



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
T İP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ASEPTİK MENENJİT/ENSEFALİTLİ HASTALARDA
HERPES GRUBU VİRUSLARIN ARAŞTIRILMASI**

DR. FATMA POLAT SEMERCİ

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. FÜGEN YARKIN**

ADANA-2008



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
T İP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ASEPTİK MENENJİT/ENSEFALİTLİ HASTALARDA
HERPES GRUBU VİRUSLARIN ARAŞTIRILMASI**

DR. FATMA POLAT SEMERCİ

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF.DR.FÜGEN YARKIN**

**Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu TF.2006.LTP.25 nolu
proje olarak desteklenmiştir.**

ADANA-2008

TEŞEKKÜR

Çalışmaya başladığımız andan itibaren benden desteğini ve bilgisini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Fügen Yarkın'a, çalıştığımız mekanları uluslar arası standartlara ulaştırmak için çaba sarf eden ve bilimsel alanda ufkumuzu genişleten bölüm başkanımız Prof. Dr. Fatih Köksal'a, Anabilim Dalımız öğretim üyelerine, bölüm sekreterimiz Suna Gökmen'e, sadece dünyaya getirmekle kalmayıp devamında da koruyucu meleklik görevini üstlenmiş olan annem ve babama, üzüntümü, sevincimi ve en çok da sorumluluklarımı paylaşan sevgili eşime, dünyaya gelmesiyle hayatıma daha bir anlam katan, gün ışığım, canım kızıma ve bana emeği geçen herkese teşekkür ediyorum.

Dr. Fatma Polat Semerci

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	1
TABLO DİZİNİ	III
ŞEKİL DİZİNİ	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Herpes simpleks virusun genel özellikleri	4
2.2.1. Tarihçe	4
2.2.2. Sınıflandırma	5
2.2.3. Herpes Simplex Virusun Yapısı ve Morfolojisi	6
2.2.4. Virusun replikasyonu	9
2.2.5. Patogenez	11
2.2.6. İmmünite	13
2.2.7.HSV'nin yaptığı hastalıklar	18
2.2.7.1. Primer herpetik gingivostomatit	18
2.2.7.2. Tekrarlayan orofasiyal herpes	18
2.2.7.3. Genital Herpes	19
2.2.7.4. Egzema Herpetikum	21
2.2.7.5. Herpes Gladyatorum	21
2.2.7.6. Herpetik Dolama	21
2.2.7.7. Oküler herpes	22
2.2.7.8. Neonatal Herpes	22

2.2.7.9. MSS’de Herpes Simpleks Virus Hastalıkları	25
2.2.7.10. HSV ile İlişkili Nörolojik sendromlar	27
2.2.8. Herpes Simpleks Virus İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi	28
2.2.9 Herpes Simpleks Virus İnfeksiyonlarının Tanısı	31
2.2.9.1. Hücre kültüründe HSV izolasyonu	31
2.2.9.2. Serolojik yöntemler ile HSV Tanısı	33
2.2.9.3. Polimeraz zincir reaksiyonu ile HSV infeksiyonlarının tanısı	34
2.2.10. Herpes Simpleks Virus İnfeksiyonlarının Tedavisi	40
2.3. Aseptik meninjit ve ensefalit etkeni olan diğer viruslar	45
2.3.1. Enteroviruslar	46
2.3.2. VZV, HHV-6, CMV ve EBV	47
2.3.3. Flaviviruslar	48
2.3.4. Kabakulak	49
2.3.5. HIV	49
2.3.6. Diğer Viruslar	50
3. GEREÇ VE YÖNTEM	51
3.1. DNA ekstraksiyonu	51
3.2. Konsensus PCR ile HSV amplifikasyonu	53
3.3. Amplifiye edilen PCR ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde gösterilmesi	54
3.4. Restriksiyon enzimi ile kesme	55
3.5. BOS’da spesifik IgG antikorlarının tespiti için ELISA yönteminin uygulanması	56
3.5.1. Anti-HSV-1 ELISA testinin yapılışı	56
3.5.2. Anti-HSV-2 IgG ELISA testinin yapılışı	57
4. BULGULAR	59
5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	70
7. KAYNAKLAR	72
ÖZGEÇMİŞ	83

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo no</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. HSV-1 kapsid proteinleri	8
Tablo 2. Aseptik menenjit veya ensefalitli hastaların cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı	59
Tablo 3. BOS protein değerlerindeki değişimlerin hastalara göre dağılımı	60
Tablo 4. BOS glukoz değerlerindeki değişimlerin hastalara göre dağılımı	60
Tablo 5. HSV-1 DNA ve HSV-2 DNA nin yaş gruplarına göre dağılımı	62
Tablo 6. Toplam 180 hastanın HSV-1 DNA ve HSV-1 IgG sonuçları	62

