



İmmünsüpresif Hastalarda Epstein-Barr Virüs (EBV) Viral Yükü ile Klinik Tablo Arasındaki İlişki

Relationship between Epstein-Barr Virus (EBV) Infection and Viral Load in Immunosuppressive Patients

Meryem Çolak¹ , Aylin Altay Koçak¹ , Buket Dalgıç² , Zübeyde Nur Özkurt³ , Işıl Fidan¹ , Seçil Özkan⁴ , Ahmet Pınar⁵ , Güleendam Bozdayı¹

Öz / Abstract

Amaç: Çalışmamızda immünsüpresif hastalarda EBV DNA pozitifliğinin gerçek-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile retrospektif olarak araştırılması, klinik ve viral yük ile ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne Mart 2014-Mayıs 2015 tarihleri arasında başvuran 160 hastaya ait 168 örnek dahil edilmiştir. Hastaların klinik örneklerinde ELISA (DIA.PRO Milano, İtalya) yöntemi ile araştırılan EBV antikorları değerlendirilmiş, hastaların serolojik profilleri belirlenmiştir. Nükleik asit izolasyonu High Pure Viral Nucleic Acid Kiti (Roche, Almanya) kullanılarak yapılmıştır. İzole edilen DNA'lar Light Cycler 2.0 (Roche, Almanya) cihazında, LightCycler® EBV Quantitative Kit (Roche, Almanya) ile çoğaltılmış ve sonuçlar kantitatif olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çoğaltılan örneklerde %4,2 (7/168) EBV DNA pozitifliği bulunmuştur. Pozitiflik oranlarının örneklerin gönderildiği kliniklere göre dağılımı incelendiğinde sırasıyla; çocuk onkoloji servisinde %14,2 (1/7); yoğun bakım ünitesinden %12,5 (1/8); çocuk gastroenteroloji servisinde %4,8 (4/42) ve çocuk hematoloji ünitesinden %4,1 (1/24) saptanmıştır. Pozitif hastaların üçü karaciğer nakli olmuş, biri Non-Hodgkin lenfoma, bir hastada Burkitt lenfoma ve bir hastada akut lenfoblastik lösemi (ALL) tanısı ile takip edildiği sırada otoimmün hemolitik anemi tanısı aldığı görülmüştür. EBV DNA pozitifliği saptanan 7 örneğin 6'sında EBV DNA 104 kopya/mL, 1'inde 105 kopya/mL olarak tespit edilmiş; EBV DNA miktarı 105 kopya/mL olarak tespit edilen hastanın Burkitt lenfoma hastası olduğu görülmüştür. Sadece bir hastada (%17) eş zamanlı olarak VCA IgM ve EBV DNA pozitifliği saptanmıştır.

Sonuç: EBV enfeksiyonunun immünsüpresif hastalarda önemli risk faktörü olması nedeniyle, Real-Time PCR ile erken tanısı, DNA miktarlarının izlenerek hastaların takibi ve prognozu açısından büyük önem taşımaktadır. Yüksek miktarda EBV DNA tespit edilen immünsüpresif hastaların Burkitt lenfoma hastalığı açısından incelenmesi gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Epstein-Barr virüs (EBV), viral yük, immünsüpresif hasta

Introduction: The aim of this retrospective study is to investigate the relationship between clinic and presence of Epstein-Barr virus (EBV) DNA and viral load by real-time polymerase chain reaction (PCR) in patients with high risk.

Methods: A total of 168 samples obtained from 160 patients, hospitalized in Gazi University Hospital between March 2014 and May 2015, were included in the study. EBV antibodies were investigated by ELISA (Dia.Pro, Milano, Italy) in clinical samples of patients, and serological profiles of patients were determined. Nucleic acid isolation was performed by High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche, Germany). Isolated DNAs were amplified by LightCycler® EBV Quantitative Kit (Roche, Germany) in LightCycler 2.0 (Roche, Germany) device, and results were evaluated quantitatively.

Results: EBV DNA was positive for 4.2% (7/168) of the samples. The distributions of positive rates were 14.2% (1/7) for oncology, 12.5% (1/8) for intensive care units, 4.8% (4/42) for pediatric gastroenterology, and 4.1% (1/24) for pediatric hematology. Three of the patients that EBV DNA detected had liver transplant, one had non-Hodgkin's lymphoma, one had Burkitt's lymphoma, one had acute renal failure, and one had gingivostomatitis and pharyngotonsillitis while follow-up. In 6/7 of the samples, EBV DNA detected 104 copies/ml, and 1/7 of the samples 105 copies/ml. The patient whose EBV DNA load was 105 copies/ml had Burkitt's lymphoma. EBV DNA and viral capsid antigen IgM positive were detected simultaneously only in one patient (17%).

Conclusion: Early diagnosis by real-time PCR is of great importance in terms of follow-up of patients by monitoring DNA amounts and prognosis. Therefore, in immunosuppressive patients who have high levels of EBV DNA, Burkitt's lymphoma disease should be considered.

Keywords: Epstein-Barr virus (EBV), viral load, immunosuppressive patient

Bu çalışma, 18. Annual Meeting of European Society for Clinical Virology'da (9-12 Eylül 2015, Edinburgh, İngiltere) sunulmuştur.

ORCID IDs of the authors: M.Ç. 0000-0001-9876-935X; A.A.K. 0000-0002-0451-0142; S.Ö. 0000-0003-1572-8777; G.B. 0000-0002-6036-6819; A.P. 0000-0002-8618-6453; B.D. 0000-0003-2949-7965; Z.N.Ö. 0000-0001-9834-6058; İ.F. 0000-0001-6296-5017

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Ankara

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, Ankara

⁴Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Ankara

⁵Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Yazışma Adresi/Address for Correspondence:

Güleendam Bozdayı
E-mail: gbozdayi@hotmail.com

Geliş Tarihi/Received: 20.06.2017
Kabul Tarihi/Accepted: 25.09.2017

© Telif Hakkı 2018 Makale metnine istanbultipdergisi.org web sayfasından ulaşılabilir.

