

Basıldığında KONTROLSUZ KOPYA niteliğindedir.



ULUSAL MİKROBİYOLOJİ STANDARTLARI (UMS)

Kabakulak Enfeksiyonunun Mikrobiyolojik Tanısı

Hazırlayan Birim	Klinik Viroloji Tanı Standartları alışma Grubu
Onaylayan Birim	Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
Kategori	Viroloji
Bölüm	Mikrobiyolojik Tanımlama
Standart No	V-MT-06
Sürüm No	1.1
Onay tarihi	01.01.2015
Geçerlilik tarihi	01.01.2018

Sürüm no	Tarih	Değişiklik

İÇİNDEKİLER

KAPSAM VE AMAÇ.....	3
KISALTMALAR VE TANIMLAR	3
GENEL BİLGİ	3
Hastalığın önemi.....	3
Virüsün özellikleri	3
Klinik özellikleri	4
Korunma.....	4
Laboratuvar tanısı.....	5
TEKNİK BİLGİLER	6
1 Hedef mikroorganizma	6
2 Tanı için asgari laboratuvar koşulları	6
3 Kabakulak tanısında kullanılan Tanı teknikleri.....	8
4 Test sonuçlarının yorumu, raporlama, bildirim	10
5 Olası sorunlar/kısıtlılıklar.....	11
İLGİLİ DİĞER UMS BELGELERİ.....	12
KAYNAKLAR.....	12

Kapsam ve Amaç

Kabakulak genellikle çocukluk yaş grubunda, parotis bezlerinin şişmesi ile karakterli ve tanısı yaygın olarak klinik bulgular temelinde konan bir viral enfeksiyondur. 2000'li yılların ortalarından itibaren ülkemizde sürveyans kapsamına alınmış; bildirim zorunlu hastalıklar listesine ve rutin ulusal aşılama programına dahil edilmiştir. Sürveyans laboratuvar tanısı gerektirmektedir (1,2). Hastalığın görülme sıklığının azalmasına paralel olarak laboratuvar tanısının önem kazanacağı da öngörülmektedir. Bu çerçevede, bu UMS belgesinde kabakulak tanısı için güncel ve geçerli yöntem ve yaklaşımların verilmesi hedeflenmiştir.

Kısaltmalar ve Tanımlar

- MEM** Minimum Essential Medium
MMR Measles-Mumps-Rubella (aşısı)
SH Small hydrophobic (küçük hidrofobik)

Genel Bilgi

Hastalığın önemi

Kabakulak genellikle parotis olmak üzere bir veya daha fazla tükürük bezinin şişmesi ile karakterize akut viral bir hastalıktır. Bütün dünyada görülür. Aşılama programı uygulanmayan ülkelerde kabakulak daha çok 5-9 yaş grubunu etkileyen bir çocukluk çağı hastalığıdır; çocuklarda aseptik menenjit ve sensörinöral sağırliğin, askeri personel arasında ise salgınların en sık nedenlerinden biridir (3,4). Ilıman iklimlerde kış sonu ve bahar aylarında pik yapar. Aşılama programı uygulanan bölgelerde artık mevsimsel özellik göstermediği, sporadik vakaların ve salgınların yıl boyunca meydana geldiği bildirilmektedir (5,6).

Kabakulağı halk sağlığı açısından önemli kılan özelliği salgınlar ile seyredebilmesi ve neden olduğu komplikasyonlardır. Kabakulak enfeksiyonu orşit, ooforit, menenjit ve işitme kaybı gibi ciddi komplikasyonlara sebep olabilir. Konjenital anomali ile ilişkili değildir, ancak kabakulağın gebeliğin ilk üç ayında spontan abortus riskini artırdığı (%25) bilinmektedir. Komplikasyonlar parotite eşlik edebilir veya parotit olmadan da ortaya çıkabilirler (7,8).

Virüsün özellikleri

Kabakulak enfeksiyonuna neden olan etken *Paramyxoviridae* ailesi içinde *Rubulavirus* cinsine ait kabakulak (mumps) virüsüdür. Aynı virüs ailesi içinde insan parainfluenza virüsleri de yer alır. Bu tek sarmal RNA virüsü, ısı (>50°C), UV ışık, asit pH, eter, kloroform ve formol ile kolayca inaktive olur (9).

Bütün parotit vakaları kabakulak enfeksiyonuna bağlı değildir. Özellikle sporadik vakalarda parainfluenza virüs tip 1 ve 3, influenza A virüs, Epstein-Barr virüs, coxsackie A virüs, echovirüs, HIV, lenfositik koryomenenjit virüs gibi birçok virüs etken olabilir ve ayırıcı tanı açısından önem kazanırlar. Parotit ilaçlar, tümörler, metabolik bozukluklar (şeker hastalığı, siroz), immünolojik hastalıklar ve tükürük bezi kanalı tıkanıklığı gibi bulaşıcı olmayan sebeplerle de meydana gelebilir. Ancak, epidemik parotite sadece kabakulak virüsü neden olur. (3,10)

İnsanlar kabakulak virüsü için tek konaktır. Virüs solunum damlacıklarının solunması veya solunum sekresyonlarına direkt temas sonucu bulaşır. Kabakulak kızamık ve suçiçeğine göre daha az bulaşıcı olsa da duyarlı bireyler arasında hızla yayılabilir; ilk kez karşılaştıklarında duyarlı bireylerin %85'i enfekte olur (9).

