

Değişik Yaş Gruplarındaki Hastalarda Kemilüminesant Mikropartikül İmmünoassay Yöntemiyle Epstein-Barr Virüsü Antikorlarının Araştırılması: Atipik Serolojik Profillerin Değerlendirilmesi

Investigation of Epstein-Barr Virus Antibodies by Chemiluminescent Microparticle Immunoassay Method in Patients of Different Age Groups: Evaluation of Atypical Serological Profiles

Alev Çetin Duran¹ , Tuğba Kula Atik² 

¹Balıkesir Atatürk Şehir Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Balıkesir, Türkiye; ²Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

ÖZET

Amaç: Epstein-Barr virus (EBV), infeksiyöz mononükleozdan (İM), B hücreli lenfomalar, Burkitt lenfoma, nazofarengeal karsinoma, Hodgkin lenfoma gibi malignitelere kadar farklı klinik tablolara neden olabilmektedir. VCA-IgM, VCA-IgG, EBNA-1 IgG antikorları, serolojik profilin ortaya konmasında en sık kullanılan antikorlardır. Bu çalışmada, EBV infeksiyonu açısından şüpheli hastaların serolojik profillerinin incelenmesi ve karşılaşılan atipik profillerin yorumlanması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2017-2019 yılları arasında çalışılan VCA-IgM, VCA-IgG ve EBNA-1 IgG test sonuçları retrospektif olarak değerlendirildi. EBV serolojik testleri (VCA-IgM, VCA-IgG ve EBNA-1 IgG) kemilüminesant mikropartikül immünoassay (KMIA) yöntemi (Architect, Abbott, Wiesbaden, Almanya) kullanılarak üreticinin önerilerine göre gerçekleştirildi.

Bulgular: Değerlendirilen 2486 hastanın 1341 (%53.9)'i erkek, 1145 (%46.1)'i kadın olup yaş ortalaması 16.93±19.5 olarak belirlenmiştir. Olguların %56.65'inde geçirilmiş EBV infeksiyonu, %17.25'inde akut infeksiyon saptanırken, %21.09'unun EBV ile karşılaşmadığı belirlenmiştir. Atipik serolojik profil %5.01 oranında saptanmıştır. Atipik profil olarak en sık üç antikorun birlikte pozitifliği (%3.90), sonra sırasıyla izole VCA-IgG pozitifliği (%0.91) ve izole EBNA-1 IgG pozitifliği (%0.20) belirlenmiştir. Atipik profile sahip olguların %24.24'ünü immünsüpresif hastalar oluşturmuştur.

Sonuçlar: Çalışmamızda EBV ile karşılaşma oranı %78.91'dir. Atipik EBV serolojik profil oranı %5.01 olarak saptanmıştır. Atipik profil saptanan olguların yaklaşık dörtte birinin immün bozukluğu olan hasta grubunda olduğu saptanmıştır. Özellikle bu hasta gruplarında infeksiyonun evresini belirlemede antikor testlerinin yeterli olmadığı ve ileri testlerin yapılması gerektiği düşünülmektedir. Atipik profillerin yorumu için serolojik izlemin yapılması gerektiği ortaya konmuştur.

Anahtar sözcükler: Epstein-Barr virüsü, serolojik testler, kemilüminesant mikropartikül immünoassay (KMIA), atipik serolojik profil

ABSTRACT

Objective: Epstein-Barr virus (EBV) can cause different clinical pictures from infectious mononucleosis (IM) to malignancies such as B-cell lymphomas, Burkitt's lymphoma, nasopharyngeal carcinoma, and Hodgkin lymphoma. VCA-IgM, VCA-IgG, EBNA-1 IgG antibodies are the most commonly used antibodies in revealing the serological profile. This study aimed to examine the serological profiles of patients with suspected EBV infection and to interpret the atypical profiles encountered.

Methods: The results of VCA-IgM, VCA-IgG, and EBNA-1 IgG antibodies studied in the Microbiology Laboratory between 2017-2019 were evaluated retrospectively. EBV serological tests (VCA-IgM, VCA-IgG, and EBNA-1 IgG) were performed according to the manufacturer's recommendations using the chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) method (Architect, Abbott, Wiesbaden, Germany).

Results: Of the 2486 patients evaluated, 1341 (53.9%) were male, 1145 (46.1%) were female, and the average age was determined as 16.93 ± 19.5. EBV past infection was detected in 56.65% of the cases, the acute infection was detected in 17.25%, and 21.09% did not encounter EBV. Atypical serological profile was detected in 5.01%. As an atypical profile, the most common positivity of three antibodies together (3.90%), then isolated VCA-IgG positivity (0.91%), and isolated EBNA-1 IgG positivity (0.20%) were determined. It was determined that 24.24% of the cases with an atypical profile were immunosuppressive patient.

Conclusions: The rate of encountering EBV in our study is 78.91%. The atypical EBV serological profile rate was found to be 5.01%. Approximately one-fourth of the cases with an atypical profile was found to be in the patient group with immune disorders. It is thought that antibody tests are not sufficient to determine the stage of infection, especially in these patient groups, and further tests should be performed. It has been demonstrated that serological monitoring is required for the interpretation of atypical profiles.

