

# Epstein-Barr Virusu İnfeksiyonlarının Tanısında Kullanılan Serolojik Yöntemlerin Değerlendirilmesi

Ali Ağaçfidan, Mürvet Bozacı, Selim Badur

**Özet:** Bu çalışmada Epstein-Barr virusu (EBV) infeksiyonu ön tanısı ile çeşitli kliniklerden laboratuvarımıza gönderilen 41 hastanın serumları EBV serolojisi yönünden araştırılmıştır. Tanıda heterofil antikorları belirlemek amacıyla Monotest ve Paul-Bunnell aglütinasyonu; virus nükleokapsid antijenine (VCA) karşı spesifik IgM ve IgG sınıfı antikorları saptayan enzim-immünoessey (EIA) testleri kullanılmıştır. Çalışmaya alınan 41 hastanın 12'sinde (% 29.2) Monotest, 11'inde (% 26.8) Paul Bunnell, 8'inde (% 19.5) EIA-IgM ve 36'sında (% 87.8) EIA-IgG testleri pozitif sonuç vermiştir.

**Anahtar Sözcükler:** EBV serolojisi, Monotest, Paul-Bunnell testi, EIA.

**Summary:** Evaluation of the serological methods for the diagnosis of the Epstein-Barr virus (EBV) infections. Sera collected from 41 patients with initial diagnosis of EBV infection were studied by Monotest and Paul-Bunnell agglutination tests which detect heterophile antibodies and by an enzyme immunoassay (EIA) which detects IgG and IgM antibodies against virus nucleocapsid antigen (VCA). The number of positive results yielded by Monotest, Paul-Bunnell, EIA-IgM and EIA-IgG were 12 (29.2%), 11 (26.8%), 8 (19.5%) and 36 (87.8%), respectively.

**Key Words:** Serology of EBV, Monotest, Paul-Bunnell test EIA.

## Giriş

İnfeksiyöz mononükleoz hastalığının etkeni olan Epstein-Barr virusu (EBV), 1964 yılında Orta Afrika'lı çocukların çene bölgelerinde tümör etkenlerinin araştırılması sırasında saptanmıştır (1). Hastalığın başlıca belirtileri ateş, faranjit, lenfadenopati ve splenomegalidir. Ancak bu klinik belirtilerin yalnız bu hastalığa özgü olmaması nedeniyle laboratuvar tanısı oldukça önem taşımaktadır (2,3,4).

Tanı kanda atipik lenfositlerin görülmesi, transaminaz seviyesinin yükselmesi, hasta serumunda heterofil antikorların saptanması ve virus antijenlerine karşı oluşan spesifik antikorların belirlenmesi ile olur (2). Bu amaçla EBV'na özgü nükleokapsid (VCA) erken (EBEA) ve nükleer (EBNA) antijenlerine karşı oluşan spesifik IgM ve IgG sınıfı antikorlar ayrı ayrı belirlenerek klinik tanı yönlendirilmektedir (Şekil 1) (2,5-9).

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

## Yöntemler

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı Laboratuvarına EBV infeksiyonu ön tanısı ile çeşitli kliniklerden gönderilen ve tanı için kullanılan serolojik testlerden en az biri pozitif sonuç veren 41 hastanın serumları, tanı için kullanılan diğer yöntemlerle karşılaştırılmıştır. Çalışmamızda Monotest, Paul-Bunnell ve enzim-immünoessey (EIA) testlerinden yararlanılmıştır.

• **Paul-Bunnell testi (10):** Heterofil antikorların ortaya çıkması amacıyla, koyun eritrosit süspansiyonu bu testte kullanılmıştır. Hasta serumları 56°C'de 30 dakika inaktive edildikten sonra 1/7-1/448 oranında sulandırılmıştır. Sonuçlar 2 saat 37°C'de ve 1 gece oda ısısında bekletilerek okunmuştur.