Klinik özellikleri

Kabakulak virüsü parotitin başlamasından önceki 7 gün ve sonraki 9 gün boyunca tükürükten izole edilebilir. Ancak en bulaşıcı dönem parotit başlamasından önceki 2 gün ile sonraki 5 gün arasındadır. Asemptomatik veya atipik enfeksiyonu olan kişiler de virüsü bulaştırabilir.

İnkübasyon süresi genellikle 16-18 gündür (12-25 gün). Hastalık birkaç gün süren düşük ateş, baş ağrısı, kas ağrısı, iştahsızlık ve halsizlik gibi genel semptomlarla başlar. Kabakulak enfeksiyonunun tipik belirtisi olan parotit vakaların %30-65'inde gelişir ve çoğunlukla çift-tarafli olup bazen tek taraflidir. Hastalık genellikle 7-10 günde iyileşir. Çocuklarda kabakulak enfeksiyonlarının yaklaşık %50'sinde sadece genel belirtiler veya solunum yolu belirtileri görülür. Kabakulak enfeksiyonlarının %30 kadarı ise asemptomatik seyreder (3,7).

Komplikasyonlar, çocuklara göre erişkinlerde daha fazla görülür. Orşit puberte sonrası erkeklerin %20-30'unda genellikle tek tarafli oluşur. Testiküler atrofi olabilir, ancak sterilite nadirdir. Ooforit puberte sonrası kadınların %7'sinde gelişir. Semptomatik aseptik menenjit vakaların yaklaşık %15'e varan kadarında oluşur. Prognozu iyidir. Geçici sağırılık %4 oranında bildirilmiştir.

Gebeliğin ilk üç ayında geçirilen enfeksiyon spontan abortus riskini artırır. Diğer nadir komplikasyonlar ensefalit, pankreatit, miyokardit, mastit, poliartrit, tiroidit, nefrit ve kalıcı işitme kaybıdır (7,8).

Korunma

Kabakulak, aşıyla önlenabilir viral bir hastalıktır. Kabakulak aşısı canlı, atenüe bir aşı olup kabakulak virüsünün Jeryl-Lynn suşunu içerir ve uygulamada 'kızamık-kabakulak-kızamıkçık' (MMR) aşısının bir bileşenidir. Yeterli bağışıklık için iki doz MMR aşısı (ilk doz 12. ayda ve ikinci doz 4-6 yaşta, ilkokula girişte) uygulanır. Ülkemizde MMR aşısı 2006 yılından beri ulusal bağışıklama programı kapsamında uygulanmaktadır (11).

Klinik çalışmalar MMR aşısı için %95 koruyucu etkinlik bildirmiştir ve uzun süreli bağışıklık gelişir. Ancak, kabakulak salgınlarına dayalı bazı araştırmalar da aşının tek doz için ortalama %78 (%49-91) ve iki doz için ortalama %88 (%66-95) ile daha düşük etkinlik oranları olduğunu göstermiştir (3,12).

Aşılama kabakulak insidansını azaltmıştır, ancak yüksek aşılama oranlarının olduğu toplumlarda bile muhtemelen aşı başarısızlığına bağlı kabakulak salgınları (belirli bir bölgede ve sürede ≥ 3 vaka) ortaya çıkmaktadır (13). Kabakulak vakaları parotis şişliğinin başlamasından sonraki 5 gün süreyle izole edilmeli, okul, kreş veya işe gitmemelidir.

Laboratuvar tanısı

Kabakulağın klinik tanısı güvenilir değildir; tanının özellikle eğer parotit ile seyretmeyen şüpheli olgularda laboratuvar testleri ile doğrulanması gerekir.

Tanıda seroloji ilk seçenektir; kolay uygulanabilir. Bu amaç için en yaygın kullanılan test ise ELISA'dır. ELISA hem IgM hem de IgG için yaygın bir şekilde kullanılır ve kabakulak tanısında diğer serolojik yöntemlerden daha duyarlıdır.

Virüs nötralizasyon testi, kompleman fiksasyon, IFA ve hemagglütinasyon-inhibisyon testleri gibi diğer serolojik testler özgüllük ve duyarlılıkları düşük olduğundan dolayı artık yaygın olarak kullanılmamaktadırlar. Ayrıca nötralizasyon testi IgG ve IgM antikörlerini ayırt edemez.