Keywords: Epstein-Barr virus, serological tests, chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA), atypical serological profile

GİRİŞ

Epstein-Barr virus (EBV), herpesvirus ailesi üyesi olan önemli bir viral enfeksiyon etkenidir ve toplumda seropozitiflik oranı %95 civarındadır (1). Primer enfeksiyonu takiben EBV, konağın B lenfositlerinde latent olarak kalmakta ve immünsüpresyon durumunda reaktivasyon meydana gelebilmektedir. İnfeksiyöz mononükleozdan (İM), B hücreli lenfomalar, Burkitt lenfoma, nazofarengeal karsinoma, Hodgkin lenfoma gibi malignitelere kadar farklı klinik tablolara neden olabilmektedir. İmmünsüprese kişilerde morbidite ve mortalitesi yüksek hastalıklar gelişebilmektedir. Transplantasyon sonrası immünsüpresif hastalarda gelişebilecek olan post-transplant lenfoproliferatif hastalık (PTLH) etyolojisinde de EBV yer almaktadır. Onkojenik bir virus olması ve pek çok hastalığın etyolojisinde yer alması nedeniyle toplumdaki seroprevalansın belirlenmesi son derece önemlidir (1-4).

EBV enfeksiyonu sıklıkla, ateş, farenjit ve lenfadenopati gibi klinik tablolarla kendini göstermektedir. Benzer semptomlara, pek çok enfeksiyon etkeni patojen neden olabilmektedir. Başta sitomegalovirus (CMV) olmak üzere, human herpes virüs 6 (HHV-6), "human immunodeficiency virüs" (HIV), adenovirus, herpes simpleks virüs tip 1 (HSV-1), rubella virus, hepatit A virus (HAV), *Toxoplasma gondii* enfeksiyonlarında benzer tablolar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle ayırıcı tanı önem kazanmaktadır (1,5).

İmmün sistemi normal hastalarda, özellikle virusun majör antijenlerine karşı oluşan antikorların araştırılması [viral kapsid antijene (VCA) karşı gelişen IgM ve IgG, Epstein-Barr virus nükleer antijene (EBNA-1) karşı gelişen IgG] EBV serolojik profilinin belirlenmesi açısından yeterli olabilmektedir (1,6). EBNA-1 IgG yokluğunda VCA-IgM ve VCA-IgG'nin pozitif saptanması akut enfeksiyonu gösterirken, VCA-IgM olmadan VCA-IgG ve EBNA-1 IgG'nin bulunması geçirilmiş bir enfeksiyonu göstermektedir. Üç antikor için seronegatiflik EBV ile karşılaşılmadığını gösterir. Atipik profiller olarak da tanımlanan, izole VCA-IgG, izole EBNA-1 IgG varlığında ve üç antikorun birlikte pozitifliğinin bulunması durumunda, serolojik profili doğru yorumlamak güçleşmektedir. Bu profilleri yorumlayabilmek için hastaların serolojik izlemi gereklidir. Ayrıca VCA-IgG avidite testi, western blot (WB), polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi ileri testlere ihtiyaç duyulmaktadır (1,2,4,6).

EBV enfeksiyonunun serolojik tanısında enzim immün assay (EIA), immünofloresan antikor testleri ve immünblo (IB) yöntemleri kullanılmaktadır. İmmünofloresan antikor testleri, genellikle altın standard yöntem olarak kabul edilmesine rağmen, deneyimli personel gerektirmesi, zaman alıcı olması, çok fazla sayıda örneğin test edilmesine ve otomasyona olanak vermemesi, değerlendirmesinin zor ve subjektif olması gibi pek çok dezavantajı vardır. Bu nedenle uygulaması ve değerlendirmesi kolay, duyarlılığı yüksek, hızlı sonuç veren, standardizasyona ve otomasyona uygun tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır (1,2,4,6). Bu nedenle, EBV serolojik tanısında immünofloresan antikor testlerine alternatif olabilecek yeni yöntemler geliştirilmektedir. Günümüzde laboratuvarların bir kısmı, son yıllarda geliştirilmiş olan, analitik performansı yüksek, hızlı sonuç veren, otomatik platformlarda gerçekleştirilen kemilüminesan mikropartikül immünoassay (KMIA) sistemlerini kullanmaktadır.

Bu çalışmada, EBV enfeksiyonu düşünülen değişik yaş gruplarındaki hastaların EBV serolojik test sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilerek, EBV serolojik profillerinin incelenmesi, seroprevalansın belirlenmesi ve atipik serolojik profillerin yorumlanması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Çalışmada, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2017-2019 yılları arasında çalışılan, farklı kliniklerden değişik yaş gruplarındaki hastalara ait VCA-IgM, VCA-IgG ve EBNA-1 IgG test sonuçları retrospektif olarak

analiz edildi. EBV serolojik profilleri belirlendi ve atipik serolojik profiller yorumlandı. Veri analizinde SPSS 22.0 (SPSS INC, Chicago, IL, USA) programı kullanıldı. Kalitatif değişkenler yüzde olarak, kantitatif değişkenler ise yüzde ve ortalaması±standart sapma olarak verildi. Serolojik profillerin kendi içinde cinsiyet ve yaş gruplarına göre karşılaştırılmasında "one sample T" testi kullanıldı ve p değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirildi.