© Copyright 2018 by Available online at istanbulmedicaljournal.org

Giriş

Epstein-Barr virüs (EBV); Herpesviridae ailesinin Gammaherpesvirinae alt familyasına ait, zarflı, ikozahedral simetrikli, çift iplikli DNA virüsüdür. Çift sarmal DNA virionunda lineer, enfekte hücrelerde latent olduğunda sirküler yapıdadır. Epstein-Barr virüs (EBV) ilk kez, 1964 yılında Epstein, Barr ve Achong isimli araştırmacılar tarafından Afrikalı çocukların tümör örneklerinden izole edilmiştir (1).

Epstein-Barr virüs ilk olarak orofarinks epitel hücrelerini, daha sonra nazofarinks, tükürük bezleri ve larenksin lenfoid dokularındaki duyarlı B lenfositleri enfekte etmektedir. Virüs enfekte hücrede sitopatik etkiye neden olmazken, viral genom taşıyan hücre devamlı çoğalma özelliği kazanır. Humoral ve hücresele immün yanıt oluşur ancak virüs geliştirdiği çeşitli mekanizmalar ile enfekte B lenfositlerin içinde kalarak latent enfeksiyonlara neden olmaktadır (2).

Epstein-Barr virüs (Human Herpes Virüs-4) özellikle çocuklarda enfeksiyöz mononükleoz etkenidir. EBV, nazofarengeal karsinoma, Burkitt lenfoma ve Hodgkin lenfoma ile ilişkili bulunmakta ve organ ve doku transplant alıcıları gibi immünsüpresif hastalarda posttransplant lenfoproliferatif hastalığa (PTLD) sebep olmaktadır (2, 3).

Ülkemizde yetişkin popülasyonun %80-95'inde EBV seropozitifliği olduğu bildirilmiştir (4, 5). Soy- lu ve ark. (4) ülkemizde EBV seropozitifliğini %81; Aydemir ve ark.(5) %70-99,4 aralığında tespit

etmişlerdir. Dünya genelinde yetişkinlerin yüzde 90'ının anti-EBV antikorlarına sahip olduğu belirtilmektedir (3, 6).

Epstein-Barr virüs enfeksiyonlarının tanısında EBV'ye özgü serolojik testler kullanılmakta ve virüsün majör antijenlerine (nükleer antijen (EBNA), viral kapsid antijen (VCA), erken antijen (EA) karşı oluşan IgG ve/veya IgM antikorları araştırılmaktadır. Serolojik testlerle bağışıklık sistemi normal hastalarda akut ve geçirilmiş enfeksiyonu ayırt etmek mümkündür. VCA-IgM ve VCA-IgG varlığında EBNA-IgG olmaması akut enfeksiyonu gösterirken; VCA-IgG ve EBNA-IgG varlığında VCA-IgM negatifliği geçirilmiş enfeksiyonu işaret etmektedir. Ancak özellikle immün sistemi normal olmayan hastalarda immün cevabın yetersizliği nedeniyle EBV serolojisinin yorumlanmadığı durumlarda şüpheli tanılar ortaya çıkabilmekte ve moleküler yöntemlerin kullanılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (3).

Bu nedenle immünsüpresif hasta gruplarında EBV enfeksiyonunda rutin serolojik testler yetersiz kalabildiğinden viral DNA varlığının ve miktarının gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time -PCR) ile saptanması önem arz etmektedir. Bu çalışmanın amacı, retrospektif olarak EBV enfeksiyonu bakımından risk grubunda olan immünsüprese hastalarda EBV DNA varlığının gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time-PCR) ile araştırılması, klinik ve viral yük ile ilişkilendirilmesidir.

Yöntemler

Çalışmada Mart 2014-Mayıs 2015 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen 168 klinik örnek (146 serum, 16 beyin omurilik sıvısı (BOS), iki bronko alveolar lavaj (BAL), iki plevra sıvısı, bir vitreus sıvısı ve bir perikard sıvısı) gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılmıştır.

Çalışmaya, yaşları 9 ay ile 74 yaş arasında 94 erkek (%58,8); 66 kadın (%41,2) olmak üzere toplam 160 hastaya ait 168 örnek dahil

edilmiştir. Örneklerin gönderildiği kliniklere göre hasta sayıları ve yaş aralıkları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Kan örnekleri 3000 devirde 5 dk santrifüj edilip serum kısmı ayrılarak çalışma zamanına kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir. Diğer klinik örnekler ise alikotlara ayrılarak çalışma zamanına kadar -80°C'de saklanmıştır.

Serolojik Analizler

Hasta örneklerinde; VCA IgM, VCA IgG, EBNA IgM, EBNA IgG ve EA IgG antikorları ELISA yöntemi ile (DIA.PRO, Milano, Almanya) üreticinin talimatları doğrultusunda çalışılmıştır. Çalışmanın sonunda mikropalak, spektrofotometrede (TECAN, İsviçre) 450 nm dalga boyunda okutularak elde edilen optik dansite (OD) sonuçları değerlendirilmiştir. Üreticinin talimatlarına göre, VCA IgM, VCA IgG, EBNA IgG ve EA IgG testleri için negatif kontrol OD<0,1, pozitif kontrol (kalibratör 100 arBU/mL) OD>1,0 ise testin doğru çalıştığı kabul edilmiştir. Eşik değer (cut-off); VCA IgM ve EBNA IgG testleri için Cal (Kalibratör) 10 arBU/mL, VCA IgG ve EA IgG testleri için Cal (Kalibratör) 5 arBU/mL'dir. EBNA IgM testi için ise, negatif kontrol OD<0,150, pozitif kontrol OD>0,500 ise testin doğru çalıştığı kabul edilmiştir. Eşik değer (cut-off), negatif kontrolün optik dansitesine 0,250 eklenerek hesaplanmış; eşik değerinin altındaki değerler negatif, üstündeki değerler pozitif olarak değerlendirilmiştir. Kit prospektüsünde, kullanılan yöntemin çapraz reaksiyon göstermediği; duyarlılığının ve özgüllüğünün >%98 olduğu belirtilmektedir.