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. HSV gen bölgeleri	9
Şekil 2. Asiklovir'in kimyasal yapısı	41
Şekil 3. Pozitif kontrol örneklerinin profili	56
Şekil 4. Hasta sonuçları	61

KISALTMALAR

AI:	Antibody Index
AIDS:	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ATP:	Adenosine Tri Phosphate
BOS:	Beyin Omurilik Sıvısı
BT:	Bilgisayarlı Tomografi
CEMA:	Chronic encephalitis and meningitis with agammaglobulinaemia
CMV:	Cytomegalovirus
CSF:	Cerebrospinal fluid
DFA:	Direk floresan antikor
DNA:	Deoksiribo nükleik asid
EBV:	Ebstein Barr Virus
EEG:	Elektroensefalogram
ELISA:	Enzyme linked immune assay
EV:	Enterovirus
FDA:	Food and Drug Administration
GCS:	Glasgow Coma Scale
HCF:	Human cell factor
HCMV:	Human Cytomegalovirus
HIV:	Human Immunodeficiency Virus
HSE:	Herpes Simpleks Ensefaliti
HSV:	Herpes Simpleks Virus
HVEM:	Herpes Virus Entry Mediator
ICP:	Infected Cell Protein
IDU:	Idoxuridine
IFN:	Interferon
IgG:	Immünglobulin G
LAT:	Latency Associated Transcript
LCMV:	Lenfositic Choriomeningitis Virus
MHC:	Major Histocompatibility Complex
mRNA:	Messenger Ribonucleic asid
MRI:	Magnetic resonance Image
MSS:	Merkezi sinir sistemi
NIAID CASG:	National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group
ORF:	Opening Reading Frame
PCR:	Polimerase Chain Reaction
RIA:	Radio Immune Assay
RK:	Rabbit Kidney
RS:	Repeated Short
SEM:	Skin-Eye-Mouth
TAE:	Tris-Asetat-EDTA
TIF:	Transforming Inducing Factor
UL:	Unique Long
US:	Unique Short
VHS:	Virion Host Shut-off
VP:	Virion Protein
VZV:	Varicella Zoster Virus

ÖZET

Aseptik Menenjit/Ensefalitli Hastalarda Herpes Grubu Virusların Araştırılması

Viral menenjitler meningeal inflamasyon bulguları ile karakterize, bakteriyel ve fungal kültürlerin negatif olduğu merkezi sinir sistemi infeksiyonlarıdır. Viral ensefalitler bilinç bulanıklığı ve/veya nörolojik bozukluklar ile karakterize beyin parenkiminin inflamasyonudur. Bu çalışmaya, bölgemizde aseptik menenjit veya ensefalitli hastalarda Herpes Simpleks Virus infeksiyonlarının insidansını araştırmak amacıyla aseptik menenjitli 108 hasta ve ensefalitli 80 hasta olmak üzere toplam 188 hasta dahil edilmiştir. Hastalara ait beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinde HSV-DNA tespiti için konsensus Herpes Simpleks Virus Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) testi kullanıldı. HSV tiplendirilmesi restriksiyon enzim analizi ile yapıldı. Ayrıca, intratekal sentezlenen HSV-1 ve HSV-2 spesifik İmmunglobulin G (IgG) antikorları ELISA (Enzyme Linked Immun Assay) testi ile araştırıldı. HSV-1 DNA toplam 188 hastanın 4'ünde (% 2,1) tespit edildi. HSV-1 IgG antikorları 3 hastadan alınan BOS örneğinde bulundu. HSV-1 IgG pozitif 3 hastanın 2'sinde HSV DNA da pozitif idi. HSV-2 DNA ve HSV-2 spesifik IgG hastalarımızın hiç birinde bulunmadı. Sonuç olarak, PCR ve ELISA testleri birlikte değerlendirildiğinde 188 hastanın 5'inde(% 2,6) HSV-1 infeksiyonu tespit edildi. Herpes simpleks virusa bağlı merkezi sinir sistemi infeksiyonlarında spesifik antiviral tedavi ile mortalite önemli ölçüde azaldığından, HSV infeksiyonunun erken tanısı son derece önemlidir. Merkezi sinir sistemi infeksiyonlarının erken tanısında PCR'ın hızlı ve güvenilir bir test olduğu ve intratekal sentezlenen HSV IgG testinin tek başına tanısal değerinin sınırlı olup PCR test sonuçları ile birlikte değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Aseptik menenjit, ELISA, ensefalit, HSV, PCR,

ABSTRACT

The Investigation Of Herpes Group Viruses In Patients With Aseptic Meningitis/Encephalitis