EBV serolojik testleri (VCA-IgM, VCA-IgG ve EBNA-1 IgG) Architect i2000SR (Architect, Abbott, Wiesbaden, Almanya) analizörü ile KMIA teknolojisi kullanılarak üreticinin önerilerine göre gerçekleştirildi. Bu sistemde, VCA-IgM ve VCA-IgG testleri için p18 sentetik peptit antijeni ve EBNA-1 IgG testi için p72 sentetik peptit antijeni kullanılmıştır. Architect sistemi, örnek RLU (relative light unit)/cut off RLU (S/CO) oranını hesaplayarak, önceden belirlenmiş sınır değerlere göre sonuç vermektedir. VCA-IgM: <0.50 RLU negatif, 0.50-1.0 RLU gri zon, ≥1.0 RLU pozitif; VCA-IgG: <0.75 RLU negatif, 0.75-1.0 RLU gri zon, ≥1 RLU pozitif; EBNA-1 IgG: <0.50 RLU negatif, 0.50-1.0 RLU gri zon, ≥1.0 RLU pozitif olarak değerlendirildi (7,8).

EBNA-1 IgG yokluğunda VCA-IgM ve VCA-IgG'nin pozitif saptanması akut enfeksiyonu gösterirken, VCA-IgM olmadan VCA-IgG ve EBNA-1 IgG'nin bulunması geçirilmiş enfeksiyonu göstermektedir. Üç antikor için seronegatiflik, EBV ile karşılaşılmadığını gösterir. EBV tanı standartları göz önüne alınarak, sonuçlar; EBV seronegatif, akut enfeksiyon, geçirilmiş enfeksiyon, atipik profil olarak gruplandırıldı. Atipik serolojik profiller, izole VCA-IgG pozitifliği, izole EBNA-1 IgG pozitifliği veya üç antikorun birlikte pozitifliğinin görülmesi şeklinde değerlendirildi (1,2,6).

Çapraz pozitiflikleri belirleyebilmek için, laboratuvar kayıtlarından CMV, toksoplazma, rubella, HAV, HIV enfeksiyonları açısından test sonuçları retrospektif olarak incelendi.

BULGULAR

2017-2019 yılları arasında, farklı kliniklerden gelen, EBV serolojik test istemi olan 2486 hastanın, 1341(%53.9)'i erkek, 1145 (%46.1)'i kadın hasta olup, yaş ortalaması 16.93±19.5 (1-90 yaş) olarak belirlenmiştir. Erkek hastaların yaş ortalaması 14.99±18.25 (1-88 yaş), kadın hastaların yaş ortalaması 19.20±20.78'dir (1-90 yaş). Hastaların %20.5'inde (509/2486) yalnızca VCA IgM istenmiş olup bunların 39'unda (%7.7) VCA IgM pozitif, 470'inde ise (%92.3) negatif saptanmıştır. Diğer EBV antikorları olmadığı için enfeksiyonun evresi konusunda yorum yapılamamıştır.

Olguların %56.65'inde (1120/1977) geçirilmiş enfeksiyon, %17.25'inde (341/1977) akut enfeksiyon saptanırken, %21.09'unun (417/1977) EBV ile karşılaşılmadığı belirlenmiştir. Atipik serolojik profil %5.01 oranında (99/1977) saptanmıştır. EBV serolojik profillerinin yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 1'de özetlenmiştir.

Değerlendirmeye alınan olguların %60.75'ini (1201/1977) 1-10 yaş grubu, ilk 20 yaştaki (1540/1977) olguların ise çalışma grubunun %77.89'unu oluşturduğu belirlenmiştir. Geçirilmiş enfeksiyon oranı 1-10 yaş arasında %42.05, 11-20 yaş arasında %68.14 iken 20 yaşın üstündeki yaş gruplarında %85.71-94.44 arasında saptanmıştır. Akut enfeksiyon en sık olarak 1-10 yaş grubunda (%20.82) belirlenmiştir (Tablo 1).

Akut enfeksiyon saptanan hastaların %73.31'i (250/341) 1-10 yaş arasındaki hastalar arasında yer almaktadır. İlk 20 yaşta akut enfeksiyon oranı %89.43 olarak belirlenmiştir (Tablo 2). Akut enfeksiyon saptanan hastaların yaş gruplarına göre dağılımının istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir (p <0.001). Akut enfeksiyon saptanan hastaların cinsiyete göre dağılımının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (p=0.910). Akut enfeksiyon saptanan [VCA IgM(+), VCA IgG(+), EBNA-1 IgG(-)] 14 hastada (%4.1) CMV IgM pozitifliği (Or-

Tablo 1. EBV Serolojik Profillerinin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

Yaş Grupları	Toplam (n: 1977)	Serolojik Profil			
		Akut İnfeksiyon (n: 341)	Geçirilmiş İnfeksiyon (n: 1120)	Seronegatif (n: 417)	Atipik Profil (n: 99)
1-10 yaş	1201 (100)	250 (20.82)	505 (42.05)	386 (32.13)	60 (4.99)
11-20 yaş	339 (100)	55 (16.22)	231 (68.14)	28 (8.26)	25 (7.37)
21-30 yaş	140 (100)	12 (8.57)	121 (86.43)	1 (0.71)	6 (4.29)
31-40 yaş	119 (100)	13 (10.92)	102 (85.71)	-	4 (3.36)
41-50 yaş	61 (100)	3 (4.92)	54 (88.52)	2 (3.28)	2 (3.28)
51-60 yaş	48 (100)	4 (8.33)	43 (89.58)	-	1 (2.08)
61-70 yaş	36 (100)	2 (5.56)	34 (94.44)	-	-
>71 yaş	33 (100)	2 (6.06)	30 (90.91)	-	1 (3.03)

*Satır yüzdesi verilmiştir.