Nükleik Asit İzolasyonu ve DNA Çoğaltılması

Klinik örneklerden viral DNA izolasyonu "Spin-Kolon" yöntemi ile "High Pure Viral Nucleic Acid Kit"(Roche, Almanya) kullanılarak yapılmıştır. Viral DNA eldesi üretici firmanın protokolü doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA'lar amplifikasyon yapılarına kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Tablo 1. Kliniklere göre hasta sayıları ve yaş aralıklarının değerlendirilmesi

Klinik	Erkek hasta sayısı	Median (Min,-Max,)	Mean±SD	Kadın hasta sayısı	Median (Min,-Max,)	Mean±SD	Toplam hasta sayısı	Median (Min,-Max,)	Mean±SD
Çocuk gastroenteroloji	23	6,0 (0,7-17)	6,8±4,7	19	7,0 (2-19)	8,9±5,2	42	6,5 (,7-19)	7,8±5,0
Çocuk hematoloji	19	7,0 (1-17)	8,3±5,7	5	4,0 (2-7)	4,4±1,8	24	5,5 (1-17)	7,5±5,3
Çocuk nefroloji	12	16,0 (12-19)	15,5±2,3	7	15,0 (13-18)	15,5±1,8	19	15,0 (12-19)	15,5±2,1
Nöroloji	8	14,0 (3-18)	11,8±5,8	7	10,0 (2-60)	16,5±20	15	13,9 (2-60)	14,0±13,9
KİT ünitesi	7	34,0 (4-65)	37,7±22	5	31,0 (8-63)	33,6±21,5	12	32,5 (4-65)	36,0±21,2
Çocuk sağlığı ve hastalıkları	5	2,0 (1-16)	6,6±7,3	6	9,0 (1-14)	8,3±4,6	11	7,0 (1-16)	7,5±5,7
Erişkin hematoloji	5	60,0 (21-74)	50,2±212	5	37 (24-56)	41,2±13,5	10	45,5 (21-74)	45,7±17,4
Yoğun bakım	3	14,0 (14-23)	17,0±5,1	4	16,0 (2-35)	17,2±13,5	7	16,0 (2-35)	17,1±10,0
Çocuk onkoloji	6	16,5 (2-36)	16,3±11	1	17,0 (17-17)	17,0±0	7	17,0 (2-36)	16,4±11,4
Çocuk enfeksiyon	3	3,0 (1-14)	6,0±7,0	1	3,0 (3-3)	3,0±0	4	3,0 (1-14)	5,2±5,9
Kardiyoloji	1	19,0 (19-19)	19,0±0	3	18,0 (9-73)	33,3±34,6	4	18,5 (9-73)	29,7±29,1
Göz hastalıkları	-	-	-	2	36,5 (21-52)	36,5±21,9	2	36,5 (21-52)	36,5±21,9
Çocuk göğüs hastalıkları	1	6,0 (6-6)	6,0±0	1	3,0 (3-3)	3,0±0	2	4,5 (3-6)	4,5±2,1
Çocuk cerrahi	1	2,0 (2-2)	2,0±0	-	-	-	1	2,0 (2-2)	2,0±0
Toplam	94	13 (0,7-74)	14,2±14	66	11,5 (1-73)	16,7±16,5	160	12,5 (0,7-74)	15,2±15,5

KİT: kemik iliği transplantasyonu; SD: standart deviation

izole edilen viral DNA'ların amplifikasyonu Real Time PCR yöntemi ile "LightCycler® EBV Quantitative Kit"(Roche, Almanya) kullanılarak Light Cycler® 2,0 (Roche Applied Science, Almanya) cihazında gerçekleştirilmiştir.

Amplifikasyon için EBV genomunun yüksek oranda korunmuş EBNA1 gen bölgesinin 213 bp'lik kısmını amplifiye eden primer dizileri kullanılmış ve sonuçlar sayısal olarak belirlenmiştir.

Epstein-Barr virüs analizi için her biri farklı sayıda (10^2 - 10^6 kopya/mL) EBV DNA içeren beş adet standart ve bir adet negatif kontrol kullanılmıştır. Standartların amplifikasyon eğrileri LightCycler® 2,0 (Roche Applied Science, Almanya) cihazının 530 kanalında 'absolute quantification' analizi ile değerlendirilmiş ve EBV pozitifliği ile sonuçlar sayısal olarak belirlenmiştir.

Kapiller tüplerin her birine 10 ul master mix ve 10'ar ul izole edilmiş DNA örneklerinden koyularak toplam 20 ul reaksiyon hacmi elde edilmiştir. Kapillerler 2000 devirde 10 sn santrifüj edilerek Light Cycler® 2,0 (Roche Applied Science, Almanya) cihazına yüklenmiştir.

Analizlerde kullanılan negatif kontrollere ait eğrilerde pik görülmemiştir. Negatif sonuçların değerlendirilmesi ve analizlerin doğruluğunun kontrolü LightCycler® 2.0 (Roche Applied Science, Almanya) cihazının 610 kanalında 'absolute quantification' analizinde internal kontrol ile sağlanmıştır.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 20,0 (IBM Corp.; Armonk, NY, USA) bilgisayar programı aracılığıyla yapılmıştır. Mann-Whitney U ve Ki-Kare

Tablo 2. Çalışmaya dahil edilen örneklerin kliniklere göre dağılımı

Klinik n: Örnek Sayısı	Serum Sayı (%)	BAL Sayı (%)	BOS Sayı (%)	Vitreus sıvısı Sayı (%)	Perikard sıvısı Sayı (%)	Plevra sıvısı Sayı (%)
Çocuk gastroenteroloji						
n: 42	42 (100)					
Çocuk hematoloji						
n: 24	24 (100)					
Çocuk nefroloji						
n: 20	20 (100)					
Nöroloji						
n: 18	7 (38,8)		11 (61,2)			
Çocuk sağlığı						
n: 13	11 (84,6)		2 (15,4)			
KİT ünitesi						
n: 12	11 (92,3)	1 (7,7)				
Erişkin hematoloji						
n: 10	10 (100)					
Yoğun bakım						
n: 8	7 (87,5)		1 (12,5)			
Onkoloji						
n: 8	6 (85,8)					2 (14,2)
Çocuk enfeksiyon hastalıkları						
n: 4	4 (100)					
Kardiyoloji						
n: 4	1 (25)		2 (50)		1 (25)	
Göz hastalıkları						
n: 2	1 (50)			1 (50)		
Çocuk göğüs hastalıkları						
n: 2	1 (50)	1 (50)				
Çocuk cerrahi						
n: 1	1 (100)					
Toplam						
n: 168	146 (87)	2 (1,2)	16 (9,5)	1 (0,6)	1 (0,6)	2 (1,2)

