında tükürük salgıları ile yayılır ve daha çok adolesan ya da genç erişkinlerde gecikmiş primer infeksiyonlara neden olur. İmmünopatolojik durumlarda vakaların yaklaşık %50’sinde infeksiyöz mononükleoz (İM) semptomlarına yol açar. Dünya popülasyonunun %90’ından fazlası B lenfositlerinin latent infeksiyonu olarak yaşamı boyunca EBV’yi taşır. EBV’nin B hücre antijen aktivasyon yollarını takip ederek, B lenfositlerinin içine girdiği, B lenfositleri içinde, kendi gen ekspresyonunu sınırlamak yoluyla immün eliminasyondan kaçtığı bildirilmektedir. B hücrelerinin yaşamsal mekanizmalarını etkileyerek, B lenfoproliferatif hastalık, hodgkin gibi tümör hastalıklarını indüklediği ortaya konmuştur. Aşılar bu koşulların tedavi ve/veya önlenmesi için geliştirilmeye başlanmıştır. Ancak henüz rasyonel bir aşı stratejisi yoktur, bunun için bir hayvan modelinde patogenezi çalışmaları gereklidir (8).

EBV’ye ilişkin infeksiyonlar genellikle çocukluk döneminde gelişip asemptomatik seyreder. Sitomegalovirus, rubella, toxoplasma infeksiyonları ve bazı hematolojik malignansiler, EBV infeksiyonlarına benzer bulgular oluşturabilir. Bu nedenle EBV infeksiyon tanısı önem taşımaktadır (7,8,63). Virusun infeksiyonunda atipik lenfositler ve heterofil antikorlar bulunur. İnfeksiyon sırasında EBV majör antijenlerine karşı oluşan antikorların belirlenmesi oldukça yararlıdır ve özellikle atipik lenfositoz ve heterofil antikorların bulunmadığı, ancak EBV infeksiyonundan kuşkulanan hastaların belirlenmesinde önem taşır. Epstein-Barr Virus serolojisi aynı zamanda, akut infeksiyonu geçirilmiş infeksiyondan veya reaktivasyondan ayırmak için de gereklidir. EBV infeksiyonlarında reaktivasyon siktir ve tükürük aracılığıyla virusun zaman zaman atılımıyla sonuçlanır. Serolojik olarak infeksiyon reaktivasyonu, majör antijenlere karşı oluşmuş antikorların varlığıyla belirlenebilir. Özellikle immünsüpresif hastalarda, AIDS’de reaktivasyonun belirlenmesi önemlidir. Ayrıca bazı malignansilerle EBV infeksiyonu arasında ilişki olması ve onkojenik bir virüs olarak nitelendirilmesi nedeniyle risk altında olan hastaların belirlenmesi önem taşımaktadır (7,8,63).

Epstein-Barr virüsü için serolojik testler iki gruptur. Bunlardan bir tanesi Paul ve Bunnell tarafından tanımlanmış (64) olan ve heterofil antikorları tespit etmeyi amaçlayan testlerdir. Bu testin infeksiyöz mononükleozlu erişkinlerde EBV infeksiyonunu tespit etmede % 90 sensitiviteye sahip olduğu (65) bildirilmiştir. Ancak (66) poliklonal stimülasyonu

sonucu oluştuğu, dolayısıyla kros reaksiyonlarının görüldüğu bildirilmektedir (8). Ayrıca diğer İM'a benzer hastalıklarda oluşabildiği ve 6-12 aya kadar pozitif kaldığı, bu nedenle yanlış pozitif sonuçlara yol açtığı da bildirilmiştir. Yetişkin ve adolesan akut hastaların %85-90'ında pozitif sonuç verirken 2 ila 5 yaş arası çocuklarda %50 etkili olduğu saptanmıştır (67,68). Otoimmün hastalarda da % 2-3 oranında yanlış pozitiflik saptanmıştır (67). Bu nedenlerden dolayı ikinci grup testler olan spesifik EBV antijenlerine karşı oluşmuş antikörleri tespit eden testler tercih edilmektedir (67,69). Virus çok sayıda yapısal ve yapısal olmayan farklı gen kodonlarına sahiptir. Bunlar içinde teşhis açısından en önemli genler viral kapsit antijenleri (VCAs), early antijenleri (EAs) ve nükleer antijenler (EBNAs) olan EBNA-1 ve EBNA-2'yi kodlayan genlerdir (8).

EBV serolojisini belirlemeyi amaçlayan İndirekt Fluoresan Antikor testi (IFAT), Enzim İmmunoassay(EIA), Western Blot analysis testi gibi ticari olarak bulunan çeşitli testler mevcuttur. Bunlar içinde Western Blot daha çok doğrulama amaçlı kullanılırken, günümüzde IFAT, EIA ve avidite testleri yaygın olarak teşhis amaçlı kullanılmaktadır (7,8,70).

Son zamanlarda klinik örneklerde EBV DNA yükünü ölçen çeşitli PCR teknikleri geliştirilmiştir. Örneğin semiquantitative PCR (71,72), quantitative-computative PCR (73,74,75,76), Tap man PCR (77,78,79,80) ve light cycler PCR (81). Ancak tüm bu testlerin verilen klinik durum için teşhis değerlerinin doğru olmasına rağmen, EBV DNA yükü açısından laboratuvarlar arasında standardizasyonu göstermede henüz yetersiz olduğu bildirilmektedir.(81) Bu tekniklerin geliştirilmesi özellikle sağlıklı kan donörleri ve transplant alıcı ve vericilerinde oldukça önemlidir.

Çalışmamızda son iki yıllık periyot içerisinde, EBV spesifik antikörlerinin araştırılması amacıyla laboratuvarımıza gönderilen çeşitli hasta serumlarında, saptanmış olan EBV spesifik antikor profillerini değerlendirmeyi amaçladık. Değerlendirmeyi yaparken günümüzde altın standart olarak kabul edilen İndirekt Floresan Antikor (IFA) yöntemini kullandık (82). IFA testinde genellikle burkitt lenfomalı hastalardan alınan insan EBV transform B hücre dizileri kullanılır. Bunlara örnek olarak P3HR-1 hücre dizisi veya IFA'nın ilk substratı olan raji hücre dizisidir. P3HR-1 hücreleri EBNA-1'i üretirken, hücrelerin yaklaşık %5-20'si çekirdek içinde ayrıca VCA üretir. Raji hücre dizisinin EBV spesifik protein modeli özellikle çekirdekteki EBNA-1 ve EBNA-2 üretimi olmak üzere EBNA'larla sınırlıdır. Raji hücre dizisi VCA üretmez. Antikomplement immünofloresans prosedürü anti EBNA-1 antikörlerini IFA ile tesbit etmek için gereklidir. Bu prosedür ile, EBV spesifik antikörler P3HR-1 hücrelerine bağlanırlar ve EBNA-1'e karşı komplement sabitleyici

antikorlar komplement eklenerek boyanırlar. Bunun sonucu olarak antikomplement fluoresans verir (8).