Tablo 2. Akut İnfeksiyon Saptanan Olguların Özellikleri

Özellikler	Sayı	(%)	p
Cinsiyet			0.910
Erkek	167	48.97	
Kadın	174	51.03	
Yaş (Ortalama±SD)	10.14±11.66		
Yaş Grupları			p <0.001
1-10 yaş	250	73.31	
11-20 yaş	55	16.12	
21-30 yaş	12	3.51	
31-40 yaş	13	3.81	
41-50 yaş	3	0.87	
51-60 yaş	4	1.17	
61-70 yaş	2	0.58	
>71 yaş	2	0.58	

talama±SD:3.98±2.75) saptanmıştır. Bu hastalardaki CMV IgM pozitifliğinin, EBV infeksiyonu seyrinde oluşan poliklonal aktivasyona bağlı gelişebileceği düşünülmüştür. Araştırılan diğer infeksiyon etkenlerinde reaktiflik saptanmamıştır.

Geçirilmiş infeksiyon ve seronegatiflik saptanan hastaların yaş gruplarına göre dağılımlarının istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiş-

Tablo 3. Atipik Profil Saptanan Olguların Kliniklere Göre Dağılımı

Hasta Grupları	Klinikler	Sayı (n:99)	%
Çocuk Hastalar (n:83)(%83.8)	Çocuk Hastalıkları	39	39.39
	Çocuk Hematoloji-Onkoloji	23	23.23
	Çocuk İnfeksiyon Hastalıkları	18	18.18
	Çocuk Gastroenteroloji	3	3.03
Erişkin Hastalar (n:16)(%16.2)	İnfeksiyon Hastalıkları	9	9.09
	Dahiliye	4	4.04
	Erişkin Hematoloji	1	1.01
	Gastroenteroloji	1	1.01
	Nöroloji	1	1.01

tir (p <0.001). Geçirilmiş infeksiyon saptanan hastaların cinsiyete göre dağılımının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenirken (p=1.000); seronegatiflik saptanan hastalar içinde erkek cinsiyetin istatistiksel olarak anlamlı yükseklik gösterdiği saptanmıştır (p <0.001).

Atipik profil olarak en sık üç antikorun birlikte pozitifliği (%3.90), sonra sırasıyla izole VCA IgG pozitifliği (0.91) ve izole EBNA-1 IgG pozitifliği (%0.20) belirlenmiştir. Atipik profile sahip hastaların 55 (%55.6)'i erkek, 44 (%44.4)'ü kadın olup yaş ortalamaları 11.68±12.89 (1-83 yaş) olarak saptanmıştır. Cinsiyete göre dağılımın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir (p=0.942). Atipik profil saptanan hastala-

Tablo 4. Takibinde Atipik Profil Saptanan Olguların Analizi

No	Yaş/Cinsiyet	Klinik	İlk izlem	Sonraki izlem	İzlem süresi
1	5 yaş/Erkek	Çocuk Enfeksiyon	+/+/+	-/+/+	13 ay sonra
2	19 yaş/Erkek	İnfeksiyon Hastalıkları	+/+/+	-/+/+	6 ay sonra
3	5 yaş/Kadın	Çocuk Hematoloji/Onkoloji	+/+/+	-/+/+	4 ay sonra
4	3 yaş/Erkek	Çocuk Enfeksiyon	+/+/+	-/+/+	3 ay sonra
5	2 yaş/Erkek	Çocuk Hematoloji/Onkoloji	+/+/-	+/+/+	2.5 ay sonra
6	7 yaş/Erkek	Çocuk Hematoloji/Onkoloji	+/+/-	+/+/+	2.5 ay sonra
7	17 yaş/Erkek	Çocuk Hematoloji/Onkoloji	+/+/-	+/+/+	4.5 ay sonra
8	1 yaş/Erkek	Çocuk Hematoloji/Onkoloji	+/+/-	+/+/+	2 ay sonra
9	7 yaş/Erkek	Çocuk Enfeksiyon	+/+/-	+/+/+	2 ay sonra
10	7 yaş/Kadın	Çocuk Enfeksiyon	+/+/-	+/+/+	1 ay sonra

* (VCA IgM/VCA IgG/EBNA-1 IgG), +/+/: Atipik profil, +/+/-: Akut enfeksiyon, -/+/: Geçirilmiş enfeksiyon

rın %60.6'sı (60/99) 1-10 yaş arasındaki hastalar içinde yer almaktadır. Bu olguların yaş gruplarına göre dağılımının istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (p <0.001). Atipik profil saptanan olguların %83.8'i çocuk, %16.2'si erişkin hastalardan oluşmaktadır. Atipik profile sahip olguların %24.24'ünü (24/99) hematoloji ve onkoloji kliniklerinden gelen ve immün bozukluğu olan hastalar oluşturmuştur (Tablo 3). Bunların %13.13'ünün (13/99) 1-10 yaş, %10.10'unun (10/99) 11-20 yaş, %1.01'inin (1/99) 21-30 yaş grubunda olduğu saptanmıştır.