KİT: kemik iliği transplantasyonu; BOS: beyin omurilik sıvısı; BAL: bronkoalveolar lavaj.
%: Klinikteki örnek sayısı üzerinden alındı.

testi kullanılarak veriler değerlendirilmiş ve yapılan analizlerde $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular

Çalışmamızda 146 serum, 16 BOS, iki BAL, iki plevra sıvısı, bir vitreus sıvısı ve bir perikard sıvısı olmak üzere 168 klinik örnek incelenmiş olup çalışılan örneklerin gönderildiği kliniklere göre dağılımı Tablo II'de gösterilmiştir.

Çalışmaya alınan hastaların %20,6'sı (33/160) karaciğer nakil hastası, %11,8'i (19/160) böbrek nakil hastası, %10,6'sı (17/160) lösemi, %10'u (16/160) kemik iliği nakil hastası, %5'i (8/160) Non-Hodgkin lenfoma, %2,9'u (5/160) kök hücre nakil hastası olduğu görülmüştür. Hastaların %2,5'i (4/160) böbrek yetmezliği, %1,9'u (3/160) herpesvirüs enfeksiyonu, %1,2'si (2/160) Guillan-Barre sendromu, %0,6'sı Enfeksiyöz mononükleoz (1/160), %0,6'sı Burkitt lenfoma (1/160) ve %0,6'sı ALL (takip halindeyken gingivostomatit ve faringotonsillit gelişmiş) (1/160) tanısı almış olup bu hastaların 48'i (%28,5) EBV DNA araştırılması amacıyla düzenli olarak laboratuvarımıza gönderilen hastalardır.

Serolojik sonuçlar, hastaların Real Time PCR sonuçları ile birlikte değerlendirilmiştir. Çalışılan tüm klinik örneklerde %4,2 (7/168) oranında EBV DNA pozitifliği tespit edilmiştir. Bu hastaların %85,8'i (6/7) EBV DNA pozitifliği haftalık kontroller ile takip edilen hastalardır. EBV DNA pozitif hastaların %83'ünde (5/6) VCA IgM negatif; %17'sinde (1/6) (ALL tanısı ile izlendiği dönemde gingivostomatit ve faringotonsillit gelişen hasta) akut enfeksiyonun göstergesi olan VCA IGM pozitif olarak tespit edilmiştir. Non-Hodgkin lenfoma ve otoimmün hemolitik anemi tanısı almış iki hastada VCA IgG ve EBNA IgG varlığında VCA-IgM negatifliği tespit edilmiştir. Çocuk gastroenteroloji kliniğinden gelen karaciğer nakli olmuş üç hastada sadece akut enfeksiyonun göstergesi olan VCA IgM çalışılmış, bu üç hastada VCA IgM negatif olarak tespit edilmiştir. Çocuk gastroenteroloji kliniğinden gelen dördüncü hastada herhangi bir serolojik analiz sonucu bulunmamaktadır, bu hasta; bir yıl önce, bir dış merkezde karaciğer nakli olmuş, hastanemize ateş ve döküntü şikayeti ile başvurmuş, hastanemizde Real-Time PCR yöntemi ile EBV DNA varlığı araştırılmıştır. Hastada EBV DNA pozitifliği tespit edilmiş ancak hasta tedavi ve takip sürecine katılmamış, kontrollerine gelmemiştir. Hastaların seroloji ve Real Time PCR sonuçlarının irdelendiği veriler Tablo III'de gösterilmiştir.

EBV DNA pozitiflik oranlarının örneklerin gönderildiği kliniklere göre dağılımı incelendiğinde; çocuk onkoloji servisinde gelen örneklerde %14,2 (1/7) (Non-Hodgkin lenfoma); yoğun bakım ünitesinden gelen örneklerde %12,5 (1/8) (otoimmün hemolitik anemi); çocuk gastroenteroloji servisinde gelen örneklerde %4,8 (4/42) (uç karaciğer nakli, bir Burkitt lenfoma) ve çocuk hematoloji ünitesinden gelen örneklerde %4,1 (1/24) (ALL tanısıyla izlendiği dönemde, gingivostomatit ve faringotonsillit) EBV DNA pozitifliği saptanmıştır. Çocuk nefroloji, nöroloji, kemik iliği transplantasyon ünitesi çocuk sağlığı ve erişkin hematoloji ünitesi ile çocuk enfeksiyon hastalıkları, kardiyojenik, çocuk göğüs hastalıkları, göz hastalıkları ve çocuk cerrahi servisinde gelen örneklerde EBV DNA pozitifliği saptanmamıştır. EBV DNA pozitiflik oranlarının kliniklere göre dağılımı incelendiğinde istatistiksel anlam taşıyan fark görülmemiştir ($p > 0,05$).

Çalışmaya alınan örnekler EBV DNA pozitifliği açısından değerlendirildiğinde; pozitif örneklerin %85,8'inin (6/7) serum; %14,2'sinin (1/7) BOS örnekleri olduğu görülmüştür. BAL, vitreus sıvısı, perikard sıvısı ve plevra sıvısı örneklerinde EBV DNA pozitifliği saptanmamıştır. EBV DNA pozitiflik oranlarının klinik örneklerle karşılaştırıldığında istatistiksel anlam taşıyan fark görülmemiştir ($p > 0,05$).

