

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNFEKSİYÖZ MONONÜKLEOZ ŞÜPHELİ OLGULARDA
EBV ve CMV’NİN SEROLOJİK
TANI YÖNTEMLERİ

Savaş ASLAN

MİKROBİYOLOJİ ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Orhan Cem AKTEPE

Tez No: 2004-025

2004 – AFYON

KABUL VE ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunması Tarihi: 21 / 06 / 2004

Doç. Dr. Aysin ZEYTİNOĞLU
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Mustafa ALTINDIŞ
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Orhan Cem AKTEPE
ÜYE

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Yüksek Lisans öğrencisi Savaş ASLAN'ın "İnfeksiyöz Mononükleoz Şüpheli Olgularda EBV ve CMV'nin Serolojik Tanı Yöntemleri" başlıklı tezi 22 / 06 / 2004 günü saat 16:00' da Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Yüksel ARIKAN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Ekim 2002 – Şubat 2004 tarihleri arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne LAP ve boğazda şişlik yakınması ile başvuran hastalarda, infeksiyöz mononükleoz şüphesiyle ELISA, Monospot-Lâteks Aglütinasyon ve Dot-Blot test yöntemleriyle çalışma gerçekleştirildi.

Yüksek lisansa başlamamda, öğrenimim boyunca her konuda yardımını esirgemeyen, yönlendiren, çalışmamı gerçekleştirmemde önderlik edip titizlikle kontrol eden Sayın Yrd. Doç. Dr. Orhan Cem AKTEPE hocama, çalışmalarım süresince yol gösteren sayın anabilim dalı hocalarıma ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma ile ilgili numunelerin toplanmasında, saklanmasında, test tekniklerinde ve çalışmamda yardımcı olan tüm laboratuvar çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Her zaman yanımda hissettiğim, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme teşekkür ederim

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
Önsöz	III
İçindekiler	IV
Tablolar ve Şekiller Dizini	VII
Kısaltmalar	VIII
ÖZET	IX
SUMMARY	X
1.GİRİŞ	1
1.1. Epstein-Barr Virus	3
1.1.1. Virusun Özellikleri	4
1.1.2. Virusun Antijenik Yapısı	5
1.1.3. Epidemiyoloji	7
1.1.4. Yaptığı Hastalıklar	8
1.1.4.1. İnfeksiyöz Mononükleoz	8
1.1.4.2. Burkitt Lenfoması	11
1.1.4.3. Nazofarenjyal Karsinoma	12
1.1.5. Bağışıklık	13
1.1.5.1. Heterofil Antikorlar	13
1.1.5.2. Epstein-Barr Virus Antikorları	13
1.1.6. Patogenez	14
1.1.7. Patofizyolojik Mekanizmalar	14
1.1.8. Komplike Olmayan İnfeksiyöz Mononükleozda Tedavi	16
1.1.9. İnfeksiyöz Mononükleoz Komplikasyonları	17
1.1.10. Laboratuvar Tanı Yöntemleri	17
1.1.10.1. Hematolojik Bulgular	17
1.1.10.1.1. Yayma Preparat	17
1.1.10.1.2. Lökosit Sayımı	18

1.1.10.2. Serolojik Testler	18
1.1.10.3. Virus İzolasyonu	20
1.1.1.4. Diğer Testler	21
1.1.11. Ayırıcı Tanı	22
1.1.11.1. Viral İnfeksiyonlar	24
1.1.11.2. Bakteriyel İnfeksiyonlar	24
1.1.11.3. Nadir Bakteriyel Hastalıklar	25
1.1.11.4. Fungal İnfeksiyonlar	25
1.1.11.5. Parazitik İnfeksiyonlar	25
1.1.11.6. İnfeksiyöz Olmayan İnflamatuvar Durumlar	25
1.1.12. Korunma ve Aşı	26
1.2. Cytomegalovirus	27
1.2.1. Virusun Özellikleri	28
1.2.2. Virusun Antijenik Yapısı	28
1.2.3. Epidemiyoloji	28
1.2.4. Yaptığı Hastalıklar	30
1.2.4.1. Konjenital Sitomegalik İnklüzyon Hastalığı	31
1.2.4.2. Postnatal İnfeksiyonlar	31
1.2.4.3. Sitomegalovirütik Mononükleoz	31
1.2.5. Prognoz	32
1.2.6. Bağışıklık	32
1.2.7. Patogenez	32
1.2.8. Patoloji	33
1.2.9. Laboratuvar Tanı Yöntemleri	33
1.2.9.1. Direkt İnceleme	34
1.2.9.1.1. Eksfoliyatif Sitoloji	35
1.2.9.1.2. Histopatoloji	35
1.2.9.1.3. İmmun Floresan	35
1.2.9.1.4. Elektron Mikroskopu	35
1.2.9.1.5. Hibridizasyon	35
1.2.9.1.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile DNA amplifikasyonu	36
1.2.9.1.7. mRNA Saptama Yöntemleri	36

1.2.9.2. Virusun İzolasyonu ve Kültürü	37
1.2.9.3. Serolojik Yöntemler	38
1.2.9.3.1. Kompleman Birleşme Testi	39
1.2.9.3.2. Antikompleman Immun Floresan Testi	39
1.2.9.3.3. Immun Floresan Antikor Testi	39
1.2.9.3.4. Indirekt Hemaglutinasyon Testi	40
1.2.9.3.5. Pasif Lateks Aglutinasyon Testi	40
1.2.9.3.6. Radioimmunoassay	40
1.2.9.3.7. Nötralizasyon Testi	40
1.2.9.3.8. Enzim Linked Immunosorbent Assay	40
1.2.9.3.9. Immuno Adherens Hemaglutinasyon Testi	41
1.2.9.3.10. Otomatize Immunfloresan M-ab Capture	41
1.2.9.4. Diğer Tanı Yöntemleri	42
2. MATERYAL ve METOD	44
2.1. Monospot Yöntemi	44
2.2. Dot-Blot Yöntemi	45
2.3. ELISA Yöntemi	47
3. BULGULAR	55
4. TARTIŞMA	59
KAYNAKLAR	64
EKLER	

TABLolar DİZİNİ

Tablo1. İnfeksiyon Etkeni Herpes Viruslar	3
Tablo2. EBV Antijenleri	6
Tablo3. İnfeksiyöz Mononükleoz Semptomları	9
Tablo4. Yaşlı Gruplarına Göre EBV İnfeksiyöz Mononükleoz Bulguları	10
Tablo5. EBV Serolojik Sendrom Profili	20
Tablo6. Çocuklarda Baş Boyun Akut Lenfadenopatiye Yol Açan Ana Nedenler	23
Tablo7. Çocuklarda Baş Boyun Subakut ve Kronik Lenfadenopatiye Yol Açan Ana Nedenler	23
Tablo8. Antijenemi Düzeyi	42
Tablo9. Test yöntemleri ve Sonuçları	56
Tablo9. Dot-Blot ve Monospot Yöntemi Karşılaştırılması	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil1. CMV ve EBV Antikorları Aylara Göre Dağılımı	57
Şekil2. EBV'nin Yaşlara Göre Pozitiflik Oranı	57

KISALTMALAR

ABD : Amerika Birleşik Devletleri	HIV : İnsan İmmün Yetmezlik Virusu
ACIF : Antikompleman İmmün Floresan Testi	HSV : Herpes simplex Virus
AIDS : <i>Edinilmiş İmmün Yetmezlik Sendromu</i>	IAHA : İmmunoadherens Hemaglutinasyon Testi
BAL : Brankoalveolar Lavaj Sıvısı	IFA : İmmün Floresan Antikor Testi
BOS : Beyin Omurilik Sıvısı	IHA : İndirekt Hemaglutinasyon Testi
CID : Sitomegalik İnklüzyon Hastalığı	İM : İnfeksiyöz Mononükleoz
CMV : <i>Cytomegalovirus</i>	KBB : Kulak Burun Boğaz
DNA : Deoksiribonükleik Asit	KBD : Kompleman Birleşmesi Deneyi
EA : <i>Erken Dönem Antijeni</i>	LAP : Lenfadenopati
EBER : EBV Encoded RNA	LMP : Latent Membran Proteinleri
EBNA : EBV Nükleer Antijeni	LYDMA : Lymphocyte Defined Membrane Antigen
EBV : <i>Epstein-Barr Virus</i>	MA : Membran Antijeni
ELISA : Enzim Linked Immunosorbent Assay	MACRIA : Otomatize İmmünfloresan M-ab Capture
GP : Glikoprotein	MNL : Mononükleer Lökosit
HAV : Hepatit A Virusu	MRC : Mink Akciğer Hücresi
HBV : Hepatit B Virusu	NASBA : Nucleic Acid Sequence-Based Amplification
HHV : İnsan Herpes Virus	PLA : Pasif Lateks Aglutinasyon Testi

PNL	: Polimorf Nükleuslu Lökosit	TMB	:Tetrametilbenzidin
RF	:Romatoid Faktör	UP	:Ure-Peroxide
RIA	:Radioimmunoassay	VCA	:Viral Kapsid Antijeni
SSS	: Santral Sinir Sistemi	VZV	:Varicella zoster Virus
SVKY	:Shell-Vial Kültür Yöntemi		

ÖZET**İnfeksiyöz Mononükleoz Şüpheli Olgularda EBV ve CMV'nin Serolojik Tanı****Yöntemleri**

İnfeksiyöz mononükleoz, EBV'a bağlı olarak ortaya çıkan, primer olarak adolesan çağının ve gençlerin hastalığıdır. Hastalığın klasik triadı ateşin yanında boğaz ağrısı ve lenfadenopatidir. CMV ve EBV enfeksiyonu daha çok çocukluk çağında asemptomatik olarak geçirilmekte iken, immun yetmezlik durumlarda ve konjenital enfeksiyon gibi ağır klinik tablolara neden olmaktadır. Virusların kazanılmasında ve klinik enfeksiyon şeklinde etkisi olan başlıca faktörler yaş, kalabalık ve kötü hijyen koşullarında yaşama, konağın immun durumu, kan ve organ nakli ve cinsel temastır.

Çalışmamızda infeksiyöz mononükleoz tanısında güncel olarak kullanılan monospot deneyi ile ELISA ve Dot-Blot deneyi birlikte kullanılarak LAP ve boğazda şişlik şüphesiyle başvuran gruplardaki akut ve geçirilmiş enfeksiyonlar araştırılmıştır. Çalışmaya, 18 ay süreyle hastanemize başvuran 2-59 yaşları arasındaki hastalar dahil edildi. Bu dönemde; 13'ü kadın, 14'ü erkek olmak üzere toplam 27 hastaya ait örnekler incelendi. Her bir hasta için hasta bilgilerini içeren bir form dolduruldu. Hasta serumlarında, EBV, (ELISA ile IgM, IgG, Monospot ve Dot-Blot yöntemi ile çalışıldı. CMV, ELISA yöntemi ile IgM, IgG ve Dot-Blot yöntemi ile çalışıldı.

Çalışmaya alınan toplam 27 hastanın 5'inde (%18,51) EBV IgM (ELISA), 2 hastada (%7,40) Heterofil Antikor (Monospot), 4 hastada (%14,81) ise Dot Blot pozitif bulundu. CMV IgM ve IgG açısından değerlendirildiğinde; IgM ve Dot-Blot yöntemi hiç antikor saptanamazken, ELISA ile IgG 26 (%96,29) hastada pozitif olarak tespit edildi.

Sonuç olarak, lenfadenopati ve boğazda şişlik şüphesiyle başvuran grupların infeksiyöz mononükleoz açısından değerlendirilmesinde en sık kullanılan yöntem olan monospot testinin tüm olguların saptamakta yeterli olmadığı görülmektedir. Hastalarda EBV ve CMV varlığının ELISA ile araştırılması yanı sıra, etkenleri ve heterofil antikor varlığını birarada değerlendiren Dot-Blot yönteminin pratik ve doğru sonuç veren bir test olarak kullanılabilceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: EBV, CMV, İnfeksiyöz mononükleoz.

SUMMARY

Serologic Diagnosis of EBV and CMV in Infectious Mononucleosis Suspected

Cases.

Infectious mononucleosis, is a primarily disease of the adolescence and childhood period caused by EBV. The classical triad of the disease is sore throat and lymphadenopathy besides fever. While infections of CMV and EBV are exposed mostly in childhood period, they can cause serious clinical pictures in immune deficiency statuses or congenital infections. The main factors effecting the acquiring of viruses and clinical infections are depended on age, living in a crowded environment, and bad hygienic conditions, the immune status of the host, blood and organ transplantation, and sexual intercourse.

In our study, we investigated acute and past infections in the patients admitted with lymphadenopathy and doubtful swelling in throat by using monospot test, which is a test used in the diagnosing of infectious mononucleosis currently, and ELISA and Dot-Blot tests together. Patients of ages between 2 and 59 who applied to our hospital in a period of 18 months were involved in our study. During this period, samples taken from a total of 27 patients, out of which 13 were females, and 14 were males. A form containing the information about patients were filled for each patient. EBV was searched in the serum with ELISA for IgM and IgG were searched, and also with Monospot and Dot-Blot methods. CMV was searched, with ELISA method, for IgM and IgG, and also were searched with Dot-Blot method.

In 5 (%18,51) of the patients out of 27 patients, EBV IgM ELISA was found to be positive, in 2 (%7,40) heterophile antibody (Monospot), and in 4 (%14,81) Dot-Blot was found to be positive. When results were evaluated in terms of CMV IgM and IgG, while no antibodies could be found with ELISA and Dot-Blot methods, antibody was determined with (ELISA) IgG in 26 (%96,29) patients.

In conclusion, it is apparent that the monospot test, which is the most frequently used method in the evaluation of infectious mononucleosis, is not satisfactory in evaluating every case of in such patients with lymphadenopathy and swelling in throat. It is suggested that Dot-Blot method is a practical and accurate test that is another method in evaluating the factors and the presence of heterophile antibodies, as well as searching the presence of EBV and CMV with ELISA.

Keywords: EBV, CMV, Infectious mononucleosis.

1. GİRİŞ

Herpesvirus ailesinin iki önemli üyesi olan Epstein-Barr virus (EBV) ve Cytomegalovirus (CMV) sık görülen infeksiyon etkenleridir. Her iki ajanla da infeksiyon, daha çok çocukluk döneminde ve asemptomatik olarak geçirilmekte, immün yetmezlik, konjenital infeksiyon gibi bazı durumlarda ise ağır klinik tablolar oluşabilmektedir (1,2).

EBV'nin önemi, birçok malign hastalıkta EBV-DNA'nın saptanmasına ve bu hastalıkların patogenezinde virusun rol aldığı düşünülmesine dayanır. Bu hastalıklardan başlıcaları Burkitt lenfoma, Nazofarinjyal karsinoma, immün yetmezliklerde ve AIDS'li hastalardaki lenfoproliferatif durumlar ve Hodgkin hastalığıdır (2,3).

EBV ve CMV'nin etyolojik ajan olarak gösterildiği veya patogenezinde rol oynadığı düşünülen hastalıkların listesi her geçen gün artmaktadır (4).

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda, yukarıdaki faktörlerin etkisiyle, farklı antikor sıklıkları bildirilmektedir. EBV'ye ait çalışmalarda genellikle 5 yaşın altındaki yüksek sosyoekonomik düzeyli çocuklarda sıklık %50 civarındayken, aynı yaşlardaki düşük düzeyli çocuklarda oran %90'ın üzerinde bulunmaktadır (5,6). Aynı yaş grubundaki çocuklarda CMV için oranlar yüksek sosyoekonomik koşullarda %5–30 arasında verilirken, düşük düzeylerde oran %100 olarak bildirilmektedir (7,8).

EBV, genomu tamamen klonlanan ve dizi analizi yapılan ilk herpes virustur. EBV in vivo olarak epitel hücrelerini ve in vitro olarak ta B-lenfositleri infekte eder. EBV infeksiyonu ağız yoluyla ve aerosol partiküllerinin solunumu yoluyla başlar. Oral ve nazofarinks epitelinde EBV replikasyonu görülür. Epitel hücrelerindeki litik infeksiyona karşılık B-lenfositlerde uzun bir latent dönem başlar (9).

EBV'un tanımlanmasından sonra, 1968 yılında EBV üzerine araştırma yapan Henle'nin laboratuvarında çalışan bir teknisyende İnfeksiyöz Mononükleoz gelişmesiyle, bu hastalıkla EBV arasında bir ilişki olduğu düşünülmüştür. Heterofil antikor bulunan infeksiyöz mononükleozlu hastalarda EBV'ye karşı antikorlar gösterilerek etiyolojide EBV de sorumlu tutulmuştur (10,11).

İnfeksiyöz Mononükleoz, daha çok çocuk ve genç erişkinlerde rastlanan, boğaz ağrısı, lenfadenopati (LAP) ile karakterize bir hastalıktır. Hastalık, Sprunt ve Evans tarafından 1921 yılında tanımlanarak adlandırılmıştır. Paul ve Bunnell, 1932 yılında infeksiyöz mononükleozlu hasta serumlarında yüksek titrede heterofil antikor bulmuştur (10,11).

CMV, immün yeterli kişilerde genellikle belirtisiz infeksiyonlara yol açarken, solid organ ve kemik iliği nakli yapılanlar, AIDS'li olgular ve immün yetmezliği olanlarda mononükleoz benzeri sendrom, pnömoni, santral sinir sistemi, göz hastalıkları ve organ rejeksiyonu gibi ağır klinik tablolara neden olmaktadır (4,12). Heterofil antikor negatif infeksiyöz mononükleoz olgularının çoğundan da CMV etken olarak saptanabilir.

İnfeksiyöz mononükleoz şüphesi ile kliniklerden gönderilen hastalarda, CMV ve EBV infeksiyonlarının serolojik olarak tanısında birçok test yöntemi kullanılmaktadır. Biz, çalışmamızda farklı 3 test yöntemi uygulayarak sonuçları irdledik ve serolojik tanıda uygun yaklaşımı bulmayı amaçladık.

1.1. EBSTEİN-BARR VİRUS

EBV, infeksiyöz mononükleoz hastalığının etkeni olup, hemen her yaştaki insanları infekte etme potansiyeline sahiptir. Tüm dünyada yaygın olarak görülen bu virus, genellikle asemptomatik infeksiyonlara yol açmaktadır (13).

EBV genelde tükürük, organ nakli ve kan yoluyla bulaşmaktadır. Buna bağlı olarak da sık kan transfüzyonu yapılan kişiler ve immün sistemi baskılayıcı tedavi gören kişiler EBV yönünden risk grubu oluşturlar (13).

1958 yılında ilk defa Burkitt özellikle Orta ve Batı Afrika’da özellikle de çocuklarda görülen malign bir lenfomatöz hastalığı tarif etmiştir. Bu hastalık daha sonra “Burkitt Lenfoması” olarak adlandırılmıştır (13). Bu tümörler Afrika’lı çocuklarda bulunan bütün tümörlerin yaklaşık %50’sini oluşturmaktadır. Neoplazma çoğunlukla çene ve karında lokalize olup patoloğlar tarafından yıldızlı gök görünüşü diye isimlendirilen karakteristik bir sitopatolojiye sahiptir. Bu hücreler primitif, az farklılaşmış, büyük, olgunlaşmamış lenfoblastik hücrelerdir. Epidemiyolojik özellikler bu hastalığa bulaşıcı bir etkenin sebep olduğunu düşündürmektedir (14).

1964 yılında Epstein, Achong ve Barr, Burkitt lenfomasından hazırlanan kültür hücrelerinin elektron mikroskopunda tetkikinde hücreleri bir kısmında herpes virusuna benzer bir virus bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu virus sonradan “Epstein-Barr virus” olarak adlandırılmıştır (14).

EBV, Herpesviridae ailesinden Gammaherpesvirinae, CMV ise Betaherpesvirinae alt familyasının bir üyesidir (Tablo1)(15).

Tablo 1.İnfeksiyon Etkeni Herpes Virusler (11)

Alt Aile	Virus	Kısa ad	İlk hedef	Latens
α virus	Human Herpes Virus 1	HSV 1	Mukoepitelyal hücre	Nöron
	Human Herpes Virus 2	HSV 2	Mukoepitelyal hücre	Nöron
	Human Herpes Virus 3	VZV	Mukoepitelyal hücre	Nöron
β virus	Human Herpes Virus 5	CMV	MNL, epitelyal hücre	MNL
	Human Herpes Virus 6	HHV 6	T lenfosit	T cell
	Human Herpes Virus 7	HHV 7	T lenfosit	T cell
γ virus	<i>Human Herpes Virus 4</i>	EBV	Epitelyal hücre	B cell

	Human Herpes Virus 8	HHV 8	MNL	MNL
--	----------------------	-------	-----	-----

Her ne kadar EBV son zamanlarda keşfedilmişse de infeksiyöz mononükleozun klinik tanımı 1889'a kadar uzanmaktadır. Emil Pfeiffer, 1889 yılında Drüsenfieber ve Glandular Fever'in ateş, adenopati, boğaz ağrısı ve nadiren hepatosplenomegalinin de dâhil olduğu karakteristik bulgularını bildirmiştir. 1920 yılında Evans ve Sprunt karakteristik mononükleer lökositleri tarif ederek hastalığı adlandırmışlardır (14). 1932 yılında Paul ve Bunnell, infeksiyöz mononükleoz ile heterofil antikorların birlikteliğine dikkat çektiler (3,5). EBV keşfinden 4 yıl sonra Henle infeksiyöz mononükleozlu hastaların normal lenfositlere benzemeyen lenfositlerinin seri halinde kültürlerini yapmış, bu hücrelerin az bir kısmında EBV'un bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Aşağıdaki gözlemler infeksiyöz mononükleozun etyolojik ajanın EBV olduğunu desteklemektedir (14).

1. İnfeksiyöz mononükleozdan iyileştikten sonra uzun süre sonra dahi hastaların lenfosit kültürlerinde virus bulunmaktadır.
2. Antikor bulunmayan kişilere hasta kişiden alınan kanların verilmesi halinde bu kişilerde hastalık oluşmaktadır.
3. İnfeksiyöz mononükleozlu hastalarda nötralizan ve komplemanı bağlayan antikorlar, hatta immünfloresan testi uygulanarak EBV'la infekte hücrelerle reaksiyon veren antikorlar gelişmektedir.
4. Antikorlar yıllarca devam etmektedir. Antikorların varlığı veya yokluğu infeksiyöz mononükleozda duyarlılık ve dirençle ilişkilidir.
5. EBV infeksiyöz mononükleozlu hastaların boğaz sekresyonlarından da izole edilmektedir.