Birden çok örnekle izlemi olan ve belli bir aşamada atipik profil saptanan 15 hasta ayrıca değerlendirilmiştir. Bu olguların %46.7'sini (7/15) hematoloji/onkoloji hastalarının oluşturduğu belirlenmiştir. Dört hastanın (%26.7) atipik profilden (üç antikorun birlikte pozitifliği) geçirilmiş enfeksiyon serolojik profiline (-/+/) geçtiği, altı hastanın (%40) ise ilk izlemede akut enfeksiyon (+/+/-) tablosundan üç antikorun birlikte pozitif olduğu atipik profil serolojisine dönüştüğü görülmüştür (Tablo 4). Beş hastanın (%33.3) atipik serolojik profilleri (üç antikorun birlikte pozitifliği) izlemede de aynı şekilde devam etmiştir. Bu hastaların yaklaşık yarısının çocuk hematoloji ve onkoloji hasta grubu içinde bulunduğu görülmüştür.

İRDELEME

Toplumun büyük kısmını etkileyen EBV enfeksiyonunun seropozitifliği dünyada yaklaşık %95 olarak bildirilmektedir (1). Türkiye'de yapılan çalışmalarda EBV seropozitifliği %72.5-99.4 arasında bildirilmektedir (9-13). Çalışmamızda EBV ile karşılaşma oranı %78.91 olup diğer çalışma verileri ile uyumludur. Olguların %56.65'inde geçirilmiş enfeksiyon, %17.25'inde akut enfeksiyon, %5.01'inde atipik profil saptanırken, %21.09'unun EBV ile karşılaşmadığı belirlenmiştir (Tablo 1). Geçirilmiş EBV enfeksiyonu oranı ülkemizde yapılan çalışmalarda, %58.3-72.5 arasında bildirilmektedir (9,10,12,14). Geçirilmiş enfeksiyon oranı çalışma popülasyonunun yaş ortalaması ile ilişkili olabilir. Yaş arttıkça geçirilmiş EBV enfeksiyon oranı da artmaktadır (1,4). Çalışma popülasyonumuzun yaş ortalaması 16.93±19.5 olup, çocuk hastalar çoğunluktadır. Bu nedenle geçirilmiş enfeksiyon oranımız daha düşük saptanmıştır. Değerlendirmeye alınan olguların %60.75'ini 1-10 yaş grubu oluştururken, ilk 20 yaşındaki olgular çalışma grubumuzun %77.89'unu oluşturmaktadır. Bu durum, geçirilmiş enfeksiyon oranlarımızın diğer çalışmalara göre daha düşük olmasını açıklamaktadır. Geçirilmiş enfeksiyon oranı 1-10 yaş arasında %42.05, 11-20 yaş arasında %68.14 iken 20 yaşın üstündeki yaş gruplarında %85.71-94.44 arasında değiş-

mektedir. İlk 10 yaşındaki hasta grubunun yarısına yakını EBV ile karşılaşmış enfeksiyon oranı %70.1 olarak saptanmış olup, bu oran 1-18 yaş arasında %53.7 olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada da verilerimizle uyumlu olarak 18 yaş üstünde geçirilmiş enfeksiyon oranları %82.4-88.5 arasında saptanmıştır.

Çalışma grubumuzun büyük çoğunluğunu ilk 20 yaş olguların oluşturduğu düşünüldüğünde akut enfeksiyon oranımızın da daha yüksek olması beklenen bir sonuçtur. Akut enfeksiyon oranımız %17.25 olup, en sık olarak 1-10 yaş grubunda (%20.82) saptanmıştır. Türkiye'de yapılan çalışmalarda akut enfeksiyon oranı %1.5-11.4 arasında bildirilmiştir (9,10,12,14). Soylu ve arkadaşlarının (9) çalışmasında da benzer olarak akut enfeksiyon en sık ilk 18 yaş grubunda saptanmıştır.

Çalışmamızda atipik EBV serolojik profil oranı %5.01 olarak saptanmıştır. Soylu ve arkadaşlarının (9) İzmir'de enzim bağlantılı floresan testi (ELFA) yöntemi ile yapılan çalışmalarında atipik serolojik profil oranı %15.0 olarak belirlenmiştir. Yine İzmir'de VCA IgM ve EBV VCA IgG antikorlarının immünofloresan test, EBNA-1 IgG antikorlarının enzim immün yöntemleri (EIA) ile yapılan çalışmalarında ise %11.4 oranında atipik serolojik profil saptanmıştır (10). KMLA yöntemini kullandığımız çalışmamızda, atipik EBV serolojik profil oranı diğer çalışmalara göre daha düşük oranda (%5.01) saptanmıştır. Bu durumda, çalışmalarda kullanılan farklı serolojik yöntemlerin ve çalışma grubunu oluşturan farklı hasta popülasyonlarının etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda atipik serolojik profil saptanan olguların %60.6'sı 1-10 yaş arasındaki hastalar, %25.3'ü ise 11-20 yaş arasındaki hastalar içinde yer almaktadır. Özetle ilk 20 yaşta atipik serolojik profil oranı çalışmamızda %85.9 olarak saptanmıştır. Diğer bir çalışmada ise ilk 18 yaşta bu oran %56.5 olarak belirlenmiştir (9). Çalışmamızda atipik profil olarak sırayla en sık %3.90 oranında üç testin (VCA IgM, VCA IgG ve EBNA-1 IgG) birlikte pozitifliği, %0.91 oranında izole VCA IgG pozitifliği ve %0.20 oranında izole EBNA-1 IgG pozitifliği saptanmıştır. Çalışmalarda bu sıralama değişmekte olup Soylu ve arkadaşlarının (9) çalışmasında sırasıyla % 5.1 oranında izole VCA IgG pozitifliği, %2.7 oranında izole EBNA-1 IgG pozitifliği, %1.6 oranında ise üç antikorun birlikte pozitifliği görülmüştür. Diğer bir çalışmada ise, %7.9 izole VCA IgG pozitifliği, %2.7 üç antikorun birlikte pozitifliği ve %0.8 izole EBNA-1 IgG pozitifliği saptanmıştır (10).