Epstein-Barr virüs DNA pozitifliği saptanan yedi örneğin altısında (%85,8) EBV DNA 10^4 kopya/ml; bir örnekte (%14,2) 10^5 kopya/mL olarak tespit edilmiş olup, EBV DNA miktarı 10^5 olarak tespit edilen hastanın Burkitt lenfoma tanısı aldığı görülmüştür. Çalışmamızda, EBV DNA miktarı ile örneklerin gönderildiği klinikler arasındaki ilişki incelendiğinde; çocuk gastroenteroloji ünitesinden gelen örneklerde diğer kliniklere kıyasla daha fazla sayıda $>10^4$ kopya/mL EBV DNA'sı saptanan örnek olduğu görülmüş, ancak istatistiksel anlam taşıyan fark görülmemiştir ($p > 0,05$). Epstein-Barr virüs DNA pozitifliği saptanan hastaların üçü karaciğer nakli olmuş, bir hastada Non-Hodgkin lenfoma, bir hastada Burkitt lenfoma ve bir hastada ALL tanısıyla izlendiği dönemde gelişen gingivostomatit ve faringotonsillit tespit edilmiş, bir hastanın otoimmün hemolitik anemi tanısı aldığı görülmüştür. EBV DNA pozitif örneklerde tespit edilen DNA miktarı ile örneklerin kliniklere ve altta yatan hastalıklara göre dağılımı Tablo IV'de gösterilmiştir.

Tartışma

Epstein-Barr Virüs'ün Burkitt lenfoma, Hodgkin lenfoma ve nazofarengeal karsinoma gibi kanserlerle ilişkisi olduğu; çocuklarda

Tablo 3. EBV seroloji ve Real-Time PCR sonuçları arasındaki ilişki

	Real-Time PCR pozitif					Altta yatan hastalık
	VCA IgM	VCA IgG	EBNA IgM	EBNA IgG	EA IgG	
1. hasta	(-)	-	-	-	-	KC nakli
2. hasta	(-)	-	-	-	-	KC nakli
3. hasta	(-)	-	-	-	-	KC nakli
4. hasta*	-	-	-	-	-	KC nakli
5. hasta	(+)	-	-	-	-	ALL
6. hasta	(-)	(+)	(-)	(+)	-	Non hodgkin lenfoma
7. hasta	(-)	(+)	-	(+)	-	Otoimmün hemolitik. anemi

VCA: viral kapsid antijen; IgM: immunoglobulin M; IgG: immunoglobulin G; EBNA: nükleer antijen; EA: erken antijen; KC: karaciğer
*Hasta dış merkezde karaciğer nakli olmuş, hastanemize ateş ve döküntü şikayeti ile vurmuş, Real-Time PCR yöntemi ile EBV DNA saptanmıştır. Hasta, takipli hastalarımızdan olmadığı için seroloji sonuçları elimizde bulunmamaktadır.

enfeksiyöz mononükleoz neden olduğu, immüsuprese kişilerde PTLD etkeni olduğu belirtilmektedir (6, 7).

Yapılan çalışmalarda ülkemizde %80-95 oranında EBV seropozitifliği olduğu bildirilmektedir (4, 5). Soylu ve ark. (4), 7363 hastanın serum örneklerinde EBV seropozitifliğini araştırmış ve toplumumuzda EBV ile karşılaşma oranını %81 olarak tespit etmişlerdir. Aydemir ve ark. (5) alan çalışmalarında erişkin yaş grubunda EBV seropozitifliğinin %70-99,4 aralığında olduğunu belirtmişlerdir.

İmmün sistem eksikliği olan hastalarda; yetersiz immün cevap nedeniyle EBV serolojisinin yorumlanamadığı durumlarda, viral DNA varlığının ve miktarının gerçek-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile saptanması önem kazanmaktadır (3). Çalışmamızda immüsupresif hastalara ait örneklerde EBV DNA varlığı Real-Time PCR ile araştırılmış; örneklerin kliniklere göre dağılımı ve EBV DNA miktarının klinik ile ilişkisi incelenmiştir.

Çalışmamızda, Real-Time PCR yöntemi ile %4,2 (7/168) EBV DNA pozitifliği tespit edilmiştir. Niesters ve ark. (8) immüsuprese hastalarda Real-Time PCR yöntemi ile %19,2 oranında pozitiflik bildirmişlerdir. Geçgel ve ark. (9) immüsuprese hastalarda %6 (6/99) pozitiflik saptamışlardır. Çalışmamızda bulduğumuz %4,2'lik EBV DNA pozitifliğinin Geçgel ve ark. (9)'nın ülkemizde yaptığı çalışma ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda EBV DNA pozitiflik oranlarının kliniklere göre dağılımı incelendiğinde; EBV DNA pozitifliği %14,2 (1/7) ile en yüksek çocuk onkoloji servisinden gelen örneklerde saptanmıştır. EBV DNA pozitif hastanın Non-Hodgkin lenfoma tanısı aldığı görülmüştür. Bağır (10), tez çalışmasında 51'i Non-Hodgkin lenfoma, 36'sı Hodgkin lenfoma tanısı almış 87 çocuk hastada EBV insidansını araştırmış ve Non-Hodgkin lenfomalı hastalarda %27,4 oranında pozitiflik bildirmiştir. Geçgel ve ark. (9), çocuk onkoloji servisinden gelen hastalarda %8,1 (3/37) EBV DNA tespit etmişler, pozitif üç hastadan ikisinin Hodgkin lenfoma, bir hastanın malign histiositoz tanısı aldığını bildirmişlerdir. EBV ile çeşitli lenfomalar ve kanserler arasında ilişki olduğu bilinmekte ve immüsuprese hastalarda sıklıkla EBV izole edilmektedir.

Çalışmamızda yoğun bakım ünitesinden gelen örneklerde %12,5 (1/8) EBV DNA pozitifliği saptanmış, pozitif hastanın otoimmün hemolitik anemi tanısı aldığı görülmüştür. Fadeyi ve ark. (11) otoimmün hemolitik anemi ile seyreden EBV enfeksiyonu sonucunda

hayatını kaybeden bir erkek hasta olgusu bildirmişler, otoimmün hemolitik aneminin EBV enfeksiyonlarında hastalığın tedavisinden sonra ortaya çıkabileceğine, hatta relapsın habercisi olabileceğine dikkat çekmişlerdir. EBV'ün otoimmün hemolitik anemiye eşlik eden veya patogeneğinde rolü olan viral etkenler arasında olması ve pek çok çalışmada bu ilişkinin gösterilmesi nedeniyle otoimmün hemolitik anemi tanısı almış hastalarda EBV enfeksiyonu düşünülmelidir (11-13).