IFA testi EBV spesifik antikorları tespit eden ilk testtir (82). Daha sonra çeşitli EIA testleri geliştirilmiştir (83). Bazı araştırmacılar EIA testini IFA'dan daha sensitif bulurken (83); bazıları IFA ile aynı sensitiviteye sahip olduğunu, kimisi de IFA'nın daha sensitif bulunduğunu bildirmiştir (84,85). 1980'li yılların ortalarında birinci jenerasyon EIA ile IFA test performanslarının VCA ve EBNA antikorlarını tespit etmede iyi korelasyon gösterdiğini açıklamışlardır (86). IFA, EIA testlerinde farklı antijenler, substratlar, farklı fiksasyon teknikleri kullanılması, testler arasında tipik performans farklılıklarını ortaya çıkarır (spesifite, sensitivite, prediktive değer gibi). Bu da farklı test yorumlarına neden olur. Maalesef günümüzde EBV spesifik antikorlarını tespit eden testler tam olarak standardize edilememiştir. Temel olarak tanı testleri için EIA'nın IFA'dan daha sensitif fakat IFA'nın da EIA'dan çok daha spesifik olduğu (87,88) sonucuna varılmıştır. IFA'da nonspesifik reaksiyonlar belirginken uzman, deneyimli personel, zaman, çalışma kuralları gibi dezavantajları vardır. EIA testi daha objektif, daha kolay ve çalışan tasarrufu gibi avantajlara sahiptir (87,88). Çalışmamızda sonuçların okunması iki ayrı değerlendirmeci tarafından birbirinden habersiz olarak sağlanmıştır. Şüphe duyulan örnekler tekrar çalışılmıştır. Sonuçta bu yöntem için değerlendirmeler arası korelasyon yüksek düzeyde bulunmuştur. IFA çeşitli çalışmalarda da referans yöntem olarak kullanılmıştır (87). Örneğin 1997'de yapılan bir çalışma da Debyser ve arkadaşları EBV'nin serolojik teşhisi amacıyla gönderilen 324 örneği üç ELISA sistemi ve IFA yöntemiyle çalışmışlardır. Geçirilmiş EBV ve primer akut EBV infeksiyonunun serolojik teşhisinde ELISA sistemleri ve IFA yönteminin aynı performansı gösterdiğini saptamışlardır (88).

Pumannova M ve arkadaşları çeşitli hasta gruplarında EBV VCA IgM'i araştırmak üzere 854 serumu 4 bağımsız laboratuvarında çalışmışlardır. Yöntem olarak IFA, İndirect ELISA, Revers ELISA ve ELISA VIDITEST adı verilen ELISA yöntemlerini kullanmışlardır. Bu yöntemlerden IFA ve Revers ELISA testlerini referans yöntem olarak kullanmışlardır. Üç ELISA testinin infeksiyöz mononükleoz'lu hasta serumlarında güvenilirliğinin benzer olduğu viditestin sensitivitesinin %94.7, spesifikliğin %96.1 olduğu bildirilirken, IFA yönteminin EBV reaktivasyonlu hastalarda IgM antikorlarının ortaya konmasında ELISA'dan açık bir üstünlüğünün olduğunu bildirmişlerdir (89).

Primer EBV infeksiyonu genellikle çocukluk çağında subklinik olarak geçirilir ancak genç erişkin ya da yetişkinlerde %30–70 oranında IM'a yol açar. EBV infeksiyonunun insidansı ve yayılımını etkileyen faktörler klinik IM'a neden olanlardan farklıdır. İnfeksiyon

olasılığı tükürüğe maruz kalmaya neden olan hijyen şartları ve kültür düzeyi ile ilgilidir. Klinik IM'da rol alan faktörler ise enfeksiyona maruz kalma yaşı, immün durum, genetik ve psiko-sosyal etkenlerdir (90,91,92).

EBV enfeksiyonu düşük sosyoekonomik durumdaki toplumlarda yaşamın erken dönemlerinde ve genellikle asemptomatik olurken, klinik IM daha çok gelişmiş ülkelerde ve yüksek sosyo-ekonomik koşullarda görülür. (93)

Çalıştığımız toplam 522 hasta serumunun 153'ü (%29.31) 6 yaş grubu altında, 243'ü (%46.55) 6-17 yaş arası ve 126'sı (%24.13) 17 yaş üstünde idi. 6 yaş grubu altındaki çocukların 110'u (%71.89) seropozitif, 6-17 yaş grubu 208'i %85.59 seropozitif ve 17 yaş ve üstü bireylerdeki seropozitiflik oranı 110 (%87.30) olarak bulundu. Toplam seropozitiflik oranı %81.89 olarak bulundu. Yaşla birlikte seropozitiflik oranında artmıştı.

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) ve İngiltere'de yapılan çalışmalarda EBV serokonversiyonunun beş yaşından önce ilk dört yaşta %50'ye yakın olduğu bildirilmiştir. (96,97). Amerika'da kırsal alanda yapılan başka bir çalışmada prevalans ilk beş yaşta %84.3 olup yaş ile, prevalans artarak 30 yaşında %94.5 olarak saptanmıştır (94).

Yeni Hebridlerde bir yaşına kadar hemen hemen tüm bebeklerde EBV serokonversiyonu bildirilirken (95), Afrika'nın Batı Nil bölgesinde yaşayanların %81'i iki yaşına kadar primer EBV enfeksiyonu geçirmiştir (96). Uganda ve Meksika'da bir yaşından küçük bebeklerin %80'den fazlasında EBV antikorları saptanmıştır (97). Çalışmamızda 0-2 yaş grubunda 15 çocuğun %60'ı (n=9) seropozitif saptanmıştır.

Japonya'da yapılan çalışmalarda, %80 oranı ancak iki ile beş yaş grubunda bulunmaktadır. Çin'de de bir yaşına kadar tüm olgularda %80 oranında antikor saptanırken, bazı bölgelerde, %90 ile %100'lük seropozitiflik oranına üç ila beş yaşlarında, Çin genelinde ise 10 yaşında erişilmektedir (98).

İtalya'nın güneyindeki Bari bölgesinde ilk 10 yaştaki sağlıklı çocuklarda EBV ile karşılaşma oranı %81.9 bulunmuştur. Etiyopya'da bu oran beş yaşın altında %82, 10 yaşın altında ise %94 olarak bulunmuştur (99). Greenland Eskimo çocuklarında yapılan bir çalışmada bölge popülasyonunda nazofaringeal karsinom riskinin olduğu ve primer EBV enfeksiyonu ile çok erken yaşlarda karşılaşıldığı bildirilmektedir.(100) güney Hindistan'da ilk 5 yaşta karşılaşma oranı %90 bulunurken (101), Küba'da üç-dört yaş grubunda bu oran %73'tür (102). Türkiye'de yarı kırsal alanda yapılan bir çalışmada (103) ilk dört yaş için EBV antikor pozitifliği %67.9, ilk 30 yaş için %84.4 oranında saptamışlardır.

Ankara’da Fidan ve arkadaşları tarafından yapılan 2005 yılı çalışmada (3) yaş ortalaması 31.5 olan 70 bireyde EBV seropozitifliği %91.4 olarak belirlenmiş, seronegatif altı örneğin beşi 3-10 yaş grubundaki hastalara ait olan örnekler olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda olduğu gibi bütün araştırmalarda seropozitifliğin yaşla birlikte arttığına vurgu yapılmıştır.

Türk toplumunda da erişkin yaş grubunda %80-86 oranında pozitiflik bulunmuştur (106). Çalışmamızda laboratuvarımıza gönderilen serum örneklerinin %75.86’sı 0-17 yaş (n=396) , %24.13’ü (n=126) 17 yaş ve üstü bireyler oluşturmuyordu. 17 yaş ve üstü grubunun EBV’ye maruz kalma oranı %87.30 iken yaş ortalaması 0-16 yaş grubunda EBV ile karşılaşma oranı %80.30 olarak saptanmış olup, 0-2 yaş grubundaki bireylerin %60’ı seropozitif idi.

Çalışmamızda olduğu gibi yapılan tüm çalışmalarda EBV enfeksiyonu ile karşılaşma yaşında farklılıklar olduğu görülmektedir. Coğrafi ve sosyo-ekonomik faktörler EBV enfeksiyonunun prevalansındaki farklılıklardan sorumludur (96,99,101,104).

Figueira-Silva ve Pereira (105) Brezilya’da yaptıkları çalışmada EBV seropozitifliğini %71 olarak saptamışlar ve düşük sosyoekonomik düzeydeki bölgelerde kötü yaşam koşullarına bağlı olarak antikor prevalansının daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Fung ve arkadaşları Çin’de seropozitiflik oranlarını %75 olarak bildirirken (106), Şili’de 2 yaşındaki sağlıklı çocuklarda bu prevalansı; sosyo-ekonomik düzeyi düşükse %50, yüksek ise %5.9 olarak saptamışlardır. Her iki grubun 20 yaşındaki bireylerinde seroprevalans %90 bulunmuştur (98). İspanya’da Cour ve arkadaşları (107) aynı yaş grubunda şehir ve kırsal alanda EBV enfeksiyon prevalansında istatistiksel bir fark saptamamış, fark sosyo-ekonomik yönden anlamlı bulunmuştur.