Viral meningitis is a central nervous system infection characterized by signs and symptoms of meningeal inflammation in the absence of positive bacterial and fungal cultures. Viral encephalitis is defined as a febrile illness with evidence of brain parenchymal dysfunction as manifested by an altered state of consciousness and/or objective signs of neurological dysfunction. To investigate the incidence of Herpes Simplex Virus infections among patient with aseptic meningitis or encephalitis in our region, 108 patients with aseptic meningitis and 80 patients with encephalitis; total 188 patients included in this study. HSV-DNA was detected by consensus Herpes Simplex Virus Polimerase Chain Reaction in Cerebrospinal fluid (CSF) samples. HSV typing was made by restriction enzyme analysis. In addition, intrathecal synthesis of HSV-1 and HSV-2 specific IgG antibodies were examined by ELISA (Enzyme Linked Immun Assay) test. HSV-1 DNA was detected in 4 (% 2,1) of total 188 patients. HSV-1 IgG antibody was found in 3 of CSF samples. Of the 3 patients, 2 patients were also positive for HSV-1 DNA. Nor HSV-2 DNA neither HSV-2 specific IgG were present in our patients. In conclusion, 5 (% 2,6) of total 188 patients has been found to have HSV-1 infections. The early diagnosis of HSV infections is extremely important in central nervous system (CNS) infections due to HSV, as specific antiviral treatment dramatically reduces the mortality. In our study it is concluded that PCR test is rapid and reliable in early diagnosis of CNS infections. The measurement of HSV-1 IgG antibody only in CSF has limited diagnostic value and it should be evaluated with PCR test results.

Key Words: Aseptic meningitis, ELISA, encephalitis, HSV, PCR,

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Aseptik menenjit ateş, başağrısı ve ense sertliği gibi bulgularla seyreden, bakterilerin etken olmadığı meninkslerin inflamasyonu ile karakterize bir hastalıktır. Aseptik menenjit çocukluk çağında dissemine görülmekte olup etyolojiden çoğunlukla viruslar sorumludur. İnsidansı mevsimlerle değişebilir ve tipik menenjit bulgularına ek olarak etken olan virusa spesifik semptomların görülebildiği infeksiyonlardır. Aseptik menenjitlerin % 50-80'inde enteroviruslar etken olarak bildirilmektedir. Diğer viruslar arasında herpes simplex virus (HSV), Epstein-Barr virus (EBV), kızamık virusu, varicella zoster virus (VZV), cytomegalovirus (CMV), kabakulak virusu, adenovirus ve rubella virusu gibi viruslar yer almaktadır¹. Viral menenjitler genellikle kendi kendini sınırlayan ve tedavisiz iyileşebilen infeksiyon hastalıkları olmalarına rağmen belirli klinik durumlarda tedavi gerektirebilirler.

Ensefalit beyin akut inflamasyonu olup çoğunlukla viral infeksiyon sonucu gelişir ve sıklıkla menenjitte birlikte görülür. Viral ensefalitler meningeal inflamasyon belirtilerine ek olarak hafif letarjiden konfüzyon ve komaya kadar ilerleyebilen bilinç düzeyi değişiklikleri ile karakterizedir. Viral ensefalitlerin % 10-20'sinde etken enteroviruslar iken Herpes simplex virus akut sporadik ensefalitlerin en sık sebebidir. Herpes simplex virus menenjit ve ensefaliti tedavi edilebilir olmasıyla ayrı bir önem taşır. Antiviral tedavi verilmeyenlerde mortalite oranı % 70'lere kadar ulaşmaktadır².

Viral santral sinir sistemi infeksiyonlarının tanısında virusun hücre kültüründe izolasyonu ve beyin omurilik sıvısında spesifik antikorun gösterilmesi gibi klasik laboratuvar teknikleri etkenin tespitinde yetersiz olmasının yanı sıra erken tanı imkanı sunmamaktadır (Taylar ve ark.,1999). Polimeraz zincir reaksiyonu yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip ve hızlı sonuçlar vermektedir. Son yıllarda polimeraz zincir reaksiyonu (polimerase chain reaction; PCR) testi gibi moleküler tanı yöntemleriyle viral santral sinir sistemi infeksiyonlarının erken tanısı yapılabilmektedir. (Domingues ve ark.,1998; Espy ve ark.,1993; Anderson ve ark.,1993) Antiviral tedaviye erken başlanması

morbiditeyi önemli ölçüde azaltmakta ve mortalite oranını % 70'den % 20'ye düşürmektedir. Tedavisinin mevcut olmasına rağmen özellikle yanlış tanı veya spesifik etkenin tespit edilmemesi ve tedavideki gecikmelere bağlı olarak herpes menenjit ve ensefalitinin komplikasyonları, kalıcı nörolojik sekel olasılığı ve mortalitesi hala yüksek oranlardadır² .