Çalışmamızda, çocuk gastroenteroloji servisinden gelen örneklerde %4,8 (4/42) oranında EBV DNA pozitifliği saptanmış, üç hastanın karaciğer nakli geçirdiği ve hastalarda PTLD gelişmediği görülmüştür. Ancak PTLD, EBV reaktivasyonu nedeniyle transplantasyon sonrası ortaya çıkan en yaygın malignensi olduğundan hastaların takibi devam etmektedir. Lee ve ark. (14) karaciğer nakli olmuş EBV pozitif 73 hastayı izlemiş ve karaciğer nakli olan hastalarda EBV reaktivasyonu ve buna bağlı olarak PTLD gelişimi ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Organ alıcılarında sıklıkla EBV reaktivasyonuna rastlanması ve PTLD gelişmesi, bu hastalarda EBV enfeksiyonunun düşünülmesi ve EBV bakımından düzenli olarak izlenmesi gerektiğini göstermektedir.

Çalışmamızda, çocuk gastroenteroloji servisinden gelen dördüncü hastada transplantasyondan 16 ay sonra EBV DNA tespit edilmiş, tedavi ve reenfeksiyonlarla devam eden süreçte 26. ayda hastada Burkitt lenfoma gelişmiştir, hasta tanı aldığı 4. evre olduğu görülmüştür. Hastaya kemoterapi ve asiklovir tedavisi başlanmıştır. Hastada tedavi süreci içerisinde yüksek ateş, kandidiyaz, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar gelişmiş; 25 ay sonra Burkitt lenfoma nedeniyle hayatını kaybetmiştir. Burkitt lenfoma, EBV ile ilişkisi tespit edilen ilk neoplazmdir (15-17). Taçyıldız ve ark. (18) Burkitt lenfoma tanısı almış hastalarda PCR ile %93 (28/30) EBV pozitifliği bildirmiş ve Burkitt lenfoma ile arasındaki ilişkiye dikkat çekmiştir. Yılmaz ve ark. (19) transplantasyon öncesinde serolojik olarak EBV negatif olan fakat nakilden 32 ay sonra plazma örneğinde 7×10^6 kopya/mL EBV DNA tespit edilen bir olgu bildirmişlerdir, transplantasyon sonrasında gelişen EBV reaktivasyonlarına bağlı enfeksiyonların erken tanı ve tedavisi için PCR ile izlenmesinin gerekliliğine vurgu yapmışlardır. Özkan ve ark. (20) karaciğer nakli sonrasında EBV DNA tespit edilen bir hastaya, 17 ay sonra Burkitt lenfoma tanısı konulduğu belirtmiş karaciğer nakli sonrası hastaların EBV reaktivasyonu nedeniyle düzenli izlenmesi gerektiği ve Real-Time PCR yönteminin erken tanı ve tedavideki başarısını vurgulamıştır. Çalışmamızda tespit ettiğimiz Burkitt lenfoma tanısı almış hasta-

Tablo 4. EBV DNA pozitif örneklerde tespit edilen DNA miktarı, örneklerin kliniklere ve altta yatan hastalıklara göre dağılımı

Klinik	Serum (kopya/mL)	BOS (kopya/mL)	Altta yatan hastalık	Toplam
Çocuk gastroenteroloji	1,2×10 ⁴	5,2×10 ⁴	Karaciğer nakli	4
	1,3×10 ⁴			
	5,0×10 ⁴			
	6,5×10 ⁵			
Çocuk hematoloji	1,2×10 ⁴	5,2×10 ⁴	Akut lenfoblastik lösemi	1
	4,3×10 ⁴			
Onkoloji	4,3×10 ⁴	5,2×10 ⁴	Non-hodgkin lenfoma	1
Yoğun bakım ünitesi		5,2×10 ⁴	Otoimmün hemolitik anemi	1
Toplam	6	1		7

BOS: beyin omurilik sıvısı; EBV: Epstein-Barr virus
p>0,05

nın hayatını kaybetmesi ile sonuçlanan EBV reaktivasyonu; Burkitt lenfoma ile EBV ilişkisinin gösterilmesi açısından kıymetlidir.

Çocuk hematoloji ünitesinden gelen örneklerde %4,1 (1/24) EBV DNA pozitifliği saptanmıştır. Pozitif hastanın ALL tanısı ile izlendiği dönemde EBV ye bağlı gingivostomatit ve faringotonsillit geliştiği görülmüştür. Ahmed ve ark. (21) lösemi tanısı almış pediatrik hastalarda EBV insidansını araştırdıkları çalışmalarında %36,3 (29/80) oranında pozitiflik saptamış; hastaların %79,3'ünün ALL nedeniyle tedavi alan hastalar olduğunu ve en yüksek oranda EBV pozitifliğinin ALL tanılı hastalarda görüldüğünü bildirmişlerdir. Çalışmamızda, benzer şekilde ALL tanısı ile takip edilen hastada faringotonsillit ve gingivostomatit gelişmesi ve etken olarak EBV saptanması, özellikle immünsüprese çocukların EBV reaktivasyonuna bağlı olarak ortaya çıkabilecek EBV enfeksiyonları açısından izlenmesi ve faringotonsillit, orofaranjit ve gingivostomatit olgularında EBV'ün etken olarak araştırılması gerektiğini göstermektedir.

Çalışmamızda EBV DNA miktarı, altı örnekte (%85,8) 10^4 kopya/ml (karaciğer nakli, Non-hodgkin lenfoma, ALL, otoimmün hemolitik anemi); bir örnekte (%14,2) 10^5 kopya/mL (Burkitt lenfoma) olarak tespit edilmiştir. EBV DNA miktarı ile klinik arasındaki ilişkinin anlaşılması için yapılan çeşitli çalışmalarda; Visco ve ark. (22) lösemi hastalarının yaklaşık %20'sinde $\geq 10^3$ kopya/ml EBV DNA saptamışlardır. Gartzonika ve ark. (23) 109 immün baskılanmış, yedi lenfoma ve iki AIDS hastasında EBV DNA varlığını araştırdıkları çalışmalarında; hastaların %56,7'sinde EBV DNA pozitifliği tespit edilmiş ve viral yükün 10^2 - 10^4 aralığında değiştiği bildirilmiştir. Özçay ve ark. (24) karaciğer nakli sonrası EBV enfeksiyonu gelişen hastalarda viral yükün ortalama 10^4 kopya/mL olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda immünsüprese hastalarda tespit edilen 10^4 kopya/ml EBV DNA miktarı yapılan çalışmalarla benzerlik göstermiştir.