IgM antikörleri hastalığın ilk birkaç günü içinde saptanabilir düzeylere yükselir. Ancak, kabakulak aşısının (MMR veya diğer) herhangi bir dozunu almış kişilerde IgM hiç görülmeyebilir veya kısa sürede kaybolabilir. Bu nedenle serum olabildiğince semptomları takip eden en erken dönemde alınmalıdır; bu serum IgM için ya da IgG serokonversiyon için akut faz serum olarak kullanılır. Konvalesan faz serumunun da 2 hafta sonra alınması önerilir (14).

Serolojik test sonuçlarının negatif bulunması, özellikle aşıli bireylerde, hastalığın tanısından uzaklaştırmamalıdır, çünkü testler yeterince duyarlı değildir ve semptomatik her vakanın enfeksiyonu saptanamayabilir. Bununla birlikte, diğer tanı olanaklarının yokluğunda (ve sürveyans kriterlerine göre) eğer vaka, *standart vaka tanımının* klinik kriterlerini karşılıyorsa **olası**, ya da epidemiyolojik olarak başka bir vaka ile ilişkili ise **kesin** vaka şeklinde rapor edilir (14,15).

Tanıda virüsün kültürlerden izolasyonu ve nükleik asidinin amplifikasyonu (RT-PCR) yöntemleri de kullanılabilir. Kabakulak virüsünün özellikle hastalığın ilk döneminde çeşitli klinik örneklerden (bukkal sürüntü, boğaz sürüntüsü, idrar, BOS gibi) izolasyonu mümkündür. Bu örneklerden PCR ile viral nükleik asitler de saptanabilir. Öncelikle tercih edilen örnek, parotis bezinin veya etkilenmiş diğer tükürük bezinin kanal ağzından eküvyon ile alınan sürüntü örneğidir. Maksimum viral yayılım, genel olarak kabakulak başladıktan hemen önce ve sonraki ilk 3 gün içinde ortaya çıkar, sonraki günlerde kabakulak virüsünü tespit oranı önemli ölçüde azalır. Duyarlılık belirtilerinin başlamasından 7 gün sonra hızla düşerse de aşılammamış kişilerde 9. güne kadar izole edilebilir.

Hücre kültüründe virüsün izolasyonu kabakulak tanısı için 'altın standart' kabul edilir. Hücre kültüründe kabakulak izolasyon oranı RT-PCR testine göre düşüktür. Ancak RT-PCR testine göre yalancı pozitif sonuç ihtimali daha azdır.

Akut kabakulak enfeksiyonu tanısı için gerçek-zamanlı RT-PCR en duyarlı yöntemdir (7). RT-PCR özellikle önceden aşıli kabakulak şüphesi olan vakalarda tanı için en uygun testtir (16,17). RT-PCR bukkal sürüntü, boğaz sürüntüsü ve BOS örneklerinin incelenmesinde hücre kültürüne göre daha duyarlıdır. İdrar ve kan örneklerinde duyarlılık çok düşüktür.

Teknik Bilgiler

1 Hedef mikroorganizma

Kabakulak virüsü

2 Tanı için asgari laboratuvar koşulları

2.1. Laboratuvar güvenliği

Kabakulak şüpheli enfeksiyonların tanısı asgari BGD2 laboratuvar şartlarında gerçekleştirilmelidir. Bütün klinik örnekler enfeksiyöz kabul edilmeli, daima standart önlemler uygulanmalı ve önlemler risk değerlendirmesi ile de desteklenmelidir. Aerosol oluşturması muhtemel tüm laboratuvar çalışmaları sertifikalı bir sınıf-IIA BGK içinde yapılmalıdır (ayrıca bkz. "Ulusal Laboratuvar Güvenliği Rehberi"). Serum ayırma ve testlerin çalışılması sırasında **daima** eldiven giyilmelidir

2.2. Sorumluluklar ve asgari personel gerekleri

Bu UMS'yi kullanacak laboratuvar personeli; (i) teknikleri uygulamadan önce, amaçlanan kullanım ile ilgili eğitim almış olmalı; (ii) uygulamaya tüm yönleriyle aşina olmalı, ve; (iii) daima tüm laboratuvar güvenlik kurallarına uymalıdır. Testlerin prosedürlere uygun gerçekleştirilmesinden ve tanının doğruluğu ve güvenilirliğinden Mikrobiyoloji Uzmanı sorumludur.

2.3. Örnek, Reaktif, Kit, Donanım

Serolojik inceleme için örnekler

- Akut faz serum örneği
 - (a) Kabakulak IgM antikorlarını tespit için kullanılır.
 - (b) **Aşılanmamış** vakalarda parotit başlangıcından sonraki 5 gün içinde alınır. **Aşılı** vakalarda IgM tespiti için parotit başlamasından ≥ 10 gün sonra alınmasının daha uygun olduğu bildirilmiştir. Ancak aşılanmış kişilerde örnek alma zamanına bağlı olmaksızın tespit edilebilir IgM antikoruna olmayabilir (14).
 - (c) IgM negatif olması durumunda akut faz serum örneği saklanarak en az 14 gün sonra alınacak ikinci serum örneği ile birlikte kabakulak IgG antikoruna için test edilir.
 - (d) Akut faz serum örneği IgM pozitif ise, konvalesan faz örneği gerekli değildir ve kabakulak tanısı konur.
- Konvalesan faz serum örneği
 - (a) IgM test sonucu negatif veya belirsiz ise IgM antikor testini tekrarlamak ve konvalesan IgG antikor titresini test için ilk örneğin alınmasından en az 14 gün sonra konvalesan serum örneği alınır.