1.1.1. Virusun Özellikleri

Kültürden ve inokülasyon yapılan lenfoma hücrelerinden elde edilen pürüfiye

virionlar Herpesviridae ailesindedir.

1. Virion yaklaşık 110nm. çapında geniş bir zarfa sahiptir.
2. İkosahedral simetride olup 162 kapsomerli bir kapsidi vardır.
3. Kapsomerler yapı olarak Herpes viruslarınkine benzemektedir.
4. Virusun DNA'sı çift sarmallı olup 172.000 baz çiftine sahiptir.
5. Moleküler ağırlığı 1×10^8 dalton'dur.
6. G+C oranı %59'dur.

7. EB virionu Herpes simplex virusu (HSV)'nda olduğu gibi aynı büyüklük ve sayıda proteine sahiptir.
8. EBV'un lenfoblastoid hüclerine özel bir afinitesi vardır (14).
9. Bazı hüclerlerde EBV-DNA, konak hücre kromozomuna integre olur (3).
10. Normal lenfoid hüclerlerin kültivasyonunda uzun süre yaşayamazlar. Epitel ve fibroblast hüclerinde EBV'u üretme çabaları başarılı olamamıştır (14).

1.1.2. Virusun Antijenik Yapısı

EBV'un birçok antijeni bulunmaktadır. Bu antijenlerin hiç birisi diğer insan herpes virus antijenleri ile cross-reaksiyon vermemektedir (14).

EBV antijenleri virusun üreme dönemlerine göre başlıca 3 gruba ayrılır (13).

1. Latent Dönem Antijenleri: Virusun latent olarak infekte ettiği hüclerlerden sentezlenen antijenlerdir. Bu antijenler Epstein-Barr nükleer antijeni (EBNA) ve latent membran proteinleri (LMP)'dir. Bunlar infekte hücrenin membranlarında bulunur ve hücre membranının sitotoksik T-hüclerleri için hedef olmasına neden olurlar.

2. Erken Dönem Antijenleri: Yapısal olmayan proteinlerdir ve yapıları viral DNA replikasyonuna bağımlı değildir. Erken dönem antijenlerine kısaca (EA) adı da verilir. Bunların hücrede saptanmaları viral replikasyonun başlama aşamasında olduğunu gösterir (13). Viral kapsid antijene karşı oluşan IgG sınıfı antikorlarda hızlı yükselerek birkaç haftada 1/160 – 1/2560 gibi yüksek titrelelere ulaşır; akut infeksiyon sonrası titresi azalarak ömür boyu devam eder. EA karşı gelişen antikorlar immünfloresan boyalı preparatta antijenin dağılım özelliğine göre diffuz (D) veya restriktif (R) tip olarak tanımlanır. Anti EA-D akut infeksiyon başladıktan kısa süre sonra %70–80 hastada saptanabilir. Bu antikorlar kaybolurken bazı hastalarda yerini 1-4 yıl sürebilecek anti EA-R'ye bırakır. Anti-EA antikorlar immünyetmezlikli hastalarda reaktivasyon sırasında yeniden belirir; kronik infeksiyonda ve EBV ile ilişkili malign proseslerde çok yüksek titrelerde bulunabilir (16).

3. Geç Dönem Antijenleri: Bu antijenler viral kapsidin yapısal komponentleridir. Bunlara viral kapsid antijeni (VCA) ve membran antijeni (MA) adı verilir (13).

Floresan Antikor Testi, virionun yapısının bir parçası olarak VCA'nin mevcudiyetini ortaya koymuştur. Ayrıca yapıya ait olmayan ilave antijenler de bulunmuştur. Virus ile abortif olarak infekte edilmiş hücrelerde EBV EA bulunmuştur. EBV ile ilişkili neoplazmada üretilen bazı malign hücrelerin yüzeylerinde MA tesbit edilmiştir. Böyle hücreler ayrıca, EBNA ya da sahiptirler. Bu antijenin fonksiyonu hala bilinmemektedir. SV40 ve Adenovirus gibi daha küçük DNA tümör viruslarının T antijenleri ile EBNA arasındaki yüzeyel benzerlik sebebiyle EBV'un transformasyon fonksiyonundan EBNA sorumlu tutulmaktadır. EBV infeksiyonlarından sonra antijenlere karşı antikorların ortaya çıkması sebebi ile antijenlerin tanıda önemi bulunmaktadır (Tablo2) (14).

Virus lenforetiküler hücre kültürlerinde üremektedir. Seri pasajlar için hücresiz virüsü kullanmak güçtür. Viral infektivite yalnız insan B lenfositlerinin transformasyonu ile ölçülebilir. Bu hücrelerde de viral üreme çok yavaştır. Bu sebeple virusun üremesinin ve biyokimyasının çalışmak çok zor olmaktadır. EA, DNA replikasyonu başladıktan sonra sentez edilmektedir (14).

Tablo2.EBV Antijenleri

İNFEKSİYON TİPİ	ANTİJEN KOMPLEKSİ	HÜCRESEL YERLEŞİMİ
LİTİK	Membran Antijen: MA (gp)	Hücre mebranı ve virus kılıfı
	Erken Antijen: EA-D	Nükleus ve sitoplazma
	Erken Antijen: EA-R	Sitoplazma
	Viral Kapsid Antijen: VCA	Nükleus ve sitoplazma
LATENT	EB nükleer Antijen: EBNA1	Nükleus
	EBNA2	Nükleus
	EBNA3 (3a)	Nükleus
	EBNA3 (3b)	Nükleus
	EBNA5 (LP)	Nükleus
	EBNA6 (3c)	Nükleus
	Latent Membran Protein: LMP1	Sitoplazma ve membran
	Terminal proteinler: LMP2A/B	Hücre membranı

1.1.3. Epidemiyoloji

EBV, tükürük ve boğaz salgısıyla çıkarılmakta ve yakın temasla, kanla veya kontamine eşyalarla kişiden kişiye bulaşmaktadır. Yakın temasla sık bulaştığı için öpüşme hastalığı "Kissing disease" olarak da bilinir (14). Akut infeksiyöz mononükleozda tükürükte virus salınımı %100 olup bu 18 aya kadar sürebilir (2,3). Servikal sekresyonlarda EBV izole edilmişse de bulaşta cinsel yolun rolü tartışmalıdır. EBV ile ilişkili infeksiyöz mononükleoz (EBV-İM), kötü hijyene sahip

ve kalabalık bölgelerde yaşayan insanların yaşamlarının ilk yıllarında, en çok buluş çağında ve küçük çocuklarda genellikle subklinik olarak görülmektedir. Cinsiyet ayrımı olmaksızın gelişmekte olan ülkelerde dört yaşın üzerinde seropozitiflik %90 civarındadır ve infeksiyon çoğunlukla belirtisizdir. Gelişmiş ülkelerde ise EBV-İM, 15–19 yaşlar arasında daha sık görülür ve bu toplumlarda semptomatik seyir daha olasıdır (11,17).

EBV-İM, okul ve askeri birliklerde daha yaygındır ayrıca aile içi geçiş de siktir. Bazı toplumlarda, annenin ağzında öğüttüğü gıdaları daha sonra bebeğine verdiği ailelerde EBV daha kolay aktarılmaktadır.

EBV'nin latent infeksiyonundan sorumlu olan Tip1 (EBV-A) ve Tip2 (EBV-B)'nin serolojik verileri birbirlerine benzemekle birlikte viral genleri farklıdır ve her iki tipin de epidemiyolojik dağılımı aynıdır (18).

Türkiye'de yapılan bir araştırmada erişkin yaş grubunda %80–86 oranında seropozitiflik saptanmıştır (19,20). EBV ile ilgili seroepidemiyolojik araştırmalar, çocukluk yaşlarında inaparan ve subklinik infeksiyonların sayısının çok olduğunu ortaya koymuştur. Çocukluk infeksiyonlarının sıklığı, direkt olarak düşük hijyen şartları yakın ve devamlı temasla ilgilidir. Sosyoekonomik düzey yükseldikçe primer infeksiyon geçirme yaşı daha ileriye kaymaktadır (13).

EBV infeksiyonu, her iki cinsiyette ve yılın her mevsiminde eşit sıklıkta görülür. Akut EBV-İM'lu bireyler ya da sağlıklı kişiler bulaştırıcı olabilir. Seropozitif sağlıklı bireylerin %10-20'sinin, renal transplant alıcılarının %50-70'inin, hematolojik maligniteli hastaların %70-90'ının ve HIV ile infekte homoseksüel erkeklerin %50'sinin orofarenkslerinden EBV izole edilebilir (21,22).

1.1.4. Yaptığı Hastalıklar

1.1.4.1. İnfeksiyöz mononükleoz

Sprunt ve Evans 1920 yılında İnfeksiyöz Mononükleoz tanımlamasını yapmıştır. Epstein ve arkadaşları 1964 yılında EBV virionlarını gösterdiler. Henle ve arkadaşları (1968) EBV'ünü infeksiyöz mononükleosiz ajanı olarak tanımladı. Zur Hausen ve Wolve 1970'de nazofarinjyal karsinomada EBV genomu belirlendi (9).

Hastanın yaşı, klinik belirtilerde önemli yere sahiptir. EBV infeksiyonu, nadiren belirtili seyrettiği çocukluk çağı olgularında, LAP, tonsillit gibi tipik bulguların yanı sıra, larenjit, otit, abdominal ağrı ve diyare gibi belirti ve tablolara neden olabilir. Genç ve erişkinlerde ise akut infeksiyon yüksek ateş, boğaz ağrısı, LAP, lenfomonositoz ve heterofil antikor pozitifliği ile karakterize EBV-İM tablosuna neden olmaktadır. Genellikle 3–5 gün kadar süren halsizlik, iştahsızlık, bulantı, batında dolgunluk hissi, miyalji, retrobulber ağrı, ateş basması, üşüme, titreme, terleme gibi prodromal belirtileri takiben ortaya çıkar. Hastalar en sık boğaz ağrısı şikâyeti ile doktora başvururlar (Tablo3). Hastaların %90'dan fazlasında çoğunlukla öğleden sonra 38–40°C'ye yükselen ateş izlenir. Ateşli dönem ortalama 10–14 gün kadar sürer. Tonsiller sıklıkla hipertroftiktir, farenks hiperemik görümlü ve genellikle eksudatiftir. Boğaz ağrısı şikâyeti 7–10 gün kadar devam eder. Bazı hastalarda yumuşak-sert damak birleşim yerinde 1-2mm çaplı peteşiyel döküntüler görülür. Bu peteşiler 3–4 günde geriler ve kaybolur. Bazı hastalarda periorbital ödem görülebilir. Olguların %80-90'ında posterior servikal LAP vardır. Öksürük ve karın ağrılarının nedeni mediastinal ve mezenter LAP'lar olabilir. Lenf düğümleri, 5-25mm çaplı, ağrısız, hafif-sert ve mobildirler. Olguların %10-15'inde hepatosplenomegali görülürken %50 olguda ise sadece splenomegali görülebilmektedir. Hastalığın ikinci haftasında dalak maksimum büyüklüğüne ulaşır ve yaklaşık 7–10 günde geriler (21-24).

Bazı hastalarda gövde ve ekstremitelerin üst tarafında maküler, makülopapüler, peteşi şeklinde, ürtiker tarzında veya eritema multiforme benzeri döküntüler görülebilir. Ampisilin kullananlarda yaygın makülopapüler döküntü görülür ve ilacın kesilmesi ile bu döküntüler geriler. Ayrıca, bir EBV-İM vakasında levofloxacin kullanımına bağlı raş görüldüğü de rapor edilmiştir (25).

Tablo3. İnfeksiyöz Mononükleoz Semptomları (4)

Semptom	Sıklık (%)
Boğaz ağrısı	82
Halsizlik	57
Baş ağrısı	51
İştahsızlık	21

Miyalji	20
Titreme	16
Bulantı	12
Karın ağrısı	9
Öksürük	5
Kusma	5
Artralji	2

İnfeksiyöz mononükleoz her ne kadar küçük çocuklarda ve yaşlılarda da görülebilirse de primer olarak adolesan çağının ve gençlerin bir hastalığıdır. İnfeksiyöz mononükleoz başlıca 15–20 yaş arasındakilerde meydana gelir. Hastaların büyük çoğunluğu herhangi bir komplikasyon olmaksızın hastalıktan yaklaşık 2 ile 3 hafta sonra iyileşir. Klinik olarak hastalık 40 yaşın üstündekilerde daha ağır seyredebilir ve uzun sürebilir (14).

Hastalık seronegatif kişilerde meydana gelmektedir ve genellikle virus çıkaran semptomsuz bir hasta ile öpüşmek suretiyle bulaşmaktadır. Kuluçka süresinin yaklaşık 90 gün olduğu düşünülmektedir. Fakat süreyi tam olarak tespit etmek mümkün olmamaktadır. Transfüzyona bağlı infeksiyöz mononükleozda ise kuluçka süresi 3–5 haftadır (14).

Baş ağrısı, ateş, titreme, iştahsızlık ve halsizliği takiben LAP ve ağır boğaz ağrısıyla sinsi veya aniden başlar (3). Hastalarda 40⁰C'ye varan bir ateş bulunur ve ateş genellikle 1–2 hafta içerisinde düşer. Çocuklarda ateşin süresi daha kısa olabilir veya ateş bulunmayabilir. Hastalığın klasik klinik triadı ateşin yanında boğaz ağrısı ve LAP'dir. Servikal LAP'nin yanında farinksin lenfoid dokusunda da hiperplazi vardır. Çoğu kez hepatosplenomegali de görülmektedir. Vakaların yaklaşık yarısının tonsillerinde koyu bir eksuda bulunur. Nadiren damakta peteşiler oluşur. Vakaların %90'ında fazlasında LAP vardır. Arka servikal lenf bezleri simetrik olarak tutulur. Ön servikal, submadibüler, koltuk altı ve kasık lenf bezleri de tutulabilir. Hastaların yaklaşık yarısında ikinci hafta esnasında splenomegali, %10-15'inde hepatomegali tespit edilir. Vakaların ancak %5'inde sarılık gelişir. Vakaların yaklaşık %10'da deri döküntüleri oluşur. Bu ekzantemler kızamıkçık veya kızıl tarzında hemorajik veya ürtiker şeklindedir (14).

Hastaların büyük bir çoğunluğu komplikasyonsuz iyileşir. Fakat bazı hastalarda komplikasyonlar görülür. Hastaların ikinci veya üçüncü haftası esnasında

karın ağrısı ile ortaya çıkan dalak yırtılması en çok görülen komplikasyondur. Vakaların %1'inden azında ensefalit, menenjit, Guillain-Barre sendromu, miyelit, Reye sendromu ve kranial sinir felci gibi nörolojik komplikasyonlar meydana gelebilir. Perikardit ve miyokardit bildirilmiştir. Trombositopeni çok görülür, fakat nadiren ağırdır (14).

Yaşlılarda ender görüldüğü için, EBV-İM tanısı hayatın geç dönemlerinde güçlükle koyulur. 40 yaşın üzerindeki toplumun %3-10'u EBV infeksiyonuna yatkındır. Gençlerde ve çocuklardakine göre belirti ve bulgular daha farklıdır (Tablo4) (26).

Tablo4.Yaşlı Gruplarına Göre EBV İnfeksiyöz Mononükleoz Bulguları

	Hasta<35 yaş (%)	Hasta>40 yaş (%)
Ateş	89	95
Farenjit	78	<u>43</u>
LAP	94	<u>47</u>
Sarılık	4	<u>27</u>
Döküntü	7	12

Yaşlı erişkinlerde hastalık belirtilerinin başlamasından 2-5 hafta sonra heterofil antikorlar %90 oranda pozitifleşir. EBV-İM'li yaşlı erişkinler, genellikle yanlışlıkla hepatobiliyer hastalık, neoplaziler, kollajen doku hastalıkları veya bakteriyel infeksiyonların varlığı açısından araştırılmaktadırlar (26).

İnfeksiyöz mononükleoz ve semptomatik EBV infeksiyonu, kimi zaman aynı anlamdaymış gibi düşünülse de sanıldığı kadar basit değildir. Akut CMV infeksiyonu da akut EBV infeksiyonunda görülen belirti ve bulgulara benzer şekilde seyredebilir. Atipik lenfositler (Downey cells) ise diğer etkenlerle geçirilmekte olan akut infeksiyonlar sırasında (Rubella, Rubeola, HAV, HBV, CMV, Mumps infeksiyonlarının yanı sıra Toksoplazmoz ve ilaç reaksiyonlarında) da saptanabilir. Ayrıca infeksiyöz mononükleozlu hastaların yaklaşık olarak %10-20'si akut EBV infeksiyonu geçirmiyordur (26,27).

Konuya açıklık geçirmek amacıyla "EBV ilişkili infeksiyöz mononükleoz (EBV-İM)" terimini akut EBV infeksiyonu nedeniyle gelişen infeksiyöz mononükleoz için, "non-EBV ilişkili infeksiyöz mononükleoz (non-EBV-İM)"

terimini ise EBV dışı etkenlerle gelişen infeksiyöz mononükleoz için kullanabiliriz. Yani "infeksiyöz mononükleoz" terimi; infekte eden etkenden bağımsız olarak, uzamış ateş, farenjit ve LAP'nin beraber olduğu klinik sendrom olarak düşünülmelidir (28).

1.1.4.2. Burkitt Lenfoması

Burkitt Lenfoması'ndan hazırlanan kültür fibroblastlarında Herpes tipi virus partikülleri gösterilmiştir. Herpes virusa benzeyen bu partiküller EBV'a aittir. EBV veya bu virusun EA, MA, VCA ve EBNA'ne karşı oluşan antikorlar Burkitt lenfomasının yanında nazofarinjiyal karsinoma, hodgkin hastalığı, sarkoidoz ve sistemik lupus eritomatoz da bulunmuştur. Afrika'da yaşayan Burkitt lenfomalı hastaların hepsinde de VCA'ne karşı oluşmuş antikorlar bulunmaktadır. Buna karşılık tümör hücrelerinin büyük çoğunluğunda EBNA bulunduğu halde VCA bulunmamaktadır. DNA hibridizasyon çalışmaları ile tümör hücrelerinde EBV DNA'larının bulunduğu gösterilmiştir. Burkitt lenfomalı hastalar genellikle MA ve EA'e karşı da antikorlara sahiptirler (14).

Birçok araştırmacı Burkitt lenfomasının oluşumunda;

1. İnsan lenfosit antijenik tipinin genetik duyarlılığı,
2. Genetik olarak tespit edilebilecek immünolojik defekt,
3. Yaş, cins ve ırk gibi konakla ilgili faktörler,
4. Sıtmanın da dâhil olduğu ağır infeksiyonlar gibi hızlandırıcı faktörler veya eksternal faktörlerin dâhil olduğu ilave faktörlerin de bulunduğu inanırlar.

1.1.4.3. Nazofarinjiyal Karsinoma

Nazofarinjiyal karsinomalı hastalardan hazırlanan lenfoblast hücre kültürlerinde de EBV antijenlerine rastlanılmıştır. Serolojik çalışmalarda nazofarinjiyal karsinomalı bütün hastalarda VCA'ine karşı yüksek titrede antikor tespit edilmiş, diğer baş ve boyun tümörlü kontrol hastalar ise düşük titrede antikora sahip bulunmuştur. MA ve EA'e karşı oluşan antikorlar da nazofarinjiyal karsinomalı hastalarda yüksek oranda bulunmuştur (14).

Nazofarinjiyal karsinomalı olgularda da yine genetik faktörler yanı sıra çevresel bazı onkojenlerin (forbol esterleri gibi) rol oynadığı düşünülmektedir. Buhastalıklarda anti VCA IgA tümör yükü ile doğru orantılı artış göstermektedir (16).

EBV, transplantasyon sonrasında lenfoproliferatif hastalıklara (posttransplant lenfoproliferatif hastalıklar, PTLH) neden olmaktadır. Latent infeksiyon EBV spesifik sitotoksik T lenfositlerinin kontrolü altındadır. Transplantasyon sonrasında sitotoksik T lenfosit yanıtının baskılanması sonucunda, EBV'nin latent kaldığı B lenfositlerde kontrol edilemeyen bir proliferasyon ve PTLH gelişir. Polimorfik B lenfosit hiperplazisinden immünoblastik B hücre lenfomasına kadar geniş bir spektrumdaki hastalıkları kapsayan EBV ile ilişkili PTLH'lar solid organ transplant alıcılarının %1-10'unu etkilemektedir. Transplant tipine göre farklılıklar gösteren PTLH, böbrek transplant alıcılarında %2 oranında görülürken, kalp-akciğer transplant alıcılarında %10 düzeyine dek varabilmektedir. İmmün yetmezlik derecesi, alıcı ve verici EBV serolojik durumları ve CMV infeksiyonu varlığı insidansı etkileyen diğer faktörlerdir (29).

EBV ile ilişkili PTLH, erken dönemde tanı konmadığında mortalite riski yüksek, agresif bir hastalıktır. Bu yüzden günümüzde birçok merkez, hastalık gelişiminin önüne geçebilmek için EBV replikasyon inhibitörleri olarak antiviral ajan (ganciclovir, acyclovir gibi), PTLH'a neden olan EBV ile infekte B hücre havuzunun ekspansiyonunu engellemek amacı ile de immunglobulin kullanılmaktadır. Yakın zamanda yapılmış, torasik organ transplantasyonu olan (kalp / akciğer ve her ikisi birlikte) hastaları kapsayan iki epidemiyolojik çalışmada, antiviral profilaksi uygulananlarda PTLH insidansında azalma görülmüştür, antiviral profilaksinin seçilmiş hasta gruplarında kullanımının yararlı olabileceğini düşündürmektedir. Anti-B hücre, anti-interlökin 6 monoklonal antikorları ve EBV spesifik sitotoksik T lenfosit kullanıldığı immünoterapi yöntemleri ile umut verici sonuçlar alınmaktadır (29).

1.1.5. Bağışıklık

1.1.5.1. Heterofil antikorlar

İnfeksiyöz mononükleozun ilk haftasında genellikle IgM sınıfının heterofil hemaglutininleri görülür. İnfeksiyöz mononükleozda koyun ve at eritrositlerine karşı gelişen heterofil antikorlar, normal serum veya serum hastalığı vakalarında bulunanlardan farklıdır. Hasta serumlarının kobay böbrek dokusu ve sığır eritrositleri ile ayırıcı absorpsiyonu değişik heterofil antikorları birbirinden ayırır.