Bu çalışmanın amacı bölgemizde aseptik menenjit veya ensefalit ön tanısı konan hastalarda konsensus HSV PCR testi kullanarak herpes simpleks virus enfeksiyonlarının insidansını tespit etmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Wallgren ilk olarak 1924 yılında “akut aseptik menenjit” terimini kullandığı zaman virus araştırma çalışmaları henüz başlangıç aşamasında idi. Daha sonra yapılan araştırmalar vakaların büyük bir kısmının etyolojisinin viruslar olduğunu gösterdi. Günümüzde artık etkenin tanısını koymak sıklıkla mümkündür. Wallgren aseptik menenjiti, nazal yolla bulaşan ve epidemik olmaya eğilimli yeni bir hastalık olarak tanımlamıştır. Aseptik menenjitler ilk olarak 1910-1913 yıllarında Fransa’da fark edilmiş, daha sonra savaş yıllarında 1919’da Skandinavveya tekrar ortaya çıkmış ve takip eden 6 yıllık periyodda her yıl rapor edilmiştir. Wallgren hastalığın mevsimsel bir dağılım gösterdiğini ve özellikle geç yaz ve sonbaharda ortaya çıktığını, ilkbahar aylarında da bir artış olduğunu ve bu artışın özellikle daha genç yaş grubunu etkilediğini göstermiştir³. Daha sonraki yıllarda bu virusların enteroviruslar olduğu anlaşılmıştır.

İlerleyen yıllarda daha başka ajanların da aseptik menenjit sendromuna sebep olabildiği gösterilmiştir. Herpes simplex virusun nörotropik bir etki gösterdiği ve ensefalit başta olmak üzere muhtemelen meninksleri de etkileyen daha hafif formlarda hastalık yaptığı gözlemlendi. St. Louis, Japon B, Rus İlkbahar-yaz, doğu batı ve Venezuela at ensefalit virusları, ensefalomyokardit-Mengo virus grupları, Lenfositik koryomenenjit virusu ve Coxsackie grup viruslar gibi bir çok ensefalitojenik ajan keşfedildi. Bunlara daha sonra West Nile virus gibi böceklerle bulaşan ensefalit virusları eklendi. Gelişmiş viroloji laboratuvar teknikleri ile bir çok ajanın aseptik menenjitlere sebep olabileceği fark edilerek tanı koymak daha da kolaylaştı⁴.

Armstroeg ve Lillie bugün Lenfositik Koriomenenjit Virusunu olarak bilinen daha önce izole edilmemiş bir virusu, 1931 yılında maymundan izole ettiler ve deneysel olarak infekte ettikleri hayvanların koroid pleksusunda bu virusu gösterdiler⁵. Beyaz evcil farelerin bu virus için doğal konak olduğu bulundu.

Dalldorf ve Sickles 1947 yılında hastaların dışkılarından tipik poliomyelit virusu gibi görülen bir virus izole ettiler⁶. Bu virus Coxsackie virus idi. Yine Dalldorf Coxsackie virusun A ve B olarak iki subgrubunu tanımladı.

2.2. Herpes simpleks virusun genel özellikleri

2.2.1. Tarihçe

Herpes kelimesi yunanca “to creep” sürüntü – sürülme anlamına gelmektedir. İlk kez herpes febrilis’e bağlı soğuk algınlığı Romalı fizikçi Herodotus tarafından tanımlanmıştır⁷. Genital herpes ise ilk kez Fransız kralının doktoru John Astruc tarafından 1736 yılında tanımlanmıştır⁸. Oral-labial lezyonun diğer insanlara bulaştığı 19. yüzyılın sonlarında ortaya konmuştur. Yirminci yüzyılın ilk yıllarında hastalık başarılı bir şekilde tavşanlara bulaştırılmış ve HSV invitro olarak 1925 yılında üretilmiştir⁹. Herpes Simpleks ensefalitinin 1926 yılında Mathewson Komitesi tarafından ilk olarak öne sürülmesinden ve herpes simpleks virus un beyinde yaptığı histopatolojik değişikliklerin tanımlanmasından sonra herpes simpleks ensefalitinin sporadik ölümcül ensefalitlerin Amerika Birleşik Devletlerinde en sık sebebi olduğu fark edilmiştir¹⁰. Smith ve arkadaşları tarafından 1941 yılında yenidoğan bir bebeğin beyinde ilk olarak intranükleer inklüzyon cisimcikleri gösterilmiştir¹¹. Zarafonetis ve arkadaşları daha sonra 1944 yılında herpes simpleks ensefalitini gösteren kanıtları bu kez bir erişkinde göstermeyi başarmışlardır¹². Bu hastada en dikkat çekici özellikler, patolojik lezyonların sol temporal lobda bulunması, lenfositlerle dolu perivasküler alan ve sayısız küçük kanama odaklarıdır. Üç aydan büyük çocuklarda, temporal lob lokalizasyonunun herpes simpleks ensefalitinin karakteristik lezyonu olduğu tespit edilmiştir. Nahmias ve Dowdle 1960’lı yılların ortalarında HSV’yi iki antijenik tipe ayırmıştır¹³. Viral tiplendirme ile HSV-1’in erişkinlerdeki beyin hastalıkları dahil primer olarak” bel üstü” bölgede infeksiyon yaptığını, HSV-2’nin ise primer olarak “bel altı” bölgeyi tuttuğunu ve yenidoğanlarda MSS hastalıklarına sebep olduğu gösterildi. Yapılan çalışmalarda herpes simpleks ensefalitine hemen hemen bütün hastalarda HSV-1’in sebep olduğu gösterilmiştir. Gerçekten de HSV-2 nin sebep olduğu Frank ensefaliti dünveya yalnızca birkaç vakada görülmüştür¹⁴.