Hücre kültürü veya RT-PCR için örnekler

- Bukkal sürüntü örneği (yanak mukozası sürüntü örneği)
 - (a) Virüsün PCR ile tespiti veya kültürden izolasyonu için en iyi örnektir.
 - (b) Bukkal sürüntü ideal olarak parotit başlangıcından sonraki 3 gün içinde alınmalı ve 9 günü geçmemelidir. Aşılı kişilerde, bukkal sürüntü örnekleri kabakulak başlangıcından sonraki 3 gün içinde alınmalıdır.
 - (c) Bukkal sürüntü alınmadan önce parotis bezi bölgesine (kulağın ön ve altındaki bölge) yaklaşık 30 saniye masaj yapılmalıdır. Daha sonra üst ikinci molar dişe yakın yanak mukozasından sürüntü alınır. Parotis kanalı (Stensen kanalı) bu alana drene olur.
 - (d) Bukkal sürüntü bir sentetik eküvyon (dakron, rayon, 'flocked' vb.) eküvyon ile alınmalıdır. Eküvyon 2-3 mL VTM, MEM veya Hanks dengeli tuz çözeltisine veya PBS'ye konur.
- Boğaz sürüntüsü (orofarinks veya nazofarinks sürüntüsü)
 - (a) Orofarinks veya nazofarinks sürüntüsü alınabilir ve bukkal sürüntü ile birlikte gönderilebilir.
 - (b) Boğaz sürüntüsü 2-3 mL VTM veya steril PBS'ye konur.
- İdrar örneği
 - (a) Duyarlılık oldukça düşüktür; eğer diğer örnekler alınamadıysa idrar alınabilir. Hastanın hem bukkal sürüntü örneği hem de idrar örneği gönderilmiş ise, sadece sürüntü örneği test edilir.
 - (b) Tercihen hastalığın ilk 5 gününde olmak üzere 14. güne kadar alınabilir. ~10 mL kadar idrar örneği vida-kapaklı steril bir kap içine toplanır.
- BOS örneği
 - (a) Menenjit veya ensefalitli vakalarda ilk üç gün içinde 1-2 mL BOS steril bir kap içine alınır (3,18).
- Örnekler soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Örneklerle birlikte mutlaka gerekli bütün bilgileri içeren test istem formu da laboratuvara gönderilmelidir. Biyolojik materyal taşıma şartlarına uygun gönderilmemiş örnekler laboratuvara kabul edilmez (19).
- İnceleme örneklerinin seçimi, özellikleri, alınması, gönderilmesi ve laboratuvara kabulü ile ilgili kriterler ve bilgi için ayrıca "Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısı için Saha Rehberi"ne başvurulmalıdır.

Reaktif/Besiyeri

- Kabakulak IgM ELISA, veya IgM "capture" ELISA
- Kabakulak IgG ELISA, veya IgG ELISA (kantitatif)
- BOS'un serolojik incelenmesi için uygun ELISA kiti
- Kabakulak gerçek zamanlı RT-PCR kiti
- VTM, MEM, veya Hanks dengeli tuz çözeltisi
- Hücre kültürü hücreleri

Diğer gereç, donanım

- ELISA okuyucu, yıkayıcı

Hücre kültürü laboratuvarı altyapısı ve donanımı;

- İvert mikroskop
- Biyogüvenlik kabini
- -80°C derin dondurucu, sıvı azot tankı

PCR için gereç, donanım;

- En az üç ayrı oda - nükleik asit ekstraksiyonu, PCR karışımının hazırlanması, amplifikasyonun ve sonuç gözetiminin yapılabileceği ayrı odalar. İdeal olarak PCR karışımı hazırlama odası (temiz oda) pozitif basınçlı, agaroz jel elektroforezi yapılan oda (kirli oda) negatif basınçlı havalandırmaya sahip olmalıdır.
- Cihazlar – biyogüvenlik kabini, soğutmalı mikrosantrifüj, hassas terazi, vorteks, su banyosu, yatay çalkalayıcı, mikrodalga fırın, otomatize / yarı otomatize nükleik asit ekstraksiyon sistemleri, ve nükleik asit amplifikasyon cihazı, jel görüntüleme sistemi, elektroforez ünitesi vb.