Gelişmekte olan ülkelerde EBV enfeksiyonu genellikle yaşamın erken dönemlerinde asemptomatik olurken, klinik IM daha çok gelişmiş ülkelerde görülür. Fransa’da 2006 yılında yapılan bir çalışmada EBV ile ilişkili IM insidansında dikkat çekici bir artış olduğu vurgulanmaktadır. 1990 – 2004 yılları arasını değerlendiren çalışmada, yaş ortalaması 22.6 olan 38 hasta grubundan ikisinin öldüğü ve yıllık insidansın anlamlı ölçüde artmış olduğu bildirilmektedir (108).

Yine İngiltere’de 2002’de aynı konuya dikkat çekilirken, (109) 2003’te İsrail’de 5 yıllık periyotta 590 genç erişkinin %85’nin klinik olarak IM şüpheli olduğu ve hastaneye yatırıldığı bildirilmektedir (110,111). Endüstrileşmiş şehirlerdeki genç erişkin ve yetişkinlerdeki IM’un daha iyi kişisel hijyen, iyileştirilmiş halk sanitasyonu ve aile fert sayısının azlığı gibi faktörlerin etkisiyle bu bölgelerdeki çocuklarda EBV enfeksiyonu için

dezavantaj olduğu dolayısıyla, delikanlıların EBV'ye daha duyarlı hale geldiği sonucuna varılmıştır (109). Çalışmamızda 13 yaş ve üstü bireylerde primer infeksiyon görülme oranı %15.95 olarak bulundu.

EBV'nin yayılımı insandan insana yakın temas sonucu ağız yoluyla olur. Ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde hijyenik koşulların düşük olması, kalabalık yaşam ortamları, , çocuklar arasında tükürükle infekte oyuncak ve ortak eşyaların kullanılması infeksiyonun yayılmasından sorumludur. Akut EBV infeksiyonunda virus salınımı %100 olup bu 18 ay kadar sürebilmektedir (16). EBV infeksiyonu geçiren seropozitif kişilerde tükürükte viral ekskresyon oranı %15 iken immünsupressif bireylerde oran %50'den fazladır (112).

Çalışmamızda laboratuvarımıza başvuran ve çoğunu 0-16 yaş grubundakilerin oluşturduğu hastaların 322'si erkek 200'ü bayandır. Az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde kadınlar ekonomik üretim sürecinde etkin olarak yer alamamaktadırlar. Bu nedenle küçük yaşlardan itibaren kız çocukları zaten sınırlı olan ekonomik kaynaklardan daha az yararlanmakta ve dolayısıyla hem sağlık, hem eğitim, hem de sosyal faaliyetlerden erkek çocuklarına kıyasla daha az faydalanabilmektedir. Bu da çalışmamızda erkeklerdeki seropozitiflik oranının sayıya paralel olarak daha yüksek bulunmasının nedeni olarak düşünülmüştür. Ancak yapılan çalışmaların çoğunda EBV infeksiyon seroprevalansında cinsiyet farkı bulunmamıştır. Çalışmamızda en yüksek EBV seropozitiflik oranı 6-12 yaş arası çocuklarda saptanmıştır. Antikor pozitifliği 2 yaşından itibaren yükselmeye başlamış 6-12 yaş grubunda pik yapmıştır. 6-12 yaş, çocukların okula başlama ve kalabalık gruplarla birlikte olma yaşıdır. Yapılan çalışmalarda da en yüksek EBV infeksiyon oranı okul ve askeri kışla gibi toplu bulunulan yerlerde saptanmıştır (11,32,33).

1964 yılında Burkitt Lenfoma hücre kültürlerinde üretildiğinden beri EBV'nin epitelyum ve lenfoid orjinli; hem malign hem de benign birçok hastalığa neden olduğu gösterilmiştir. Bütün herpesvirüsler gibi EBV'nde latent ve litik yaşam siklusu vardır. Tek bir latent gen serisi EBV'ye in vitro B lenfositlerinin immortalizasyonu indükleme yeteneği ve onkojenik potansiyel kazandırır. Buna rağmen EBV dünyada çok sayıda konakta zararsız bir yaşam sürer ve konak-virus dengesi bozulduğunda hastalık yapar. Sık ve tekrarlayan infeksiyonların, immun sistemde malign dönüşüme yol açtığı kabul edilmektedir. Reaktivasyon olarak değerlendirilen 47 hastanın 22 tanesi 5-12 yaş, 20 tanesi 17 yaş ve üstü, 2 tanesi 0-2 yaş ve 3 tanesi 13-17 yaş grubu bireylerdi. EBV'nin gelişmekte olan ülkelerde daha genç yaşta Hodgkin Lenfomaya (HL) yol açtığı da bildirilmiştir. Ülkemizde HL vakalarının yaklaşık %15'i 0-5 yaş arasındadır (99). Lenfoma etiyolojisinde infeksiyonun ortaya konulmasından sonra viral nedenler arasında EBV ve İnsan T hücrelerine karşı

hassasiyeti olan viruslar (HTLV) ön plana çıkmıştır. Afrika ve Latin Amerika ülkelerinde EBV, Uzakdoğu’da ise HTLV etiyojide önemli rol oynamaktadır. Ülkemizde lenfomalarda EBV serolojisi çalışmaları da aynı bulgulara paralellik göstermektedir (99). EBV ve lenfoma ilişkisi gelişmekte olan ülkelerde %50-90 arasında bulunurken, Avrupa ve ABD’de ise bu oran %25-50 arasında bildirilmektedir (113,114).

EBV infeksiyonlarını teşhis etmek için kullanılan antijenler, yaygın olarak EBV kapsit antijeni (VCA) ve nükleer antijenlerdir (EBNA1). Viral kapsit antijenine karşı oluşan IgM antikorları genel olarak primer infeksiyon göstergesidir (66). Klinik bulguların belirmesiyle oluşmaya başlar. 4- 6 hafta kadar serumda saptanabilir. Vakaların çoğunda başvuru anında IgM antikorları saptanamayacak düzeyde VCA IgG ise pik düzeydedir. VCA IgG antikorları, yaşam boyu sürerken IgM tipi antikorlar geçici olarak üretilir ayrıca primer infeksiyonlu tüm bireylerde oluşma zorunluluğu da göstermez (68,115). Primer EBV infeksiyonlu normal bireylerde viral kapsit antijeni IgM’i yakalama prevalansı IFA, EIA ve Western Blot teknikleriyle %70-100 arasında değişmektedir (68,69,88,116,117,118,119). Bu hastalarda VCA IgG aynı tekniklerle %98-100 arasındadır (8). Çalışmamızda 428 seropozitif hasta serumunda VCA IgM antikorları 20 hasta serumunda saptanmıştır. Bu da % 4.67’ye tekabül etmektedir. Fidan ve arkadaşları (3) 70 hastada IgM oranını %10 bildirirken, Fung ve arkadaşları (106) çeşitli yaş gruplarında 152 serum örneğinde bu oranı %21 olarak bildirmişlerdir. Aydemir ve arkadaşları (104) 180 serum örneğinde %3.88 oranında EBV VCA IgM seropozitifliği bildirmişlerdir. Mats ve arkadaşları (116) yaş ortalaması 19 olan İM şüpheli 108 hastada 46 tanesinin serumunda IFA yöntemiyle %42.59 seropozitiflik bulmuşlardır.

