

---

## ÖZGÜN ARAŞTIRMA

---

# \*Epstein-Barr Virus Antikorlarının Araştırılmasında Kullanılan Paul-Bunnel Testi ve İmmünblot Yönteminin Karşılaştırılması

## *Comparison of Paul-Bunnel and Immunoblot Methods for the Investigation of Epstein-Barr Virus Antibodies*

Sanem Karadağ, Melda Sınırtaş, Güher Göröl

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa

\*Bu çalışma 14.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresinde (KLİMİK) poster olarak sunulmuştur.

---

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışma, Epstein-Barr Virus (EBV) enfeksiyonlarının serolojik tanısında laboratuvarımızda rutin olarak kullanılan Paul-Bunnel ve immünblot test sonuçlarını eş zamanlı karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmada; Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na EBV enfeksiyonu ön tanısı ile gönderilen 200 serumda Paul-Bunnel testi ile heterofil antikorlar, immünblot yöntemi ile anti-EBV antikorları araştırıldı.

**Bulgular:** İmmünblot ile akut enfeksiyon serolojisi saptanan yedi serumdan altısında Paul-Bunnel ile herhangi bir titrede pozitiflik bulunurken ( $p < 0.05$ ); Paul-Bunnel ile 1/56 ve üzerinde pozitiflik saptanan altı serumdan ikisinde ( $p > 0.05$ ) immünblot ile akut enfeksiyon serolojisi gözlemlendi. İmmünblot ile akut enfeksiyon serolojisi saptanan 0-19 yaş grubuna ait beş serumdan birinde;  $\geq 20$  yaş grubuna ait iki serumdan birinde Paul-Bunnel  $\geq 1/56$  pozitif bulundu.

**Sonuç:** Heterofil antikor testleri ile IgM izotipindeki antikorların gösterilmesi neticesinde enfeksiyonun klinik dönemi hakkında kesin yorum yapılamaması; belirli hasta ve yaş gruplarında yalancı pozitiflik veya negatiflik saptanması gibi nedenlerle tanıda spesifik antikorların araştırılması önem taşımaktadır. Sonuç olarak: özellikle 0-19 yaş grubunda Paul-Bunnel ile saptanan düşük titredeki ( $\leq 1/56$ ) pozitifliklerin ve negatif sonuçların, virüsün farklı antijenik yapılarına karşı antikor araştırılan testlerle kontrol edilmesi, heterofil antikor pozitifliği oluşturabilecek diğer enfeksiyöz/enfeksiyöz dışı nedenlerin de dikkate alınması gerektiği düşüncesindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Epstein-Barr Virus enfeksiyonu, immünblot, Paul-Bunnel

## SUMMARY

**Objective:** This study was done to compare the results of Paul-Bunnell and immunoblot tests, which are routinely used in our laboratory for the serological diagnosis of Epstein-Barr Virus (EBV) infection.

**Material and Methods:** Paul-Bunnell and immunoblot tests were simultaneously performed in 200 serum samples which were sent to the Microbiology Central Laboratory of Uludağ University Faculty of Medicine with the prediagnosis of the EBV infection.

**Results:** In six of the seven patient samples which were diagnosed as acute infection by immunoblot results, Paul Bunnell test was found to be positive at any titer (even lower titers) ( $p < 0.05$ ). However, only two of the immunoblot detected acute EBV serology was found to be positive with Paul-Bunnell at a titer of  $\geq 1/56$  ( $p > 0.05$ ). Paul-Bunnell was positive ( $\geq 1/56$ ) in one out of five patients in 0-19 age group in whom acute infection serology was detected with immunoblot, whereas one out of two patients in  $\geq 20$  age group with positive immunoblot result for acute infection had positive Paul-Bunnell test.