1. İnfeksiyöz mononükleoz antikorları: Sığır eritrositleri tarafında adsorbe edilir, fakat kobay böbrek dokusu tarafından adsorbe edilmez.
2. Normal (Forsman) antikorlar: Kobay böbrek dokusu tarafında adsorbe edilir, sığır eritrositleri tarafından edilmez.
3. Serum hastalığı antikorları: Sığır eritrositleri ve kobay böbrek dokusu tarafından adsorbe edilir.

İnfeksiyöz mononükleozda heterofil antikorlar yaklaşık dördüncü haftada en yüksek düzeye ulaşır ve altı aydan daha fazla bir süre devam ederler. Klinik olarak infeksiyöz mononükleoz vakalarında gençler, özellikle çocuklarda heterofil antikor cevabı geçici olabilir veya tesbit edilemez (14).

1.1.5.2. Epstein-Barr Virus Antikorları

Serolojik olarak heterofil antikorlardan ayrı olarak spesifik EBV antikorları infeksiyöz mononükleozlu hastalarda oluşur. EBV antikorları hastalığın akut safhasında erken olarak görülür ve IgM sınıfındandır. Primer infeksiyonu takiben lenforetiküler sistemde devamlı taşıyıcılık durumu meydana gelir. VCA'ya karşı oluşmuş gözüken EBV-IgG antikorları ELİSA, İndirekt Floresan Antikor Testi (İFAT), Kompleman Birleşmesi Deneyi (KBD) ve Nötralizasyon Testi (NT) ile gösterilir ve yıllarca devam eder. EBV, serum antikorlarının gözükmemesinden sonra haftalarca veya aylarca orofarinkste bulunur ve muhtemelen latent durumda yıllarca devam eder. Spesifik EBV antikorlarının devamlı olarak bulunduğu virus ile ilgili diğer lenfoproliferatif bozukluklar Burkitt lenfoması ve nazofarınjiyal karsinoma'dır. Belirgin bir infeksiyöz mononükleoz hikâyesi bulunmayan erişkin populasyonun büyük bir kısmı EBV'a karşı antikorlara sahiptir. Bu durum çocukluk yaşlarında bu hastalığın sublinik olarak geçirildiğini gösterir. Seroepidemiyolojik çalışmalar EBV antikorlarının mevcudiyeti ile infeksiyöz mononükleoza karşı meydana gelen bağışıklık arasında karşılıklı bir ilişkinin varlığını göstermektedir (14).

1.1.6. Patogenez

Epidemiyolojik ve klinik verilere göre virus organizmaya solunum sekresyonları ile girmekte, başlangıçta orofarinks ve parotis bezinin epitel hücrelerinde üremektedir. Daha sonra kemik iliğinden B-lenfositleri infekte edilir. Akut infeksiyondan iyileştikten sonra bile lökositler kolaylıkla kültive edilirler. Bu durum EBV ile infeksiyonların çok olduğunu ve spesifik antikorların devamından sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. İnfeksiyöz mononükleozlu hastaların çoğunda geniş lenforetiküler hücre proliferasyonu oluşur. Dalak, tonsil, karaciğer ve afete uğrayan lenf nodüllerinde anormal mononükleer hücre infiltrasyonları görülür. Kemik iliğinde de belirgin bir mononükleer hücre artışı göze çarpmaktadır (14).

1.1.7. Patofizyolojik Mekanizmalar

EBV'nin konakçısı oldukça sınırlıdır ve iyi ürediği bir hücre sistemi yok gibidir. Virus'un infekte edebileceği iki hedef hücre tipi vardır. Bunlar, B-lenfositler ve epitel hücreleridir. Lenfoid dokularda bulunan, istirahat halindeki B-lenfositleri tercih etmekle beraber, insan ve maymun kaynaklı B-lenfosit ve nazofarenjiyal epitel hücrelerinde de in vitro kültürü yapılabilmektedir. Virus, infekte ettiği hücrelerde sitopatik etki yapmamakla birlikte B-lenfositleri in vivo ve in vitro ortamlarda transforme edebilme yeteneğine sahiptir (11).

EBV, tükürük ve salya ile çıkarılarak ve yakın temas ile bulaştırılarak, orofarenks mukozasından vücuda girer. Önce orofarenks ve tükürük bezi epitel hücrelerine daha sonra da hedef hücre olan larenksin lenfoid dokularında bulunan duyarlı B-lenfositlere ulaşmaktadır. EBV, kan transfüzyonu ve kemik iliği nakli ile de bulaşır ancak bu yolla bulaş, CMV enfeksiyonunda olduğu kadar sık değildir (30,31).

İnsan ve maymun B-lenfositleri ile nazofarenjiyal epitel hücrelerinde EBV reseptörleri denilen, komplemanın üçüncü parçasının "d" bölgesine (C3d) uyan reseptörler vardır. CR2 ya da CD21 olarak bilinen C3d, bir glikoproteindir. EBV'ye ait MA denilen virusun major kılıf glikoproteinleri (gp350/220) ile duyarlı B-lenfositlerin yüzey reseptörüne bağlanır. Hücre membranı ile virus kılıfının füzyonu sonucunda virus hücreye penetre olur. EBV ile enfekte olan B-lenfositlerde 30-50 gün olan (çocuklarda 10-14 gün) inkübasyon süresinden sonra viral replikasyon başlar. Kapsid proteininden soyunan virusun çekirdeğe taşınan genomunun kopyalanması ile birlikte, viral DNA, DNA'nın yönetiminde ise EA ve geç viral proteinler (MA ve VCA) sentezlenir. EA ve VCA'ların varlığı, viral enfeksiyonun litik fazda olduğunu ve konak hücrenin parçalanması ile olgun virusun salınacağını göstergesidir (30).

Burkitt lenfomalı hastalardan hazırlanan hücre dizilerinde, bazı viral DNA'lar konak hücrenin DNA'sına integre olduğu halde, viral DNA'ların çoğu integre olmadan her bir hücrede 10-20 kopyalı bir epizom olarak sirküler formda kalmaktadırlar. B-lenfosit mitojenleri (bakteri polisakkaritleri) ile uyarılan B-lenfositlerde, EBV-DNA'nın konak hücre DNA'sına integrasyonu artmaktadır. Ayrıca bazı kimyasal maddeler, latent virüsü litik replikasyon fazına geçirebilir. Hücresel protein kinaz C'yi direkt aktive eden forbol esterler, sodyum-butirat, anti-immunglobulinler (anti-IgM), nitrosaminler, primidinler, ikinci bir EBV ile super enfeksiyon ile latent EBV, litik replikasyon özelliği kazanmaktadır (32).

Latent EBV'nin epizomal kopyaları, lenfositlerde hücre kromatini ile birlikte replike olmakta ve EBNA sentezlenmektedir. EBNA1, EBNA2'yi etkileyerek EBV genomu tarafından kodlanan latent membran proteinlerinin (LMP1,LMP2) hatta pek çok B lenfosit geliştirme faktörünün (CD23) oluşmasını aktive eder. Bu iki latent dönem antijeni (EBNA ve LMP), Lymphocyte Defined Membrane Antigen

(LYDMA) olarak bilinir. Transforme B-lenfosit ve epitel hücrelerin onkogenezinde ve apoptozisin (programlı hücre ölümü) önlenmesinde LMP1'in önemli rolü vardır. Transforme hücre dizilerinde, yani nonproduktif latent infeksiyonlu olgularda EBV-DNA, EBNA kompleksi, LMP1 ve LMP2 proteinleri bulunur. Bu hücreler immortal (ölümsüz) hücrelerdir (30,31).

EBV ile infekte hücelere karşı, bireylerde salgısal ve hücrenel bağışık yanıtlar gelişir. EBV infeksiyonu ile birlikte, B-lenfositlerde IgM yapısında poliklonal antikor yapımı uyarılarak, başta heterofil antikorlar olmak üzere trombosit, nötrofil, lenfosit membranlarına veya nükleer antijenlerine karşı antikorlar ile ampisilin raşından sorumlu antikorlar sentezlenir. Bu antikorlar virusun nötralizasyonunu başaramadıkları gibi, çoğunlukla otoantikor yapısındaırlar (21,23).

Heterofil antikorların virusla ilişkisi ve infeksiyonun kontrolü ile iyileşmedeki rolü bilinmemektedir. Heterofil antikorlar, EBV replikasyonunu kontrol ediyor olabilir, ancak EBV antijenlerine karşı gelişen antikorlar ile çapraz reaksiyon vermezler. EBV antijenlerine karşı gelişen antikorlar, bütün EBV-İM'li hastalarda bulunurlar (31).

İnfekte B-lenfositlerde sentezlenen EBV ile ilişkili antijenik determinantlar, T-lenfositlerde karşı cevap oluşumuna yol açar. İnfeksiyon sırasında periferik kanda, atipik, vakuollü sitoplâzması olan, lobule ve koyu bazofilik nükleuslu sitotoksik ve supressor yapıdaki CD8+ T-lenfositler (*Downey cells*) görülür. Böylece hastalığın erken döneminde hücrenel ve salgısal bağışıklığın baskılanması sonucunda pek çok cilt testi negatifleşir (33).

EBV'ye karşı gelişen hücrenel bağışıklık oldukça karışıktır. Hücrenel bağışıklıkta sitotoksik T-lenfositler ve natural killer (NK) hücreleri görev alır. Virusun indüklediği antijenlerin B-lenfositlerin hücre zarlarına girmesi sonucunda, infekte olan B-lenfositlere karşı gelişen downey hücreleri ile reaksiyona girmeleri ile ateş başta olmak üzere servikal lenf düğümlerinin hipertrofisi ve hastalığın ilk birkaç haftasında anormal mononükleer hücre proliferasyonu ile karakterize olan EBV-İM ortaya çıkar. Hastaların çoğu 2-3 hafta içinde kendiliğinden iyileşir. İyileşme ile paralel olarak atipik lenfositler yavaş yavaş azalır. Kliniğin düzelmesinden 12-18 ay

sonrasına kadar boğaz çalkantı suyundan virus izole edilebilir. Bağışıklık sistemi bozuk bireylerde ise taşıyıcılık sayısı ve süresi çok daha fazladır (31).

1.1.8. Komplike Olmayan İnfeksiyöz Mononükleozda Tedavi

Ortalama 1–4 haftada spontan olarak iyileşen olgularda büyük ölçüde destekleyici tedavi yapılır. Hastaya, ateşinin olduğu ilk 2–3 hafta süresince istirahat önerilir. Asetaminofen, semptomatik tedavide Reye sendromuna yol açabilen salisilâtlara tercih edilmelidir. Hastalar dalak rüptürlerine karşı, 3–4 hafta süreyle riskli hareketlerden kaçınmalı, dalak muayenesi ise olabildiğince nazik ve tekrarlamadan yapılmalıdır (34).

1996 yılında yapılan bir çalışmada EBV-İM'li olgulara verilen prednizolon+asiklovir kombinasyonunun, semptomları hafifletmediği veya plasebo grubu ile eşit hafiflettiği gözlenmiştir (34).

1.1.9. İnfeksiyöz Mononükleozun Komplikasyonları

İnfeksiyöz mononükleozda komplikasyonlar oldukça nadirdir. En sık görülen komplikasyonlardan biri otoimmün hemolitik anemidir. Hastalığın 2–3. haftasında belirgindir. 1–2 ayda kendiliğinden iyileşir. Kortikosteroidler iyileşmeyi hızlandırır. Sonuç alınmazsa splenektomi endikasyonu vardır. Pnömoni ve sepsis gelişen ağır nötropeni yine oldukça nadir görülür.

Bazı infeksiyöz mononükleozlu hastalarda tonsiller hipertrofi, nazofarenks lenfoid hiperplazi ve eksudatif membranlara bağlı üst solunum yolu obstrüksiyonu gelişebilir. Bu durumda bazen trakeostomi bile gerekebilir.

Dalak rüptürü infeksiyöz mononükleozun çok nadir, ancak akılda tutulması gereken bir komplikasyonudur. İnfeksiyöz mononükleoz tanısıyla izlenen bir hastada karın ağrısı, sol üst kadranda hassasiyet dalak rüptürünü gösterir. Acil kan transfüzyonu ve splenektomi gerekir. Ayrıca dalakta subkapsüler hemoraji de komplikasyon olarak görülebilir. Rüptür komplikasyonunu önlemek için hastaların spor yapmaması, konstipe kalmaması ve dalak palpasyonunun dikkatli yapılması önerilir.

Nörolojik komplikasyonlar infeksiyöz mononükleozdan ölümlerin en önemli nedeni olmasına rağmen %85 iyileşme ile sonlanır. Başlıcaları ensefalit, aseptik menenjit, Guillain-Barre sendromu, Bell paralizi, transfers miyelit, periferik nöritdir. İnfeksiyöz mononükleozlu hastalarda EKG'de ST-T dalga bozuklukları görülebilir de miyokardit ve perikardit oldukça nadirdir (35).

1.1.10. Laboratuvar Tanı Yöntemleri

1.1.10.1. Hematolojik Bulgular

1.1.10.1.1. Yayma Preparatı: Yayma kan preparatı hazırlanır. Giemsa ile boyanır Downey hücreleri adı verilen vakuollu, koyu, bazofilik sitoplazmalı, böbrek şeklinde atipik lenfositler araştırılır (13).

1.1.10.1.2. Lökosit Sayımı: EBV-İM'nin erken döneminde lökopeni vardır veya lökosit sayısı normal düzeydedir. Hastalığın ikinci veya üçüncü haftasında lenfositöz pik yapar ve lökosit sayısı 12.000–18.000/mm³ veya nadiren 30.000–50.000/mm³tür. Mononükleer hücreler %60–70 oranındadır. Bunların yaklaşık %30'u Downey hücreleridir. EBV-İM'li olgularda nötropeni ve hafif trombositopeni görülebilir (31).

1.1.10.2. Serolojik Testler

EBV-İM'li olgularda, spesifik olmayan, ancak varlığı halinde destekleyici olan ve mikroglobulin yapıdaki heterofil antikorların tanısız önemi vardır. Koyun ve at eritrositlerine karşı insan organizmasında çeşitli nedenlere bağlı olarak onları aglutine eden antikorlar oluşur. Bu antikorlar heterofil antikor olarak bilinirler. EBV-İM'li olgularda görülen heterofil antikorlar (Paul-Bunnell antikorları) ile serum hastalığında (kendilerine at serumu yapılmış kişiler) ve normal insan serumunda bulunan forsmann antikorları ayırt edilmelidir. Bunun için sığır eritrosit ve kobay böbrek özütlerinde adsorbe edildikten sonra Paul-Bunnell testi yapılmalıdır (31).

Paul-Bunnell Deneyi: İnfeksiyöz mononükleozlu hastaların %50 ile %80'inde koyun eritrositlerini aglutine eden spesifik antikorlar oluşur. Bu antikorlar normal olarak meydana gelen antikordardan farklıdır. Kobay böbreği ile adsorbe edilemez fakat sığır eritrositleri ile adsorbe edilirler. İnfeksiyöz mononükleozlu hastalardan alınan kanın serumu ikiye ayrılarak birisi sığır eritrositleri diğeri ise kobay böbreği ile adsorbsiyon deneyine tabi tutulur. Eğer sığır eritrositleri ile adsorbe edilen serum titresi kobay böbreği ile adsorbe edilene nazaran 4 kat veya daha fazla düşerse infeksiyöz mononükleoz tanısı konur. Serum hastalığında oluşan heterofil antikorlar hem sığır eritrositleri hem de kobay böbreği ile adsorbe edilirler. Hâlbuki normal serumun heterofil antikorları kobay böbreği ile adsorbe edilir. Fakat sığır eritrositleri ile adsorbe edilmez (14).

Heterofil antikorlar hastalığın erken safhasında gelişir ve genellikle 1–2 ay içerisinde kaybolurlar. Antikor titresi 1/100'ün üzerinde olması tanıyı kuvvetlendirir (14).

Klasik Paul-Bunnel testinde 1/64 ve üstündeki titreler EBV-İM tanısını destekler ancak kobay böbrek özeti ile işleminden geçirildiyse 1/40 ve üzerindeki değerleri anlamlı olarak kabul etmek gerekir (33).

Heterofil antikorlar 3–6 ay, bazen de 1 yıl kadar pozitif kalabilirler. Bu testin lam aglütinasyon kitleri (Slide/Spot testler-Mono test gibi) de üretilmiştir. Bu testler daha iyi sonuç vermeleri ve kısa süre gerektirmeleri açısından daha kullanışlı testlerdir (33). Dolayısıyla günümüzde yaygın olarak bu test Paul-Bunnel testinin yerini almıştır.

Heterofil antikor testlerinin negatif bulunduğu, tanısında güçlük çekilen olgularda, EBV'ye özgül antikorlar aranmalıdır (Tablo5). EBV-İM kliniğinin başlamasından itibaren 4–7 gün içinde olguların hepsinde virusa özgül anti-VCA-IgM oluşur. ELISA ile saptanabilen bu antikorlar 4–8 hafta içinde kaybolur. Anti-VCA-IgM dışındaki antikorların serum düzeylerinin 2 ay yüksek seyretmesi nedeniyle bu antikorların akut olgularda aranması yararlı değildir. Ayrıca konakta gp350 ve gp220 membran antijenlerine karşı nötralizan antikorlar da oluşmaktadır. Ancak nötralizan antikorların belirlenmesi zor olduğundan rutin olarak çalışılmaz (30,31).

İnfeksiyöz mononükleoz hastaların %85-90'ında atipik lenfositlerin görülmesi tanıya yönlendiricidir. Heterofil antikor testi bu hastalarda pozitif, yalancı pozitiflik %2–3 oranında görülür. Bu da ancak EBV spesifik testlerle ayırt edilir. Yanı sıra olguların %10-15'inde heterofil antikorları negatif infeksiyöz mononükleoz etkenleri söz konusudur. Bunlara yönelik laboratuvar testlerinde başta CMV olmak üzere Adenovirus ve *Toxoplasma gondii* araştırılması gerekir. Yanı sıra EBV testlerinin yapılması gerekmektedir (36).

Tablo5.EBV Serolojik Sendrom Profili (26)

Antibody-	Non-	İlk	Sonraki	Geçirilmiş	Reaktif	BL	NPC
-----------	------	-----	---------	------------	---------	----	-----

antijen	İmmüne	Karşılaşma	Karşılaşma				
IgM-VCA	-	+	-	-	-	-	-
IgG-VCA	-	+	+	+	+	++	++
IgA-VCA	-	+/-	-	-	+/-	-	++
IgG-EA/D	-	+	+	-	+/-	-	++
IgA-EA/D	-	-	-	-	*	-	++
IgG-EA/R	-	+/-	+/-	-	+/-	++	-
Anti-EBNA	-	-	+/-	+	+	+	+

— Negatif(<1/10) + Pozitif(>1/10) +/- Grayzone * Bilinmiyor
 NPC: Nazofaranjial karsinoma BL: Burkitt lenfoma

1.1.10.3. Virus İzolasyonu

EBV-İM'li hastaların lenfositlerinden veya boğaz çalkantı suyundan rutin olmamakla beraber kültür yapılmaktadır. Ancak hızlı tanı, DNA hibridizasyon veya monoklonal antikor tekniğine dayanmaktadır. Taze biyopsi örneklerinde immunofloresan yöntemiyle antijen, taze veya dondurulmuş parafin bloklara konulmuş infekte dokularda EBV-DNA araştırılabilmektedir (30).

İnfekte hücreler, latent virus taşıyıcısı olduklarından, lenfoid dokulardan hazırlanan preparatlarda elektron mikroskopuyla yapılan incelemelerde EBV görülemez. EBV-İM'li hastadan alınan 10ml heparinli kan hücre kültürü için yeterlidir (31).

İnfeksiyöz mononükleozla bağlı Santral Sinir Sistemi (SSS) komplikasyonları (miyelit, meningosefalit, menenjit, kraniyal / periferik nöropatiler, Guillain-Barre sendromu), olguların %1'inde görülmekte ve EBV DNA BOS'ta saptanabilmektedir. EBV'ye bağlı SSS infeksiyonları İnfeksiyöz mononükleoz dışında da gelişebilmektedir (29).

BOS'ta viral DNA, seropozitif sağlıklı bireylerde bulunmamaktadır.

Ancak başka etkenlere bağlı SSS infeksiyonları sırasında saptanabilmesi, EBV'nin reaktivasyonu ile açıklanmaktadır. Kantitatif nükleik asid saptama testlerinin, EBV'nin oluşturduğu infeksiyonla, reaktivasyonu ayırabileceği düşünülmektedir (29).

EBV, AIDS olguları başta olmak üzere, immüsupresif hastalarda SSS lenfomasına yol açmaktadır. Terminal dönem AIDS'de, EBV'ye bağlı lenfoma

sıklığı %5-10'dur. Söz konusu olgularda, BOS'ta EBV DNA varlığı %100'e varan duyarlılıkla, bir tümör göstergesi olarak kullanılmaktadır. Testin, redyolojik bulgular ortaya çıkmadan önce pozitifleşebildiği gösterilmiştir. Ancak lenfoması olmayan ve izlemde lenfoma gelişmeyen olgularda da BOS'ta EBV DNA saptanabilmekte, fakat klinik anlamı bilinmemektedir. Kantitatif bir çalışmada, tür olgularadaki BOS EBV DNA düzeyinin düşük (10^2 - 10^3 kopya/ml) olduğu saptanmış, bunun lenfoma dışı SSS infeksiyonu veya EBV reaktivasyonu ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür. EBV'ye bağlı çeşitli klinik tabloları birbirinden ayırmada BOS'taki virus miktarını ve lökosit sayısını değerlendiren bir çalışmada, SSS lenfomalı olgularda yüksek viral yük ve düşük lökosit sayısı, ensefalitli olgularda yüksek viral yük ve yüksek lökosit sayısı, postinfeksiyöz komplikasyon olgularında ise düşük viral yük ve yüksek lökosit sayısı saptanmıştır. EBV'ye bağlı lenfomanın virolojik tanı yöntemlerinden bir diğeri, beyin biyopsi ile alınan tümör hücrelerinde EBV antijenlerinin (LMP) gösterilmesidir (29).

1.1.10.4. Diğer Testler

Latent proses 11 kadar viral genin transkripsiyonu ile sürer. Bunlar altı EBNA, üç latent membran proteini (LMP-1, LMP-2A ve LMP-2B) ve iki EBV tarafından kodlanan RNA (EBV encoded RNA; EBER)'dir (16).

Non-Hodgkin Lenfomalı 32 vakanın 8'inde (%25) LMP-1 ve EBER, in situ hibridizasyon yöntemiyle tümör hücrelerinde pozitif belirtiler görülmüştür.