Her ne kadar VCA IgM antikorları primer infeksiyonu gösteriyorsa da yapılan çalışmalarda EBV infeksiyonlarının serolojik cevabında farklılıklar olduğu da bildirilmektedir (66). Erişkinlerde primer EBV infeksiyonlu hastaların az bir kısmında IgM oluşmayabilir ya da geç oluşabilir (120). Bazı hastalarda infeksiyondan uzun süre sonra persistan olarak kalabilir (66) ya da immünsüpressif hastalarda yeniden reaktive olup görülebilir (120). Bu nedenlerle bir serum örneğinde spesifik IgM pozitifliği tespit edildiğinde persistan IgM veya reaktivasyon/reinfeksiyon şeklinde sekonder infeksiyon varlığı yönünden karar verebilmek zordur. Ayrıca kan örneğinin uygun zamanda alınıp alınamaması gibi nedenler sonucunda görülen spesifik IgM negatifliği de veya immün sistemin baskılanmasıyla EBNA antikorlarının kaybı primer infeksiyon tanısından uzaklaştırabilir (117,118,119,120) ya da yanlış sonuçlara yol açabilir. Böyle durumlarda serolojik sonuçların doğru yorumlanabilmesi için IgG aviditesinin çalışılmasının uygun olduğu bildirilmektedir (117,118,119). Genel

olarak avidite matürasyon kinetiğinin ortaya çıkışı birkaç hafta içinde olabilirse de semptomların ortaya çıkışından sonra üç aya kadar olabildiği bildirilmektedir (7). Aviditedeki bu değişiklikler EBV gibi birçok infeksiyonda da tanımlanmıştır. Örneğin rubella, toksoplazmozis, hepatit B gibi (7).

İlk kez 1996'da EBV VCA'ya karşı oluşan avidite değişimi Grey tarafından ortaya konmuştur (7). Hastalık semptomlarının başlamasından sonra ilk 10 gün içinde primer infeksiyonlu bireylerin %90'ında düşük aviditeli antikorlar görülür. Ancak infeksiyondan 30 gün sonra ise %50 hastada düşük avidite antikorları tespit edilebilir. Andersson ve arkadaşları 105 primer EBV infeksiyonlu hastanın VCA IgG aviditesinin olgunlaşma kinetiğini İndirekt Flouresan tekniğiyle araştırmışlardır. Hastaların %90'dan fazlasının hastalığın başlangıcında ilk 10 günde düşük avidite indeksi gösterdiği (0.25) ; %50'sinin klinik semptomların başlamasından 20-30 gün sonraya kadar yine düşük indeks sergilediğini saptamışlardır. İnfeksiyonu geçirmiş kişilerde avidite indeksinin (0.5-1) yükseldiğini gözlemlemişlerdir. Böylece aviditenin EBV infeksiyonlarında akut veya eski infeksiyon olduğunu belirleme de önemli serolojik belirteç olduğunu vurgulamışlardır (121)

Robertson ve arkadaşları da primer EBV infeksiyonunun güvenilir teşhisinde aviditeye vurgu yapmışlardır. Çalışmalarında 28 primer EBV infeksiyonlu hasta serumu ve 35 geçirilmiş EBV infeksiyonlu hastada VCA IgG avidite çalışmışlardır (ELİSA ile).

IgG aviditenin primer infeksiyon teşhisinde duyarlılığı %93-100 arasında arttırdığını bildirmişlerdir (sensitivite özellikle EBNA-, IgG + 'lerde %100'dür). (122)

Çalışmamızda seropozitif hastaların 33 tanesinde (%7.71) düşük aviditeli IgG antikorları saptandı. Düşük avidite saptanmış bireylerde EBNA antikorları seronegatif olarak bulundu. Düşük aviditeli serumlardan bir tanesinde VCA IgM, 6 tanesinde de EA antikorları seropozitif.

IgM varlığında yüksek avidite reaktivasyon olarak değerlendirilir. Norveçten bildirilen basım aşamasındaki bir prevalans çalışmasında 43 primer EBV şüpheli hastada ELİSA yöntemiyle VCA IgG, VCA IgM ve EBNA-1 antikorları ve İmmunoblot tekniğiyle IgG avidite çalışılmıştır. 43 hastanın 18'inde (%42) geç primer infeksiyon, 21'inden (%49) 10'unda yüksek aviditeye rağmen IgM antikorları bulunmuş, bunlarda reaktivasyon olarak değerlendirilmiştir. Bizim çalışmamızda yüksek aviditeye rağmen IgM seropozitifliği saptanmamıştır (123).

EA IgG antikorları genellikle litik replikasyonun erken fazı boyunca üretilir. Bu antikorlar primer EBV infeksiyonlu kişilerin %60-80'ninde IFA, EIA, Western Blot ile teşhis edilebilir (68,69,88,119,120,121). Negatif EBNA IgG, pozitif VCA IgG ve VCA IgM üçlüsü

ve/veya pozitif EA antikoru primer EBV infeksiyonu için tanısaldır. Ayrıca EBV ile infekte sağlıklı bireylerin %20'sinde EA antikoru tespit edilebilir (68). EBV ile infekte bireylerde gelişen immunsupresyon durumlarında EBV reaktivasyonu görülebilir. Özellikle bu kişilerde EA antikoru kantitatif ölçülmesi önerilir. Reaktivasyonlarda EA antikoru titresinde artış meydana gelir. EA antikoru tek başına değerlendirilmesi spesifik teşhis aşamasını doğrulamaz fakat diğer parametrelerle birlikte bir fikir verir (8). Çalışmamızda 47 (%9) hasta serumunda EBNA antikoru ile birlikte EA antikoru pozitif bulundu. Fidan ve arkadaşları (3) EA antikoru %24.2 olarak verirken, Aydemir ve arkadaşları (104) % 7.2 olarak bildirmişlerdir.

VCA'ya karşı oluşan IgM antikoru, genel olarak primer infeksiyon göstergesi olarak kabul edilirken (66) EBNA antijen cevabı da primer infeksiyonun geç belirteci olarak ifade edilir (83) ve yaşam boyu da dirençlidir. Ancak immunsuprese bireylerde zamanla kaybolabilir (114). Genel olarak EBNA IgG antikoru bulunmadığı, VCA IgG ve IgM pozitifliği tipik primer infeksiyon göstergesidir. VCA IgM'in bulunmadığı EBNA ve VCA IgG antikoru varlığı geçmiş infeksiyonun göstergesidir. Çalışmamızda 428 seropozitif serum örneğinin 312(%72.89)'sinde EBNA seropozitifliği saptandı. EBNA pozitif bireylerin 265 (% 50.8) geçirilmiş infeksiyon olarak değerlendirildi. Figueira- Silva ve Pereira (105) anti VCA IgG antikoru %71 , EBNA antikoru %54 olarak saptamışlardır. Fidan ve arkadaşları (3) EBNA antikoru %78.6 olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda test edilen örneklerin mevcut serolojik profillere göre infeksiyon durumları; 94 (%18) örnek seronegatif, 116 (%22.2) örnek akut yada primer infeksiyon 265 (%50.8) örnek geçirilmiş infeksiyon, 47 (%9) örnekte reaktivasyon, kronik veya yeni geçirilmiş infeksiyon olarak değerlendirilmiştir. Rutin klinik laboratuvarlarda test edilen serumların yaklaşık %70'ini geçirilmiş infeksiyon serolojik profili oluşturmaktadır. Çalışmamızda toplam test serumlarının %50,8'inde geçirilmiş infeksiyon saptanmıştır. Ayrıca EBV infeksiyonlarında reaktivasyon saptanması özellikle immunsupressif hastalarda önemlidir. Reaktivasyonlarda her zaman IgM oluşmadığından özellikle EA antikoru araştırılması gereklidir. Yine primer infeksiyonların kronik infeksiyonlarından ya da geçirilmiş infeksiyonlardan ayırt edilmesi de önem taşımaktadır. Epstein-Barr Virus infeksiyonunun serolojik tanısında kullanılan IFA testleri özellikle heterofil antikoru varlığı veya atipik lenfositozun bulunmadığı, EBV infeksiyonunun dan kuşkuyla karşılaşıldığı durumlarda tanı konulmasında ve immunsupressif kişilerde ve transplantasyon yapılmış hastalarda akut infeksiyon ile reaktivasyonun ayırımında oldukça kullanışlı, hızlı, uygulanması kolay

testlerdir. Günümüzde altın standart olarak kabul edilmektedir. Araştırma biyasını engellemek için değerlendiriciler arası koordinasyon araştırılmalıdır.