**Conclusion:** Investigation of the specific EBV antibodies by other methods such as immunoblot is crucial since heterophile antibody tests can only demonstrate IgM antibodies, do not give any idea about the stage of the disease and may lead to false positive and negative results in certain patients and age groups. In conclusion, it was suggested that positive results at low titer ( $\leq 1/56$ ) and negative results, especially in 0-19 age group, should be confirmed by more specific tests which investigate antibodies against different antigenic structures of the virus. Besides, heterophile antibody positivity due to other infectious and non-infectious causes should always be considered.

**Key Words:** Epstein-Barr Virus infections, immunoblot, Paul-Bunnell

## GİRİŞ

Epstein-Barr Virus (EBV), enfeksiyöz mononükleoz (EM) başta olmak üzere Burkitt lenfoma ve nazofarengeal karsinoma gibi malignitelerin de etiolojisinden sorumlu, *Herpesviridea* grubundan bir virüstür. Sero-epidemiyolojik çalışmalar, EBV enfeksiyonlarının çocukluk çağından itibaren tüm toplumlarda yaygın olduğunu göstermektedir. Avrupa'da ve ülkemizde büyük çocukların %70-80'i, erişkinlerin %80-90'ı seropozitifdir. EBV enfeksiyonu daha çok çocukluk döneminde geçirilmekte olup, bu yaş grubunda subklinik seyir gösterebilir (1).

Cytomegalovirus (CMV), Human Immunodeficiency Virus (HIV), Rubella ve *Toxoplasma gondii* enfeksiyonları ile bazı hematolojik malignitelerde de EBV enfeksiyonuna benzer klinik bulgular oluşabilmektedir. Bu nedenle EBV enfeksiyonlarının spesifik tanısı önem taşımaktadır. EM'un laboratuvar tanısı atipik lenfositlerin, heterofil antikorların, virüs antijenlerine karşı oluşan spesifik antikorların ve viral DNA'nın

saptanması ile mümkündür. Bu nedenle EBV-spesifik viral kapsid antijen (VCA), nükleer antijen (EBNA), erken antijen (EA) ve p22 antijenlerine karşı oluşan antikorların araştırılması tanıda oldukça yol göstericidir (2).

VCA IgM antikorları akut enfeksiyon göstergesidir, enfeksiyonun ilk haftası içinde ortaya çıkıp üç ay boyunca saptanırken; VCA IgG antikorları semptomların başlamasından 4-7 gün sonra ortaya çıkarak ömür boyu pozitif kalır. EBNA-1 IgG antikorları akut enfeksiyondan konvelesan döneme geçişin göstergesi olup ömür boyu saptanabilir (2,3). Kapsid antijeni p22'ye karşı oluşan antikorlar da anti-EBNA-1 antikorları gibi enfeksiyonun geç döneminde oluşur. Enfekte hücrelerin litik siklusu geçtiğinin ilk göstergesi olan anti-EA-D IgG antikorları viral replikasyon ile ilişkilidir. Enfeksiyonun üçüncü haftasında pik yapan bu antikorlar akut enfeksiyonlarda %70-80 oranında saptanabilmektedir (3,4). EA'in R komponentine karşı

oluşan antikorlar ise iyileşme döneminde ortaya çıkar (2). Virüs B lenfositlerinde ömür boyu latent olarak kalabilir ve primer enfeksiyondan sonra VCA IgM antikorları saptanamayabilir; bu dönemde özellikle anti-EA antikorlarının araştırılması gerekir (2).

Paul-Bunnel testi hastalığın ilk haftasından itibaren serumda bulunabilen, 2. ve 3. haftalarda saptanma olasılığı artan, heterofil antikorların gösterilmesinde kullanılan bir testtir. EM geçiren erişkinlerin %90'ında saptanabilen bu antikorların çocuk yaş gruplarında yeterince yükselmemesi ya da geç yükselmesi, Paul-Bunnel testinin kullanımında yaşa özgü bir kısıtlılık getirmektedir (5).