EBER ve LMP-1 pozitif vakalar arasında 5 hasta immünkompremisedir.

Herbiri HIV infeksiyonu ve immün yetmezliği vardır (37). B hücre transformasyonu için anahtar rolün ne olduğu tam olarak bilinmemekle birlikte araştırmalar bunun LMP-1 ile sıkı ilişkili olduğunu göstermektedir (16).

İyi kalitedeki DNA numunesinde EBER in situ hibridizasyon sonuçları EBER PCR ile tesbit edilerek kabul edilmiştir (37).

Aşağıdaki durumlarda EBER için in situ hibridizasyon, EBV LMP-1 yerine kullanılabilir (38):

- **Hodgkin Lenfoma**
- **Post-transplant**
- **Lenfoproliferatif**

➤ **İnfeksiyöz Mononükleoz**

EBER için in situ hibridizasyon (38):

- **Morfolojik korelasyon gösterir,**
- **Duyarlı bir test,**
- **Kolay çalışılabilir.**

Olguların %90'ında AST/ALT/LDH'dan en azından birisi normalin 2–3 katına çıkar. Alkalen fosfataz yüksek bulunabilir. Romatoid Faktör (RF) ve Kriyoglobulin pozitif olabilir (33).

1.1.11. Ayırıcı Tanı

EBV-İM'li olguların çoğunda tanı koymak kolaydır. Uygun klinik belirti ve bulguların yanında, atipik lenfositoz ve heterofil antikor testinin pozitifliği tanıyı koydurur. Klinik belirtilerin çok tipik olmadığı ve heterofil antikor testinin negatif bulunduğu olgularda aşağıdaki üç özellik akılda tutulmalıdır (26).

- 1) Pediatrik yaş grubunda negatiflik daha fazladır.
- 2) Heterofil antikor aramak için koyun eritrositleri yerine at eritrositlerinin kullanılması daha yüksek oranda pozitif sonuç verir.
- 3) Hastalığın erken döneminde negatif bulunurken 1–2 hafta sonra tekrarlandığında pozitif bulunabilir. Ancak bu dönemde özgül testler pozitif testler bulunabilir.

İnfeksiyöz mononükleoz ile CMV enfeksiyonu arasında insanı şaşırtan bir bağlantı vardır. Semptomlar enfeksiyöz mononükleozda görülenlerle aynıdır. Heterofil antikorlar ise oluşmaz. CMV ile ortaya çıkan mononükleozun başlangıcı, EBV ile ortaya çıkana oranla genellikle daha sinsi ve iyileşme de daha yavaştır. Tanı CMV virusunu izole etmekle koyulur. Çoğu hastalar sekelsiz iyileşir; ama postviral yorgunluk belirgin olabilir ve aylarca devam edebilir (39).

Çocukluk çağında ve ergenlik döneminde baş boyunda sık olarak lenf nodu büyümelerine rastlanır. Bu büyümelerin büyük kısmı kendi kendine geçen enfeksiyöz büyümelerdir ve özel bir girişim gerektirmez. Boyundaki LAP bazı durumlarda yalnızca boyun bölgesiyle sınırlı olmayıp, vücuttaki diğer lenfatik sistemi de ilgilendirebilir ki, bu durumda yaygın bir LAP'dan söz edilir. Akut ve subakut, kronik LAP'a neden olan etken patojenler görülmektedir (Tablo6,7).

Tablo6. Çocuklarda Baş Boyunda Akut Lenfadenopatiye Yol Açan Ana Nedenler

<p>Bakteriyel</p> <p>Sıklıkla: <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> (A) <i>Streptococcus agalactica</i> (B) Aerobik ve anaerobik ağız florası</p> <p>Daha az sıklıkla: <i>Brucella abortus</i> <i>Francisella tularensis</i> <i>Corynebacterium diphtheria</i> <i>Yersinia pestis</i> <i>Nocardia</i> suşları <i>Spirillum minor</i> <i>Streptobacillus maniformis</i> <i>Actinomyces</i> suşları</p>	<p>Viral</p> <p>Respiratuar viruslar Adenoviruslar İnfluenza, parainfluenza Respiratuar sinsisyal Herpes simpleks EBV CMV Kabakulak Kızamık Kızamıkçık Suçiçeği Enterovirus</p> <p>Diğer</p> <p>Mukokutanöz lenf nodu sendromu (Kawasaki hastalığı)</p>
--	--

Tablo7. Çocuklarda Baş Boyunda Subakut ve Kronik Lenfadenopatiye Yol Açan Ana Nedenler

<p>Bakteriyel</p> <p>Sıklıkla: <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> Aerobik ve anaerobik ağız florası <i>Rochalimaea henselae</i> Nontüberküloz mikobakteriler</p> <p>Daha az sıklıkla: <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Francisella tularensis</i> <i>Haemophilus influenzae</i> tip-B</p>	<p>CMV HIV</p> <p>Parazitik</p> <p><i>Toxoplasma gondii</i> <i>Chlamydia trochomatis</i></p> <p>Fungal</p> <p><i>Sporotrichosis</i> <i>Histoplasmosis</i> <i>Coccidioidomycosis</i></p>
--	---

Viral
Adenoviruslar
EBV

1.1.11.1. Viral İnfeksiyonlar

Üst solunum yolu ve Waldeyer halkasının viral infeksiyonları servikal LAP'ın en sık nedenidir. Bu infeksiyonların çoğu kendi kendine geçen infeksiyonlar olduklarından biyopsi, insizyon ya da drenaj gerekmez. Adenovirus, rinovirus ve enterovirusla oluşan bu infeksiyonların tedavisinde analjezik ve antipretik verilmesi yeterlidir.

1.1.11.2. Bakteriyel İnfeksiyonlar

Grup A streptokoklar (*S.pyogenes*) ve stafilokoklar çocuklardaki en sık servikal LAP nedenidir. Anaeroblar ve Gram negatif enterik bakteriler daha az sıklıkla izole edilir. Bu infeksiyonlar sırasında submandibüler ya da superior derin servikal lenf nodları en sık tutulandır.

Mikobakteriyel Servikal Lenfadenopati: Servikal adenit (skrofula) ekstrapulmoner mikobakteriyel infeksiyonların en sık görülen şeklidir. Mikroorganizma boyna lenfatik kanallarla veya hematogen yolla gelebilir. Boyunun alt, ön ve arka bölümlerinde LAP, ateş, iştah azlığı, gece terlemesi ve kilo kaybı ortaya çıkar. Duyarlılık göstermeyen, üzeri eritemli, süpürasyona ve sürekli akıntılı sinüs oluşumuna eğilimli lenf nodları ortaya çıkar. Nontüberküloz mikobakteriler çocuklarda skrofulanın en önde gelen nedenidir, *M.tuberculosis* ise tüm mikobakteriyel infeksiyonların %10'undan daha azını oluşturur. Nontüberküloz mikobakteriler ile *M.tuberculosis* arasında kesin ayrımın yapılması mümkün değildir. Kesin ayrım ancak kültür sonucuna göre yapılır.

Kedi Tırmığı Hastalığı: 15 yaşından küçük çocuklarda LAP'ların %3'ünden sorumludur. Etken *Rochalimaea henselae*'dir. İnokülasyon alanında kırmızı bir papül oluşur ve bundan birkaç hafta sonra LAP gelişir.

Aktinomikoz: Klasik olarak yavaş büyüyen, ağrısız, sert, bazen de süpürasyon gösteren submadibular kitle olarak görülür. Ateş ve lökositozla birlikte boynun herhangi bir yerinde ağrılı, fluktuan ve hızla büyüyen bir kitle olarak da karşımıza çıkabilir. Gram pozitif bir anaerobik basil olan *Actinomyces israelii* ve oral organizmaların karışımı ile oluşan bir infeksiyondur.

1.1.11.3. Nadir Bakteriyel Hastalıklar

Tularemi: *Francisella tularensis* basili ile oluşur. İnsanlara tavşan, kene ya da basil bulaşmış içme sularından, iyi pişmemiş av etlerinden geçer. Klinikte ülseroglandüler şekil en sık görülür. Bu tabloda inokülasyon yeri iltihaplanır ve lenf nodları büyür.

Veba: Ağrılı LAP ve ateşe neden olan nadir bir durumdur. Kemiriciler ve pireler *Yersinia pestis*'in depolarıdır. Kedi, köpek ve sincaplar infeksiyonu insanlara geçirir.

Bruselloz: Aerobik gram negatif basil olan Brusella türleri neden olur. Hayvan bakıcılarında ve çiftçilerde ortaya çıkmaktaysa da, pastörize edilmemiş inek ve keçi sütü içenlerde de görülür. Yorgunluk, kırıklık, ateş, servikal veya yağın LAP genel semptomlardır.

1.1.11.4. Fungal İnfeksiyonlar

İmmün sistemi etkileyen agammaglobülinemi, disgammaglobülinemi gibi doğumsal nedenlerle kemoterapi, transplantasyon reddini engellemek için bağışıklığın baskılanması ve AIDS gibi edinsel bağışıklık yetersizliği durumlarında görülür. Kandidiyaz, histoplazmoz, aspergilloz, kriptosporidoz en sık görülen fırsatçı mantar infeksiyonlarıdır.

1.1.11.5. Parazitik İnfeksiyonlar

Toksoplazma: *T.gondii* dünyanın her yerindeki memelilerde sık görülen paraziter bir infeksiyondur. Kedi dışkısı ile atılan oositlerin alınması ya da iyi pişmemiş etlerin yenilmesi ile kişi infekte olur. Genellikle asemptomatiktir, fakat yorgunluk, miyalji, ateş, duyarlılık ve süpürasyon göstermeyen LAP, boğaz ağrısı gibi semptomlara ve miyokardit, pnömoni gibi komplikasyonlara neden olabilir (40).

1.1.11.6. İnfeksiyöz Olmayan İnflamatuar Durumlar (40)

- Kawasaki Hastalığı (Mukokutanöz Lenf Nodu Sendromu)
- Kikuchi-Fujimoto Hastalığı
- Sarkoidoz
- Masif Lefadenopatiyle Birlikte Olan Sinüs Histiositoz
- Fokal Miyozit
- FAPA Sendromu
- Çeşitli Enflamatuar Durumlar
 - Romatoid artrit
 - Sistemik Lupus Eritematoz Yaygın Lenfadenopati

- Servikal Kitle

Heterofil antikor negatif bulunan infeksiyöz mononükleoz tablosunun en önemli nedenlerinden biri CMV infeksiyonudur. Ancak CMV infeksiyonunda boğaz ağrısı ve LAP pek görülmez ve CMV infeksiyonu genellikle kan transfüzyonu sonrasında görülür. CMV çoğunlukla yaşlıları tutar ve atipik lenfositöz daha az görülür. CMV'de karaciğer tutulumu daha sıktır ama enzim düzeyleri EBV-İM'den daha düşüktür.

Periferik kan tablosu ve boğaz kültürü ile streptokoksik anjinden ayırt edilebilir. Adenovirus'lara bağlı, difteri, LAP ve ayrıca Vincent Anjini ile de bazen karışır ama EBV'ye özgül serolojik testlerle tanı konulabilir (26).

1.1.12. Korunma ve Aşı

Değişik aşı stratejileri üzerinde çalışmalar sürmektedir. İnaktive EBV' un hayvanlarda nötralizan antikor oluşumunu indüklediği gösterilmiştir. İmmünolojik zarf proteinlerinden gp350/200 klonlanarak maya hücreleri ve memeli hücre dizilerine rekombine edilmiş ve bu glikoproteinler ile maymunlarda etkin immünite sağladığı gibi EBV ile ilişkili lenfoma sıklığının belirgin olarak azaldığı saptanmıştır (16). EBV'ye karşı aşı yoktur (29).

1.2. CYTOMEGALOVİRUS

Dünyada yaygın olarak görülen CMV coğrafi, etnik ve sosyoekonomik koşullara, bireyin immün durumuna ve yaşına bağlı olarak prevalansı gittikçe artan infeksiyonlar oluşturmaktadır (41–44).

CMV infeksiyonu sağlıklı bireylerde genellikle asemptomatik ya da mononükleozis sendromuna benzer seyir gösterirken, bağışık yanıtı bozulmuş bireylerde ağır komplikasyonlara neden olabilmektedir (45).

Transfüzyona bağlı CMV infeksiyonları düşük doğum ağırlıklı infantlarda, organ veya doku nakli yapılanlarda, immün sistemi çeşitli nedenlerle baskılanmış bireylerde önemli oranda morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır (46).

19.yüzyıl sonlarında tanımlanan CMV enfeksiyonu protozoal bir hastalık ya da sifilizin bir formu olarak düşünölmüştür (47,48).

Büyük ve inklüzyonlu hücreler ilk olarak çeşitli nedenlerle ölen süt çocuklarının ve yenidoğan döneminde sitomegalik inklüzyon hastalığı (CID) tanısıyla kaybedilen çocukların çeşitli dokularında göröldü. Başlangıçta protozoa benzeri hücreler olarak tanımlandı ve bir protozoon hastalığı düşünöldü. Goodpasture ve Talbot, sitomegalia olarak adlandırdıkları bu hücrelerle HSV'deki cilt lezyonlarında görölen intranökleer inklüzyonlar arasında benzerlikler gördü ve viral etyoloji düşünödü (1921). CID'li çocukların idrarında tipik inklüzyonlu hücrelerin tanımlanmasıyla nonfatal vakalardaki tanı yöntemi gelişmiş oldu. 1956'da üç farklı laboratuvarında aynı zamanlarda doku kültür teknikleriyle CMV izole edildi. İzole edildiği başlıca dokular tükruk bezi, adenoid doku ve karaciğer idi (4).

1960 yılında Weller “salivary gland virus” veya “sitomegalik inklüzyon hastalığı virüsü” olarak bilinen bu virusa “Cytomegalovirus” adı verilmiştir. Klemola ve Kaariainen 1965 yılında normal ve sağlıklı bir insanda CMV enfeksiyonunu tanımlamışlardır (42).

1.2.1. Virusun Özellikleri

CMV morfolojik olarak Herpes simplex ve Varicella zoster virusuna benzer ve bu viruslardan ayırt edilemezler (49).

1. Negatif boyanmış preparatlar elektron mikroskobunda incelenmesi içte 65nm çapında bir kor, virionların 110 nm. çapında ve ikozahedral yapıda olduğundan 162 kapsomerinin bulunduğu görölr (46,49).
2. Partiköllerin bazılarında tek veya çift membrandan oluşmuş bir zarf bulunur. Bu zarf virionu çevirmektedir ve zarflı partiköllerin çapı 180-250nm arasında değişmektedir (49).
3. Defektif viral partiköller yüksek oranda bulunabilir. Bu sferik partiköllerin varlığı “dense bodies” olarak adlandırılmaktadır (46).
4. CMV, DNA özüne sahip olup moleküler ağırlığı 3.2×10^7 daltondur.
5. DNA'nın G+C oranı %58'dir (49).

Üremesi nisbeten yavaştır ve yeni olarak sentez edilen enfeksiyöz partiköllerini ilk olarak enfeksiyondan 48–72 saat sonra meydana gelir. DNA'nın biyosentezi ve viral antijenlerin toplanması başlangıçta nükleusta meydana gelir. Viral partiköllerinin olgunlaşması

yetersizdir. Nadiren tamamlanmış bir çok viral partikülün arasında tam olarak birleşen virionlar tespit edilebilir (49).

CMV vücut dışında canlılığını sürdüremez (46). Lipid bir zarfa sahip olduğundan eter ile inaktive olur, pH 5'in altındaki derecelerde ise inaktivasyon çabuktur. Sulandırma sıvılarına %5–10 serum ilavesi virüsü 37⁰C'de stabilize eder, fakat 4⁰C'de etmez. Donma ve çözülmeye dayanıksızdır. 56⁰C'de 30 dk. 4⁰C'de 1 haftada infektivitesi kaybolur (49).

1.2.2. Virusun Antijenik Yapısı

CMV'nin antijenik yapısı tam olarak tanımlanamamıştır (41). Nötralizasyon testi ile insan CMV'un 2 ayrı antijenik tipi ayırt edilmiştir (49).

1.2.3. Epidemiyoloji

İnsandan başka konakta infeksiyon yapmayan CMV tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. CMV fırsatçı bir patojen olup yaşam boyu süren infeksiyonlar oluşturabilmektedir (46).

Sosyoekonomik durum ve yaşam koşullarına bağlı olarak CMV infeksiyonlu çocukların ebeveynlerin %30'luk bir serokonversiyon oranına sahiptirler. CMV infeksiyonu oranı Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralya'da düşük seviyelerde iken, Afrika ve Güneydoğu Asya'da belirgin olarak yüksektir (46).

Genelde CMV bulaşıcılığı fazla olmayan bir mikroorganizmadır. Horizontal bulaşma infekte materyal ile temas sonrası ortaya çıkar. Vertikal bulaşma için de annenin hamilelik sırasında virüsü horizontal yolla alması gerekir. Duyarlı hamile kadınların %2'si gebelik sırasında CMV'la infekte olmakta ve bunların %40'ı fetal infeksiyonla sonuçlanmaktadır. İnfekte bebeklerin %10-15'inde klinik hastalık gelişir, ancak asemptomatik çocukların %5-15'inde de sonraki dönemde sekeller ortaya çıkar. Bağışık gebelerde gelişen rekürren maternal infeksiyonların ise %0-1'inde klinik hastalık veya sekel görülmektedir. Etkili bir ilaç tedavisi olmadığı ve gebelikteki morbiditesi düşük olduğu için, birçok araştırmacı gebelik sırasında rutin CMV taramasının gerekli olmadığını düşünmektedir (50).

Heterofil antikor negatif mononükleoz sendromu bulguları ile gelen bütün gebe kadınlarda primer CMV infeksiyonu düşünülmelidir. Ancak hangi gebelerde virusun fetusa geçtiği ve hangi bebeklerde konjenital infeksiyon geliştiğini belirleyen bir yöntem olmadığı için, gebenin hangi durumlarda sonlandırılacağını belirleyen bulgularda

yoktur. Ayrıca infeksiyonu süresi de belli olmadığından, infeksiyondan sonra gebeliğin ne kadar geciktirilmesi gerektiği de belli değildir. Çünkü infeksiyondan sonra virusun aylarca tükrükten ve yıllarca servikal sekresyonlardan ekskrete edilebildiği bilinmektedir. Gebelik sonlandırılmamışsa, aylık ultrasonografik değerlendirilmelerde fetusun major malformasyonlar yönünden izlenmesi uygun olur. Amniosentezde virusun gösterilmesi malformasyon gelişeceğini belirlemediği gibi, negatif sonuçlar da fetusun infekte olmadığını göstermez (50).

Rekürren maternal infeksiyonlarla ilgili bilgiler daha da yetersizdir. Annedeki immünite virusun reaktivasyonunu ve bebeğe geçmesini tam olarak önleyemez. Ancak önemli derecede koruyuculuk sağladığı bilinmektedir. Henüz intrauterin infeksiyonla sonuçlanan reinfeksiyonları gösteren bir teknik mevcut değildir. Bebeğe bulaşma riski çok düşük olduğundan, gebelik öncesi seropozitif olduğu bilinen gebelerin gebelik sırasında test edilmesine gerek yoktur (50).

Doğurganlık çağındaki kadınlarda virusun kaynağı genellikle cinsel temas ve CMV ekskrete eden çocuklardır. Diğer bir önemli bulaşma yolu olan kan transfüzyonları, transfüzyon kanlarının CMV yönünden taranması sonucu eski önemini kaybetmiştir. Cinsel yolla bulaşmanın önlenmesi için tek eşlilik ve prezervatif kullanımı gibi diğer cinsel yolla bulaşan hastalıklar da geçerli olan kurallar CMV infeksiyonları için de geçerlidir. CMV'ü ekskrete etme şansı en yüksek olan çocuklar kreşe gidenlerdir. Böyle çocuğu olan annelerin el yıkama gibi hijyen kurallarına dikkat etmesi önerilmektedir (50).

CMV kreşlerde endemik olduğundan ve hastanelerde yaygın olarak bulunduğu için, buralarda çalışan personel için mesleki riskin söz konusu olduğu düşünülebilir. Ancak yapılan çalışmalar kreşlerde mesleki riski doğrularken, sağlık personeli için önemli bir risk olduğunu gösterememiştir. Yine de CMV ekskrete eden hastalar genellikle asemptomatik olduğundan, gebe rutin hijyen kurallarına dikkat etmesi gerekir. CMV infeksiyonlu veya ekskrete eden hastaların sekresyon önerilerine tabi tutulması önerilir. Doğurganlık çağındaki gebe kreş personelinin ise CMV serolojisi yönünden test edilmesi yararlı olabilir. Bu şekilde seronegatif personelin çocuklarla temasında daha dikkatli olması ve eğitilmesi sağlanabilir. Riskli çocukların tanımlanması bulaşmayı önlemek açısından yararlı olabilir de, bütün kreş çocuklarının CMV ekskresyonu yönünden taranması pratikte mümkün değildir. Çocuk bakımı sırasında CMV bulaşmasını önlemek için, özellikle bez değiştirdikten sonra ellerin yıkanması

önerilmektedir. Konjenital CMV infeksiyonu olan çocukların hastanelerde ve kreşlerde diğer çocuklardan ayrı tutulması ve sekresyon önlemleri dışında tedbirler alınması gereksizdir (50).

1.2.4. Yaptığı Hastalıklar

Sitomegalik inklüzyon hastalığı ya konjenitaldir veya sonradan kazanılır (49). CMV'nin geniş bir hastalık spektrumu vardır. Genellikle asemptomatik infeksiyon görülürse de multipl organ tutulumu ile yaygın infeksiyon da yapabilir (4). Kuluçka döneminin 4–8 hafta olduğu söylenilmektedir. Semptomatik infeksiyonda klinik belirtiler yaşa göre değişmektedir (1).

1.2.4.1. Konjenital Sitomegalik İnküzyon Hastalığı

Konjenital CMV infeksiyonlu bebeklerin %20'sinde hastalık doğumda semptomatiktir ve bunlarda hepatosplenomegali, sarılık, peteşi, mikrosefali, koryoretinit ve serebral kalsifikasyonlar gibi belirtiler bulunmaktadır. Doğumdan kısa süre sonra letarji, solunum güçlüğü, hastalık nöbeti oluşabilir ve bu bebekler birkaç gün ile birkaç hafta içerisinde ölür. Semptomlu çocuklarda psikomotor gecikme, hepatomegali veya sağırılık gelişir (49).