Pek çok idiyopatik hastalığın ve nasofaringeal kanser ve Burkitt Lenfoma gibi malignitelerin etiyolojisinden sorumlu olduğu bilinen viral infeksiyonun tanısında bu testlerin kullanılarak, etiyolojisinin aydınlatılması ve risk altında bulunan kişilerin belirlenmesi yararlı olacaktır. Bu nedenle, EBV infeksiyonundan kuşku edilen hastalarda bu virusa ait majör antijenlere karşı gelişmiş antikorların bakılmasının gerekli olduğu ve bu şekilde toplumda seroprevalansının doğru olarak belirlenmesinin mümkün olacağı düşünülmektedir. Seroprevalans konusundaki bilgiler özellikle organ nakli olan hastalar ve immunosupresif hastalarda reaktivasyon ve primer EBV infeksiyonunu tanımlamak amacıyla yapılacak çalışmalarda da yararlı olacaktır.

ÖZET

EBV, çocukluk yaşlarında sık görülen ve genellikle asemptomatik infeksiyon yaparak vücutta latent kalan herpesvirüs ailesinin bir üyesidir. Virus potansiyel onkojenik özellikleri ve özellikle immünyetmezlikli hastalarda ağır klinik tablolar oluşturmalarıyla da önemlidir. Literatürlerde virüsün çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol alabileceğine dair yayınlar gittikçe artmaktadır. Araştırmalarda izole toplumlarada bile EBV antikorlarına sıklıkla rastlandığı bildirilmektedir. EBV infeksiyonları farklı ülkelerde ve farklı sosyoekonomik düzeylerdeki gruplarda farklı yaşlarda kazanılmakta ve bu durum klinik prezentasyonu etkilemektedir. Bu çalışmada EBV infeksiyon şüpheli hasta serumlarında spesifik antikorların serolojik profillerinin incelenmesi planlandı. Bu amaçla;

1. Değişik yaşlardaki bireylerde EBV-VCA IgG ve IgM, EA, EBNA antikorları ve VCA-IgG avidite
2. Antikor pozitiflik oranlarının cinsiyet ve yaşla ilişkisi
3. İnfeksiyon şekline göre saptanmış farklı EBV serolojik profilleri incelendi.

Çalışma iki yıllık periyot içinde Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yürütüldü. Hasta serumlarındaki antikorların varlığı İFA yöntemi ile araştırıldı. Çalışmaya 200 kız, 322 erkek olmak üzere, 0-17 yaş ve 17 yaş üstü toplam 522 birey alındı.

522 hastanın 428'i (%81,99) seropozitif, 94'ü (%18,0) seronegatif bulundu. En çok seropozitiflik oranı 6-12 yaş (% 40,89) arasındaydı. Özellikle 3-12 yaş aralığındaki çocuklarda % 64,48 olarak bulundu. 12 yaş grubuna kadar antikor sıklığının tedricen arttığı, 13-17 yaş aralığında % 7,71'e düştüğü ve 17 yaş üstü bireylerde seropozitiflik oranının % 25,7' ye çıktığı görüldü. Yaşa göre antikor sıklığının değiştiği saptandı. Farklı antijen sınıflarına karşı oluşan reaksiyonların belirlenmesi farklı EBV serolojik profillerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Hastaların 265'inde (%50,8) geçirilmiş infeksiyon, 116'sında (%22,2) primer infeksiyon, 94'ünde (%18) EBV' ye duyarlılık, 47'sinde (%9) reaktivasyon veya kronik infeksiyon bulundu.

EBV serolojisinin kullanılması primer, geçirilmiş, reaktif ve EBV'ye hassas bireyleri ayırmada yardımcı olur. Epidemiyolojik faktörlerin bilinmesiyle potansiyel onkojen virusun önlenmesi yönündeki çalışmalar aydınlatılacaktır.

SUMMARY

INVESTIGATION OF EPSTEIN-BARR VIRUS ANTIBODIES AMONG DIFFERENT AGES BY IFA METHOD

EBV is a member of the family of the human herpes viruses family usually affects during childhood, causing asymptomatic infections and stay latent in human body. The virus is important because of potential oncogenic feature and especially causing severe clinical outcomes among immunocompromised patients. Publications announcing the virus as an ethologic agent are increasing. Researchs declare that the antibodies of EBV are frequently identified even among isolated populations. EBV infects groups in different countries, at different ages and socioeconomical levels and this condition affects the clinical population. In this study, it was planned to examine the specific antibody profiles among the sera of patients who were clinically suspected as affected by EBV. For this aim;

1. EBV-VCA IgG and IgM, EA, EBNA antibodies and VCA-IgG avidity among individuals at different ages
2. The relation between antibody positivity rates and sex and age
3. Different EBV serological profiles investigated according to detected type of infection.

This study conducted in Microbiology and Clinical Microbiology Department of Dicle University during two years period. The existence of antibodies in patients' sera were investigated by IFA method in the same department of the same faculty. A total number of 522 individuals attended to the study and 200 of them were female, 322 of them were male.

A total number of 428 (81.99%) of 522 patients were seropositive, 94 (18%) of them were seronegative. The most frequent rate of seropositivity was among 6-12 (40.89%) ages. The rate was 64.48%, among the children especially between 3 and 12 years of age. The antibody frequency were growing through 12 years of age, decreased to 7.71%, between 13-17 of ages and among the group of older than 17 years the rate has found as 25.7%. It was found that the antibody frequency has changed by age. Defining the reactions against to the different antigene classes has lead to determine the EBV's serological profiles.

The rate of past infection was 50.76% (n=265), the primer infection rate was 22.2%(n=116) and the reactivation or chronic infection rate was found as 9%(n=47).

Using the EBV serology, may asist to diverse the primary infection, past infection, reactivation and individuals sensitive to EBV. By knowing the epidemiologic factors, the studies for preventing against the potentially oncogenic virus will become more clear.

KAYNAKLAR

1. Klutts JS, Liao RS, Dunne WM, Jr., and Gronowski AM. Evaluation of a Multiplex Bead Assay for Assesment of Epstein-Barr Virus Immunologic Status. *J. Clin. Microbiol.* p. 4996-5000. Nov. 2004.
2. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover RH. *Manual of Clinical Microbiology* 8th ed. Vol II. ASM Press, Washington, D.C. p. 1331-1332. 2003.
3. Fidan I, Yüksel Ş, İmir T. Değişik yaş gruplarında Epstein-Barr virüs antikorlarının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*.19(4):453-456. 2005.
4. Lennette ET. Epstein-Barr Virus (EBV). p.299-312. In EH Lennette, DA Lennette and ET Lennette (ed). *Diagnostic procedures for Viral, rickettsial and chlamydial infections*, 7th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 1995.
5. Lennette , E.T. Epstein-Barr virus(EBV) in PR Murray, EJ Baron, MA Pfaller, FC Tenover, and RH Tenover(ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. ASM Press, Washington, D.C. p.905-910. 1995.
6. Servi J. C. Stevens, Sandra A. W. M. Verkuijlen, Adriaan J. C. van den Brule, and Jaap M. Middeldorp. Comparison of Quantitative Competitive PCR with Light Cycler Based PCR for Measuring Epstein-Barr Virus DNA Load in Clinical Specimens. *J. Clin. Microbiol.* , p. 3986–3992. Nov. 2002
7. Robertson P, Beynon S, Whybin R, Brennan C, Vollmer Conna V, Hickie I, Lloyd A. Measurement of EBV-IgG anti VCA avidity aids the early and reliable diagnosis of primary EBV infection. *J. Med. Virol.*70(4) 617-23. Aug. 2003.
8. Karen F Macsween and Dorothy H Crawford. Epstein-Barr virus-recent advances. *The Lancet infec. Dis.* Vol 3 March 2003.
9. Fleisher GR. Epstein-Barr virüs, in Belske RB ed. *Textbook of human virology*. second edition, USA. pp 862-88, 1991.
10. Littler E, Hallibunon IW, et al. Immunological conservation between EBV and herpes simplex virüs. *J Gen Virol* 69:2021-31. 1988.
11. Schooley RT. Epstein-Barr virüs (infectious Mononucleosis). in Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases, fourth edition, volume II. USA.