EBV majör antijenlerine karşı oluşan antikorların ELISA, immünblot gibi farklı yöntemlerle gösterilmesi EM tanısında oldukça yol göstericidir. Örneğin VCA IgM pozitifliği ile birlikte VCA IgG ve EBNA IgG negatifliği veya VCA IgM ve VCA IgG pozitifliği ile birlikte EBNA IgG negatifliği akut enfeksiyon; VCA IgG ve EBNA IgG pozitifliği ile birlikte VCA IgM negatifliği geçirilmiş enfeksiyon lehine yorumlanmaktadır. Bununla birlikte hastaların değerlendirilmesini zorlaştıran değişik serolojik sonuçlarla karşılaşabilmektedir. Bazı hastalarda VCA IgM pozitifliği, VCA IgG pozitifliğinden 1-2 hafta sonra saptanabilmekte ya da çok düşük titrelere pozitiflikler konvansiyonel tanı yöntemleriyle gösterilememektedir. Ayrıca VCA IgM pozitifliğinin uzun sürmesi ve geçirilmiş enfeksiyon göstergesi olarak kabul edilen EBNA IgG pozitifliği ile birlikte bulunması; immünsüprese hastalarda EBNA IgG'nin yapılamaması veya kaybolması gibi durumlar hastaların değerlendirilmesinde zorluk yaratmaktadır. İzole VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG pozitiflikleri veya üçünün birlikte pozitifliği şüpheli olarak kabul edilmektedir. Bu hastalarda klasik EBV serolojisinin yanı sıra VCA IgG avidite ve

floresan antikor testleri ile moleküler yöntemlerin bir arada yorumlanması gerekmektedir (5-7).

Bu çalışma EBV enfeksiyonlarının serolojik tanısında laboratuvarımızda rutin olarak kullanılan Paul-Bunnel ve immünblot test sonuçlarını karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır.

## **GEREÇ VE YÖNTEM**

Çalışmada, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na EBV enfeksiyonu ön tanısı ile gönderilen; 96'sı 0-19 yaş grubu, 104'ü ise 20 yaş ve üzerindeki hastalara ait toplam 200 serum örneğinde; Paul-Bunnel testi ile heterofil antikorlar, immünblot yöntemi ile anti-EBV antikorları araştırıldı.

**Paul-Bunnel Testi:** Heterofil antikorları saptamak amacıyla hasta serumları 56°C'lik su banyosunda 30 dakika inaktive edildikten sonra 1/7-1/1792 oranında sulandırıldı. Üzerlerine %2'lik koyun eritrosit süspansiyonu ilave edildi. Sonuçlar bir gece oda sıcaklığında bekletildikten sonra aglütinasyon titresine göre değerlendirildi. Aglütinasyon görülmeyen örnekler negatif kabul edildi; 1/56 ve üzerindeki pozitiflikler EBV enfeksiyonu lehine yorumlandı.

**İmmünblot Yöntemi:** EBV spesifik anti-VCA IgM, anti-VCA IgG, anti-EBNA ve anti-EA antikorlarını saptamak için Euroline anti-EBV-profile 2 (Euroimmun, Almanya) immünblot kiti kullanıldı. İmmünblot sonuçlarına göre seronegatif; akut enfeksiyon (anti-VCA IgM [+], anti-VCA IgG [±], anti-EBNA IgG [-], anti-EA IgG [±]); geçirilmiş enfeksiyon (anti-VCA IgM [-], anti-VCA IgG [+], anti-EBNA IgG [+], anti-EA IgG [-]) ve reaktivasyon (anti-VCA IgM [±], anti-VCA IgG [+], anti-EBNA IgG [+], anti-EA IgG [±]) olmak üzere toplam dört grup EBV serolojisi belirlendi.

Bu sınıflamaya göre hastaların eş zamanlı immünblot ve Paul-Bunnel test sonuçları karşılaştırıldı.

İstatistiksel analizlerde Ki-kare ve Mc Nemar testi kullanıldı.