Herpes viruslar önemli hastalıklara sebep olan tıp ve veterinerlikte araştırılan en ünlü virus ailelerinden biridir. Her yerde bulunabilmeleri, kompleks genetik yapıları,

evrimsel farklılıkları ve biyolojik özellikleri bu viruslar üzerine dünya çapında büyük araştırmalar yapılmasına yol açmıştır. Bu çalışmalar, özellikle moleküler genetik alanında olmuştur ve elde edilen bilgiler herpesvirusların biyolojisini anlamamıza ve etkin tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine sebep olmuştur.

2.2.2 Sınıflandırma

Herpesviridae ailesi balıklar, amfibiler, sürüngenler, kuşlar, ve insanları da kapsayan memeliler gibi vertebralıları infekte eden 100'den fazla tür içermektedir. (Minson 1989, Roizman ve ark.1992) Bu viruslarla her yerde karşılaşılabılır. Günümüzde doğal konağı insan olan 8 farklı herpesvirus identifiye edilmiştir. Her virus genellikle sınırlı bir alanda ve spesifik bir tür için patojendir, konaktan konağa direkt temas ve solunum yoluyla bulaşılır. Bütün Herpesviruslar, boyutu ve yapısı türe göre değişebilen çift zincirli DNA içeren büyük zarflı virionlardır. Herpesvirusların biyoloji ve patolojisi çok önemli olmasına rağmen en önemli özellikleri primer infeksiyondan sonra yaşam boyu devam eden latent infeksiyona sebep olabilmeleridir. Herpesviruslar konaklarına çok iyi adapte olmuştur ve primer veya latent infeksiyonlar sıklıkla belirtili seyredir. Özellikle immunsupresyonun olduğu belirli koşullarda herpesviruslar yaşamı tehdit eden hastalıklara sebep olabilirler. Herpesviruslar farklı tür kanserlerde etken olarak karşımıza çıkabilir. Herpes viruslar konak dağılımı, üreme siklusları, sitopatolojileri ve latent infeksiyonlarının özelliklerine göre Alfa Herpesviruslar, Beta Herpesviruslar ve Gama Herpesviruslar olarak üç gruba ayrılır¹⁵. Herpes simplex virus tip 1 ve 2 (HSV-1 ve HSV-2) ve Varicella-zoster virus (VZV) alfa herpesvirus subfamilyasında (*alphaherpesvirinae*). Bu subfamilyanın üyelerinin daha geniş bir konak dağılımı ve daha kısa bir yaşam siklusu vardır. Duysal gangliyonlarda latent olarak kalabilirler. Human Cytomegalovirus (HCMV), Human Herpesvirus 6 ve 7 betaherpesvirus subfamilyasında (*betaherpesvirinae*) bulunurlar. Sınırlı bir konak dağılımları vardır. Betaherpesvirusların yaşam siklusu uzundur ve lenforetiküler hücrelerde latent olarak kalabilirler. Epstein Barr virus (EBV) ve Kaposi sarkoma ile ilişkili herpesvirus olan human herpesvirus 8 gamaherpesvirus subfamilyasında (*gammaherpesvirinae*) bulunur. Gamaherpesviruslar B lenfositlerine tropizm gösterir ve lenfoit dokularda latent olarak kalabilir.

2.2.3. Herpes Simplex Virusun Yapısı ve Morfolojisi

Herpes viruslar çift iplikli DNA içeren, ikozahedral kapsid simetrisine sahip, zarflı virustlardır. Çift iplikli DNA genomu lineer yapıdadır. Zarflı virus 120-200 nm çapındadır. Viral genomu ikozahedral simetride 162 kapsomerden oluşan 100-110 nm çapında bir kapsid çevrelemektedir (Wildy, Russel ve Horne 1962).