2.4. Kalite kontrol

- Her testte iç kalite kontrol amacıyla en az bir pozitif ve bir negatif kalite kontrol serumu çalışmaya dahil edilir.
- Eksternal kalite kontrol testleri belirli aralıklarla çalışılarak sonuçları değerlendirilir.
- Nükleik asit testlerinde ekstraksiyonun ve amplifikasyonun verimliliği ve inhibitör olup olmadığını anlamak için internal kontrol, izolasyon basamağından itibaren hasta örneği ile birlikte aynı reaksiyon tüpünde amplifiye edilmelidir.

3 Kabakulak tanısında kullanılan Tanı teknikleri

3.1. Seroloji

- Kabakulak tanısı için en yaygın kullanılan serolojik test ELISA IgM ve ELISA IgG (kalitatif veya kantitatif) testidir (3,20).
- Aşılanmamış vakalarda primer enfeksiyon tanısında kabakulak spesifik IgM antikorlarının tespit oranı çok yüksektir (%80-100) ve akut enfeksiyon tanısı için kullanılır (21).
- Aşılanmamış vakalarda IgM belirtilerin başlamasından sonra 5 gün içinde tespit edilebilir. Kabakulak IgM 1 hafta sonra pik düzeye erişir, haftalarca ve aylarca yüksek kalabilir.
- Aşılı vakalarda kabakulak IgM cevabının zamanlaması oldukça değişkendir. Sekonder immün cevapta IgM yükselmeyebilir, gecikmiş veya geçici olabilir. IgM örnek alınma zamanına bağlı olarak tespit edilmeyebilir, yanlış negatif sonuçlar mümkündür.

- Serolojik testlerin aşısızlarda duyarlılığı yüksektir, fakat aşıli kişilerde enfeksiyon geliştiğinde duyarlılık hızla düşer, tek doz aşıllarda IgM tespiti %60-80 iken iki doz aşıllarda %13-14'dür (22, 23, 24,25).
- IgM'nin negatif bulunması, kabakulak tanısını dışlamaz. Sonucu doğrulamak için belirtilerin başlamasından 14 gün sonra ikinci bir serum örneğinde IgM testi tekrarlanır.
- IgG antikor testi, eğer IgM negatif ise çalışılır; akut ve konvalesan serum örnekleri aynı anda çalışılmalıdır.
- Akut kabakulak enfeksiyon tanısı için tek bir serum örneğinde IgG pozitifliği yeterli değildir; *sadece* immüniteyi gösterir.
- Aşıli kişilerde akut faz serum örneğinde IgG titresi zaten oldukça yüksektir ve konvalesan serum örneğinde IgG titresinde ≥ 4 kat artışı engelleyebilir ve tanıyı güçleştirir.
- Ayrıca serolojik testlerle kabakulak virüsü ve paramiksovirus, Epstein-Barr virüs ve adenovirus gibi birçok virüs arasındaki çapraz reaksiyona bağlı olarak yalancı pozitif sonuçlar alınabilir.
- Menenjit veya ensefalitli olgularda hem BOS hem de serum antikor titreleri incelenmelidir.
- BOS antikorlarının serum örnekleri için geliştirilmiş kitlerle araştırılması uygun değildir. BOS incelemeleri için geliştirilmiş kit kullanılmalıdır!

3.2. Moleküler tanı

- Akut kabakulak enfeksiyonu tanısı için gerçek-zamanlı RT-PCR en duyarlı yöntemdir (7).
- "Nested" RT-PCR testi ve kantitatif gerçek-zamanlı RT-PCR kabakulak enfeksiyonlarının araştırılmasında yaygın olarak kullanılır.
- Kantitatif gerçek-zamanlı RT-PCR, standart PCR testine göre daha hızlı, daha duyarlı, çapraz kontaminasyon riski daha az ve viral yükün tespiti avantajdır.
- Kabakulak virüsünün tespiti için gerçek-zamanlı RT-PCR ticari kitleri kullanılabilir veya kabakulak virüsünün nükleoprotein genini hedefleyen gerçek-zamanlı RT-PCR veya SH genini hedefleyen standart RT-PCR için protokollere göre laboratuvarında tasarlanmış PCR testi yapılabilir (7,26,27,28,29).
- Kabakulak virüsünün SH gen bölgesinin dizi analizi ile günümüzde 12 kabakulak virüsü genotipi (A-L) tanınmıştır. A, C, D, G ve H Batı yarım kürede baskın, oysa B, F, J/K ve L tipleri Asya Pasifik bölgede bulunur.
- Moleküler genotipleme enfeksiyon kaynağının tespiti, bulaşma yollarını izlemek, vakalar ve salgınlar arasındaki epidemiyolojik bağlantıyı göstermek için kullanılır. Genotipleme ile vahşi tip kabakulak virüsü aşı virüsünden ayırt edilebilir.
- İzole edilen virüsün moleküler analizi aşıli kişilerde kabakulak enfeksiyonu tanısını sağlar (30).