## BULGULAR

İmmünblot yöntemi ile olguların %64.5'inde geçirilmiş enfeksiyon, %3.5'inde akut enfeksiyon serolojisi gözlenirken; Paul-Bunnel testi ile olguların %51.5'inde negatif; % 48.5'inde herhangi bir titrede ve %3'ünde ise  $\geq 1/56$  pozitiflik saptandı (Tablo 1).

İmmünblot ile akut enfeksiyon serolojisi saptanan yedi serumdan altısında Paul-Bunnel ile herhangi bir titrede pozitiflik bulunurken ( $p < 0.05$ ); Paul-Bunnel ile  $1/56$  ve üzerinde pozitiflik saptanan altı serumdan ikisinde immünblot ile akut enfeksiyon ( $p > 0.05$ ), ikisinde geçirilmiş enfeksiyon ( $p > 0.05$ ), birinde reaktivasyon ( $p > 0.05$ ) serolojisi gözlemlendi. İmmünblot ile akut enfeksiyon serolojisi saptanan bir olguda Paul-Bunnel  $1/448$ , geçirilmiş enfeksiyon serolojisi saptanan bir olguda ise  $1/112$  titrede pozitif bulundu (Tablo 1).

İmmünblot ile saptanan değişik serolojik profillere göre Paul-Bunnel sonuçlarının dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir. İmmünblot ile akut

enfeksiyon serolojisi belirlenen ve Paul-Bunnel sonucu EBV enfeksiyonu lehine yorumlanan ( $1/56$  ve  $1/448$  pozitif ) iki hastada VCA IgM ve VCA IgG pozitifliği ile birlikte EBNA IgG negatifliği saptandı. İmmünblot sonucuna göre geçirilmiş EBV enfeksiyonu olarak değerlendirilen iki hastanın birinde Paul-Bunnel  $1/56$ , diğerinde  $1/112$  titrede pozitif bulundu (Tablo 2).

İmmünblot ve Paul-Bunnel sonuçlarının yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 3'te gösterilmiştir.

İmmünblot ile akut enfeksiyon serolojisi saptanan, 0-19 yaş grubuna ait beş serumdan birinde;  $\geq 20$  yaş grubuna ait iki serumdan birinde Paul-Bunnel  $\geq 1/56$  pozitif bulundu (Tablo 3). Paul-Bunnel pozitifliği 0-19 yaş grubundaki hasta için  $1/56$ ,  $\geq 20$  yaş grubunda bulunan hasta için  $1/448$  olarak belirlendi.

## TARTIŞMA

EBV enfeksiyonlarının tanısında araştırılan heterofil antikorlar, sağlıklı insan serumunda  $1/56$  titreye kadar bulunabilmekte; EBV ön tanıı erişkin hastaların %10'unda, çocukların ise büyük bir kısmında bu antikorların oluşmadığı bildirilmektedir (8,9). Ayrıca serum hastalığı, bazı viral ve paraziter enfeksiyonlarda saptanan heterofil antikor pozitifliği nedeniyle EBV enfeksiyonlarının tanısında spesifik serolojik testlerle

**Tablo 1.** Paul-Bunnel ile immünblot test sonuçlarının karşılaştırılması

Paul-Bunnel	İmmünblot				
	Seronegatif	Akut enfeksiyon	Geçirilmiş enfeksiyon	Reaktivasyon	Toplam
Negatif	11	1	77	14	<b>103 (%51.5)</b>
$1/7$ pozitif	5	2	28	16	51
$1/14$ pozitif	7	2	15	5	29
$1/28$ pozitif	1	-	7	3	11
$1/56$ pozitif	1	1	1	1	4
$1/112$ pozitif	-	-	1	-	1
$1/448$ pozitif	-	1	-	-	1
<b>Toplam</b>	<b>25 (%12.5)</b>	<b>7 (%3.5)</b>	<b>129 (%64.5)</b>	<b>39 (%19.5)</b>	<b>200</b>