1.2.4.2. Posnatal İnfeksiyonlar

Primer infeksiyon kan nakli, oral, veneral veya solunum yoluyla elde edilir. Orofarinksin epitel hücrelerinde üreyen virüs lenfoid dokuya yayılır. Orada üredikten kan dolaşımına katılarak viremi oluşturur ve dokulara yayılır. Kuluçka süresi ortalama 4–8 hafta kadardır. Doğum sonrası elde edilen infeksiyon genellikle asemptomatiktir (49).

1.2.4.3. Sitomegalovirütik Mononükleoz

Bütün infeksiyöz mononükleoz vakalarının %10'ndan azında CMV saptanır. Heterofil antikor negatif olan infeksiyöz mononükleozun en sık veya EBV'den sonra ikinci sık sebebidir. Bazı çalışmalarda semptomatik CMV infeksiyonu geçiren erişkinlerin yaklaşık yarısında CMV mononükleozu olduğu bildirilmektedir.

Spontan veya kan nakli sonrası, her yaş grubunda ve özellikle 3–4. dekatlarda, her iki cinste görülebilir. Başlangıç sinsidir. Ateş en sık semptom olup 1–5 hafta sürer. Kızamıkçık benzeri döküntü görülebilir, bazen peteşiyal ve soyulmalar tarzındadır. EBV-İM'den farklı olarak tonsiller ve respiratuvar semptomlar daha siliktir. LAP hafif veya belirgin, lokal veya yaygın olabilir. Hepatosplenomegali görülebilir. Lökomoid reaksiyon, lenfositoz (%50'nin üstünde) ve atipik lenfositler (%10'dan fazla) görülebilir. Hemen hepsinde karaciğer fonksiyon testleri bozuktur.

İnfeksiyöz mononükleozda olduğu gibi soğuk aglütininlerde artış, antinükleer antikor ve RF pozitifliği, T₄/T₈ oranında terse dönme gözlenir

Genellikle hafif seyirlidir ve laboratuvar bulguları 6 haftada normale döner. İdrar, boğaz salgısı ve diğer sıvılardan virus ekskresyonu uzun süre devam edebilir (4).

1.2.5. Prognoz

CMV'un sebep olduğu infeksiyonların çoğu subklinitir ve nadiren tıbbi problemlerle sonuçlanır. Doğumdan sonra ilk hafta esnasında klinik olarak ortaya çıkan jeneralize bir hastalık genellikle ölümlü sonuçlanır. Hayatta kalanlarda motor bozukluklar ve mental gerilikler gibi nörolojik sekeller çok görülür. İmmünolojik bozukluğu olan kimselerde jeneralize bir hastalık meydana gelebilir ve hastalık fatal olabilir (49).

1.2.6. Bağışıklık

İnfeksiyonun sonucu olarak komplemanı bağlayan ve nötralizan antikorlar ortaya çıkar. Her ne kadar serumda nötralizan antikorlar mevcut ise de hastada infeksiyon meydana gelir ve virüs salgılanır. Anneden plenta yoluyla geçen IgG'nin bebeği korumadaki etkisi bilinmemektedir (49).

1.2.7. Patogenez

CMV'nin patogenezi diğer herpes virusların patogeneziye benzer. CMV organizmaya girdiğinde 3 farklı tablo oluşturur:

1. Antikor varlığında virusun hücreden hücreye yayılımı: CMV'nin hücre içi yerleşimi, virüsü antikorların etkisinden koruyarak hastalığın yayılmasına neden olmaktadır. CMV'nin latent olarak bulunduğu lökositler, infeksiyonun yayılmasında rol oynamaktadır.
2. Latent infeksiyon oluşumu: CMV, T-hücreleri, makrofaj ve diğer hücrelere yerleşerek latent infeksiyona yol açabilir.

3. Immünsüprese kişilerde reaktivasyon oluşumu: CMV, böbrek ve kalp gibi organlarda latent infeksiyonlara neden olarak immün sistemin baskılanması veya allojenik stimülasyon durumlarında reaktive olabilir (46).

CMV latent infeksiyonu bulunan anneden placentaya yolu ile fetüse geçer. İnfeksiyon yenidoğan bebekte genellikle inaparan kalır. Fakat virüs daha sonra aktive olabilir. Neoplastik hastalığa yakalanmış olanlar, organ transplantasyonu yapılanlar, kortikosteroid veya diğer immünsüpresif ilaç alanlar virüsün aktivasyonuna veya eksojen infeksiyona duyarlıdır (49).

1.2.8. Patoloji

Mikroskopik incelemede nükleus içinde büyük inklüzyon cisimciklerinin görülmesi patognomoniktir ve elektron mikroskopunda CMV diğer herpes virusları ile benzer görünümündedir (51).

Fokal nekroz, inflamatuvar yanıt, sitomegalik hücreler ve çok çekirdekli dev hücrelerin görülmesi CMV'nin karakteristik histopatolojik özelliklerindedir (51,52).

Tipik sitomegalik hücreler nükleer membrandan boyanmamış bir hale ile ayrılmış, 15µm'nin üzerinde muazzam asidofilik veya nadiren bazofilik inklüzyonlar bulunan büyük nükleuslu 40µm'nin üzerinde bir çapa sahip şişmiş hücrelerdir (49). Bu inklüzyon cisimcikleri stoplazmada da izlenebilmektedir. Baykuş gözü (owl-eye) olarak isimlendirilen bu hücreler, 4 yaşın altındaki normal çocukların yaklaşık %10-15'inin tükrük bezleri ve böbrek tübüllerinde gösterilmiştir (46).

Gebelik esnasında anne primer infeksiyona yakalandığında virüs bebeğe transplental yolla geçerek sitomegalik inklüzyon hastalığının meydana gelmesine sebep olur. Bu çocukların çoğu doğumdan kısa süre önce veya sonra ölür, diğerleri ise 1 veya 2 yıl hayatta kalırlar. Çoğu, mikrosefali ve periventriküler kalsifikasyon nedeniyle daimi nörolojik sekel veya sekelsiz iyileşir (49).

Karaciğer ve diğer organlarda fokal nekroz sahaları, beyinde nekrotize granülomatöz lezyonlar ve periventriküler kalsifikasyon bulunabilir. Konjenital infeksiyonlarda organlarda meydana gelen patolojik değişiklikler organogenezin inhibisyonundan dolayı oluşmamış dokuların harabiyeti sonucu meydana gelmiştir (49).

1.2.9. Laboratuvar Tanı Yöntemleri

AIDS hastalarının sayısındaki artış ve organ transplantasyonunun yaygınlaşması bağışıklık yetersizliği olan hasta sayısında önemli derecede artışa neden olmuştur (53,54). CMV infeksiyonlarının sık görülmesi ve ağır seyretmesi yeni ve hızlı tanı yöntemlerinin gerekliliğini ortaya koymaktadır (46). Ayrıca kan ve organ nakli yapılan bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda CMV infeksiyonu ile klinik durumun ağırlaşmasını engellemek için alıcı ve vericileri taramaya uygun hızlı ve duyarlı metotlara olan ihtiyaç artmıştır (53).

CMV infeksiyonlarının hızlı ve özgül tanısı şu sebeplerle çok önemlidir (55–57).

1. Konvansiyonel kültür yönteminin zaman alması
2. AIDS hastalarının rekürrent hatta primer infeksiyonlarında diğer bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ve konjenital infeksiyonlarda serolojik cevabın eksikliği
3. Günümüzde etkin antiviral ajanların varlığı
4. CMV infeksiyonlarının görünümünün trasplant reddinin klinik görünümüne benzeyebilmesi. Bütün bu faktörler CMV spesifik monoklonal antikorları ve DNA sekanslarını kullanan etkin ve hızlı tanı yöntemlerinin geliştirilmesini teşvik etmiştir (53).

CMV'nin hızlı tanısı, infeksiyondan korunma önlemlerinin zamanında alınması ve gerekli durumlarda antiviral kemoterapinin başlatılabilmesini mümkün kılmaktadır (46).

Tek başına yeterli olmayan klinik bulguları doğrulayıcı olarak kullanılan laboratuvar tanı yöntemleri şunlardır.

- I. Direkt inceleme
- II. Virusun izolasyonu ve kültürü
- III. Serolojik yöntemler
- IV. Diğer tanı yöntemleri

CMV tanısında kan, idrar, boğaz çalkantı suyu, bronşial yıkama örnekleri, biyopsi ve optopsi materyali, tükürük, gözyaşı, süt, semen, vajen veya serviks salgısı, aminosentez mayii, BOS, mide suyu ve plasentanın koryonik villusları kullanılabilir (46).

1.2.9.1. Direkt İnceleme

Doku kültürü yapılmasının mümkün olmadığı durumlarda CMV'nin direkt olarak gösterilmesi klinik tanıyı desteklemektedir. Direkt inceleme amacı ile kullanılan yöntemler şunlardır:

- a) Eksfoliatif sitoloji
- b) Histopatoloji
- c) Immun floresan
- d) Elektron mikroskopisi
- e) Hibridizasyon
- f) Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile DNA amplifikasyonu

1.2.9.1.1. Eksfoliatif Sitoloji

İdrar sedimentinin hemotoksilen eosin veya papanicolaou ile boyanmasıyla inklüzyon cisimciklerini saptayan bu yöntem virus izolasyonunun yapılamadığı durumlarda tercih edilmektedir (41).

1.2.9.1.2. Histopatoloji

Otopsi veya biyopsi örneklerinin Wright ve Giemsa ile boyanan preparatlarda 25–35 nm büyüklüğünde bazofilik intranükleer veya stoplazmik inklüzyon içeren sitomegalik hücreler görülmektedir (43,44,48,49,58,59).

1.2.9.1.3. Immun Floresan

Fluorescein isothiocyanate, rhodamine B isothiocyanate ve lissamine rhodamine B gibi floresan vererek görünür hale gelir. Duyarlı ve hızlı bir tanı yöntemi olarak kabul edilen bu yöntemde birkaç saatte sonuç elde edilebilmektedir (46).

1.2.9.1.4. Elektron Mikroskopisi

Elektron mikroskopunda idrar ve tükürük gibi örneklerde, 15–30 dakika içinde CMV partikülleri tesbit edilebilmektedir. CMV partikülleri morfolojik olarak diğer herpes virus partiküllerinden ayıramadığından CMV için spesifik değildir. Hızlı olması ve kültür için uygun olmayan örneklerin incelenebilmesi, yöntemin avantajları olarak kabul edilmektedir. Dezavantajları ise uzman personel ve pahalı ekipman gerektirmesidir. Elektron mikroskopunda pozitif sonuç güvenilir olmasına rağmen negatif sonuç CMV infeksiyonunu ekarte ettirmemektedir (41,44,49,60,61).

1.2.9.1.5. Hibridizasyon

İşaretili viral nükleik asit propları ile CMV genomu çeşitli örneklerde tesbit edilebilmektedir. Sonuçlar kantitatif olarak değerlendirilebilmekte, hastalığın seyri ve antiviral tedavinin takibinde kullanılabilir (58).

1.2.9.1.6. PCR ile DNA amplifikasyonu

Çeşitli klinik örneklerde CMV DNA'sının küçük miktarlarını tesbit edebilen, yüksek oranda duyarlı ve özgül bir metod olarak kabul edilmektedir. Ancak bu test ile aktif ve latent infeksiyonun ayrımı mümkün olmamaktadır (44,58).

CMV infeksiyonlarının tanısında son yıllarda kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde, hastalara ait örneklerde viral DNA'nın çoğaltılarak saptanması amaçlanmıştır. Kalitatif CMV PCR yaygın olarak kullanılmakta, yine son yıllarda kantitatif CMV PCR yöntemleri de bildirilmektedir. PCR yöntemi ile CMV infeksiyonunun antijenemi testinden 20 gün önce saptandığı ve antiviral tedavide PCR pozitifliğinin antijenemi testinden çok sonra negatifleştiği; bu nedenle de antiviral tedavinin monitörizasyonunda kalitatif yerine kantitatif PCR yapılması gerektiği bildirilmiştir (12).

Çok merkezli yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmesi CMV infeksiyonlarının tanısında PCR yönteminin standardizasyonunu gerekli hale getirmiştir. Bu amaçla veya PMNL'lerde PCR yapılması ile ilgili önerilenler şunlardır:

- Periferik kan heparinli değil, EDTA'lı veya sitratlı tüplere alınmalıdır,
- Standart sayıda (2×10^6) PMNL ile çalışılmalıdır,
- PCR ile 2×10^5 PMNL veya eşdeğeri miktarı çoğaltılmalıdır,
- Testlerde amplifikasyon pozitif kontrolü olmalıdır,
- Özgüllüğü arttırmak için nested PCR yapılmalı veya hibridizasyon basamağı eklenmelidir,
- Primerler CMV genomunun korunmuş bölgesinden seçilmelidir.

Bu bilgiler ışığında; BOS, humour aqueous, amniyon sıvısı gibi örneklerde kalitatif PCR pozitifliği anlamlıdır. Ancak immün yetmezliği olan, transplantasyon yapılan olguların takibinde ve antiviral tedavide monitörizasyonunda PMNL'lerde kantitatif PCR yapılması gerektiği bildirilmektedir (12).

1.2.9.1.7. mRNA Saptama Yöntemleri

Bu yöntemle tam kan örneklerinde, viral en erken 1 mRNA ve geç pp67 mRNA varlığı araştırılabilmektedir (62–65). Blok⁶⁵, en erken 1 mRNA nucleic acid sequence-based amplification (NASBA) yöntemi ile CMV infeksiyonunun erken dönemde tanınabileceğini, ancak özgüllüğünün düşük (%20) olduğunu; pp67 mRNA NASBA yönteminin ise, gerek CMV infeksiyonunun, gerekse antiviral tedavinin takibinde kullanılabilecek daha özgül (%9) bir test olduğunu belirtmektedir. Benzer olarak Middeldrop⁶⁶ da çalışmasında pp67 mRNA'nın projeni virus üretimi ile ilişkili olduğunu ve pp67 NASBA yönteminin aktif CMV infeksiyonlarının tanısında güvenle kullanılabileceğini bildirmiştir.

Her iki yöntem de henüz araştırma safhasında olmakla birlikte, viral replikasyonu göstermeleri açısından önemlidir (12).

1.2.9.2. Virusun İzolasyonu ve Kültürü

Virusun izolasyonunda çeşitli vücut sıvıları veya doku örnekleri kullanılmaktadır. CMV kültürü insan ebriyonik akciğer, insan fibroblast hücrelerinde veya miyometrial hücrelerde yapılmaktadır (42–44,49).

İnokülasyondan sonra virüsün büyümesi sırasında meydana getirdiği sitopatik etkinin görülmesi ile konulmaktadır. Bu etki inoküle edilen virus miktarına bağlı olarak bir ile altı hafta (ortalama 10 gün) sonra meydana gelmektedir (67,68).

Shell-Vial Kültür Yöntemi: Son yıllarda konvansiyonel tüp kültür yöntemine tercih edilen Shell Vial Kültür Yöntemi’de (SVKY) inokülasyondan 24–72 saat sonra yapılan immünolojik boyama ile virüsün en erken antijen ve erken antijenlerinin tespit edilmesi enfeksiyonun hızlı tanısı sağlamaktadır (68,69).

Dissemine enfeksiyonun en önemli göstergesi viremidir (19). SVKY’nin duyarlılığının kan dışındaki diğer örneklerde özellikle idrar için konvansiyonel yöntemle uyumlu olduğu ve idrar örneği için seçkin yöntem olarak düşünülebileceği bildirilmektedir (70,71). Lökositlerin hücre tabakasına toksik etkisi daha fazla olduğu için vireminin tanısında SVKY’nin duyarlılığı konvansiyonel yöntemle göre çok azdır, özellikle bu örnekte SVKY ve konvansiyonel yöntemin birlikte uygulanması uygundur (70–72). Enfeksiyonun aktivitesini belirtmek için kantitatif SVKY sonuçlarının inoküle edilen her 10^5 lökosit için enfeksiyöz odak olarak değerlendirilmesi önerilmektedir (73).

Brankoalveolar lavaj (BAL) sıvısını kullanan SVKY’nin duyarlılığı oldukça yüksektir. Genel olarak çeşitli gruplarla yapılan çalışmalar BAL sıvısı kültürünün hastalık için prediktif değerinin düşük olduğunu göstermektedir. Transplantasyon hastalarında kültür pnömoni için riskli dönemi temsil eden transplantasyon sonrası erken dönemde oldukça yüksek olduğu ancak geç dönemde özellikle üst sıvı kültürünün prediktif değerinin düştüğü bildirilmiştir. Ayrıca kültür sonuçlarının kantitatif olarak değerlendirilmesi önerilmiştir (74).

CMV tür spesifik olmasına rağmen mink akciğer hücrelerinin MRC-5 hücrelerinden daha duyarlı olduğu ve özellikle kan örneğinde bu hücrelerin kullanılmasında daha az

toksisite görüldüğü bildirilmektedir (75). Ancak kan için bu hücreleri kullanan çalışmalarda da duyarlılık düşük bulunmuştur (72).

Son yıllarda SVKY özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda vireminin hızlı tanısı ve kantitatif takibinde ve konjenital infeksiyonlarının standart tanısı olan kültür yöntemi ile virüriyi saptamada tercih edilen yöntemlerde birincisi olmuştur (56,73).

1.2.9.3. Serolojik Yöntemler

CMV infeksiyonlarının tanısında viral kültür kesin yöntem olmasına rağmen sonuç için haftalarca beklemek gerekebilir. Bu nedenle hızlı ve güvenilir serolojik yöntemler etkili tedavinin belirlenmesi bakımından önemlidir. Serolojik tanı için antikor titrelerinde yükselme veya negatiflikten pozitifliğe doğru serokonversiyonun olması gereklidir. 16 hafta süreyle tesbit edilebilen CMV IgM antikorları primer infeksiyon, reaktivasyon veya reinfeksiyonu göstermektedir. 2-4 ay sonra CMV IgM titresinde düşme izlenirken nadiren bazı vakalarda 1-2 yıl süreyle yüksek düzeyde kalabilmektedir. Akut veya asemptomatik CMV infeksiyonunda CMV IgM titresinde artış görülmesi akut infeksiyonu düşündürür. CMV IgG daha sonra yükselir ve uzun süre pozitif olarak kalır. CMV IgG antikorlarının tesbiti seropozitifliği gösterir ve seroepidemiolojik çalışmalarda önem kazanmaktadır (46).

CMV IgM varlığında CMV IgG titresinde artış görülmesi primer infeksiyonu göstermektedir. CMV IgM antikorunun negatif olduğu durumlarda CMV IgG titre artışı ise daha çok reinfeksiyonu düşündürmektedir (46).

Latent CMV infeksiyonunun reaktivasyonunda CMV IgG titresinde anlamlı bir yükselme görülebilmektedir. Konjenital CMV infeksiyonunda yenidoğanda tespit edilen CMV IgG antikorlarının maternal antikorlara bağlı olma olasılığı yüksektir (43,52,59-61).

CMV infeksiyonları tanısında kullanılan serolojik testler şunlardır:

- a) Kompleman Birleşme Testi (KB)
- b) Antikompleman İmmun Floresan Testi (ACIF)
- c) İmmun Floresan Antikor Testi (IFA)
- d) İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHA)
- e) Pasif Lateks Aglutinasyon Testi (PLA)
- f) Radioimmunoassay (RIA)
- g) Nötralizasyon Testi
- h) Enzim Linked Immunosorbent Assay (ELISA)
- i) İmmunoadherens Hemaglutinasyon Testi (IAHA)
- j) Otomatize İmmunofloresan M-ab Capture (MACRIA)

1.2.9.3.1. Kompleman Birleşmesi Testi (KB)

Testin esası, antijenin kendisine karşı oluşan antikorlar ile birleştikten sonra ortama katılan komplemanla da birleşerek reaksiyon oluşturmalarıdır (46). Düşük düzeydeki antikor titresini göstermede daha az duyarlılık göstermesi, test süresinin uzun olması dezavantajdır. Bu nedenle ELİSA ve LA gibi testlere bir alternatif olarak kullanılmalıdır. KB testi ayrıca IFA ve ACIF testine göre daha az duyarlıdır (44).

1.2.9.3.2. Anticomplement İmmun Floresan Testi (ACIF)

Antijen-antikor kompleksine bağlanan komplemanın ortama ilave edilen floresanlı antiserumla birleşmesi esasına dayanan bu testte sonuçlar 2–3 saatte elde edilmektedir. Testin dezavantajları; günlük olarak az sayıda örneğin çalışılabilmesi, hücre kültürü, immün floresan mikroskopunun gerekliliği ve lamların incelenmesinde deneyimli personel ve uzun zamana ihtiyaç göstermesidir (46).

1.2.9.3.3. İmmun Floresan Antikor Testi (IFA)

Özel lamlarda fikse edilmiş viral DNA sentezine bağlı olmayan antijenler hasta serumunda bulunan antikorlarla birleştikten sonra ilave edilen floresanla anti-human globulin ile bağlanarak floresan vermesi esasına dayanmaktadır. Sonuçların kısa sürede alınması nedeni ile tercih edilmelidir. Dezavantajları infekte hücre tabakalarının kullanılması, spesifik nükleer floresansın nonspesifik stoplazmik floresanstan kolay ayrılabilmesidir (46).

1.2.9.3.4. İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHA)

Virusların taşıdıkları hemaglutininlerle eritrositleri aglutine etmelerinin antiviral antikorlarının varlığında bloke olması esasına dayanmaktadır. IHA testi CMV IgM ve CMV IgG antikorlarını tesbit eden duyarlı ve güvenilir bir testtir. Bu test 1–2 saatte sonuç verecek kadar hızlı olması ve kolay uygulanabilmesi nedeniyle tercih edilmektedir (46).

1.2.9.3.5. Pasif Lateks Aglutinasyon Testi (PLA)

Viral antijenle sensitize edilmiş olan lateks partiküllerinin hasta serumu ile karşılaştırıldığında mevcut antikorla aglutine olması esasına dayanmaktadır (46). Kolay, hızlı, yüksek oranda

sensitif ve spesifiktir. Birkaç dakikada sonuç alınabilmektedir. Hastanın, kan veya organ donörlerinin immün durumunu tespit etmek için kullanılan bu testte sonuçların makroskobik değerlendirilmesi dezavantaj olarak kabul edilmektedir (44,60).

1.2.9.3.6. Radioimmunoassay (RIA)

Serumda antikorların ölçülmesinde kullanılan indirekt solid faz immunassaydır. Spesifik antijen-antikor reaksiyonu, radioaktif madde ile konjuge bir anti-globulin kullanılarak ortaya çıkarılmaktadır (49).