Nükleokapsidin etrafında konak hücre nükleus membranından kazanılmış lipid bir zarf bulunur. Zarf üzerinde poliaminlar, lipidler ve glikoproteinler bulunmaktadır. Bu glikoproteinler 12 adettir ve gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gK, gL, gM, gJ ve gN (Whitley ve Roizman, 2001; Foster 2001) olarak adlandırılmışlardır. Glikoproteinler antijenik yapıda olup, konakta immün yanıt oluşturmakta ve her virusa ayırt edici özellik kazandırmaktadır. HSV-1 de gD, gG ve gJ bulunurken VZV de bu proteinler bulunmaz. Bütün herpes virüslerinde gB, gH, gL ve gM bulunur. Glikoproteinlerin virüsün hücre içine girebilmesi için virion zarfı ve hücrel membranların füzyonu (Milne ve ark. 2005) infekte virus partikülünün hücre içine girişi (Foster ve ark., 2001, 2003; Neubauer ve Osterrieder, 2004; Melancon ve ark., 2005), hücreden hücreye geçişi (Rauch et al., 2000; Johnson et al., 2001), virus tarafından indüklenen hücrelerin füzyonu (Bender ve ark., 2005) ve immün sistemden saklanmak (Trybala E., 2000; Saldanha ve ark., 2000; Rux ve ark., 2002) gibi önemli görevleri vardır. Glikoproteinler bir veya daha fazla bulunan hidrofobik domainleri ile hücre reseptörüne tutunabilirler. HSV nin konak hücre ile ilk teması hücre yüzeyinde bulunan heparan sülfat veya kondroitin sülfat proteoglikanlarına gC'nin bağlanması ile başlar. gCden yoksun virüsün patojenik özelliği olmasına rağmen, konak hücreye bağlanması zayıftır. Diğer bir glikoprotein olan gB'de konak hücre yüzeyinde bulunan heparan sülfata bağlanabilir. gC bulunmadığı zamanlarda hücre yüzeyine bağlanma gB'ye bağımlıdır. gB ve gC'den yoksun virüsler konak hücreye bağlanamazlar. HSV-2 virüsünün yüzeyinde bulunan gB'nin hücreye tutunması için gerekli olan majör glikoprotein olduğu düşünülmektedir. (Herold ve ark., 1996; Cheshenko ve Herold 2002) Herpes virüsler viral zarf ve hücre membranının füzyonu ile hücre içine girerler. gB, gD ve gH HSV nin hücrelere penetre olması için gereklidir. Virion içinde heterodimer halinde bulunan gH ve gL endoplazmik retikulumda meydana gelen matürasyonla ilişkilidir. gG'nin aminoasit dizileri HSV-1 ve 2 arasında % 30'dan daha az homoloji gösterir (Asley ve ark.,1998). Bu sebeple gG HSV-1 ve 2 ayırımı yapan serolojik testlerde antijen olarak kullanılır.

Bunların dışında glikoproteinler konağın immun sistemi ile etkileşime giren anahtar elemanlardır. gC kompleman sisteminin C3b komponentine bağlanır. gE ve gI immunglobulin G'nin (IgG) Fc bölgesine bağlanarak bir kompleks oluştururlar. Glikoprotein D'nin hayvan deneylerinde nötralizan antikor üretimini indüklediği gösterilmiştir. HSV spesifik nötralizan antikorlar gH-gL heterodimerlerine karşı da oluşmaktadır.

Zarf ile kapsitin arasında bulunan materyal tegüment olaral adlandırılır (Schrag ve ark. 1989). Tegüment VP1/2 (UL36), VP11/12 (UL46), VP13/14 (UL47), VP16 (UL48), VP22 (UL49), ICP0, ICP4, konak protein sentezini durduran protein VHS (UL41) ve US2, US3, US10, US11, UL11, UL13, UL14, UL16, UL17, UL21, UL37, UL51ve UL56 genlerinin ürünleri gibi yaklaşık 20 protein içerir^{16,17}. UL41 tarafından kodlanan “virion host shut off protein” (VHS) konak mRNA sının degradasyonunu indükleyerek konağın protein sentezini durdurur¹⁸. VHS , substrat spesifitesi gösteren bir endoribonükleazdır. VHS bütün alfaherpesviruslarda homologdur. VHS virion içinde bulunur ve virusun replikasyonunun erken fazında konağın protein sentezinin durdurulmasına aracılık eder. Herpes simpleks virusta bulunan UL13 proteini bir viral protein kinaz dır. ICP0'ın (Infected cell protein), ve bazı geç proteinlerin sentezini düzenler¹⁹⁻²⁰. UL13 geni virionun konağın protein sentezini durdurması için gereklidir. UL13 gen ürünü, VHS proteinini fosforilleyerek aktif hale getirir. VP13/14, VHS ve VP16 tegümentte en fazla bulunan proteinlerdir. VP16 virusun yapısal bir proteindir. Çok erken genlerin aktivasyonunda görev alır. VP16 bütün çok erken genlerin promotör bölgesinde bulunan ve çok iyi korunmuş bir bölge olan (TAATGARAT) dizisine bağlanır. Hücresel faktörler olan HCF (Human cell factor) ve Oct-1, VP16 yı bağlar ve VP16 nın DNA ya bağlanmasına yardımcı olur. İnfeksiyonun daha sonraki fazlarında VP16, konak protein sentezini durduran VHS proteinini bağlar. Çünkü VHS hem viral hem de hücresel mRNA'yı ayırım yapmaksızın degrade eder. VP16, VHS yi bağlayarak virusa ait mRNA'ları korumuş olur²¹.