3.3. Hücre kültürü

- Kabakulak virüsünün izolasyonu için genellikle Vero hücreleri (African green monkey kidney), primer rhesus monkey kidney hücreleri, LLC-MK2 (devamlı maymun böbrek hücre dizisi), Caco-2 (insan kolorektal adenokarsinoma epitelyum hücreleri) ve B95a hücre dizisi (marmoset lenfoblastoid hücre dizisi) kullanılır (31,32,33).
- Kültürde üreyen virüsün varlığı DFA veya RT-PCR test ile tespit edilir.
- Hücre kültürünün duyarlılığını örnekteki virüs miktarı, antikor bulunması ve örneğin taşınmasında virüsün canlılığının kaybı gibi birçok faktör etkiler ve duyarlılık genellikle %50'den azdır (16).
- Virüs bukkal sürüntü ve BOS örneğinden özellikle hastalığın ilk üç gününde izole edilir. İlk haftadan sonra virüs izolasyon oranı önemli ölçüde düşer.
- Viremi yaygın olmasına rağmen kandan sadece hastalığın ilk 2 gününde izole edilmesi virüsün antikorlar ile birlikte bulunmasına bağlı olabilir.
- İdrar örneğinde viral izolasyon ile başarı oranı RT-PCR testine göre daha yüksektir. İdrardaki PCR inhibitörlerinin varlığına bağlı olarak RT-PCR testinin duyarlılığı düşüktür.
- Hücre kültürü zaman alıcı ve yorucu bir testtir, sonuçların alınması 4 hafta kadar alabilir. Bu sebeple klinik faydası sınırlıdır.

3.4. Örneklerin, izolatların saklanması

- Serolojik testler için laboratuvara gelen örnekler en fazla 5 gün için +4°C'de saklanabilir. Bu süre içinde teste alınmayacaklarsa -20°C'de dondurulmalıdır.
- Moleküler testler veya kültür için gönderilmiş örnekler asla oda sıcaklığında saklanmaz. Oda sıcaklığında kabakulak virüsü inaktive olur.
- Kabakulak IgM pozitif örnekler laboratuvarında sonraki çalışmalarda iç kalite kontrol amacıyla kullanılmak üzere saklanır.
- Kabakulak virüs RNA pozitif bulunan örnekler ileri moleküler genotipleme analizi için -70°C'de tutulur.
- Dondurulmuş örneklerin tekrarlayan dondurma-çözme işleminden sakınılmalıdır. Bunun için örnekler mümkünse başlangıçta alikotlara ayrılarak saklamaya alınmalıdır.

4 Test sonuçlarının yorumu, raporlama, bildirim

- Test sonuçları en kısa sürede klinisyene bildirilir.
- Raporlama belgesi hastanın ismi, cinsiyeti, doğum yılını (ve yaşını) içermelidir. Laboratuvara gönderilen örneğin cinsini ve yapılan testi de belirtiyor olmalıdır.

4.1. Serolojik testler

- Serolojik testler özellikle önceden aşılmayan veya enfeksiyonu geçirmeyenlerde akut enfeksiyon tanısı için faydalıdır. Aşıllılarda ise serolojik testlerin yorumu güç olabilir.
- Tek serum örneğinde kabakulak ELISA IgM pozitif bulunmuş ise "kesin tanı" bulgusudur.
- Çift serum örneğinde (akut ve konvalesan faz serumları aynı testte çalışılmış olarak) kabakulak ELISA IgG ile;
 - (a) serokonversiyon saptanmış ise (IgG akut faz örneğinde negatif iken konvalesan faz örneğinde pozitif ise) "kesin tanı" bulgusudur veya
 - (b) ≥ 4 kat titre artışı saptanmış ise "kesin tanı" bulgusudur.
- Ancak konvalesan serum örneğinde IgG titresinde ≥ 4 kat artış, serokonversiyon veya IgM tespitinin -enfeksiyonun geç tanınması anlamına geldiği için- klinik yararı sınırlıdır.
- Tek serum örneğinde IgG pozitifliği *sadece* immüniteyi gösterir.
- Kabakulak IgM ve IgG negatif olan vakalar enfekte değildir ve enfeksiyona karşı duyarlıdır.
- Ensefalit vakalarında BOS/serum antikor oranının >4 olması tanıyı destekler.

4.2. Diğer yöntemler

- RT-PCR veya gerçek-zamanlı RT-PCR testi ile kabakulak virüsü RNA pozitifliği "kesin tanı" bulgusudur (14).
- Klinik örnekten kabakulak virüsünün hücre kültüründe izolasyonu akut kabakulak enfeksiyonu için "kesin tanı" koydurucudur.