Çalışmamızda en yüksek EBV DNA miktarı $6,5 \times 10^5$ kopya/ml ile Burkitt lenfoma tanılı bir hastada saptanmıştır. Stevens ve ark. (25) Burkitt lenfomalı hastaların serum örneklerinde EBV DNA miktarını 10^3 - 10^6 kopya/mL olarak tespit etmiştir. Tang ve ark. (26) Burkitt lenfoma hastalarında viral yükü 10^6 - 10^7 kopya/ml olarak bildirmişlerdir. Yılmaz ve ark. (21) plazma örneğinde 10^6 kopya/mL EBV DNA tespit edilen bir Burkitt lenfoma olgusu bildirmişlerdir. Çalışmamızda Burkitt lenfoma tanısı ile takip edilen hastada tespit ettiğimiz 10^5 kopya/mL EBV DNA miktarının yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüş olmakla birlikte en yüksek EBV DNA miktarı tespit edilen hastanın Burkitt lenfoma tanısı almış olması düşündürücüdür.

İmmün sistemi normal olmayan hastalarda, immün cevabın yetersiz olduğu ve EBV serolojisinin yorumlanmadığı durumlarda, moleküler yöntemlerin kullanılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (27). Çalışmamızda, EBV DNA pozitif olan hastaların sadece birinde (%17) akut enfeksiyonun göstergesi olan VCA IgM'in de pozitif olduğu görülmüştür. Real-Time PCR yöntemi ile pozitif olarak tespit edilen yedi hastadan birinde seroloji bilinmiyor, altı hastanın ise sadece birinde VCA IgM pozitifliği saptanmış olması; tarafımızca, immünsüprese hastalarda ortaya çıkan yetersiz immün cevabın bir göstergesi olarak yorumlanmıştır. Geçgel ve ark. (9) immünsüpresif hastalarda serolojik testlerin tek başına yetersiz kalabileceğini; tanının VCA-IgG avidite ve Real-Time PCR testleri ile desteklenmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamız göstermiştir ki özellikle immünsüpresif hastalarda mey-

dana gelen EBV reaktivasyonunun saptanmasında serolojik testler yetersiz kalabildiği; Real-Time PCR ise viral DNA'yı bulgular ortaya çıkmadan önce saptayabildiği ve preemtif tedaviyi mümkün kıldığı için, bu tip hastalarda kantitatif EBV DNA testi ile viral DNA'nın varlığının ve miktarının belirlenmesi ve hastanın takibi ve prognozu büyük önem taşımaktadır (14, 28, 29).

Sonuç olarak; EBV, çeşitli kanserlere neden olmakta ve organ alıcıları gibi immünsüprese hastalarda sıklıkla izole edilmektedir. İmmünsüpresif hastalarda Real-Time PCR ile EBV DNA varlığının tespit edilmesinin yanı sıra EBV DNA miktarının düzenli olarak takip edilmesi sayesinde, viremi düzeyi ve artış gösteren viral yükün saptanması, erken tanı ve klinik seyirdeki değişiklikleri değerlendirmeye yardımcı olacaktır. İmmünsüprese hastalarda Real-Time PCR ile tespit edilen EBV DNA miktarının Burkitt lenfoma olgularında yüksek titrede ($\geq 10^5$ kopya/mL) saptandığı görülmüş olup; yüksek miktarda EBV DNA tespit edilen immünsüprese hastaların Burkitt lenfoma hastalığı açısından incelenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Etik Komite Onayı: Çalışmamıza dahil edilen örnekler, hastanemizin moleküler mikrobiyoloji laboratuvarına rutin olarak gönderilen örnekler olduğu için etik kurul onayı alınmasına gerek yoktur.

Hasta Onamı: Çalışmamıza dahil edilen örnekler, hastanemizin moleküler mikrobiyoloji laboratuvarına rutin olarak gönderilen örnekler olduğu için hasta onamı alınmasına gerek yoktur.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - M.Ç.; Tasarım - A.A.K.; Denetleme - G.B.; Kaynaklar - G.B.; Malzemeler - B.D., Z.N.Ö.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - A.A.K., G.B., I.F.; Analiz ve/veya Yorum - S.Ö.; Literatür taraması - A.P.; Yazıyı Yazan - M.Ç.; Eleştirel İnceleme - G.B., A.A.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Ethics Committee Approval: Ethics Committee Approval is not obtained due to the retrospective nature of this study.

Informed Consent: Informed consent is not obtained due to the retrospective nature of this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - M.Ç.; Design - A.A.K.; Supervision - G.B.; Resource - G.B.; Materials - B.D., Z.N.Ö.; Data Collection and/or Processing - A.A.K., G.B., I.F.; Analysis and/or Interpretation - S.Ö.; Literature Search - A.P.; Writing - M.Ç.; Critical Reviews - G.B., A.A.K.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Kaynaklar

1. Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkett's lymphoma. *Lancet* 1964; 15: 702-3. [\[CrossRef\]](#)
2. Babcock GJ, Decker LL, Volk M, Thorley-Lawson DA. EBV persistence in memory B cells in vivo. *Immunity* 1998; 9: 395-404. [\[CrossRef\]](#)