1.2.9.3.7. Nötralizasyon Testi

Virusların infeksiyon yapma yeteneğini bloke eden antikorların ortaya çıkarılması amacıyla yapılmaktadır. CMV'nin AD 169 ve Davis gibi kültüre adapte tipleri kullanılmaktadır (49,76).

1.2.9.3.8. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Son yıllarda CMV antikorlarının tespiti için geliştirilen diğer metodların yerini geniş ölçüde almıştır. Hızlı, duyarlı ve özgül bir test olan ELISA'nın avantajları şunlardır:

- Birçok örneğin günlük olarak çalışılması,
- Yapılışının kolay olması,
- Reaktif reajenlere gerek duyulmaması,
- Uzun miadlı reajenlerin ve otomatize bir sistemin kullanılması,

ELISA antijen-antikor ilişkisini antikorlara bağlanmış bir enzimin aktivitelerini izleyerek araştırma temeline dayanır. Boncuklar, tüpler veya mikrotitrasyon pleytleri gibi plastik taşıyıcılar, solid faz olarak antijenin bağlanması için kullanılırlar.

CMV IgM antikorlarının tespitinde, yalancı pozitif veya yalancı negatiflik olabileceği akılda tutulmalıdır. Yalancı pozitif reaksiyonlar, yüksek düzeyde RF içeren serumlarda meydana gelmektedir. RF, IgG ile etkileşen IgM sınıfından bir immünglobülinidir. RF'nin yüksek miktarlarda bulunmasına bağlı olarak oluşan yalancı CMV IgM pozitifliğini ekarte etmek için serumlar RF yönünden taranmalıdır. Serum örnekleri RF'yi uzaklaştırmaya yönelik olarak anti-human IgG serumu ile muamele edilir.

Yalancı negatif reaksiyonlar ise yüksek miktardaki IgG antikorlarının IgM antikor bağlanmasını kompetitif olarak bloke etmesiyle ortaya çıkmaktadır. IgG absorbantlarının kullanılmasıyla hatalı negatiflikler büyük ölçüde önlenmektedir (44,76).

1.2.9.3.9. Immuno Adherens Hemaglütinasyon Testi (IAHA)

Serum örneğinde bulunan immünglobülinler infekte hücre yüzeyinde bulunan virusun taşıdığı antijenlere tutunur. Ortama eklenen kompleman (C3b) antijen-antikor kompleksine bağlanır. Daha sonra eklenen eritrositlerin bu komplekse bağlanması serum örneğinde antikorun varlığını gösterir (49).

1.2.9.3.10. Otomatize Immunfloresan M-ab Capture (MACRIA)

Bu test, 1983 yılında tanımlanmış yeni bir metoddur. Serum örnekleri fosfat tween bufferda dilue edilir ve koyun anti human IgM kaplı polysteren godelerde inkübe edilir. Test glisin ekstrakt CMV antijeni ve I¹²⁵ bağlı human anti CMV antikorunun ilave edilmesiyle tamamlanır. MACRIA'da RF'ye bağlı yalancı pozitiflikler daha az oranda görülmektedir (46).

1.2.9.4. Diğer Tanı Yöntemleri

Antijenemi assay: Kan lökositlerinde CMV erken antijenlerini immünositokimyasal olarak tespit etme temeline dayanan yeni ve direkt bir tanı metodudur (59,60).

Son yıllarda geliştirilmiş, periferel kanda PMNL'lerin nükleuslarında, CMV'nin tegument proteini olan fosfoprotein 65 (pp65)'i saptamaya yönelik bir testtir, standardize edilmiştir ve kantitatif olarak sonuç vermektedir.

Antijenemi testinde 6 basamak vardır:

- Periferel kandaki PMNL'lerin dekstran yöntemi ile ayrıştırılması
- Sitosantrifüj ile stospin preparatlarının hazırlanması (2×10^5 PMNL)
- Fiksasyon
- Permeabilizasyon
- Monoklonal antikorlar ile immün boyama
- Seçilen immün boyama yöntemine göre, floresan veya ışık mikroskopunda preparatların incelenmesi ve pp65 pozitif hücrelerin sayılması

Antijenemi pozitifliği, aktif CMV infeksiyonu varlığı ile eş anlamlı kabul edilmektedir. PMNL'lerin pp65 antijenini, CMV ile infekte endotel hücrelerinden hücre teması yoluyla veya plazmadaki serbest virionlardan aldıkları düşünülmektedir. CMV infeksiyonu ve hastalıklarında; antijeneminin viremiden daha uzun süreli olduğu (sırası ile 5 ± 3 ve 3 ± 2 hafta) antijenemi testinin kanda virus izolasyonundan 1–56 gün, idrarda virus izolasyonundan 8–50 gün ve anlamlı antikor yanıtından 6–22 gün önce pozitifleştiği bildirilmiştir.

CMV infeksiyonu veya hastalığından şüphelenilen olguların takibinde antijenemi düzeyinin bilinmesi önemlidir. Antijenemi düzeyi, sayılan 2×10^5 lökositte saptanan pp65 pozitif hücre sayısına göre; düşük, orta ve yüksek olarak gruplandırılmaktadır (Tablo 8).

Tablo8. Antijenemi düzeyi

pp65pozitif hücre sayısı / 2×10^5 PMNL	Antijenemi düzeyi
<10	Düşük
10-49	Orta
≥ 50	Yüksek

Solid organ alıcılarında yüksek düzeyde antijenemi saptanan olgularda, semptomatik CMV hastalığı gelişme riski fazladır. Bu gruptaki hastalarda $\geq 100/2 \times 10^5$ pozitif hücre saptanırsa, klinik bulgular olmasa bile derhal antiviral tedaviye başlanması önerilmektedir (12).

Ayrıca, CMV spesifik monoklonal antikor ve DNA sekanslarıyla CMV antijenlerinin dokularda gösterilmesi de mümkündür (59,60).

2. MATERYAL VE METOD

Çalışmaya toplam 27 hasta alındı. Bu hastaların 14'ü erkek 13'ü bayan olup yaşları 2–59 arasında değişmekteydi. Hastaların 8'i Kulak Burun Boğaz (KBB), 8'i Pediatri ve 11'i Dâhiliye poliklinikleri tarafından izlenmekteydi. Tüm olgulardan tedaviye başlanılmadan önce 8 ml venöz kan alınarak serumları ayrıldı ve çalışma yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda (-40⁰C) saklandı. Serum örneklerinde monospot testi ile heterofil antikor varlığı, ELİSA ile EBV ve CMV IgM ve IgG antikorları varlığı araştırıldı. Bu markerleri birarada Dot-Blot yöntemi ile de test edildi.

2.1. Monospot Yöntemi

Heterofil antikorlarının saptanması için BİOKİT (İspanya) firmasına ait ticari monospot kiti kullanıldı. Bütün örnekler kitte belirtilen prosedüre göre çalışıldı.

Ayırçalar:

Lateks reaktif: 1x1,4ml (Polyester lateks partiküller %0,1sodyumasid içeren Paul-Bunnel antijenleri ile kaplıdır.)

Pozitif kontrol: 1x1,0ml (Tavşan serumu ile dilue %0,1'lik sodyum asid içerir.)

Negatif kontrol: 1x1,0ml (Negatif insan serumu ile dilue %0,1'lik sodyum asid içerir.)

Tek kullanımlık slide

Örneklerin çalışılması:

1. Reaktifler oda ısısında bekletildi.
2. Slide üzerine 50µl (1damla) hasta serumu damlatıldı.
3. Reaktif şişesi çalkalandıktan sonra 50µl hasta serumunun yanına damlatıldı.
4. Her iki damla homojen bir hal alana kadar karıştırıldı.
5. Slide 3 dakika manual ya da shaker üzerinde çalkalandı.
6. Aglütinasyon gözlemlendi.

2.2. Dot-Blot Yöntemi

Hasta serumunda heterofil antikorları (I,II), EBV VCA IgM ve CMV IgM varlığını araştırmak amacıyla GEN BIO (USA) firmasına ait ticari kit kullanıldı. Test araştırılan tüm markerleri (heterofil antikor (I,II), EBV VCA-IgM ve CMV-IgM antikorları) içeren stripler üzerinde EIA dot tekniği kullanılarak çalışıldı. Bütün örnekler kitte belirtilen prosedüre göre çalışıldı.

Solüsyonların hazırlanması:

Tüm ayıraçlar çalışma öncesi oda ısısında 30dk bekletildi.

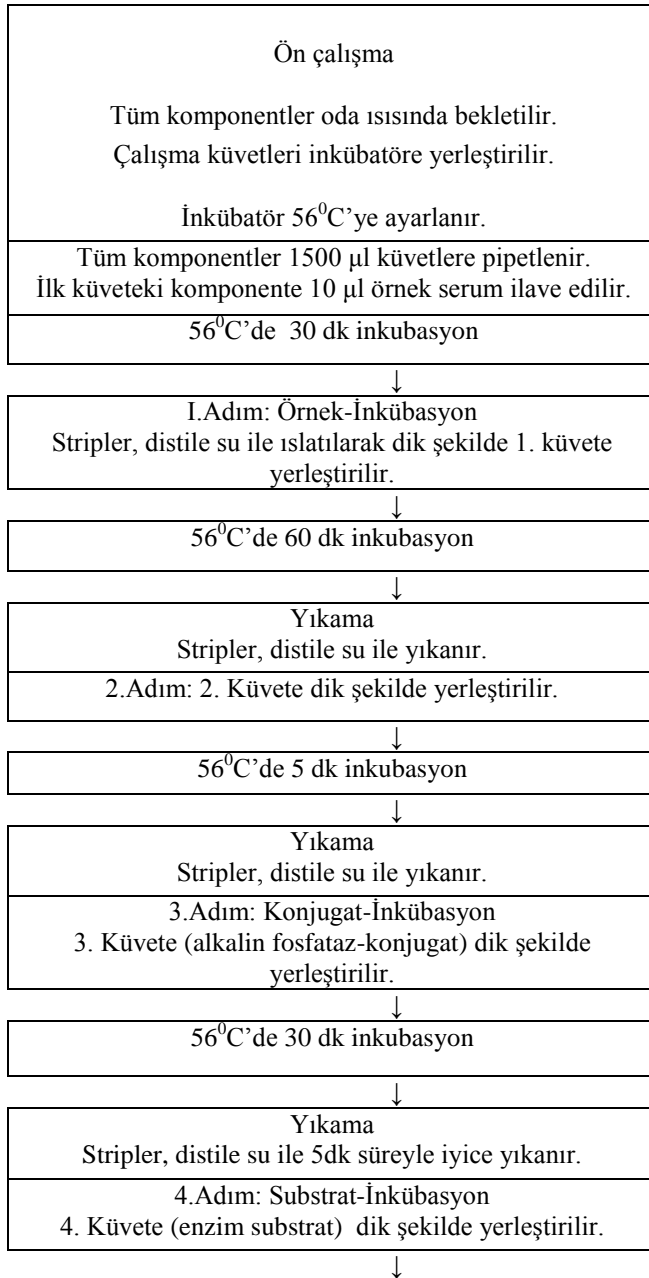
Tüm ayıraçlar çalışma kitinde hazır durumda bulunmakta.

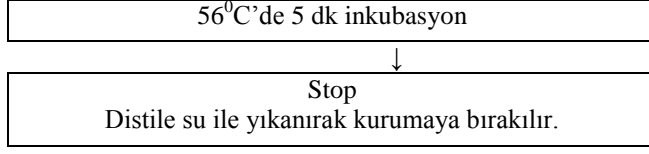
Örnek serumların çalışılması:

1. Çalışma kitindeki küvetler inkübatöre yerleştirildi.
2. Tüm ayıraçlar sırasıyla küvetlere 1500 µl konuldu.
3. İlk küvetteki ayıraça 10 µl örnek serum konuldu. Tüm ayıraçlar 56⁰C'de 30dk inkübe edildi.
4. Çalışma stripler distile su ile ıslatılarak her bir strip dik şekilde küvetlere yerleştirildi.
5. 56⁰C'de 60dk inkübe edildi.
6. Stripler, distile su ile yıkanarak 2.küvete aktarıldı.
7. 56⁰C'de 5dk inkübe edildi.
8. Stripler, distile su ile yıkanarak 3.küvete (alkalin fosfataz-konjugat) aktarıldı.
9. 56⁰C'de 30dk inkübe edildi.
10. Stripler distile su ile 5dk süreyle iyice yıkanarak 4. küvete (enzim substrat) aktarıldı.

11. 56⁰C'de 5dk inkübe edildi.
12. Distile su ile yıkandıktan sonra kurumaya bırakıldı.
13. Stripler üzerindeki lekelenmeler, kontrollere göre değerlendirilerek sonuçlar kaydedildi.

Akış Diyagramı





2.3. ELISA Testleri

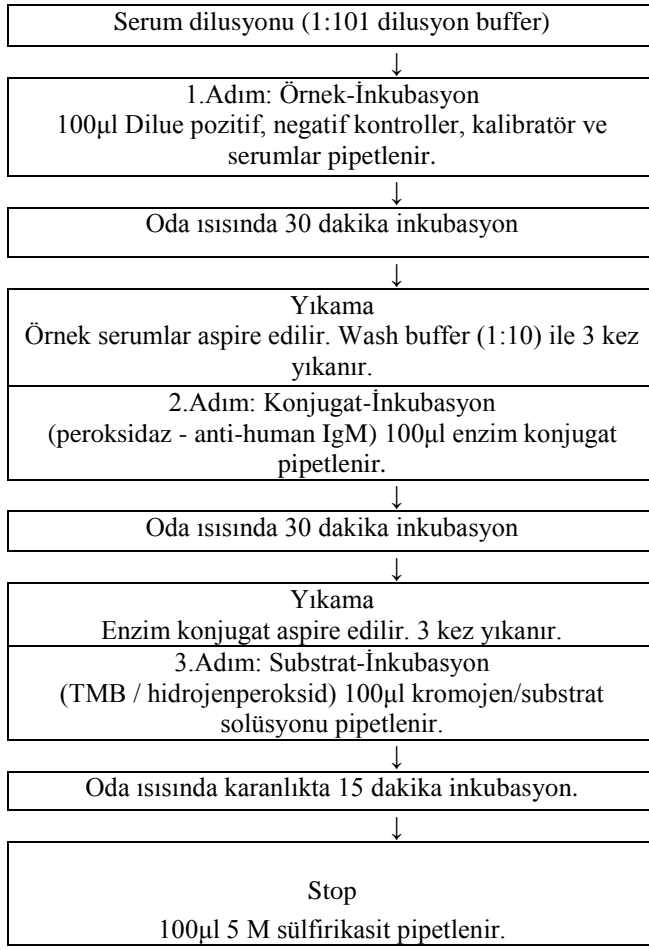
2.3.1. EBV IgM

EBV VCA karşı gelişmiş IgM antikor tayini için, EBV VCA kapsid antijeni ile kaplanmış EUROIMMUN (Almanya) firmasına ait ticari kiti kullanıldı. Kit serum örneklerindeki spesifik IgM poliklonal antikorların tesbiti için konjuge antihuman-IgM antikorunu içermekte ve mikro ELISA prosedürüne göre düzenlendi.

1. Bütün örnekler kitte belirtilen prosedüre göre önce hazır olan dilusyon buffer ile 1:101 dilue edildi.
2. Mikro ELISA plate'leri hazırlandı. Daha sonra kuyucuklara dilue ettiğimiz serumlar, hazır olan pozitif ve negatif kontrol ve kalibratör 100µl pipetlendi. Kuyucukların üzeri kapatıldı.
3. Oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.
4. İnkübasyon sonunda her bir kuyucuk 1:10 oranında dilue ettiğimiz konsantre yıkama tamponu ile 3 kez yıkandı. Yıkama sonrası kuyucukların içinde sıvı kalmamasına dikkat edildi.
5. Her bir kuyucuğa hazır olan enzim konjugat (Peroksidaz - Anti-human IgM) 100µl pipetlendi. Kuyucukların üzeri kapatıldı.
6. Oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.
7. İnkübasyon sonunda tekrar yıkama işlemi gerçekleştirildi.
8. Her bir kuyucuğa kromojen / substrat (Tetrametilbenzidin (TMB) / Hidrojenperoksid) solüsyonu 100µl pipetlendi.
9. Oda ısısında, karanlıkta 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
10. İnkübasyon sonunda 100µl 0,5 M sülfirikasit ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Okuma işlemi 450nm ve 620nm referans filtresi ile gerçekleştirildi. Sonuçlar cut-

off değerine göre değerlendirildi. Cut-off değerinin altı negatif, üzeri pozitif olarak değerlendirildi.

Akış Diyagramı

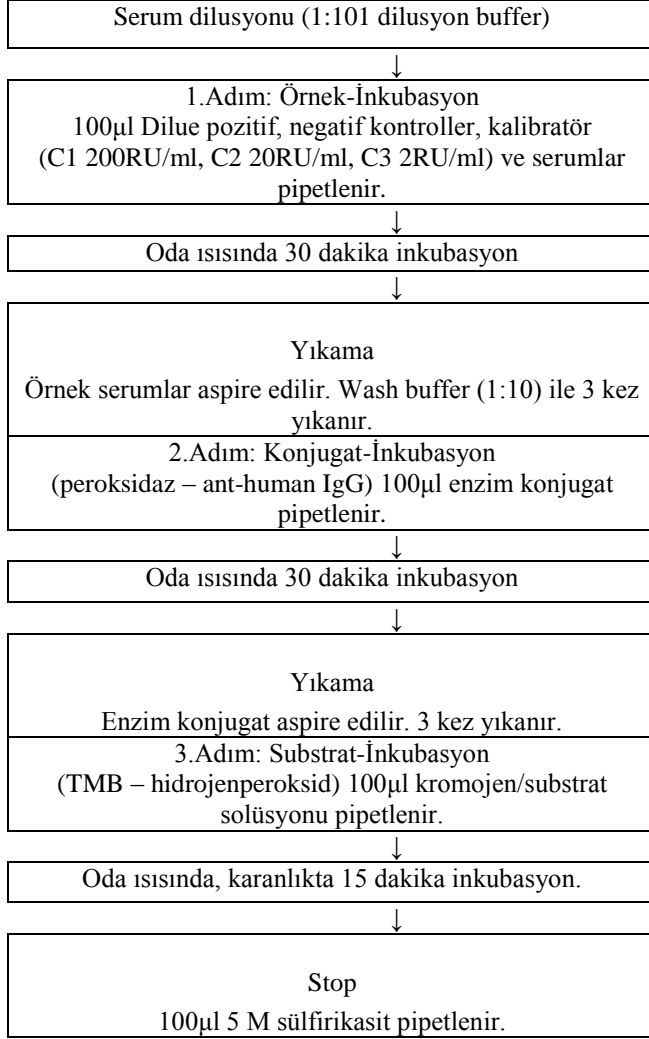


2.3.2. EBV IgG

EBV VCA karşı gelişmiş IgG antikor tayini için, EBV VCA kapsid antijeni ile kaplanmış EUROIMMUN (Almanya) firmasına ait ticari kiti kullanıldı. Kit serum örneklerindeki spesifik IgG poliklonal antikorların tesbiti için konjuge antihuman-IgG antikorunu içermekte ve mikro ELISA prosedürüne göre düzenlendi.

1. Bütün örnekler kitle belirtilen prosedüre göre önce hazır olan dilusyon buffer ile 1:101 oranında dilue edildi.
2. Mikro ELISA plate'leri hazırlandı. Daha sonra kuyucuklara dilue ettiğimiz serumlardan, hazır olan pozitif ve negatif kontrol ve kalibratörler (C1 200RU/ml, C2 20RU/ml, C3 2RU/ml) 100µl pipetlenerek kuyucukların üzeri kapatıldı.
3. Oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.
4. İnkübasyon sonunda her bir kuyucuk 1:10 oranında dilue ettiğimiz konsantre yıkama tamponu ile 3 kez yakandı. Kuyucukların içinde sıvı kalmamasına dikkat edildi.
5. Her bir kuyucuğa hazır olan enzim konjugat (Peroksidaz – Anti-human IgG) 100µl pipetlendi ve kuyucukların üzeri kapatıldı.
6. Oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.
7. İnkübasyon sonunda tekrar yıkama işlemi gerçekleştirildi.
8. Kuyucuklara kromojen/substrat (TMP – Hidrojenperoksid) solüsyonu 100µl pipetlendi.
9. Oda ısısında karanlıkta 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
10. İnkübasyon sonunda 100µl 0,5 M sülfirikasit ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Okuma işlemi 450nm ve 620nm referans filtresi ile gerçekleştirildi. Sonuçlar cut-off değerine göre değerlendirildi. Cut-off değeri olarak C2 kabul edilerek bu değer altı negatif, üzeri pozitif olarak değerlendirildi.

Akış Diyagramı

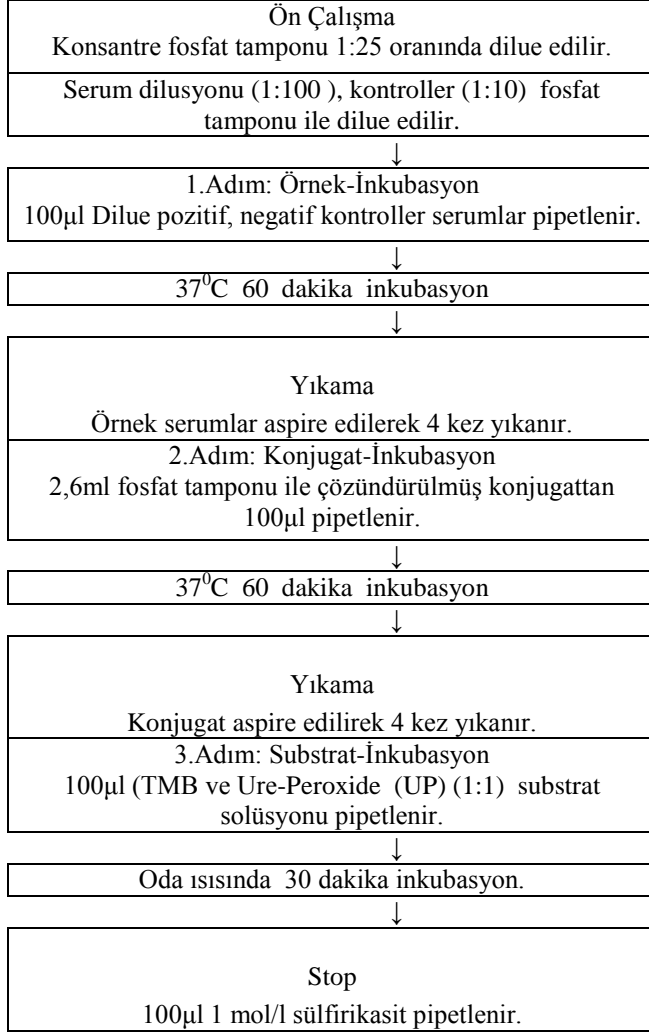


2.3.3. CMV IgM

İnsan serumunda bulunan CMV antikorlarının saptanması için VIRONOSTICA (Hollanda) firmasına ait antikor yakalama prensibine dayalı ticari CMV IgM ELISA kiti kullanıldı. Bütün örnekler kitte belirtilen prosedüre göre çalışıldı.