- p. 1364-73. 1995. Miller G, Katz BZ, Niederman JC. EBV infections. in Krugman S ed. infectious disease of children. ninth edition, USA. pp 87-104. 1992.
12. Miller G, Katz BZ, Niederman JC. EBV infections. in Krugman S ed. infectious disease of children. ninth edition, USA. pp 87-104, 1992.
 13. Frank D, Cesarman E, Liu YF, et al. Posttransplantation lymphoproliferative disorders frequently contain type A and not type B EBV. *Blood* 85 (5): 1396-1403. 1995.
 14. Jones JF. Chronic EBV infection. *Ann Rev Med* 38: 195-209, 1987.
 15. Crouse CA, Pflugfelder SC, Cleary T, et al. Detection of EBV genomes in normal human lacrimal glands. *J Clin Microbiol* 28 (5): 1026-32, 1990.
 16. Miyazaki I, Chong RK, Dosch HM. Viral interleukin 10 is critical for the induction of B cell growth transformation by EBV. *J Exp Med* 178: 437-47. 1993.
 17. Purtilo DT. EBV: The spectrum of its manifestations in human beings. *South Med J* 80 (8): 943-47. 1987.
 18. Lennette ET. Epstein-Barr virus, in Murray PR ed. *Manual of clinical microbiology*, sixth edition, USA. p 905-910, 1995.
 19. Thorley-Lawson DA. Immunological responses to EBV infection and the pathogenesis of EBV-induced diseases. *Biochim et Biophys Acta* 948:263-86, 1988.
 20. Evans AS, Niederman JC. Epstein-Barr virus, in Evans AS ed. *Viral infections of humans*, second edition, New York. p 265-92, 1988.
 21. Ambinder RF, Mann RB. Detection and characterization of EBV in clinical specimens. *Am J Pathol* 145 (2): 239-52, 1994.
 22. Turner AR, MacDonald RN, Cooper BA. Transmission of 'infectious mononucleosis' by transfusion of preillness plasma. *Ann Intern Med* 77:751-53, 1972.
 23. Royston I. EBV and infectious mononucleosis. *Lancet* Nov 17: 1152, 1973.
 24. Haider S, Coutinho ML, Emond RTD, Sutton RNP. Tuberculin anergy and infectious mononucleosis. *Lancet* July 14: 74, 1973.
 25. Taber LH, Frank AL, Yow MD, Bagley A. Acquisition of CMV infections in families with young children: A serological study. *J Infect Dis* 151 (5): 948-52, 1985.
 26. Allday MJ, Crawford DH. Role of epithelium in persistence and pathogenesis of B cell tumours. *Lancet* Apr 16: 855-57, 1988.
 27. Turner AR, MacDonald RN, Cooper BA. Transmission of 'infectious mononucleosis' by transfusion of preillness plasma. *Ann Intern Med* 77:751-53, 1972.
 28. Fleisher GR, Pasquarillo PS, et al. Intrafamilial transmission of EBV infections. *J Pediatr* 98(1): 16-19, 1981.

29. Joncas J, Mitnyar. C. Serological response of the EBV antibodies in pediatric cases of infectious mononucleosis and in their contacts. *CMA Journal* 102:1260-63, 1970.
30. Sumaya CV, Ench Y. EBV infections in families: The role of children with 'infectious mononucleosis. *J Infect Dis* 154 (5): 842-50, 1986.
31. Evans AS, Niederman JC. Epstein-Barr virüs, in Evans AS ed. *Viral infections of humans*, second edition, New York. p. 265-92, 1988.
32. Lehane DE. A seroepidemiologic study of infectious mononucleosis: The development of E3V antibody in a military population. *JAMA* 212 (13): 2240-42, 1970.
33. Hoagland CRJ. The transmission of infectious mononucleosis. *Am J Med Sci* 229:262-72, 1955.
34. Bar RS, Delor CJ, Clausen KP, et al. Fatal infectious mononucleosis in a family. *N Engl J Med* Feb 14: 363-67, 1974.
35. Sumaya CV, Ench Y. EBV Infectious mononucleosis in children-I: Clinical and general laboratory findings. *Pediatrics* 75 (6): 1003-10, 1985.
36. Evans AS, Robinton ED. An epidemiologic study of infectious mononucleosis in a New England college. *N Engl J Med* 242 (13): 492-96, 1950.
37. Black FL, Woodall JP, et al. Prevalence of antibody against viruses in the Tiriyo, an isolated Amazon Tribe. *Am J Epidemiol* 91 (4): 430-38, 1970.
38. Frank D, Cesarman E, Liu YF, et al. Posttransplantation lymphoproliferative disorders frequently contain type A and not type B EBV. *Blood* 85 (5): 1396-1403. 1995.
39. Andersson J, Ernberg I. Management of EBV infections. *Am J Med* 85 (Suppl2A):107-14, 1988.
40. Baranski B, Young N. Hematologic consequences of viral infections. *Hematol-Oncol Clin North Am* 1 (2): 167-83, 1987.
41. Chen RL, Lin KH, Un DT, et al. Immunomodulation treatment for childhood virus-associated haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol* 89: 282-90, 1995.
42. Grose C, Henle W, Henle G, Feorino PM. Primary EBV infections in acute neurologic diseases. *N Engl J Med* Feb 20: 392-95, 1975.
43. Englund JA. The many faces of EBV. *Postgraduate Med.* 83 (2): 167-80. 1988.
44. Tischendorf P, Shramek GJ, et al. Development and persistence of immunity to EBV in man. *J Infect Dis* 122 (5): 401-9, 1970.
45. Ambinder RF, Mann RB. Detection and characterization of EBV in clinical specimens. *Am J Pathol* 145 (2): 239-52, 1994.
46. Turner AR, Mac Donald RN, Cooper BA. Transmission of 'infectious

- mononucleosis by transfusion of preillness plasma. *Ann Intern Med* 77:751-53, 1972.
47. Allday MJ, Crauford DH. Role of epithelium in persistence and pathogenesis of B cell tumours. *Lancet* Apr 16: 855-57, 1988.
 48. Honvitz CA, Henle W, Henle G, et al. Long term serological follow up of patients for EBV after recovery from infectious mononucleosis. *J Infect Dis* 151 (6): 1150-52, 1985.
 49. Seigneurin JM, Lavoue MF, et al. Antibody response against the EBNA 2 in different groups of individuals. *Int J Cancer* 40: 349-53, 1987.
 50. Jones JF, Williams M, et al. Antibodies to EBV specific DNase and DNA polymerase in the chronic fatigue syndrome. *Arch Intern Med* 148:1957-60, 1988.
 51. Kumar ML, Nankervis GA, et al. Postnatally acquired CMV infections in infants of CMV-excreting mothers. *J Pediatr* 104 (5): 669-73, 1984.
 52. Krueger GRF, Sander C: What's new in human herpes virus-6? *Path Res Pract* 185:915-29, 1989.
 53. Pagano JS. EBV: Culprit or consort ? *N Engl J Med* Dec 10: 1750-51, 1992.
 54. Leyvraz S, Henle W, Chahinian AP, et al. Association of EBV with thymic carcinoma. *N Engl J Med* 321 (20): 1296-99, 1985.
 55. Fleisher G, Bolognese R. Persistent EBV infection and pregnancy. *J Infect Dis* 147 (6): 982-86, 1983.
 56. Brown ZA, Stenchever MA. infectious mononucleosis and congenital anomalies. *Am J Obstet Gynecol* 131 (1): 108-9, 1978.
 57. Fleisher G, Bolognese R. EBV infections in pregnancy: A prospective study. *J Pediatr* 104 (3): 374-79, 1984.
 58. Goldberg GN, Fulginiti VA, et al. in utero EBV (infectious mononucleosis) infection. *JAMA* 246 (14): 1579-81, 1981.
 59. Ho DWT, Field PR, Cunningham AL. Rapid diagnosis of acute EBV infection by an indirect ELISA for specific IgM antibody without rheumatoid factor and specific IgG interference. *J Clin Microbiol* 27 (5): 952-58, 1989.
 60. Henle W, Henle G, Andersson J, et al. Antibody response to EBNA 1 and EBNA 2 in acute and chronic EBV infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:570-74, 1987.
 61. Chen RL, Lin KH, Un DT, et al. Immunomodulation treatment for childhood virus-associated haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol* 89: 282-90, 1995.
 62. Epstein MA. Vaccination against EBV: Current progress and future strategies. *Lancet* June 21: 1425-27, 1986.
 63. Gatner BC, Hess RD, Bandt D, et al. Evaluation of four commercially available