Herpes simpleks virus çift zincirli lineer DNA içeren ikozahedral kapsid simetrisine sahiptir. Genomu 152.000 baz çifti uzunluktadır. G+C oranı % 60-70'dir (Honest 1984). Lineer olan genom infeksiyon sırasında sirküler hale gelir.

Tablo 1: HSV-1 kapsid proteinleri

HSV-1 Kapsid Proteinleri				
Protein	Gen	Moleküler Ağırlık	Kapsiddeki kopya sayısı	Kapsiddeki lokalizasyonu
VP5	UL19	149,075	960	Kapsomer
VP19c	UL38	50,260	375	Tripleks
VP21	UL26	45,000	87	Kapsidin iç kısmı
VP23	UL18	34,268	572	Tripleks
VP24	UL26.5	26,618	147	Kapsidin iç kısmı
VP26	UL35	12,095	952	Kapsomer

Virus yaklaşık 100 transkript ve 70 den fazla translasyonel okuma bölgesi (ORF) içerir. Genom altı önemli bölgeye ayrılmıştır²². Birinci bölge 'a' sekansı olarak tanımlanan lineer DNA bölgesinin terminal kısmıdır. Bu bölge konak hücrede viral DNA'nın sirkülasyonu ve DNA'nın kapsid içine paketlenmesinden sorumludur. İkinci bölge 9000 baz çifti uzunlukta uzun tekrarlayan bölgedir (Repeat sequence of Long Region; RL). Erken düzenleyici proteinlerin kodlanmasına aracılık eder. Ayrıca LAT (Latency associated transcript) gibi bir çok genin promotör bölgesidir. Üçüncü bölge tek uzun bölge (Unique Long Region , UL) dir. Bu bölge 108.000 baz çifti uzunluktadır ve 56 farklı protein kodlar. DNA replikasyon enzimlerinin ve kapsid proteinlerinin genlerini içerir. Dördüncü bölge RS (Repeat sequence of Short Region) olarak adlandırılan kısa tekrarlayan bölgelerden oluşur ve 6.600 baz çifti uzunluğundadır. Çok erken proteinleri (alfa; α proteinler) kodlar. Alfa proteinler çok güçlü transkripsiyon aktivatörüdür. UL bölgesi içinde bulunan $\alpha 0$ ve $\alpha 27$ üzerine etki gösterirler ve infekte hücrede viral DNA replikasyonu için gerekli olan bütün viral genlerin ekspresyonunu stimüle ederler²³. Beşinci bölgede OriL ve OriS olarak adlandırılan replikasyon orijinleri bulunur. Ori L , UL bölgesinin ortasında bulunurken, OriS, RS bölgesinde bulunur ve iki kopya halindedir. (Stow 1982) Altıncı bölge 13.000 baz çifti uzunluğunda tek kısa bölgedir(Unique Short Region, US) ve 12 translasyonel okuma bölgesi (ORF) kodlar. Bu ORF'lar konak hücre dağılımı ve konağın immun cevabında önemli olan glikoproteinleri kodlar^{24,25}.



Şekil 1- HSV gen bölgeleri

TRL:Uzun bölgenin terminal kısmı, UL:Uzun bölge, IRL: Uzun bölgenin tekrarlayan bölgesi, IRS:Kısa bölgenin tekrarlayan bölgesi, US: Kısa bölge, TRS: Kısa bölgenin terminal kısmı