**Tablo 2.** Değişik immünblot profilleri ile Paul-Bunnel sonuçlarının karşılaştırılması

Paul-Bunnel	İmmünblot Serolojisi							
	Seronegatif	Akut enfeksiyon			Geçirilmiş enfeksiyon	Reaktivasyon		
	VCA IgM (-)	VCA IgM (+)	VCA IgM (+)	VCA IgM (+)	VCA IgM (-)	VCA IgM (+)	VCA IgM (+)	VCA IgM (-)
	VCA IgG (-)	VCA IgG (+)	VCA IgG (-)	VCA IgG (+)	VCA IgG (+)	VCA IgG (+)	VCA IgG (+)	VCA IgG (+)
	EBNA IgG (-)	EBNA IgG (-)	EBNA IgG (-)	EBNA IgG (-)	EBNA IgG (+)	EBNA IgG (+)	EBNA IgG (+)	EBNA IgG (+)
	EA IgG (-)	EA IgG (-)	EA IgG (-)	EA IgG (+)	EA IgG (-)	EA IgG (+)	EA IgG (-)	EA IgG (+)
Negatif	11 (%5.5)	1 (%0.5)	-	-	77 (%38.5)	2 (%1)	7 (%3.5)	5 (%2.5)
1/7 pozitif	5 (%2.5)	2 (%1)	-	-	28 (%14)	1 (%0.5)	6 (%3)	9 (%4.5)
1/14 pozitif	7 (%3.5)	-	1(%0.5)	1(%0.5)	15 (%7.5)	-	3 (%1.5)	2 (%1)
1/28 pozitif	1 (%0.5)	-	-	-	7 (%3.5)	1 (%0.5)	1 (%0.5)	1 (%0.5)
1/56 pozitif	1 (%0.5)	1 (%0.5)	-	-	1 (%0.5)	-	-	1 (%0.5)
1/112 pozitif	-	-	-	-	1(%0.5)	-	-	-
1/448 pozitif	-	1 (%0.5)	-	-	-	-	-	-

doğrulama yapılması gerekmektedir. Heterofil antikor testleri ile IgM izotipindeki antikorların gösterilmesi neticesinde enfeksiyonun klinik dönemi hakkında kesin yorum yapılamaması; belirli hasta ve yaş gruplarında yalancı pozitiflik veya negatiflik saptanması gibi nedenlerle tanıda spesifik antikorların araştırılması önem taşımaktadır (8-11). Çalışmamızda immünblot ile akut enfeksiyon serolojisi saptanan ve çocuk yaş grubunda (0-19 yaş) yer alan beş hastadan birinde (%20) Paul-Bunnel 1/56, erişkin yaş grubundaki ( $\geq 20$  yaş) iki hastadan birinde (%50) ise 1/448 titrede pozitif bulundu (Tablo 2,3).

İmmünblot ve Paul-Bunnel ile saptanan uyumsuz sonuçlar hastaların klinik tanılarıyla beraber değerlendirildiğinde; çocuk yaş grubunda (11 yaş) bulunan bir hastada immünblot serolojisine göre akut enfeksiyon saptanırken, Paul-Bunnel negatif bulunmuştur. X'e bağlı lenfoproliferatif hastalık tanı-

sıyla Çocuk İmmünoloji Bölümünde takipte olan hasta EBV enfeksiyonu tanısı almıştır (Tablo 2,3).

İmmünblot ile akut enfeksiyon serolojisi, Paul-Bunnel ile 1/7 pozitiflik saptanan iki hasta ALL ve viral hepatit tanıları almıştır (Tablo 2,3).

İmmünblot ile akut enfeksiyon serolojisi, Paul-Bunnel ile 1/14 pozitiflik saptanan iki çocuk hastanın birinde EBV enfeksiyonu bulunurken, diğeri Non Hodgkin Lenfoma tanısı almıştır (Tablo 2,3).