Atipik profile sahip olguların kliniklere göre dağılımına bakıldığında, %24.24'ünün hematoloji ve onkoloji kliniklerinden gelen ve immün bozukluğu olan hastalar olduğu görülmüştür (Tablo 3). Diğer bir çalışmada atipik profile sahip olguların %28'ini immün bozukluğu olan hastalar oluşturmuştur (10).

Çalışmamızda birden çok örnekle izlemi olan ve belli bir aşamada atipik profil saptanan olguların %46.7'sini hematoloji/onkoloji hastalarının oluşturduğu belirlenmiştir. Bu hastaların %33.3'ünde (5/15) atipik serolojik profilleri (üç antikorun birlikte pozitifliği) izlemde de aynı şekilde devam etmiştir. Bu hastaların yaklaşık yarısının çocuk hematoloji/onkoloji hasta grubu içinde bulunduğu görülmüştür. Hastaların %26.7'sinde (4/15) atipik serolojik profilden (üç antikorun birlikte pozitifliği) geçirilmiş enfeksiyon serolojik profiline (-/+ /+) geçtiği, %40'ının ise ilk izlemde akut enfeksiyon (+/+/-) tablosundan üç antikorun birlikte pozitif olduğu atipik profil serolojisine dönüştüğü görülmüştür (Tablo 4).

Başka bir çalışmada da, hastaların %52'sinde atipik serolojik profilleri izlemde de aynı şekilde devam etmiştir. Bu olguların %71.4'ünü hematoloji/onkoloji hastalarının oluşturduğu belirlenmiştir. Hastaların %44'ünün geçirilmiş enfeksiyon ve %4'ünün akut enfeksiyon profiline dönüştüğü bildirilmiştir (10). Antikor yanıtlarındaki sorunlar nedeniyle immünsüpresif hasta grubunda özellikle de hematoloji/onkoloji hastalarında, EBV serolojik profillerini yorumlamak atipik serolojik profiller nedeniyle güçleşmektedir. Bu nedenle bu grup hastalarda ileri tetkiklere ihtiyaç olabileceği düşünülmektedir.

Atipik profillerin olası nedenleri incelendiğinde, izole VCA IgG pozitifliğinin hem akut hem de geçirilmiş enfeksiyon seyriinde olabileceği vurgulanmaktadır ve olası nedenler şu şekilde sıralanabilir. Akut enfeksiyonda VCA IgM antikorlarının düşük düzeyde olması (testlerde yalancı negatiflik), gecikmesi veya erken kaybolması. Geçirilmiş enfeksiyonda EBNA-1 IgG'nin düşük düzeyde olması (testlerde yalancı negatiflik) ya da hiç sentezlenmemesi. İmmün yetmezlikli hastalarda var olan antikorun zaman içerisinde kaybolması nedeniyle oluşabilir (6,15).

Çalışmamızda izole VCA IgG pozitifliği %2.7 oranında saptanmış olup bu hastaların birden çok örnekle izlemi olmadığı için ek bir yorumlama yapılamamıştır. Bu profilin sıklıkla geçirilmiş enfeksiyona bağlı olarak saptandığı ve daha sık olarak ileri yaşta ve immünsüpresif olgularda karşılaşıldığı bildirilmektedir (6,15). İzole VCA IgG pozitifliği farklı çalışmalarda %1.7-7.9 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir (9,10,15-17). Ayrıca izole VCA IgG pozitifliğinin heterofil antikor pozitifliğiyle ilişkisi söylenecek, çocuklarda özellikle 10 yaş altında daha çok akut enfeksiyonu desteklediği bildirilmiştir. VCA IgM antikorlarının, primer EBV enfeksiyonu geçiren çocukların %12-17'sinde saptanamayabileceği bildirilmektedir (15,18,19). Ayrıca, yetişkinlerin de az bir kısmında VCA IgM antikorlarının oluşumunun gecikebileceği veya hiç oluşmama-ya-çağı vurgulanmaktadır (19,20).