1. Çalışmaya başlamadan önce konsantre fosfat tamponu 1:25 oranında dilue edildi.
2. Mikro ELISA plate'leri hazırlandı. Mikro çukurcuklar spesifik olarak insan IgM antikorlarına karşı oluşturulmuş koyun antikorları ile kaplanmıştır. Serum örnekleri 1:100 oranında fosfat tamponu ile dilue edildi. Kontroller, fosfat tamponu ile 1:10 oranında dilue edildi. Kuyucuklara 100µl dilue serum örnekleri ve kontroller pipetlendi. Kuyucukların üzeri kapatıldı.
3. 37⁰C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
4. İnkübasyon sonunda 4 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi. Kuyucukların içinde sıvı kalmamasına dikkat edildi.
5. Kuyucuklara 2,6 ml fosfat tamponu ile çözündürülmüş konjugattan (horseradish peroksidaz enzimi ile işaretlenmiş anti-CMV antikorları (koyun)) 100µl pipetlendi ve plağın üzeri kapatıldı.
6. 37⁰C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
7. Yıkama işlemi gerçekleştirildi.
8. Kuyucuklara TMB ve Üre-Peroksid (UP) ile 1:1 oranında substrat solüsyonu hazırlanarak, kuyucuklara 100µl pipetlendi.
9. Oda ısısında 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
10. İnkübasyon sonunda 100µl 1 mol/l sülfirikasit ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Okuma işlemi 450 nm ve 620 nm referans filtresi ile gerçekleştirildi. Sonuçlar cut-off değerine göre değerlendirildi. Cut-off değerinin altı negatif, üzeri pozitif olarak değerlendirildi.

Akış Diyagramı



2.3.4. CMV IgG

İnsan serumunda bulunan CMV antikorlarının saptanması için VIRONOSTICA (Hollanda) firmasına ait sandöviç prensibine dayalı ticari CMV IgG ELISA kiti kullanıldı. Bütün örnekler kitle belirtilen prosedüre göre çalışıldı.

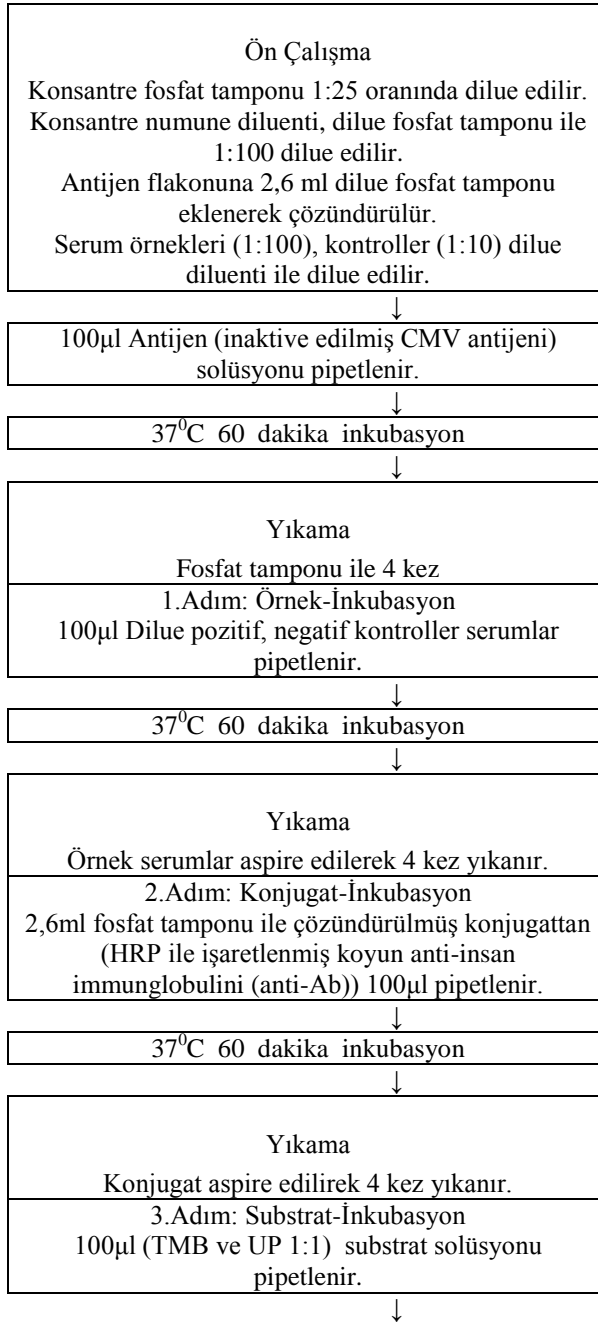
1. Çalışmaya başlamadan önce konsantre fosfat tamponu 1:25 oranında dilue edildi. Konsantre numune diluenti, dilue fosfat tamponu ile 1:100 oranında dilue edildi. Antijen flakonuna 2,6 ml dilue fosfat tamponu eklenerek çözündürüldü.
2. Mikro ELISA plate'leri hazırlandı. Mikro çukurcuklar özel olarak katı fazı oluşturan numune monoklonal anti-CMV ile kaplanmış. Her bir kuyucuğa 100µl antijen (inaktive edilmiş CMV antijeni) solüsyonu pipetlenerek plağın üzeri kapatıldı.
3. 37⁰C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sırasında serum örnekleri 1:100 oranında dilue numune diluenti ile dilue edildi. Kontrollerin dilüsyonu numune diluenti ile 1:10 oranında dilue edildi.
4. İnkübasyon sonunda herbir kuyucuk fosfat tamponu ile 4 kez yıkandı. Kuyucukların içinde sıvı kalmamasına dikkat edildi.
5. Kuyucuklara dilue serum örnekleri ve kontroller 100µl pipetlendi. Plağın üzeri kapatıldı.
6. 37⁰C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
7. İnkübasyon sonunda tekrar yıkama işlemi gerçekleştirildi.
8. Kuyucuklara 2,6 ml fosfat tamponu ile çözündürülmüş konjugattan (HRP ile işaretlenmiş koyun anti-insan immunglobulini (anti-Ab)) 100µl pipetlendi ve plağın üzeri kapatıldı.
9. 37⁰C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
10. Yıkama işlemi gerçekleştirildi.
11. Kuyucuklara TMB ve UP ile 1:1 oranında substrat solüsyonu hazırlanarak 100µl pipetlendi.

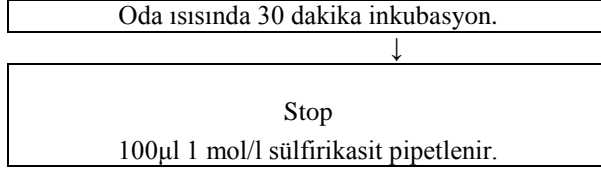
12. Oda ısısında 30 dakika inkübasyona bırakıldı.

13. İnkübasyon sonunda 100µl 1 mol/l sülfirikasit ilave edilerek reaksiyon durduruldu.

Okuma işlemi 450 nm ve 620 referans filtresi ile gerçekleştirildi. Sonuçlar cut-off değerine göre değerlendirildi. Cut-off değerinin altı negatif, üzeri pozitif olarak değerlendirildi.

Akış Diyagramı





3. BULGULAR

Ekim 2002 – Şubat 2004 tarihleri arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne LAP ve boğazda şişlik yakınması ile başvuran hastalar, İnfeksiyöz Mononükleoz şüphesiyle incelemeye alındı. Bu hastalarda heterofil antikorları varlığı ve oluşan etkenlere yönelik IgM ve IgG antikorları araştırıldı (Tablo9). Çalışmaya 14'ü erkek 13'ü bayan, yaşları 2–59 arasında değişen 27 hasta alındı. Hastaların öykülerine bakıldığında 2 hastada yandaş hastalık bulunmaktaydı. Bunlardan birisi 59 yaşında mesane tümörü olan erkek hasta, diğeri ise 10 yaşında Tip I Diabetes Mellitus'u olan erkek hastaydı. Mesane tümörü olan hasta hariç diğer 26 hastaya herhangi bir kan transfüzyonu yapılmamıştı.

Çalışmaya alınan hastaların tümü infeksiyöz mononükleoz ile uyumlu semptomları gösteriyordu. Hastalarda en sık saptanan bulgular yüksek ateş, boğaz ağrısı, boğazda şişlik, LAP ve periferik yaymada lenfomonositoz şeklindeydi.

Görülen lenf nodülleri 3,5-26mm çapındaydı ve etraf doku ağırlıydı.

Hastaların 17'sinde (%62,962) CRP yüksekliği, 6'sında (%22,22) lökositoz saptandı.

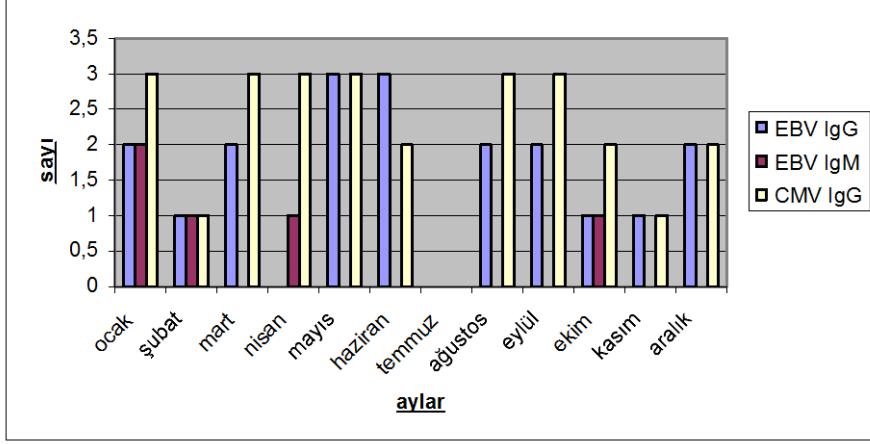
Çalışmaya alınan toplam 27 hastanın 5'inde (%18,51) EBV IgM (ELISA), 2 hastada (%7,40) Heterofil Antikor (Monospot), 4 hastada (%14,81) Heterofil Antikor (Dot Blot) pozitif bulundu.

EBV (ELISA) pozitif olan hastalar, IgM ve IgG açısından değerlendirildiğinde; IgM, 5 hastada (%18,51), IgG 19 (%70,37) hastada pozitif bulundu. CMV (ELISA) pozitif olan hastalar, IgM ve IgG açısından değerlendirildiğinde; IgM hiç pozitif saptanamazken, IgG'de 26 (%96,29) hastada pozitif bulundu. Heterofil Antikor (Monospot Latex Aglütinasyon) açısından incelendiğinde 2 (%7,40) hastada pozitif bulundu. Heterofil antikor (Dot-Blot) 4 hastada (%14,81) pozitif bulunurken; aynı striplerde EBV-VCA IgM antikor pozitif ve CMV parametresi negatif bulundu. Monospot ile pozitif bulunan hastalar Dot-Blot yöntemiyle de pozitif bulundu.

Tablo9.Test Yöntemleri ve Sonuçları

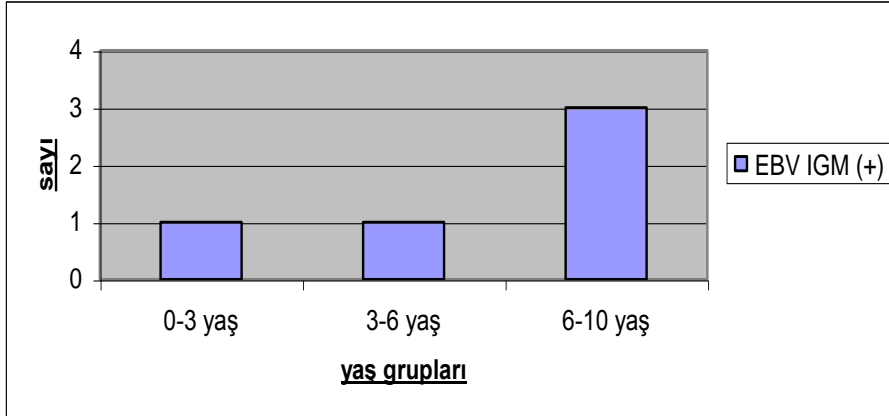
NNo	YAŞ / CİNS	ELISA				MONO SPOT (Htr.ant)	DOT-BLOT				CRP 0,00- 8,00 U/ml	WBC 4.10 X 10 ³ /UI
		CMV IgM	CMV IgG	EBV IgM	EBV IgG		HTR. ANT.		EBV VCA IgM	CMV IgM		
							I	II				
1.	20- E	-	+	-	+	-	-	-	-	-	1	9,26
2.	2,7-E	-	+	-	-	-	-	-	-	-	5	7,90
3.	17- E	-	+	-	+	-	-	-	-	-	39,8	7,37
4.	8- K	-	+	-	+	-	-	-	-	-	1,25	8,29
5.	11- E	-	+	-	+	-	-	-	-	-	1	5,68
6.	6,5-K	-	+	-	-	-	-	-	-	-	45,6	4,44
7.	32- K	-	+	-	-	-	-	-	-	-	18,4	5,48
8.	25- K	-	+	-	+	-	-	-	-	-	108	15,9
9.	27- K	-	+	-	+	-	-	-	-	-	1,25	6,23
10.	7- K	-	+	+	+	-	+	+	-	-	19,3	18,36
11.	53- K	-	+	-	+	-	-	-	-	-	99,1	15,31
12.	28- E	-	+	-	+	-	-	-	-	-	57,7	6,56
13.	25- E	-	+	-	+	-	-	-	-	-	54,4	8,21
14.	10- E	-	+	-	+	-	-	-	-	-	52,5	5,6
15.	7- E	-	+	+	+	-	-	-	-	-	2,99	7,9
16.	25- E	-	+	-	+	-	-	-	-	-	12,2	9,0
17.	55- E	-	+	-	-	-	-	-	-	-	4,56	7,84
18.	48- E	-	+	-	-	-	-	-	-	-	27,6	6,72
19.	3- K	-	+	+	-	+	+	+	-	-	1,25	8,91
20.	56- K	-	+	-	-	-	-	-	-	-	20,3	4,7
21.	6- E	-	+	+	-	+	+	+	-	-	13,2	16,1
22.	10- E	-	+	+	+	-	+	+	-	-	16,1	35,9
23.	59- K	-	+	-	+	-	-	-	-	-	4,57	4,1
24.	31- K	-	+	-	+	-	-	-	-	-	20,2	8,7
25.	47- K	-	-	-	+	-	-	-	-	-	4,99	5,6
26.	11- E	-	+	-	+	-	-	-	-	-	13,7	5,23
27.	25- K	-	+	-	+	-	-	-	-	-	14,3	12,7

CMV ve EBV serolojisi aylara göre dağılımı incelendiğinde; yılın her mevsiminde eşit şekilde görülmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. CMV ve EBV Antikoru Aylara Göre Dağılımı

EBV-IgM varlığının yaşlara göre dağılımı incelendiğinde; 3 hasta ile en sık 6–10 yaşarası pozitiflik saptandı. Çalışma grubumuzdaki bu pozitifliğe erken çocukluk döneminde rastlanmıştır (Şekil 2).



Şekil 2. EBV'nin yaşlara göre pozitiflik dağılımı (n=27)

Çalışmaya alınan 27 serum örneğinin, 8'i (%29,62) Kulak Burun Boğaz (KBB), 8'i (%29,62) Pediatri ve 11'i (%40,74) Dâhiliye polikliniklerine aitti. İnfeksiyöz mononükleoz şüpheli hastalar genellikle bu üç polikliniğe muayene olmuş ve muayene sonucunda Pediatri bölümü 4 hastada, Dâhiliye bölümünde 1 hasta pozitif saptandı. Yaş ve poliklinik dağılımına bakıldığında İnfeksiyöz mononükleoz çocukluk döneminde daha sık görüldü.

Çalışmaya alınan 27 hasta serumları üç yöntemle çalışıldı. Bu yöntemler ELISA yöntemi, Monospot-Latex Aglütinasyon (heterofil antikor arama) yöntemi ve Dot-Blot yöntemleriyle arandı.

EBV-IgM pozitifliği saptanan hastalardan 3'ünde (%60) CRP yüksekliği saptanırken 2 (%40) hastada CRP normal olarak ölçüldü.

ELISA yönteminde 27 hastada 5 (%18,51) hasta EBV-IgM pozitif saptanırken, Monospot yönteminde 2 (%7,40) hastada ve Dot-Blot yönteminde 4 (%14,81) hastada pozitif heterofil antikor ve EBV VCA IgM bir arada saptandı.

ELISA yöntemi referans alındığında, test yöntemleri aynı hastalarda pozitif saptarken; Monospot yöntemi ELISA EBV-IgM yöntemiyle 3 (%60) hastada uyumsuz, 2 (%40) hastada uyumlu, Dot-Blot yöntemi ELISA EBV-IgM yöntemiyle 1(%20) hastada uyumsuz, 4 (%80) hastada uyumlu bulundu. Monospot yöntemi Dot-Blot yöntemiyle karşılaştırıldığında ise; monospot ile infeksiyöz mononükleoz hastalarının ancak yarısının saptanabildiği görülmektedir (Tablo10).

Tablo10. Monospot – Dot-Blot Yöntem Karşılaştırması

n=27		Dot-Blot		Toplam
		(+)	(-)	
Monospot	(+)	2	-	2
	(-)	2	23	25
Toplam		4	23	27

5. TARTIŞMA

EBV ve CMV çocukluk yaşlarında sık görülen ve genellikle asemptomatik infeksiyon yaparak vücutta latent kalan herpesvirus ailesinin iki üyesidirler. Her iki virus de potansiyel onkojenik özellikleri ve özellikle immünyetmezlikli hastalarda ağır klinik tablolar oluşturmaları ve CMV'nin en sık görülen konjenital infeksiyon nedeni olması dolayısıyla ayrıca önemlidir (1,2,54). Araştırmalarda, izole toplumlarda bile EBV ve CMV antikorlarına sıklıkla rastlandığı bildirilmektedir (1,5).

Primer EBV infeksiyonu adolesan ve yetişkinlerde klinik olarak LAP, göğüs ağrısı ve ateş klasik triadı ile vakaların %50 veya daha fazlasında görülmektedir (77). Serolojik olarak antikorların geçici belirişi ve hematolojik olarak atipik lenfositoz ve mononükleer lökositozla birlikte olan, kendi kendini sınırlayan lenfoproliferatif bir hastalıktır. Bütün belirtiler olmasada infeksiyöz mononükleoz kliniğinde bunların çoğunu gösterir (4).

EBV ile infeksiyonlar tüm dünyada yaygın olarak görülmekte, bu virusla infekte olan kişilerde virus genomunun hayat boyu B-lenfositlerinde ve orofarinks epitel hücrelerinde latent olarak kaldığı bildirilmektedir (21,23,27,31).

EBV genellikle kendiliğinden iyileşen bir hastalıktır. Bunun yanında bazı durumlarda hastalık sırasında ciddi komplikasyonlar gelişebilmektedir. EBV infeksiyonlarının bazen total seyretmesi insan yaşamındaki önemi artırmaktadır (34).

İnfeziyöz mononükleoz ile CMV infeksiyonu arasında insanı şaşırtan bir bağlantı vardır. Semptomlar infeksiyöz mononükleozda görülenlerle aynıdır. Heterofil antikorlar ise oluşmaz. CMV ile ortaya çıkan mononükleozun başlangıcı, EBV ile ortaya çıkana oranla genellikle daha sinsi ve iyileşme de daha yavaştır. Çoğu hastalar sekelsiz iyileşir; ama postviral yorgunluk belirgin olabilir ve aylarca devam edebilir (39).

Bazı çalışmalarda infeksiyöz mononükleoz vakalarının sayısındaki artış, mevsimsel azalış veya her ikisi de bildirilirken neden olan virustaki şimdiye kadar olan değişim farklı

özelliklerdeki populasyonlara bağlı olduğu sanılmaktadır. Günümüzde bulunan Paul-Bunnel antikor pozitif vakalarda mevsime spesifik olmadığı kabul edilmektedir (77).

Paul-Bunnel deneyi ile elde edilen heterofil antikor pozitiflikleri normal kişilerde bulunan heterofil antikorlar, at serumuna karşı oluşmuş heterofil antikorlar ve infeksiyöz mononükleozla bağlı oluşan heterofil antikorların toplamı olduğundan, absorpsiyon yapılmadan önce uygulanan Paul-Bunnel deneyi ile infeksiyöz mononükleoz tanısı konulabilmesi için yüksek düzeyde antikor pozitifliğinin saptanması gerekmektedir. Pozitiflik için sınır kabul edilen antikor titresi bazı yazarlara göre 1/56, bazı yazarlara göre 1/128, bazı yazarlara göre ise 1/256 olarak bilinmektedir (13). Dolayısıyla günümüzde infeksiyöz mononükleoz tanısı için, lâteks partikülere bindirilmiş antijen kullanıldığında daha pratik bir yöntem olarak monospot testi kullanılmaktadır.

Çalışmamızda infeksiyöz mononükleoz tanısında güncel olarak kullanılan Monospot testi ile ELISA ve Dot-Blot deneyi birlikte kullanılarak LAP ve boğazda şişlik şüphesiyle başvuran gruplardaki akut ve geçirilmiş infeksiyonlar araştırılmıştır.

Çin’de çeşitli hastalıklar nedeniyle çocuk hastanesine başvuran 94 çocuktan alınan serumlarda EBV antikor sıklığı araştırılmış ve 1. yaş sonunda %78,6, 3.yaşta %80,7 ve 10.yaşta %100 oranında EBV-IgG antikor varlığı saptanmıştır. Aynı çalışmada EBV-IgM sıklığı %7,4 oranında bildirilmekte ve çeşitli yaş gruplarında (sıklıkla 3–5 yaşlarında) bulunduğu söylenmektedir (78).