Paul-Bunnel ile anlamlı titrede pozitiflik ( $\geq 1/56$ ) saptanan üç hastanın ikisi immünblot serolojisine göre geçirilmiş enfeksiyon, biri reaktivasyon olarak değerlendirilmiştir. Bu hastaların ikisi çocuk yaş grubunda olup nefrotik sendrom ve alerjik purpura tanılarıyla o dönem takip edilmiş, solunum yolu enfeksiyonu saptanmamıştır. Erişkin yaş grubunda olan bir has-

**Tablo 3.** Farklı yaş gruplarında EBV seroloji sonuçlarının karşılaştırılması

İmmünblot	Paul-Bunnel testi			
	0-19 yaş		$\geq 20$ yaş	
	Negatif/<1/56 pozitif	$\geq 1/56$ pozitif	Negatif/<1/56 pozitif	$\geq 1/56$ pozitif
Seronegatif	20	1	4	-
Akut enfeksiyon	4	1	1	1
*Geç enfeksiyon	52	2	75	-
Reaktivasyon	16	-	22	1

\*Geç: geçirilmiş enfeksiyon

ta ise kronik hepatit B tanısıyla takip edilmiştir (Tablo 2,3).

Paul-Bunnel ile 1/56 dilüsyonda pozitiflik saptanan altı yaşındaki çocuk hastada immünblot ile seronegatiflik bulunmuştur. Hasta akut üst solunum yolu enfeksiyonu tanısı almıştır (Tablo 2,3).

EBV ile enfekte olguların yaklaşık 2/3'ünde anti-EA antikorlarının saptanması, anti-EBNA antikorlarının ise genellikle nekahat döneminde ortaya çıkması nedeniyle bu antikorların yeni enfeksiyonların tanısındaki yeri kısıtlıdır. Ancak anti-VCA antikorları olguların %90-94'ünde saptanabilmektedir (12). Çalışmamızda immünblot ile akut enfeksiyon serolojisi belirlenen ve anlamlı ( $\geq 1/56$ ) Paul-Bunnel pozitifliği bulunan iki serum örneğinde de VCA IgM, VCA IgG ve EA IgG pozitifliği ile birlikte EBNA IgG negatifliği saptandı. Paul-Bunnel pozitifliği 1/14 olan ve immünblot ile akut enfeksiyon serolojisi belirlenen 2 serumun birinde ise sadece VCA IgM pozitif bulundu (Tablo 2).

EBV latent enfeksiyon oluşturan bir virüstür. Ülkemizde yetişkin popülasyonun %80-95'inde EBV seropozitifliği mevcuttur (2,13). Bu yüzden transplant alıcıları veya onkoloji hastaları gibi özellikle immünsüpresif hasta gruplarında EBV reaktivasyonunun gösterilmesi önem taşımaktadır (5,14). Çalışmamızda immünblot ile reaktivasyon serolojisi saptanan 39 serumdan sadece birinde ( $\geq 20$  yaş) Paul-Bunnel 1/56 titrede pozitif bulundu (Tablo 2).

Renal transplantasyon yapılan ve CMV enfeksiyonu saptanan çocuklarda EBV, rubella ve Varicella Zoster Virus (VZV) antikor titrelerinin yükseldiği gösterilmiştir (15). Ayrıca büyük çocuklarda EBV enfeksiyonu sonrası veya sonrasında Herpes Simplex Virus (HSV), VZV, CMV, kızamık ve rubella antikorlarının arttığı bildirilmiştir (16-19). Bu çalışmada, EBV enfeksiyonu

ön tanısı ile laboratuvarımıza gönderilen serum örneklerinde Paul-Bunnel ve immünblot testleri bir kez çalışılmış olup takip eden örneklerde serokonversiyon/titre artışı kontrol edilmemiş ayrıca diğer etkenlere ait antikorlar da araştırılmamıştır. Bu nedenle EBV serolojisinin yorumlanmadığı olgularda testlerin belirli aralıklarla tekrarlanması; başta CMV olmak üzere diğer etkenlere ait antikorların araştırılması; özellikle belirli hasta gruplarında immünfloresan yöntem, EBV-VCA IgG avidite testi ve polimeraz zincir reaksiyonu ile tanının doğrulanması yol gösterici olabilir (20,21).