• **Monotest (3):** Bio Mérieux firmasından sağlanan lam aglütinasyon kiti kullanılmıştır. Bu yöntemde heterofil antikorları saptamak amacıyla at eritrosit süspansiyonu hasta serumları ile karşılaştırılmıştır. Pozitif olgularda, yalnız pozitiflik düşünülerek, Davidsohn tarafından önerilen absorpsiyon işlemi uygulanmış, alınan sonuçlar doğrulanmıştır. Absorpsiyon sonrası negatif sonuçlar dikkate alınmamıştır.

• **Enzim-immünoessey (EIA) (11):** Kau faz EBV-VCA ile kaplı ticari EIA kiti (Virotech) kullanılmıştır. Sonuçlar kalitatif olarak değerlendirilmiştir.

• **Spesifik IgM Araştırılması (EIA-IgM):** Hasta serumlarında spesifik IgM antikorlarının varlığı anti-human-IgM konjugesi ile gösterilmiştir. IgM pozitif olgularda pozitifliğin romatoid faktörden (RF) kaynaklanabileceği düşünülerek hasta serumları RF reaktifi (Behring) ile absorplanmıştır. Absorpsiyon sonrası negatif sonuçlar dikkate alınmamıştır.

• **Spesifik IgG araştırılması (EIA-IgG):** Hasta serumlarındaki spesifik IgG antikorları EBV-VCA ile kaplı mikrotitrasyon plaklarında anti-human-IgG konjugesi ile gösterilmiştir.

## Bulgular

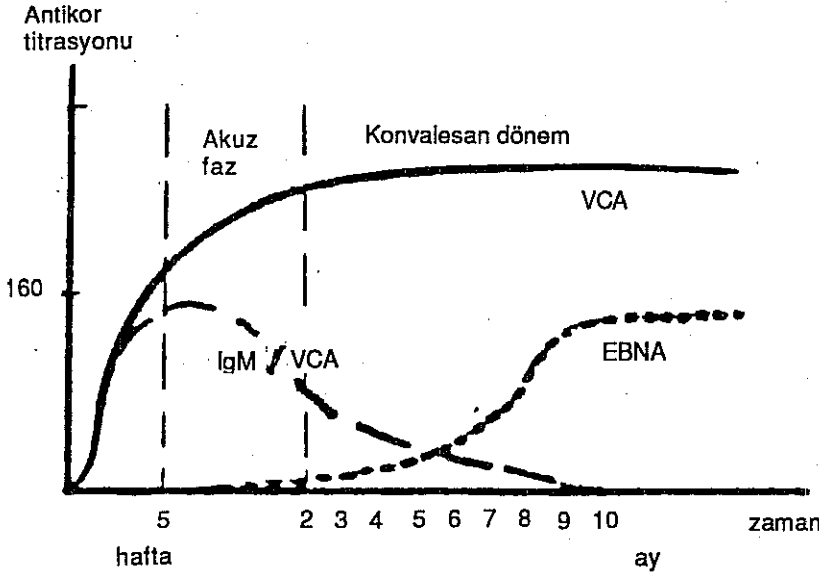
Çalışma kapsamında bulunan 41 hastanın serumlarından alınan test sonuçlarına bakıldığında; hastaların 12'sinde (% 29.2) Monotest, 11'inde (26.8) Paul-Bunnell, 8'inde (% 19.5) EIA-IgM ve 36'sında (% 87.8) EIA-IgG pozitifliği saptanmıştır. Buna göre EIA-IgM ve IgG testlerinden elde edilen sonuçlar Monotest ve Paul-Bunnell testleri ile karşılaştırılmış, sonuçlar dört grupta özetlenmiştir.

I- EIA-IgM ve EIA-IgG (+) 5 olgu: Bu grupta, iki hastada Monotest ve Paul-Bunnell testleri pozitif sonuç vermiştir.

II- EAI-IgM (+), EIA-IgG (-) 3 olgu: Yalnızca spesifik IgM antikorları belirlenen bu grupta, Monotest ve Paul-Bunnell testleri ile bir olguda pozitiflik saptanmıştır.

III- EIA-IgM (-), EIA-IgG (+) 31 olgu: Yalnızca spesifik IgG belirlenen 31 olgunun yedisinde Monotest ve Paul-Bunnell testleri pozitif sonuç vermiştir.