3. Hess RD. Routine Epstein-Barr Virus diagnostics the laboratory perspective: Still challenging after 35 years. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3381-7. [\[CrossRef\]](#)
4. Soylu M, Zeytinoglu A, Altuglu I. 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: 119-23. [\[CrossRef\]](#)
5. Aydemir Ş, Erensoy S, Zeytinoglu A. Epstein-Barr virüsün seroprevalansı: Bir alan çalışması. *İnfeksiyon Derg* 1999; 13: 275-80.
6. Tse E, Kwong YL. Epstein Barr virus-associated lymphoproliferative diseases: the virus as a therapeutic target. *Exp Mol Med* 2015; 47: 136. [\[CrossRef\]](#)
7. Toyoda M, Moudgil A, Warady BA, Puliya DP, Jordan SC. Clinical significance of peripheral blood EBV viral load monitoring using PCR in renal transplant recipients. *Pediatr Transplant* 2008; 12: 778-84. [\[CrossRef\]](#)
8. Niesters HG, Van Esser J, Fries E, Wolthers KC, Cornelissen J, Osterhaus AD. Development of a real-time quantitative assay for detection of Epstein-Barr virus. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 712-5.
9. Karadağ Geçgel S, Ersoy A, Sevinir BB, Sınırtaş M, Göral G. Epstein-Barr Virus enfeksiyonlarının tanısında PCR sonuçlarının değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2012; 46: 594-606.
10. Bağır E. Çocukluk çağı lenfomalarında Epstein-Barr virüs insidansının araştırılması. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi. 2009.
11. Fadeyi EA, Simmons JH, Mim MRJ, Palavecino EL, Pomper GJ. Fatal autoimmune hemolytic anemia due to immunoglobulin G autoantibody exacerbated by Epstein-Barr Virus. *Lab Med* 2015; 46: 55-9. [\[CrossRef\]](#)
12. Cunningham MJ, Silberstein LE. Autoimmune Hemolytic Anemia. Hoffman R, Benz EJ, Shattil S, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P, editors. *Hematology Basic Principle and Practice*. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005.p.693-707.
13. Neff AT. Autoimmune hemolytic anemias. Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, editors. *Wintrob's Clinical Hematology*. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2004.p.1157-82.
14. Lee TC, Savoldo B, Rooney CM, Heslop HE, Gee AP, Caldwell Y, et al. Quantitative EBV viral loads and immunosuppression alterations can decrease PTLN incidence in pediatric liver transplant recipients. *Am J Transplant* 2005; 5: 2222-8. [\[CrossRef\]](#)
15. Lei KI, Chan L, Chan WY, Johnson PJ, Lo YM. Quantitative analysis of circulating cell-free Epstein-Barr virus (EBV) DNA levels in patients with EBV-associated lymphoid malignancies. *Br J Haematol* 2000; 111: 239-46. [\[CrossRef\]](#)
16. Klein G. EBV and B cell lymphomas. Medveczky PG, Friedman H, Bendinelli M, editors. *Infectious Agents and Pathogenesis*. New York: 1998.p.163-190.
17. Lamaroon A, Pongsiriwet S, Mahanupab P, Kitikamthorn R, Pingtong J. Oral non-Hodgkin lymphoma: studies of EBV and p53 expression. *Oral Dis* 2003; 9: 14-8. [\[CrossRef\]](#)
18. Taçyıldız N, Cavdar AO, Ertem U, Oksal A, Kutluay L, Uluoglu O, et al. Unusually high frequency of a 69-bp deletion within the carboxy terminus of the LMP-1 oncogene of Epstein-Barr virus detected in Burkitt's lymphoma of Turkish children. *Leukemia* 1998; 12: 1796-805. [\[CrossRef\]](#)
19. Yılmaz A, Hazar V, Akçam M, İnanc-Gurer E, Çeken K, Artan R. Burkitt's lymphoma following a pediatric liver transplantation: predictive negative value of serologic response to Epstein-Barr virus. *Turk J Pediatr* 2007; 49: 434-6.
20. Özkan EA, Özdemir BH, Akdur A, Deniz EE, Haberal M. Burkitt lymphoma after transplant: an aggressive lymphoproliferative disease. *Exp Clin Transplant* 2014; 1: 136-8.
21. Ahmed HG, Osman SI, Ashanky IM. Incidence of Epstein-Barr virus in pediatric leukemia in the Sudan. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2012; 12: 127-83. [\[CrossRef\]](#)
22. Visco C, Falisi E, Young KH, Pascarella M, Perbellini O, Carli G, et al. Epstein-Barr virus DNA load in chronic lymphocytic leukemia is an independent predictor of clinical course and survival. *Oncotarget* 2015; 6: 653-63. [\[CrossRef\]](#)
23. Gartzonika C, Vrioni G, Priavali E, Pappas G, Levdiotou S. Utility of Real-Time PCR in the Diagnosis of Primary Epstein-Barr Virus Infection. *J Med Microb Diagn* 2012; 1: 2161-0703. [\[CrossRef\]](#)
24. Özçay F, Arslan H, Bilezikçi B, Seviş Ş, Moray G, Haberal M. The role of valacyclovir on Epstein-Barr virus viral loads in pediatric liver transplantation patients. *Transplant proc* 2009; 41: 2878-80. [\[CrossRef\]](#)
25. Stevens SJ, Pronk I, Middeldorp JM. Toward standardization of Epstein-Barr virus DNA load monitoring: unfractionated whole blood as preferred clinical specimen. *J Clin Microbiol* 1998; 39: 1211-6. [\[CrossRef\]](#)
26. Tang W, Harmon P, Gulley M, Mwansambo C, Kazembe PN, Martinson F, et al. Viral Response to Chemotherapy in Endemic Burkitt Lymphoma. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 2055-64. [\[CrossRef\]](#)
27. Michalek J, Horvath R. High incidence of Epstein-Barr virus, cytomegalovirus and human herpesvirus 6 infections in children with cancer. *BMC Pediatr* 2002; 2: 1. [\[CrossRef\]](#)
28. She RC, Stevenson J, Phansalkar AR, Hillyard DR, Litwin CM, Petti CA. Limitations PCR testing for diagnosis acute EBV infections. *Diag Microbiol Infect Dis* 2007; 58: 333-5. [\[CrossRef\]](#)
29. Jabs WJ, Maurmann S, Wagner HJ, Müller-Steinhardt M, Steinhoff J, Fricke L. Time course and frequency of Epstein-Barr virus reactivation after kidney transplantation: Linkage to renal allograft rejection. *J Infect Dis* 2004; 190: 1600-4. [\[CrossRef\]](#)

Cite this article as: Çolak M, Altay Koçak A, Dalgıç B, Özkurt ZN, Fidan I, Özkan S, et al. Relationship between Epstein-Barr Virus (EBV) infection and viral load in immunosuppressive patients. *Istanbul Med J* 2018; 19: 7-13.