- Epstein-Barr virus enzyme immunoassay as the reference method. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 10:78-82. 2003.
64. Paul JR, Bunnell WW. The presence of heterophile antibodies in infectious mononucleosis. *Am J Med Sci* 183:80-104. 1932.
 65. Evans AS, Niederman JC, Cenabre LC, West B, Richards VA. A prospective evaluation of heterophile and Epstein Barr virus specific IgM antibody tests in clinical and subclinical infectious mononucleosis-specificity and sensitivity of the tests and persistence of antibody. *J Infect Dis* 132:546-554. 1975.
 66. Paul JR, and WW Bunnell. The presence of heterophile antibodies in infectious mononucleosis. *Am J Med Sci.* 267:178-188.1974.
 67. Svahn A,M. Magnusson, L. Jägdahl, L. Schlass, G. Kahlmeter, and A. Linde. evaluation of three commercial enzyme-linked immunosorbent assays and two latex agglutination assays for diagnosis of primary Epstein-Barr virus infection. *J. Clin. Microbiol.* 35:2728-2732. 1997.
 68. Gorgievski-Hrisoho M, Hinderer W, Nebel-Schickel H, Horn J, Vornhagen R, Sonneborn HH, Wolf H, Siegl G. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme linked immunosorbent assay technology. *J. Clin. Microbiol* 28:2305-2311. 1990.
 69. Lucas KG, F. Filo, DK Heilman, CH Lee and DJ Emanuel. Semiquantitative Epstein-Barr virus polymerase chain reaction analysis of peripheral blood from organ transplant patients and risk for the development of lymphoproliferative disease. *Blood* 92:3977-3978. 1998.
 70. Silins SL, MA Sherritt, JM Silleri, SM Cross, SL Elliott, M Bharadway, TT Le, LE Morrison, R. Khanna, DJ Moss, A Suhrbier and IS Misko. Asymptomatic primary Epstein-Barr virus infection occurs in the absence of blood T-cell repertoire perturbations despite high level of systemic viral load. *Blood* 98:3739-3744. 2001.
 71. Bai X, G Hasler, BB Rogers, DB Dawson and RH Scheuermann. Quantitative polymerase chain reaction for human herpesvirus diagnosis and measurement of Epstein-Barr virus burden in posttransplant lymphoproliferative disorder. *Clin Chem* 43:1843-1849. 1997.
 72. Baldanti F, P Grossi, M Furione, L Simoncini, A Sarasini, P Comoli, R Maccario, R Fiocchi and G Gerna. High levels of Epstein-Barr virus DNA in blood of solid organ transplant recipients and their value in predicting posttransplant lymphoproliferative disorders. *J Clin Microbiol.* 38:613-619. 2000.

73. Rowe DT, L Qu, J Reyes, N Jabbour, E Yunis, P Putnam and S Todo. Use of quantitative competitive PCR to measure Epstein-Barr virus genome load in the peripheral blood of pediatric transplant recipients with lymphoproliferative disorders. *J Clin Microbiol* 35:1612-1615. 1997.
74. Stevens SJC, MBHJ Vervoort, AJC van den Brule, PL Meenhorst, CJ Meijer and JM Middeldorp. Monitoring of Epstein-Barr virus DNA load in peripheral blood by quantitative competitive PCR. *J Clin Mikrobiol.* 37:2852-2857. 1999.
75. Gallagher A, AA Armstrong, J MacKenzie, L Shield, G Kahn, A Lake, S Proctor, P Taylor, GB Clements and RF Jarrett. Detection of Epstein-Barr virus(EBV) genomes in the serum of patients with EBV-associated Hodgkin's disease. *Int J Cancer* 84:442-448. 1999.
76. Jabs WJ, Hennig H, Kittel M, Pethig K, Smets F, Bucsky P, Kirchner H, and Wagner HJ. Normalized quantification by real-time PCR of Epstein-Barr virus load in patients at risk for posttransplant lymphoproliferative disorders. *J. Clin. Microbiol.* 39:564–569. 2001.
77. Kimura H, Morita M, Yabuta Y, Kuzushima K, Kato K, Kojima S, Matsuyama T, and Morishima T. Quantitative analysis of Epstein-Barr virus load by using a real-time PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 37:132–136. 1999.
78. Niesters HG, J. van Esser, Fries E, Wolthers KC, Cornelissen J, and Osterhaus AD. Development of a real-time quantitative assay for detection of Epstein-Barr virus. *J. Clin. Microbiol.* 38:712–715. 2000.
79. Henle G, Henle W. Immunofluorescence in cells derived from Burkitt's lymphoma. *J Bacteriol* 91:1248–1256. 1966.
80. Linde A, Kallin B, Dillner J, Andersson J, Jägdahl L, Lindvall A, and Wahren B. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay with two synthetic peptides of Epstein-Barr virus for diagnosis of infectious mononucleosis. *J. Infect. Dis.* 161:903–909. 1990.
81. Luka, J, Chase RC, and Pearson GR. A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against major EBV-associated antigens. I. Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens. *J. Immunol. Methods* 67:145–156. 1984.
82. Rea, TD, Ashley RL, Russo JE, and Buchwald DS. A systematic study of Epstein-Barr virus serologic assay following acute infection. *Am. J. Clin. Pathol.* 17:156–161. 2002.

83. Gärtner BC, Hess RD, Bandt D, Kruse A, Rethwilm A, Roemer K, and Mueller-Lantzsch N. Evaluation of four commercially available Epstein-Barr virus enzyme immunoassays with an immunofluorescence assay as the reference method. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 10:78–82. 2003.
84. Buisson M, Fleurent B, Mak M, Morand P, Chan L, Guan A Ng M, Chin D, and Seigneurin JM. Novel immunoblot assay using four recombinant antigens for diagnosis of Epstein-Barr virus primary infection and reactivation. *J. Clin. Microbiol.* 37:2709–2714. 1999.
85. Ziegelmaier R, Bieker R, Behrens F, and Vermeer H. Diagnosis of acute infections: IgM-antibody determination without rheumatoid factor interference. *Laboratoriumsblätter* 33: 2-8. 1983.
86. Tischendorf P, Shramek GJ, et al. Development and persistence of immunity to EBV in man. *J Infect Dis* 122 (5): 401-9, 1970.
87. Fleisher GR, Pasquarillo PS, et al. Intrafamilial transmission of EBV infections. *J Pediatr* 98(1): 16-19, 1981.
88. 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. *Clin Diagn. Virol.* 8(1):71-81. May.1997.
89. Pumannova M, rezbova M, Svecova M, Hrbackova H, Novotna M, Ochotna J, Roubalova K. Comparison of the detection of IgM antibodies against the viral capsid antigen(VCA) of EBV in various groups of patients, using indirect immunofluorescence, indirect ELISA-VIDITEST kit. *Klin. Microbiol. Infect. Lek.*10(4):186-90).30. Aug.2004.
90. Auwaerter PG. Infectious mononucleosis in middle age. *JAMA* 281:454-459
91. Cohen JI. 2003. Benign and malignant Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphoproliferative disease. *Semin. Hematol.* 40:116-123.1999.
92. Johannsen EC, RT Schooley and KM Kaye. Epstein-Barr virus (Infectious mononucleosis), p.1801-1821. In R. Dolin (ed.)*Principles and practice of infectious diseases*, 6th ed.,vol. 2. Churchill Livingstone, Philadelphia, Pa. 2005.
93. Pereira MS, Blake JM, Mac Rae AD. EB virus antibody at different ages. *Br. Med. J.* 4:526-7. 1969
94. Sumaya CV, Henle W, Henle G, Smith MHD, LeBlanc D. Seroepidemiologic study of Epstein-Barr virus infections in rural community. *J. Infect. Dis.*131:403-8. 1975.