IV- EIA-IgM ve EAI-IgG (-) 2 olgu: Spesifik antikor saptanmayan bu grupta Paul-Bunnell testi ile bir, Monotest ile iki hastada pozitiflik belirlenmiştir.



Şekil 1. İnfeksiyöz mononükleozda anti-EBV antikorları (2,5-9).

Anti-EBNA	: (-)	Yeni infeksiyon
IgM Anti-VCA	: (+)	
Anti EBNA	: (-)	Konvalesan dönem başlangıcı EBNA antikorlarının olmadığı eski infeksiyon
IgG Anti-VCA	: (+)	
IgM Anti-VCA	: (-)	
Anti-EBNA	: (+)	Eski infeksiyon
IgG Anti-VCA	: (+)	

#### İrdeleme

EBV infeksiyonlarında tanı amacıyla araştırılan heterofil antikorlar, normal insan serumunda 1/56 titreye kadar bulunabilmektedir. Tedavi amacıyla at serumu kullanan hastalarda heterofil antikor titrasyonunda da bir artış görülmektedir. Ayrıca bu antikorlar erişkin hastaların yaklaşık % 10'unda, çocukların daha büyük bir kısmında negatif olabilmektedir. Bu nedenle alınan sonuçların başka bir yöntemle doğrulanması serolojik tanı için oldukça önem taşımaktadır (2,3,10).

Çalışmamızda heterofil antikorları araştırırken, serumda bu antikorların düşük titrede bulunabileceği düşünülerek, Paul-Bunnell testi 1/7 oranında sulandırımı pozitif sonuç veren iki olgu negatif olarak değerlendirilmiştir. Diğer hastalarda alınan pozitiflik titrasyonu ise 1/56'nın üstünde bulunmuştur.

Heterofil antikorları belirleyen Monotest lam aglütinasyon testi Paul-Bunnell testine göre oldukça pratiktir. Ayrıca Davidsohn tarafından ortaya atılan yöntem ile hasta serumları kobay böbrek özeti ile absorplanarak yalancı pozitif sonuçlar önlenmektedir (3,10). Ancak heterofil antikorları belirleyen testlerin, infeksiyonun klinik dönemi hakkında kesin sonuç vermemesi, hasta serumlarında yalancı pozitif ve negatif sonuçlara sebep olması gibi nedenlerle tanıda spesifik antikorların araştırılması önem taşımaktadır (2,3,12-14).

EBV infeksiyonlarının laboratuvar tanısında EBNA, EB-

NA ve VCA'ya karşı oluşan antikorların saptanmasından yararlanılmaktadır. Ancak EBNA'ya karşı oluşan antikorların, olguların yaklaşık 2/3'sinde saptanması, EBNA'ya karşı oluşanların ise konvalesan dönemde ortaya çıkması nedeniyle tanıda bu antikorların belirlenmesinin önemi düşüktür. Buna karşı VCA antikorları olguların % 90-94'ünde gösterilmekte ve infeksiyonun döneminin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır (11).

EBV ile infekte kişilerde infeksiyonun erken döneminde spesifik IgM sınıfı, ikinci haftasından itibaren ise IgG antikorlar oluşmaktadır. VCA-IgM antikorlarının saptanması akut primer infeksiyonun başlıca göstergesidir. Ancak RF nedeniyle oluşabilecek yalancı pozitifliği de göz önünde tutmak gerekir (11,15). Bu nedenle pozitif olgularda hasta serumları RF reaktifi ile absorplanmış ve ikinci defa alınan aynı sonuç pozitif olarak kabul edilmiştir.

Çalışmamızda akut primer infeksiyon olarak kabul edilen ve spesifik IgM, IgG antikorları saptanan beş olgunun ikisinde Monotest ve Paul-Bunnell testleri pozitif sonuç vermiştir. Yalnızca spesifik IgM saptanan, ancak IgG saptanmayan üç olgunun birinde Monotest ve Paul-Bunnell testleri ile pozitiflik belirlenmiştir. Spesifik IgG saptanmaması nedeniyle bu hastaların muhtemelen infeksiyonun başlangıç döneminde olduğu düşünülmüştür (7). Yalnızca spesifik IgG belirlenen 31 olgunun yedisinde Monotest ve Paul-Bunnell testleri pozitif sonuç

vermiştir. Bu gruptan alınan test sonuçlarına bakıldığında latent ya da geçirilmiş infeksiyonun olabileceğini göstermektedir (2,13).