5 Olası sorunlar/kısıtlılıklar

- Viral kültür veya moleküler testler için örnek alırken her zaman sentetik (dakron ya da rayon uçlu) eküvyonlar tercih edilmelidir. Kalsiyum aljinatlı, pamuklu ve ahşap saplı eküvyon kullanılmamalıdır. Virüsler inaktive olabilir, PCR'da inhibitör etki yapabilirler.
- Doğru zamanda alınmamış örneklerde pozitif sonuç elde edilmesinde sorun yaşanabilir. Örneklerin uygun zamanda alınması önemlidir.
- Örnekler aseptik şartlarda alınmalıdır, sonuçlar etkilenebilir. Soğuk zincir şartlarında gönderilmeyen örnekler de test için uygun değildir.
- Hemolizli veya lipemik serum örnekleri antikor titrelerinin hatalı okunmasına neden olabilir.
- Serolojik testlerle, hem aşısız hem de aşıllılarda, parotite sebep olan parainfluenza virüs, EBV ve adenovirüs gibi diğer etken virüslerle çapraz reaksiyon olabileceğinden dolayı yalancı pozitif sonuçlar alınabilir.

- Ayrıca aşılama oranları yüksek olan popülasyonlarda kabakulak tanısının laboratuvar testi ile doğrulanması zor olabilir ve aşılı kişilerde IgM testi ile yalancı negatif sonuçların yaygın olmasından dolayı serolojik testler dikkatli yorumlanmalıdır.
- Aşılı kişilerde (özellikle iki doz) veya önceden kabakulak enfeksiyonu geçirenlerde serum IgM test sonuçları %50-60'a varan kadarında negatif olabilir.
- Aşılılarda kabakulak vakalarında akut serum örneğinde IgG zaten oldukça yüksek düzeyde pozitif olabilir. Bu sebeple akut ve konvalesan serumlar arasında kabakulak virüsü IgG titresinde beklenen 4 kat veya daha fazla artışı göstermek mümkün olmayabilir.
- Ayrıca RT-PCR veya kültür için incelenecek bukkal sürüntü örneği parotit başlamasından uzun süre sonra (3 gün sonra) alınırsa virüs tespit oranı düşük olabilir. Bu sebeple negatif laboratuvar sonuçlarına dayanarak kabakulak tanısı dışlanmamalıdır (3,8).

İlgili diğer UMS belgeleri

Bu prosedür belgesi (Kabakulak Enfeksiyonunun Mikrobiyolojik Tanısı) ayrıca aşağıda listelenen UMS belgeleriyle de ilgilidir ve bilgi için bu belgelere de bakılması önerilir:

UMS, V-MT-07	Kızamıkçık ve Konjenital Kızamıkçık Sendromunun mikrobiyolojik tanısı
UMS, V-MT-08	Kızamık ve SSPE'nin mikrobiyolojik tanısı
UMS, GEN-ÖY-01	Enfeksiyöz maddelerin taşınması rehberi

Kaynaklar

- 1 Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi, Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi, Sağlık Bakanlığı Ankara. 2004. <http://www.shsm.gov.tr/public/documents/legislation/bhkp/asi/bhibs/BulHastBilSistStanSurvelabReh.pdf> (erişim tarihi: 18.12.2013)
- 2 Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. Resmi Gazete; 02.04.2011 – 27893. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/04/20110402-3.htm> (son erişim tarihi: 06.01.2014)
- 3 CDC, Chapter 9: Mumps. Manual for the Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases (5th Edition, 2012). <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chpt09-mumps.html> (son erişim tarihi: 20.12.2013).
- 4 Shanley JD. The resurgence of mumps in young adults and adolescents. *Cleve Clin J Med* 2007;74(1):42-4, 47-8.
- 5 Dayan GH, Rubin S. Mumps outbreaks in vaccinated populations: are available mumps vaccines effective enough to prevent outbreaks? *Clin Infect Dis* 2008;47(11):1458-67.