95. Tomkinson BE, Sullivan JL. Epstein-Barr virus(infectious mononucleosis). In:Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, eds. Infectious Diseases. Philedelphia: WB Saunders Co.1701-9. 1992.
96. Wang PS, Evans AS. Prevalence of antibodies to Epstein-Barr virus and cytomegalovirus in sera from a group of children in the People's Republic of China. J. Infect. Dis. 153:150-2. 1986.
97. Yenen OŞ, Mete Z. Epstein-Barr virus(EBV) spesifik serolojisi üzerine bir çalışma. Infek Derg. 2:233.1988.
98. Venkiramatan AR, Lenoir GM, John TJ. The seroepidemiology of infection due to Epstein-Barr virus in southern India. J. Med. Virol. 15:11-6. 1985.
99. Tsega E, Mengesha B, y Hansson BG, Nordenfelt E, Lindberg J. Serological and demographic survey of Epstein-Barr virus infection in Ethiopia. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.81:677-80. 1987.
100. Albeck H, Bille T, Fenger HJ, et al. Epstein-Barr virus infection and serological profile in Geenland Eskimo children. Acta Paediatr. Scand.74691-96. 1985.
101. Rosenthal KS. Human herpesvirus. In:Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS, eds. Medical Microbiology. 2nd ed. London:Mosby Year Book, Inc.571-95. 1994.
102. Aydemir Ş, Erensoy S. Epstein-Barr virüs infeksiyonunun seroprevalansı. Enfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection). 13(2):275-280. 1999.
103. Gursevich V, Le Rivered E., Ruiz R. Seroepidemiologic study of the Epstein-Barr virus infectivity in a healthy Cuban population. Infect. Immun.41;418-9. 1983.
104. Fung MK, Mordarski KT, Bader SA, Gronowski AM. Evaluation of the Wampole Laboratories ELISA-based assay for Epstein-Barr virus serology. Clin Chimica Acta. 319: 43-8. 2002.
105. Figueira-Silva CM, Pereira FEL. Prevalence of Epstein-Barr virus antibodies in healthy children and adolescents in Vitoria, State of Espirito Santo, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 37: 409-12. 2004.
106. Debyser, Z., M. Reynders, P. Goubau, and J. Desmyter. Comparative evaluation of three ELISA techniques and an indirect immunofluorescence assay for the serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection. Clin. Diagn. Virol. 8:71–81. 1997.
107. Cour MI, Gimenez A, Martinez JA, et al. Prevalence of the Epstein-Barr virus among different populations in the central area. Ann. Med. Interna. 529-32. 1991.

108. Gray J J, Caldwell J, and Sillis M. The rapid serological diagnosis of infectious mononucleosis. *J. Infect.* 25:39-46. 1992.
109. Debyser, Z., M. Reynders, P. Goubau, and J. Desmyter. 1997. Comparative evaluation of three ELISA techniques and an indirect immunofluorescence assay for the serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection. *Clin. Diagn. Virol.* 8:71–81.
110. Karen FM and Crawford DH. Epstein-Barr virus-recent advances. *Lancet infect Dis.* 3:131-40. 2003.
111. Linderholm M, Boman J, Juto P, and Linde A. Comparative Evaluation of Nine Kits for Rapid Diagnosis of Infectious Mononucleosis and Epstein Barr Virus-Specific Serology. *J. Clin. Microbiol.* p. 259-261 Jan. 1994.
112. Henle W, Henle G, and Horwitz CA. Epstein-Barr virus specific diagnostic tests in infectious mononucleosis. *Hum. Pathol.* 5:551-565. 1974.
113. Schillinger M, Kampmann M, Murray G, Hanselmann I, and G Bauer. Variability of humoral immune response to acute Epstein-Barr virus (EBV) infection: evaluation of the significance of serological markers. *Med. Microbiol. Lett.* 2:296–303. 1993.
114. Bauer G. Simplicity through complexity: immunoblot with recombinant antigens as the new gold standard in Epstein-Barr virus serology. *Clin. Lab.* 47:223–230. 2001.
115. Evans AS, and Niederman JC. Epstein-Barr virus, p. 253–281. In A. S. Evans (ed.), *Viral infection of humans, epidemiology and control*, 2nd ed. Plenum Medical Book Company, New York, N.Y. 1982.
116. Weber B, Brunner M, Preiser W, and Doerr H W. Evaluation of 11 enzyme immunoassays for the detection of immunoglobulin M antibodies to Epstein-Barr virus. *J. Virol. Methods* 57:87–93. 1996.
117. Horwitz CA, Henle W, Henle G, Schapiro R, Borken S, Bundtzen R. Infectious mononucleosis in patients aged 40–72 years: report of 27 cases, including 3 without heterophile antibody responses. *Medicine* 62:256–262. 1983.
118. Naveau S, Delfraissy JF, Poitrine A, Poynard T, Chaput JC. Simultaneous detection of IgM antibodies against the hepatitis A virus and the Viral capsid antigen of Epstein Barr virus in acute hepatitis. *Gastroenterol Clin Biol* 9:109 112. 1985.
119. Sensini A, Pasceli S, Marchetti D, Castronori R, Marangi M, Sbaraglia M and Mottola A. IgG avidity in the serodiagnosis of acute *Toxoplasma gondii* infection; a multicenter study. *Clin. Microbiol and Infec.* 2:25-29. 1996.

120. Jenum PA, Pedersen BS and Gundersen AG. Improved Diagnosis of Primary Toxoplasma Gondii Infection in Early Pregnancy by Determination of Antitoxoplasma Immunoglobulin G Avidity. J. Clin. Microbiol.35: 1972-1977. 1997.
121. Lappalainen M, Koskela P, Keskinieki M, Toxplasmosis Acquired during pregnancy; Improved Serodiagnosis Based on Avidity of IgG. Infect. Dis , 1993;167: 691-697.
122. Thomas HI, Chapner PM. Rubella-specific IgG1 avidity:a comparison of methods.J. Virol Methods. 31:219-228. 1991.
123. Robertson P, Beynon S, Whybin R, Brennan C, Vollmer Conna V, Hickie I, Lloyd A. Measurement of EBV-IgG anti VCA avidity aids the early and reliable diagnosis of primary EBV infection. J. Med. Virol. 70(4) 617-23). Aug. 2003.
124. Tone Wikene Nystad, Helge Myrmel. Prevalance of primary versus reactivated Epstein-Barr virus infection in patients with VCA IgG, VCA IgM and EBNA-1 antibodies and suspected infectious mononucleosis. Journal of Clinical Virology. 2007
125. Sumaya CV, Ench Y. EBV Infectious mononucleosis in children-I: Clinical and general laboratory findings. Pediatrics 75 (6): 1003-10, 1985.

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Başkanı:
Prof. Dr. Eralp Arıkan

DEĞİŞİK YAŞ GRUPLARINDA EPSTEİN-BARR VİRUS ANTİKORLARININ
IFA YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Nezahat AKPOLAT

Dr. Murat Gedik

Diyarbakır 2007

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
GEREÇ VE YÖNTEM	21
BULGULAR	26
TARTIŞMA	36
ÖZET	46
SUMMARY	47
KAYNAKLAR	48