Sonuç olarak özellikle 0-19 yaş grubunda Paul-Bunnel ile saptanan düşük titredeki ( $\leq 1/56$ ) pozitifliklerin ve negatif sonuçların belirli aralıklarla tekrarlanarak, virüsün farklı antijenik yapılarına karşı antikor araştırılan testlerle kontrol edilmesi; tüm yaş gruplarında heterofil antikor pozitifliği oluşturabilecek diğer enfeksiyöz/enfeksiyöz dışı nedenlerin de dikkate alınması gerektiği düşüncesindeyiz.

### İletişim / Correspondence

Sanem Karadağ  
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
16059 Nilüfer/Bursa  
e-mail: sanemkaradag@yahoo.com

### Kaynaklar

1. Arman D. Epstein-Barr virüsü. In: Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, eds. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2.Baskı. İstanbul: Nobel Kitapevi, 2002:1197-201.
2. Fidan I, Yüksel S, İmir T. The investigation of Epstein-Barr virus antibodies in different age groups. İnfekt Derg 2005; 19:453-6.
3. Leogrande G, Jirillo E. Studies on the epidemiology of child infections in the Bari area (South Italy).VII. Epidemiology of Epstein-Barr infections. Eur J Epidemiol 1993; 9:368-72.

4. Vardar F. EBV. *Güncel Pediatri Dergisi* 2008; 6:62-5.
5. Nystad T, Myrnes 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; 38:292-7.
6. Paschale M, Agrappi C, Manco M, Mirri P, Vigano E, Clerici P. Seroepidemiology of EBV and interpretation of the 'Isolated VCA IgG' pattern. *J Med Virol* 2009; 81:325-31.
7. Hess R. Routine Epstein-Barr Virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. *J Clin Microbiol* 2004; 42:3381-7.
8. 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.
9. 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.
10. Fleisher GR, Collins M, Fager S. Limitations of available tests for diagnosis of infectious mononucleosis. *J Clin Microbiol* 1983; 17:619-24.
11. Nikoskelainen J, Hanninen P. Antibody response to Epstein-Barr virus in infectious mononucleosis. *Infect Immun* 1975; 11:42-51.
12. Ağaçfıdan A, Bozacı M, Badur S. Epstein Barr virusu infeksiyonlarının tanısında kullanılan serolojik yöntemlerin değerlendirilmesi. *Klinik Derg* 1991; 3:133-5.
13. Topkaya A, Aksungar F, Özakkaş F, Akıncı N. An Infectious mononucleosis case. *J Med Sci* 2007; 27:279-81.
14. Gatner BC, Hess RD, Bandt D, et al. Evaluation of four commercially available Epstein-Barr Virus enzyme immunoassays with an immunofluorescence assay as the reference methods. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10:78-82.
15. O'Neill HJ, Shirodaria PV. Virus-specific antibodies to Epstein-Barr virus, varicella-zoster virus and rubella virus in renal transplant patients with cytomegalovirus infections. *J Infect* 1992; 24:301-9.
16. Haukenes G, Viggen B, Boye B, Kalvenes MB, Flo R, Kalland KH. Viral antibodies in infectious mononucleosis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1994; 8:219-24.
17. Evans AS. Infectious mononucleosis and related syndromes. *Am J Med Sci* 1978; 276:325-39.
18. Miendje DY, Goubau P, Bodéus M. False-positive IgM antibody tests for cytomegalovirus in patients with acute Epstein-Barr Virus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19:557-60.
19. Karner W, Bauer G. Activation of a varicella-zoster virus-specific IgA response during acute Epstein-Barr virus infection. *J Med Virol* 1994; 44:258-62.
20. Bauer CC, Aberle S, 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; 75:54-8.
21. Chan KH, Ng MN, Seto WH, Peiris JSM. Epstein-Barr virus (EBV) DNA in sera of patients with primary EBV infection. *J Clin Microbiol* 2001; 39:4152-4.