Çalışmamızda akut hastalarıda, cinsler arasında anlamlı farklılık bulunmamakla beraber, 6–10 yaşları arasında ve EBV-IgM antikor sıklığı erkeklerde daha fazla gözlenmiştir. Literatürde ise prevalansın cinslere göre değişmediği bildirilmektedir.

Gelişmekte olan ülkelerde ve kalabalık toplumlarda yapılan çalışmalarda 4 yaş altındaki çocukların %90’dan fazlasında seropozitiflik (EBV IgG) saptanmaktadır (5).

Gelişmiş ülkelerde ve özellikle yüksek sosyoekonomik düzeyli ailelerde infeksiyon genellikle geç çocukluk ve puberte yaşlarında görülmektedir (5). İnfeksiyöz mononükleoz sendromu, gelişmiş ülkelerde 4 yaşın altındaki çocuklarda nadir görülmektedir (77).

İnfeksiyöz mononükleoz gelişmiş ülkelerde sosyoekonomik düzeyi yüksek grupta daha sık meydana geldiği bilinmekte ve 20. yüzyılda zengin hastalığı olarak tanımlanmıştır (77).

Çalışmamızda erken çocukluk döneminde infeksiyöz mononükleozun serolojisi gözlenmiştir. Toplumumuzda kalabalık ailede yaşanıyor olması, büyükler tarafından

çiğnenmiş besinlerle çocukların besleniyor olması bu pozitifliği artırıyor ve daha erken dönemde ortaya çıkmasına neden olduğunu düşündürmektedir. Dot-Blot testi ile, monospot ile saptanamayan EBV IgM pozitif olan 2 olgu da tanımlanabilmiştir.

Ülkemizde çocukluk çağında geçirilmiş EBV infeksiyonu sıklığı %69 ile %72 arasında bildirilmektedir (79). Urbarlı ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada EBV-IgG antikor pozitifliği hemodiyaliz hastalarında %100, kan donörlerinde %86 olarak bulunmuştur (20). Özsan'ın yaptığı araştırmada EBV-IgG pozitifliği hodgkin lenfomalılarda %96, nonhodgkin lenfomalılarda %78,26, akut myoblastik lösemililerde %100, akut lenfoblastik lösemililerde %76,47 oranında bulunmuştur. Kocabeyoğlu ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise baş ve beyin bölgesinde kanser bulunan kişilerde %90 oranında EBV-IgG pozitif bulunmuştur (13).

Yine sağlıklı çocuklarda EBV VCA-IgM bakılarak yapılan taramalarda akut infeksiyon sıklığı %9,9 ve %27,3 olarak bildirilmiştir (79). Ülkemizde yapılan bir çalışmada erişkinlerde EBV-IgG sıklığı %77,7 olarak bulunmuştur (19).

Çalışmamızda, ELISA yöntemi ile çalışılan serumlarda, EBV akut infeksiyöz mononükleoz sıklığı bu grup hastada %18,51 ve geçirilmiş infeksiyon oranı %70,37 olarak bulunmuştur. Bu değerler literatürde bildirilen değerlere yakın olmakla birlikte bu oranlar, muhtemelen maternal antikorların daha erken dönemlerde kaybolduğu ya da hasta sayısına, yöresel ve sosyoekonomik farklılıklarına bağlı olabilir.

Literatürden elde ettiğimiz bilgilerden ve kendi çalışmamızdan elde ettiğimiz bilgilerle bulunan ortak nokta EBV infeksiyonlarının toplumun tüm gruplarında çok yaygın olmasıdır.

Serumda EBV'ye özgü IgM sınıfı antikor saptanması her zaman akut primer infeksiyonun belirtisi değildir. Reaktivasyon ve reinfeksiyonlarda IgM yanıtı oluşur. Bazen primer infeksiyondan aylar sonra serumda spesifik IgM antikorlarına rastlanır. Ayrıca EBV infeksiyonları sırasında CMV'ye karşı heterofil IgM yanıtına rastlanabilir. Pozitif IgM serolojisi değerlendirilirken tüm bunlar gözönüne alınmalıdır (46). EBV-VCA IgM saptanması her zaman klinik bir antiteye bağlı olmayabilir. Bu durum immün sistemin non-spesifik aktivasyonu da görülebilir (80).

Gelişmekte olan ülkelerde okul çağı çocuklarının %90'ndan fazlasında CMV antikorları saptanır. Serokonversiyon oranının en sık görüldüğü dönem 4 yaş altındaki çocuklar olup oran %5-10'dur. 4-15 yaşları arasındaki insidans ise %5 olarak bildirilmekte, yaşla beraber insidans azalmaktadır (4).

Jamaika’da yapılan bir çalışmada 123 çocukta CMV-IgG antikorları araştırılmış ve 1–4 yaşlarında %56.2, 5–9 yaşlarında %73.1, 10-14 yaş arasında %70.8 ve 15-19 yaşlarında %90.1 oranları verilmiştir (81). Çin’de ise 5 yaş altındaki çocuklarda oran %100, 5–14 yaşlarında %89,8’dir (8).

İngiltere’de 6 ay 5 yaş arası antikor sıklığı %4 iken, Japonya’da 6–12 ay arası çocuklarda %60 oranında CMV IgG satandığı bildirilmektedir (4). ABD’de ise oranlar okul öncesi yaşlarda %5–30 arasındadır (7).

Ankara Üniversitesi tarafından yapılan bir çalışmada toplumumuzdaki 20-24 yaş arası kadınlarda %96,35 yaş üstündeki kadınlarda ise %98,5 oranında CMV-IgG antikorlarının bulunduğu bildirilmektedir. Bu da yaşla beraber literatürde bildirilen artışla uyumludur (4). Tüzün ve ark. Ege Bölgesinde ELISA ile yapmış oldukları çalışmada, 300 kan vericisinde %95 oranında anti CMV olumluluğu saptamışlardır (82).

Çalışmamızda hem ELISA yöntemi hem de Dot-Blot yöntemi ile çalışılan serumlarda akut CMV enfeksiyonu bulunmamıştır. ELISA yöntemi ile geçirilmiş CMV enfeksiyonu sıklığı %96.26 olarak bulunmuş ve literatürde bildirilen değerlerle yakın olduğu görülmüştür.

Bruu ve ark. tarafından EBV serolojisi ve enfeksiyöz mononükleoz antikorlarını içeren 12 farklı yöntemin karşılaştırılmasında da tek başına ELISA testlerinin ya da sadece heterofil antikorları saptayan yöntemlerin yeterli spesifite gösteremediği bildirilmiştir (83).

Sonuç olarak; Dot-Blot yöntemi sık kullanılan monospot testine oranla enfeksiyöz mononükleoz olgularını saptamakta hem hızlı, hem de prediktif değeri yüksek bir test olarak görülmektedir. Heterofil antikor varlığı, ELISA yöntemiyle de yüksek oranda uyum göstermesi yanında tüm markerları birarada inceleyebilmesi kullanım kolaylığı sağlamaktadır. Çalışmamızda heterofil antikorları negatif olgularda CMV saptanamamasının ise olgu sayısının azlığına bağlı olabilir.

KAYNAKLAR

1. Naraqi S. (1993) Cytomegaloviruses. In Belske RB ed. Textbook of human virology, second edition, pp 889–923.USA.
2. Schooley RT. (1995) Epstein-Barr virus (İnfectious Mononucleosis). In Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases, fourth edition, volume II, pp1364–73. USA.
3. Miller G, Katz BZ, Niederman JC. (1992) EBV infections. In Krugman S ed. *Infectious disease of children*. ninth edition, pp87–104. USA.
4. Öztürk B. (1996) İmmün yetmezliği olmayan çocuklarda EBV ve CMV antikor prevalansı, *Uzmanlık tezi*, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk sağlığı ve hastalıkları A.D. İstanbul.
5. Fleisher GR, (1991) Epstein-Barr virus. In Belske RB ed. *Textbook of human virology*, 2nd ed. pp862–88. USA.
6. Pereira MS, Blake JM, Macrae AD, (1969) EB virus antibody at different ages. *Br Med J*. 526–27.

7. Pass RF, Hutto SC, Reynolds DW, et al. (1984) Increased frequency of CMV infection in children in group day-care. *Pediatrics* **74** (1):121–26.
8. Wang PS, Evans AS. (1986) Prevalence of antibodies to EBV and CMV in sera from a group of children in the people's Republic of China. *J Infect Dis.* **153**(1):150–52.
9. Özden A. (1995) Değişik tümör dokularında moleküler teknikler kullanılarak Epstein-Barr virusunun belirlenmesi. *Doktora tezi.* Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı. Ankara.
10. Epstein MA and Achong BG. (eds). (1979) The Epstein-Barr virus. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
11. Lennette ET. Epstein-Barr virus. Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (eds). (1995) Manual of clinical Microbiology (6th ed). *ASM Press.* p905 Washington.
12. Çolak D, Ögünç D. (1999) Sitomegalovirus infeksiyonlarında tanı yöntemleri. *Flora.* **4**:2, 82.
13. Koç S. (1997) Kan donörlerinde ve bazı risk gruplarında Epstein-Barr virus heterofil antikorlarının Paul-Bunnell deneyi ve spesifik IgG antikorlarının ELISA deneyi ile araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi.* Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji A.D. Sivas.
14. Akan E. (1994) Epstein-Barr Virus, Genel ve özel viroloji, 3. baskı. Kanyılmaz Matbaası, *Saray Kitabevi.* İzmir. 229- 238.
15. Drucker JL and Smiley L. Herpes viruses. (1992) Joklik, Willet (eds) *Zinsser Microbiology.* (20th ed). *Appleton&Lange, ca.* p963.
16. Arman D. (2002) Epstein-Barr Virus. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Etkenlere göre infeksiyonlar. Nobel Tıp Kitabevleri. Cilt:2, 1197.
17. Porter DD, Wimberly I. (1969) Prevalence of antibodies to EB virus and other Herpesviruses. **208**(9):1675–9. *JAMA.*
18. Straus SE, Cohen JI. (1993) EBV infections. Biology, pathogenesis and management. *Ann Intern Med.* **118**(1):45.
19. Yenen OŞ, Mete Z. (1988) EBV spesifik serolojisi üzerine bir çalışma. *İnfeksiyon dergisi.* **2**(2):233.
20. Urbarlı A, Özgenç O. (1992) Hemodiyaliz hastalarında ve kan vericilerinde CMV ve EBV antikorlarının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* **6**(2):131.

21. Wolf H, Seible R. (1984) Bening and Malignant disease caused by Epstein-Barr virus. *J Invest Dermatol.* 83–88.
22. Willke A. EBV infeksiyonları. Willke A, Balık İ. (eds). (1992) İnfeksiyon hastalıkları seminerlerde. *Güneş Kitabevi Ltd.Şti.* 144. Ankara.
23. Tomkinson BE, Sullivan JL. EBV In: Gorbach SL, Bartlett JC, Blaclow NR. eds. (1992) Infectious Diseases (1st ed). *WB Saunders Comp. PL.* 1701.
24. Onul B. (1980) İnfeksiyon Hastalıkları. *Ankara Üniversitesi Basımevi e437* Ankara.
25. Paily R. (2000) Qinolone drug rash in a patient with IM. *J Dermatology* **27**(6):405–6.
26. Auwarter PG. (1999) Infectious mononucleosis in middle age. *JAMA* **281**(5):454–9.
27. Vujoseviç M, Gwozdenowiç E. (1994) The role of Epstein-Barr virus infections in human patology. *Med Pregl.***47**: (11–12):393
28. Godshall SE and Kirchner JT. (eds). (2000) Infectious mononucleosis (complexities of a common syndrome). *Post Garaduate Medicine* **107**(7):175–86.
29. Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S. (2004) Epstein-Barr Virus. Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. *Güneş Kitabevi.* 137, 265.s
30. Crawford DH. EBV. Zuckerman AJ, Banatvala JE. (eds). (1994) *Principals and practice of Clinical Virology* (3th). p109–134.
31. Jones FJ. (1989) A Perspective of Epstein-Barr virus diseases. Devivo B, Rudolf MO, (Ed). *Adv Pediatr.* Vol **36** P.307. Colorado.
32. Jensen HB. (1998) Immunofluorescence Microscopy and flow cytometry characterization of chemical induction of latent EBV. *Clinical and diagnostic Lab. Immunology*, **5**(1):9.
33. Özgüven V. (2000) EBV: UTS-Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji. *Atlas Kitapçılık Ltd.Şti.* 294–300.
34. Tynell E. (1996) Acyclovir and prednisolone treatment of acute infectious mononucleosis: a multi center, double blind, placebo controlled study. *J Infect Dis* **174**(2):324–31.
35. Morgan AJ, Finerty S. (1998) Prevention of EBV induced lymphoma in cotton top tamarins by vaccination with the EBV envelope gp340 incorporated into immune-stimulating complex. *J General Virology* **69**:2093.

36. Schooley RT. (1995) Epstein-Barr virus (İnfectious Mononucleosis). In Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases, third edition. pp1178. USA.
37. Chabay PA, De Matteo EN, Aversa L, et al. (2002) Assessment of Epstein-Barr virus association with pediatric non-hodgkin lymphoma in immunocompetent and in immunocompromised patients in Argentina. Virology Laboratory. Ricardo Gutierrez Children's Hospital, Buenos Aires. **126**(3):331–5. Argentina.
38. Chan JKC. (2001) Pratical Lyphoma Diagnosis. A Simplified Approach. Presented at the 111th Semi-Annual California Tumor Tissue Registry.
39. Şenocak D. (2000) İnfeksiyöz mononükleoz. Otorinolaringoloji-Baş ve Boyun Cerrahisi. 15. baskı. *Nobel Tıp Kitabevleri*. 238.
40. Çelik O. İnfeksiyöz Lenfadenopati. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*. Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Öğretim Üyesi. Manisa.841.
41. Howard BJ, Klaas J, Rubin SJ, et al. (1987) Clinical and Pathogenic Microbiology. 1st ed. *C.V. Mosby Company*. 784–786. Missouri.
42. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. (1995) Principles and Practise of Infectious Diseases. 4th ed. *Churchill Livingstone Inc*. 1351–1363. New York.
43. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, et al. (1994) Medical Microbiology. 2nd ed. *Mosby Year Book*. 587–592. London.
44. Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, et al. (1991) Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. *American Society for Microbiology*. 829–837. Washington.
45. Kraat YJ, Hedrix RMG, Landini MP, et al. (1992) Comparison of Four Techniques for Detection of Antibodies to CMV. *J. Cli. Microbiol.* **30**: 522–524.
46. Babacan S. (1996) CMV infeksiyonlarının serolojik tanısında kullanılan tarama yöntemleri, *Uzmanlık Tezi*. Sağlık Bakanlığı, Ankara Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü. Ankara.
47. Krugman S, Katz SL, Gershon AA, et al. (1992) Infectious Diseases of Children. 9th ed. *Mosby Year Bok Inc. Company*. 25–44. Missouri.
48. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al. (1992) Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 4th ed. *J.B. Lippincott Company*. 994–995. Philadelphia.

49. Akan E. (1994) Cytomegalovirus. Genel ve özel viroloji. 3. baskı. Kanyılmaz Matbaası. *Saray Kitabevi*. 229- 238. İzmir.
50. Ceyhan M. (2001) Konjenital CMV infeksiyonlarında profilaksi ve tedavi. *I. Ulusal CMV simpozyumu. Tanı ve tedavi yaklaşımları: Sorular ve çözümleri*. Antalya. 72–74.
51. Mimms CA, Playfair JH, Roit IM, et al. (1993) Medical Microbiology. *Mosby Tear Book Ltd*. 29.6–29. 7. London.
52. Gomella TL. (1992) Lange Clinical Manual Neonatology. *Appleton and Lange*. Connecticut. 342–344.
53. Chou S. (1990) Newer methods for diagnosis of cytomegalovirus infection. *Rev Infect Dis* 12 (Supl. 7) : 727.
54. Landini MP. (1993) New approaches and perspectives in cytomegalovirus diagnosis. *Prog Med Virol* **40**:157.
55. Sieber GR, Thompson C, Fleisher G. (1992) Cytomegalovirus antigenemia assay. Identification of the viral antigen as the lower matrix protein pp65. *J Infect Dis* **166**:683.
56. Weber B, Opp M, Ritt B, et al. (1992) Comparison of shell vial culture and serology for the diagnosis of human cytomegalovirus infection in neonates and immunocompromised subject. *Clin Investig* **70**: 503.
57. Marsano L, Perrillo RP, Flye HW, et al. (1990) Comparison of culture and serology for the diagnosis of cytomegalovirus infection in kidney and liver transplant recipients. *J Infect Dis* **161**:454.
58. Yılmaz G. (1996) XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongre Kitabı. 1. baskı. 63–66. Antalya.
59. Boyd RF. (1995) Basic Medical Microbiology. 5th ed. *Little Brown and Company*. 411–413. New York.
60. Bryant NJ. (1992) Laboratory Immunology and Serology. 3rd ed. W.B. *Saunders Company*. 203–211. Canada.
61. Oski FA. (1994) Principles and Practise of Pediatrics. 2nd ed. *J. B. Lippincott Company*. 540–543. Philadelphia.
62. Blok MJ, Goossens VJ, Vanherle SJV, et al. (1998) Diagnostic value of monitoring human cytomegalovirus late pp67 mRNA expression in renal-aalograf recipient by nucleic acid sequence-based amplification. *J Clin Microbiol*. **36**:1341–6.

63. Lilleri D. (1999) Potential use of human cytomegalovirus immediate-early mRNA detection by NASBA for monitoring of antiviral treatment in bone marrow transplant recipients. (Abstracts of 7th International Cytomegalovirus Workshop: G6–11). *J Clin Virol.* **12**:172.
64. Einsele H. (1999) Evaluation of the Nuclisens CMV pp67 assay for detection of cytomegalovirus infection after allogenic stem cell transplantation. (Abstracts of 7th International Cytomegalovirus Workshop: G6–12). *J Clin Virol.* **12**:172.
65. Blok MJ, Lautenschlager I, Christiaans MHL, et al. (1999) Monitoring cytomegalovirus mRNA expression in blood leukocytes of liver transplant patients using nucleic acid sequence-based amplification (NASBA). (Abstracts of 7th International Cytomegalovirus Workshop: G6–25). *J Clin Virol.* **12**:178.
66. Middeldrop JM, Adriaanse H, Greijer A, et al. (1999) Direct quantification of human cytomegalovirus (HCMV) immediate early and late mRNA levels in the blood of HCMV infected individuals using competitive NASBA. (Abstracts of 7th International Cytomegalovirus Workshop: GO–21). *J Clin Virol.* **12**:103.
67. Wiedbrauk DL, Johnston SLG. (1991) Manual of Clinical Virology. *Raven Press* p82 New York.
68. Miller MJ, Bover S, Pado K, et al. (1994) Application of PCR to multiple specimen types for diagnosis of cytomegalovirus infection. Comparison with cell culture and shell vial assay. *J Clin Microbiol* **32**:5.
69. Gerna G, Revello GM, Percivalle E, et al. (1990) Quantification of human cytomegalovirus viremia by using monoclonal antibodies to different viral proteins. *J Clin Microbiol* **28**:2681.
70. Paya CV, Wold AD and Smith TF. (1987) Detection of cytomegalovirus infections in specimens other than urine by the shell vial assay and conventional tube cell culture. *J Clin Microbiol* **25**: 755.
71. Buffone GJ, Frost A, Samo T, et al. (1993) The diagnosis of CMV pneumonitis in lung and heart/lung transplant patients by PCR compared with traditional laboratory criteria. *Transplantation* **56**:342.
72. Landry ML and Ferguson D. (1993) Comparison of quantitative cytomegalovirus antigenemia assay with cell culture methods and correlation with clinical disease. *J Clin Microbiol* **31**:2851.

73. Buller RS, Bailey TC, Ettinger NA, et al. (1992) Use of a modified shell vial technique to quantitate cytomegalovirus viremia in a population of solid-organ transplant recipients. *J Clin Microbiol* **30**: 2620.
74. Storch GA, Ettinger NA, Ockner D, et al. (1993) Quantitative culture of the cell fraction and supernatant of bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of cytomegalovirus pneumonitis in lung transplant recipients. *J Infect Dis* **168**:1502.
75. Gleaves CA, Hursh DA and Meyers JD. (1992) Detection of human cytomegalovirus in clinical specimens by centrifugation culture with a nonhuman cell line. *J Clin Microbiol* **30**:1045.
76. Rose NR, Macario EC, Fahzy JL, et al. (1993) Manual of Clinical Laboratory Immunology. 4th ed. *American Society for Microbiology*. 517–520. Washington.
77. Mishra B, Mohan B, Ratho RK. (2004) Heterophile antibody positive infectious mononucleosis. *Indian J Pediatr*. **71**:15–8.
78. Evans AS, Niederman JC. (1988) Epstein-Barr virus. Viral infections of humans. second edition. *IN Evans AS ed.* pp 265–92. New York.
79. Tanyeli A, Antmen B, Yarkin F, et al. (1995) Çocukluk çağı Hodgkin ve non-Hodgkin lenfomalı olgularda Epstein-Barr virus antikorları rastlantısı. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. **20**:2.95–100.
80. Obel N, Hoier-Madsen M, Kangro H. (1996) Serological and clinical findings in patients with serological evidence of reactivated Epstein-Barr virus infection. Department of Virology. Statens Serum Institut. **104**(6):424–8.
81. Praphakar P, Bailey A, et al. (1992) Seroprevalence of CMV infection in a selected population in *WI Med J* **42**:133–35. Jamaica.
82. Tüzün HI, Bilgiç A, Erensoy S. (1991) İzmir bölgesinde antiCMV prevalansı. *İnfeksi.Derg.* **5**(4):269-72.
83. Bruu AL, Hjetland R, Holter E, et al. (2000) Evaluation of 12 commercial tests for detection of Epstein-Barr virus-specific and heterophile antibodies. Department of Virology, National Institute of Public Health. **7**(3):451–6.

Tarih:**Form no:****İNFEKSİYÖZ MONONÜKLEOZ HASTALARINDA
TARAMA FORMU**

Dosya No :

Adı Soyadı :

Yaş :

Cinsiyet :

Poliklinik :

Yakınma : () Boğaz ağrısı () Ateş () Boyunda şişlik () Diğer

Laboratuvar bulguları :

CRP :

Beyaz Küre :

Periferik yayma :

Seroloji :

Heterofil antikor :

ELİSA : CMV IgM () IgG ()

EBV IgM () IgG ()

Dot-Blot :

IFA :

Diğerleri :

Teşekkürler..