İzole EBNA-1 IgG pozitifliği, VCA IgG üretiminde yetersizlik meydana gelmesi veya antikorların zamanla kaybolması gibi nedenlerle gelişebilmektedir ve farklı çalışmalarda %0.8-5.3 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir (6,9,10,17,21). Çalışmamızda izole EBNA-1 IgG pozitifliği %0.20 oranıyla en az saptanan atipik profil olmuştur. Bu hastaların birden çok örnekle izlemi olmadığı için ek bir yorumlama yapılamamıştır. Fakat hem izole VCA IgG profili hem de izole EBNA-1 IgG profili çalışmamızda diğer çalışmalardan daha düşük oranda saptanmıştır. Bu duruma kullanılan serolojik yöntemlerin farklılığı ve farklı çalışma popülasyonlarının etki etmiş olabileceği düşünülmüştür.

EBV VCA IgM, VCA IgG, EBNA-1 IgG'nin birlikte (üçlü olarak) pozitifliği laboratuvarımızda %3.90 olarak saptanmıştır. Bu oran yapılmış diğer çalışmalarda, %1.6-5.0 arasında bildirilmiş olup verilerimiz bu çalışmalarla uyumludur (9,10,15,16). Bu tablo, primer enfeksiyonun geçiş fazı veya konvalesans dönemi ve geçirilmiş enfeksiyonda IgM'nin

persistansı gibi nedenlerle karşımıza çıkabilmektedir (6,22). Nystad ve arkadaşları (23), üçlü antikor pozitifliğinin saptandığı hastalarda ileri inceleme sonucunda, %23 oranında reaktivasyon, %49 oranında akut enfeksiyon olduğunu bildirmişlerdir. Reaktivasyon, immünsüpresif hastalarda daha çok karşımıza çıkmakta olup, bu hasta grubunda tartışmalı serolojik profillerin yorumlanmasında EBV DNA testlerinin daha yararlı olduğu vurgulanmaktadır (24). Bir diğer neden olan CMV, parvovirus B19, *T. gondii*, HAV, HIV'e bağlı yalancı pozitiflikler de EBV geçirilmiş hastalarda üçlü antikor pozitifliğine neden olabilmektedir (1,6). Çalışmamızda çapraz pozitiflikleri belirleyebilmek için, laboratuvar kayıtlarından hastalara ait CMV, toksoplazma, rubella, HAV, HIV test sonuçları retrospektif olarak incelenmiş olup, bu profile sahip hastalarda bu enfeksiyonlara ait IgM antikorlarında pozitiflik saptanmamıştır.

Atipik profillerin dağılımında laboratuvar yöntemlerindeki farklılıklar, çalışma popülasyonunun özellikleri sonuçları etkileyebilmektedir. Testlerin, analitik performansı yüksek KMIA yöntemiyle otomatize sistemde çalışılmış olması, sonuçların objektif olarak değerlendirilmesine olanak sağlaması gibi avantajları bu çalışmanın kuvvetli yönünü oluşturmaktadır. Ayrıca EBV enfeksiyonunun epidemiyolojik analizi ile ilgili bölgemizden yapılmış ilk çalışma olması, EBV enfeksiyonu açısından ilimiz verilerinin ortaya konması açısından da değerlidir.

Atipik profillerin yorumu açısından ek testler ve serolojik izlem ile antikor profillerindeki değişimin izlenmesi önerilmektedir. Çalışmamızın retrospektif özelliği nedeniyle ek testler yapılamamıştır ve bu durum çalışmadaki kısıtlılık olarak belirlenmiştir. Atipik profil saptanıp birden fazla izlemi olan hastaların sonuçları ayrıntılı olarak incelenerek, atipik profilin yorumlanması sağlanmıştır.

Hasta Onamı

Retrospektif bir çalışma olduğu için alınmamıştır.

Etik Kurul Kararı

Çalışma için Balıkesir Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 15.01.2020 tarih ve 2020/11 karar numarasıyla onay alınmıştır.

Danışman Değerlendirmesi

Bağımsız dış danışman.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram - A.Ç.D., T.K.A.; Tasarım - A.Ç.D.; Denetleme - A.Ç.D., T.K.A.; Kaynak ve Fon Sağlama - T.K.A.; Malzemeler/Hastalar - T.K.A.; Veri Toplama ve/veya İşleme - T.K.A., A.Ç.D.; Analiz ve/veya Yorum - T.K.A., A.Ç.D.; Literatür Taraması - T.K.A., A.Ç.D.; Makale Yazımı - A.Ç.D.; Eleştirel İnceleme - A.Ç.D., T.K.A.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Hess RD. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: Still challenging after 35 years. J Clin Microbiol. 2004;42(8):3381-7. [CrossRef]
2. Luzuriaga K, Sullivan JL. Infectious mononucleosis. N Engl J Med. 2010; 362(21):1993-2000. [CrossRef]
3. Young LS, Yap LF, Murray PG. Epstein-Barr virus: more than 50 years old and still providing surprises. Nat Rev Cancer. 2016;16(12):789-802. [CrossRef]
4. Odumade OA, Hogquist KA, Balfour HH Jr. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections. Clin Microbiol Rev. 2011;24(1):193-209. [CrossRef]