- 6 Greenland K, Whelan J, Fanoy E, Borgert M, Hulshof K, Yap KB, Swaan C, Donker T, van Binnendijk R, de Melker H, Hahn S. Mumps outbreak among vaccinated university students associated with a large party, the Netherlands, 2010. *Vaccine* 2012;30(31):4676-80.
- 7 Hviid A, Rubin S, M hlemann K. Mumps. *Lancet* 2008;371(9616):932-44.
- 8 Choi KM. Reemergence of mumps. *Korean J Pediatr* 2010;53(5):623-8.
- 9 Leland DS. Parainfluenza and Mumps Viruses. In: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 10th ed., ASM Press, Washington D.C. 2011, p.1347-56
- 10 Hatchette TF, Mahony JB, Chong S, LeBlanc JJ. Difficulty with mumps diagnosis: what is the contribution of mumps mimickers? *J Clin Virol* 2009;46(4):381-3.
- 11  zmert EN. D nya'da ve Türkiye'de aılama takvimindeki gelimeler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2008; 51: 168-175.
- 12 CDC. Prevention of Measles, Rubella, Congenital Rubella Syndrome, and Mumps, 2013: Summary Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recommendations and Reports* 2013;62(RR04);1-34.
<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr6204a1.htm> (son eriim tarihi: 20.12.2013)
- 13 Kancherla VS, Hanson IC. Mumps resurgence in the United States. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118(4):938-41.
- 14 CDC. Mumps. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. The Pink Book: Course Textbook - 12th edition, Second printing, May 2012.
<http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/mumps.html> (son erişim tarihi: 06.01.2014)
- 15 Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. Resmi Gazete; 02.04.2011 – 27893.
<http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/04/20110402-3.htm> (son erişim tarihi: 06.01.2014)
- 16 Costa J. Microbiological Diagnosis of Mumps. *The Open Vaccine Journal* 2010;(3) 86-88.
- 17 Hatchette T, Davidson R, Clay S, et al. Laboratory diagnosis of mumps in a partially immunized population: The Nova Scotia experience. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2009;20(4):e157-62.
- 18 Poggio GP, Rodriguez C, Cisterna D, Freire MC, Cello J. Nested PCR for rapid detection of mumps virus in cerebrospinal fluid from patients with neurological diseases. *J Clin Microbiol* 2000;38(1):274-8.
- 19 Enfeksiy z madde ile enfeksiy z tanı ve klinik  rneėi taıma y netmeliği. Sağlık Bakanlığı, Ankara. Resmi Gazete 25.09.2010 – 27710.
- 20 Krause CH, Molyneaux PJ, Ho-Yen DO, McIntyre P, Carman WF, Templeton KE. Comparison of mumps-IgM ELISAs in acute infection. *J Clin Virol* 2007;38(2):153-6.
- 21 Sakata H, Tsurudome M, Hishiyama M, Ito Y, Sugiura A. Enzyme-linked immunosorbent assay for mumps IgM antibody: comparison of IgM capture and indirect IgM assay. *J Virol Methods* 1985;12(3-4):303-11.
- 22 Briss PA, Fehrs LJ, Parker RA, Wright PF, Sannella EC, Hutcheson RH, Schaffner W. Sustained transmission of mumps in a highly vaccinated population: assessment of primary vaccine failure and waning vaccine-induced immunity. *J Infect Dis* 1994;169(1):77-82.
- 23 Narita M, Matsuzono Y, Takekoshi Y, et al. Analysis of mumps vaccine failure by means of avidity testing for mumps virus-specific immunoglobulin G. *Clin Diagn Lab Immunol* 1998;5(6):799-803.
- 24 Bitsko RH, Cortese MM, Dayan GH, Rota PA, Lowe L, Iversen SC, Bellini WJ. Detection of RNA of mumps virus during an outbreak in a population with a high level of measles, mumps, and rubella vaccine coverage. *J Clin Microbiol* 2008;46(3):1101-3.
- 25 Rota JS, Turner JC, Yost-Daljev MK, et al. Investigation of a mumps outbreak among university students with two measles-mumps-rubella (MMR) vaccinations, Virginia, September-December 2006. *J Med Virol* 2009;81(10):1819-25.

- 26 Royuela E, Castellanos A, Sánchez-Herrero C, Sanz JC, De Ory F, Echevarria JE. Mumps virus diagnosis and genotyping using a novel single RT-PCR. *J Clin Virol* 2011;52(4):359-62.
- 27 CDC. Laboratory Testing for Mumps Infection <http://www.cdc.gov/mumps/lab/qa-lab-test-infect.html#realtime-pcr> (son erişim tarihi: 20.12.2013).
- 28 Boddicker JD, Rota PA, Kreman T, Wangeman A, Lowe L, Hummel KB, Thompson R, Bellini WJ, Pentella M, Desjardin LE. Real-time reverse transcription-PCR assay for detection of mumps virus RNA in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 2007;45(9):2902-8.
- 29 Rota JS, Rosen JB, Doll MK, McNall RJ, McGrew M, Williams N, Lopareva EN, Barskey AE, Punsalang A Jr, Rota PA, Oleszko WR, Hickman CJ, Zimmerman CM, Bellini WJ. Comparison of the sensitivity of laboratory diagnostic methods from a well-characterized outbreak of mumps in New York city in 2009. *Clin Vaccine Immunol* 2013;20(3):391-6.
- 30 Mühlemann K. The molecular epidemiology of mumps virus. *Infect Genet Evol* 2004;4(3):215-9.
- 31 Knowles WA, Cohen BJ. Efficient isolation of mumps virus from a community outbreak using the marmoset lymphoblastoid cell line B95a. *J Virol Methods* 2001;96(1):93-6.
- 32 Reina J, Ballesteros F, Mari M, Munar M. Evaluation of different continuous cell lines in the isolation of mumps virus by the shell vial method from clinical samples. *J Clin Pathol* 2001;54(12):924-6.
- 33 Afzal MA, Dussupt V, Minor PD, Pipkin PA, Fleck R, Hockley DJ, Stacey GN. Assessment of mumps virus growth on various continuous cell lines by virological, immunological, molecular and morphological investigations. *J Virol Methods* 2005;126(1-2):149-56.