Son grupta yer alan ve spesifik antikor saptanmayan iki olguda ise heterofil antikor pozitifliğinin yalancı olabileceği düşünülmüştür. Yapılan çalışmalarda sitomegalovirus, rubella, herpes simpleks, adenovirus ve *Toxoplasma gondii* gibi infeksiyonlarda da heterofil antikorların pozitif olabileceği bildirilmiştir (2,7).

Sonuç olarak çalışmamızda tanıda kullanılan testlerden alınan pozitiflik dağılımı dikkate alındığında, spesifik antikorların araştırılmasının daha yararlı olacağı kanısına varılmıştır. Ayrıca EBV infeksiyonlarının laboratuvar tanısında spesifik IgM ve IgG antikorlarının saptanması, infeksiyon döneminin belirlenmesinde oldukça önem taşımaktadır.

#### Kaynaklar

1. Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* 1964; i: 702-3.
2. Okano M, Thiele GM, Davis JR, Grierson HL, Purtilo DT. Epstein-Barr virus and human diseases: Recent advances in diagnosis. *Clin Microbiol Rev* 1988; 1: 300-12.
3. Cook L, Midgett J, Willis D, Clinton B, Folds JD. Evaluation of latex-based heterophile antibody assay for diagnosis of acute infectious mononucleosis. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 2391-4.
4. Aktuş F, Ulutan F. Atipik Epstein Barr Virus (EBV) infeksiyonla-

- n. *Infeks Derg* 1990; 4: 195-9.
5. Gallo D, Walen K H, Riggs J L. Improved immunofluorescence antigens for detection of immunoglobulin M antibodies to Epstein-Barr viral capsid antigen and antibodies to Epstein-Barr virus nuclear antigen. *J Clin Microbiol* 1982; 15: 243-8.
  6. Musiani M, Zerbini M, Gentilomi G, Placa ML. Indirect alkaline phosphatase immunoenzymatic staining for the detection of antibodies to Epstein-Barr virus-induced virus capsid antigens and early antigens. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 302-4.
  7. Lenette ET, Ward E, Henle G, Henle W. Detection of antibodies to Epstein-Barr virus capsid antigen by immune adherence hemagglutination. *J Clin Microbiol* 1982; 15: 69-73.
  8. Roubalová K, Roubal J, Skopovy P, Fuciková T, Domorázková E, Vonka V. Antibody response to Epstein-Barr virus antigens in patients with chronic viral infection. *J Med Virol* 1988; 25: 115-22.
  9. Granlund DJ, Levine PH, Fuccillo DA. Enzyme immunoassay for detection of antibody to Epstein-Barr virus specific early antigen. *J Clin Microbiol* 1979; 10: 747-51.
  10. Çetin ET. *Genel ve Pratik Mikrobiyoloji*. 3 baskı. İstanbul: Sermet Matbaası, 1973.
  11. Ho DWT, Field PR, Cunningham AL. Rapid diagnosis of acute Epstein-Barr virus infection by an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for specific immunoglobulin M (IgM) antibody without rheumatoid factor and specific IgG interference. *J Clin Microbiol* 1983; 17: 619-24.
  12. Fleisher G R, Collins M, Fager S. Limitations of available tests for diagnosis of infectious mononucleosis. *J Clin Microbiol* 1983; 17: 619-24.
  13. Okano M, Matsumoto S, Osato T, Sakiyama Y, Thiele GM, Purtilo DT. Severe chronic active Epstein-Barr virus infection syndrome. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4: 129-35.
  14. Nikoskelainen J, Hanninen P. Antibody response to Epstein-Barr virus in infectious mononucleosis. *Infect Immun* 1975; 11: 42-51.
  15. Schmitz H. Detection of immunoglobulin M antibody to Epstein-Barr virus by use of an enzyme-labeled antigen. *J Clin Microbiol* 1982; 16: 361-6.