5. Hurt C, Tammaro D. Diagnostic evaluation of mononucleosis-like illnesses. *Am J Med.* 2007;120(10):911.e1-8. [\[CrossRef\]](#)
6. De Paschale M, Clerici P. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: Problems and solutions. *World J Virol.* 2012;1(1):31-43. [\[CrossRef\]](#)
7. Guerrero-Ramos A, Patel M, Kadakia K, Haque T. Performance of the Architect EBV Antibody Panel for determination of Epstein-Barr virus infection stage in immunocompetent adolescents and young adults with clinical suspicion of infectious mononucleosis. *Clin Vaccine Immunol.* 2014;21(6):817-23. [\[CrossRef\]](#)
8. Corrales I, Giménez E, Navarro D. Evaluation of the Architect Epstein-Barr Virus (EBV) Viral Capsid Antigen (VCA) IgG, VCA IgM, and EBV Nuclear Antigen 1 IgG Chemiluminescent Immunoassays for Detection of EBV Antibodies and Categorization of EBV Infection Status Using Immunofluorescence Assays as the Reference Method. *Clin Vaccine Immunol.* 2014;21(5):684-8. [\[CrossRef\]](#)
9. Soylu M, Zeytinoğlu A, Altuğlu İ. Ege Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran hastalarda enzim işaretli floresan test ile elde edilen Epstein-Barr virüsü serolojik test sonuçlarının değerlendirilmesi. *Ege Tıp Derg* 2014;53(3):119-23. [\[CrossRef\]](#)
10. Varıcı Balcı FK, Özbek ÖA, Sayiner AA. EBV serolojik tanısında atipik profil sorunu [Atypical profile problem in serological diagnosis of EBV]. *Mikrobiyol Bul.* 2017;51(4): 78-86. [\[CrossRef\]](#)
11. Ozkan A, Kilic SS, Kalkan A, Ozden M, Demirdag K, Ozdarendeli A. Seropositivity of Epstein-Barr virus in Eastern Anatolian Region of Turkey. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2003;21(1):49-53.
12. Fidan I, Yüksel S, İmir T. Değişik yaş gruplarında Epstein-Barr virüs antikorlarının araştırılması. *İnfek Derg* 2005;19(4):453-6.
13. Gümüşer F. Comparison of ELISA and IFA tests for serological diagnosis of Epstein-Barr Virus (EBV) in 0-18 year age group. *FLORA İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi.* 2018;23(3):102-7. [\[CrossRef\]](#)
14. Sirekbasan S, Çelik DG, Abdelkareem A, et al. Epstein-Barr virüsü enfeksiyonu tanısında EBV IgM/IgG ve monospot testlerinin irdelenmesi. *Klinik Dergisi* 2012;25(3):107-10. [\[CrossRef\]](#)
15. De Paschale M, Agrappi C, Manco MT, Mirri P, Viganò EF, Clerici P. Seroepidemiology of EBV and interpretation of the "isolated VCA IgG" pattern. *J Med Virol.* 2009;81(2):325-31.
16. Lupo J, Germe R, Semenova T, Buisson M, Seigneurin JM, Morand P. Performance of two commercially available automated immunoassays for the determination of Epstein-Barr virus serological status. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19(6):929-34. [\[CrossRef\]](#)
17. Klutts JS, Ford BA, Perez NR, Gronowski AM. Evidence-based approach for interpretation of Epstein-Barr virus serological patterns. *J Clin Microbiol.* 2009;47(10):3204-10. [\[CrossRef\]](#)
18. Sumaya CV, Ench Y. Epstein-Barr virus infectious mononucleosis in children. II. Heterophil antibody and viral-specific responses. *Pediatrics.* 1985;75(6):1011-9.
19. Bauer CC, Aberle SW, Popow-Kraupp T, Kapitan M, Hofmann H, Puchhammer-Stöckl E. Serum Epstein-Barr virus DNA load in primary Epstein-Barr virus infection. *J Med Virol* 2005;75(1): 54-8. [\[CrossRef\]](#)
20. Horwitz CA, Henle W, Henle G, Schapiro R, Borken S, Bundtzen R. Infectious mononucleosis in patients aged 40 to 72 years: report of 27 cases, including 3 without heterophil-antibody responses. *Medicine (Baltimore).* 1983;62(4):256-62. [\[CrossRef\]](#)
21. García T, Tormo N, Gimeno C, Navarro D. Assessment of Epstein-Barr virus (EBV) serostatus by enzyme immunoassays: Plausibility of the isolated EBNA-1 IgG positive serological profile. *J Infect.* 2008;57(4):351-3. [\[CrossRef\]](#)
22. Evans AS, Niederman JC, Cenabre LC, West B, Richards VA. A prospective evaluation of heterophile and Epstein-Barr virus-specific IgM antibody tests in clinical and subclinical infectious mononucleosis: Specificity and sensitivity of the tests and persistence of antibody. *J Infect Dis.* 1975;132(5):546-54. [\[CrossRef\]](#)
23. Nystad TW, Myrmet H. Prevalence of primary versus reactivated Epstein-Barr virus infection in patients with VCA IgG, VCA IgM and EBNA-1-antibodies and suspected infectious mononucleosis. *J Clin Virol.* 2007;38(4):292-7. [\[CrossRef\]](#)
24. Karadağ Geçgel S, Ersoy A, Sevinir BB, Sınırtaş M, Goral G. Epstein-Barr Virus Enfeksiyonlarının Tanısında PCR Sonuçlarının Değerlendirilmesi [Evaluation of PCR results in the diagnosis of Epstein-Barr virus infections]. *Mikrobiyol Bul.* 2012;46(4):594-606.