2.2.4. Virusun replikasyonu

Virusun konak hücreye girişi zarf yüzeyinde bulunan glikoproteinler aracılığı ile gerçekleştirilir. Oniki viral zarf glikoproteininden en az dört tanesinin koordineli çalışması gerekir. Bunlar gB, gD ve gH-gL heterodimeridir. Glikoprotein B ve C konak hücre yüzeyine tutunur. Glikoprotein B, hücre yüzeyinde bulunan 3-O-sülfatlı heparan sülfat glikoproteinlerine veya heparan sülfattan bağımsız virusun hücreye tutunmasını sağlayan bilinmeyen bir gB reseptörüne bağlanır²⁶. Glikoprotein C heparan sülfata veya kondroitin sülfata bağlanarak hücre yüzeyine tutunmayı sağlar. (WuDunn ve Spear 1989) Daha sonra gD hücre yüzey reseptörü olan ve TNF reseptör ailesinden bir reseptör olan HVEM (Herpes virus entry mediator), immunglobulin süperfamilyasından bir reseptör olan nectin-1 veya heparan sülfata bağlanır²⁷. Bağlanmadan sonra gD nin yapısında konformasyonel bir değişiklik olur. Glikoprotein B veya gH-gL ye sinyal gönderilir. Glikoprotein B, gH-gL bir füzyon makinesi oluştururlar ve virus zarfı plazma membranı ile birleşerek kapsid ve tegüment proteinleri hücre içine salınır²⁸. Glikoprotein-heparan sülfat etkileşimi çok önemli olmasına rağmen hücre kültüründe infeksiyon oluşması için esansiyel değildir. Glikoprotein B den yoksun mutantlar hala infeksiyözdür fakat hücreye bağlanma kapasiteleri azalmıştır. Glikoprotein C den yoksun mutantlar da hücre kültüründe infeksiyon oluşturabilir²⁹. Her ikisinden de yoksun mutantların hücre membranına bağlanması ciddi oranda azalmıştır. Hücre içindeki kapsid nükleusa doğru göç eder³⁰. Nükleus membranında bulunan porlar aracılığı ile viral DNA ve VP16 gibi bazı tegüment proteinleri nükleus içine salınır^{31,32}. Lineer olan viral DNA nükleus içinde sirküler hale gelir. Bu sirkülasyondan hücrenin DNA tamir enzimleri ile etkileşime giren lineer DNA'nın terminal kısmında bulunan 'a' dizisi sorumludur. Prodüktif infeksiyon sırasında HSV gen ekspresyonu kompleks aşamalardan geçer.Viral DNA konak hücrenin RNA Polimeraz II enzimini kullanarak biyosentezi başlatır. Genomun transkripsiyonu çok erken (α ;alfa), erken (β ;beta) ve geç

(γ ;gama) olmak üzere üç fazdan oluşur²⁵. Her faz bir sonrakine geçmek için gereklidir. İlk önce eksprese edilen genler “çok erken” veya diğer adıyla alfa faz genleridir. Bu evrede oluşan proteinler viral gen ekspresyonunu ileri aşamalarını indükler ve transkripsiyonu başlatır³³. Viral genom , bir tegüment proteini olan α -TIF (trans-acting protein) proteini ile etkileşime girer. α -TIF proteini hücrel transkripsiyon faktörleri aracılığı ile çok erken genlerin transkripsiyonunu sağlamakla görevlidir. Bu fazda $\alpha 4$ (ICP4, infected cell protein), $\alpha 0$ (ICPO), $\alpha 27$ (ICP27), $\alpha 22$ (ICP22), $\alpha 47$ (ICP47) gibi beş adet HSV geni eksprese edilir Çok erken gen ürünleri DNA sentezini stimüle eden ve erken viral genlerin transkripsiyonunu sağlayan DNA bağlayan proteinlerdir. ICPO ve ICP27 hücre siklusunu durdurup konağın DNA sentezini inhibe ederler. ICPO ve ICP27 nin bu etkileri VHS tarafından da artırılır^{19,20}. Bir tegüment proteini olan VHS poliribozomları dağıtıp, mRNA’yı degrade ederek hücrel protein sentezini durdurur.

Çok erken (α) proteinlerin konak hücre transkripsiyonunu aktive etmesi ile erken veya (β) genler eksprese olur. Erken genlerin ekspresyonu ile, DNA polimeraz, Ori bağlayan protein ve helikaz-primaz kompleksi gibi viral DNA replikasyonunda görev alan proteinlerin sentezi gerçekleşir. Erken proteinler infekte hücrede belirli bir seviyeye ulaştığı zaman viral DNA replikasyonu başlar²⁰. Bu erken proteinler; Timidin kinaz ve ribonükleotid redüktaz , infekte hücrede, deoksiribonükleotidlerin artmasını sağlar. Bazı erken viral proteinler de yeni sentezlenen viral genomun tamirinde görev alan enzimlerdir. Erken proteinlerin etkisi ile viral DNA replikasyonu başlar ve replikasyonun yüksek seviyelere ulaşması hücreyi virionu oluşturmak için geri dönüşsüz bir yola yönlendirir. DNA replikasyonunun başlaması ile geç genler (γ genler) eksprese edilir ve virionun yapısal proteinleri sentezlenir. Geç fazda virionun otuzdan fazla yapısal proteini sentezlenir. DNA replikasyonu ve geç genlerin transkripsiyonu nükleusta olan replikasyon kompartmanında gerçekleşir. Geç proteinlerin sentezinden sonra oluşan yapısal proteinler kapsidi oluşturmak için nükleusta toplanırlar. Diğer viral proteinler ise viral DNA ile etkileşime girerek, kapsidin içine paketlenmesini sağlar¹⁶. Viral DNA kapside ikozahedronun dikey yüzlerinin birinden girer. UL6 tarafından kodlanan protein viral DNA nın kapside giriş kapısını oluşturur. Kapside giren DNA histon proteinleri ile bağlantılı değildir, fakat bazik poliaminler kapsidin içine giriş aşamasında yardım ederler. Kapsid oluştuğu zaman nükleer membrana yakın bir bölgede tegüment proteini VP16 ve UL31 ile kapsidin çevresi sarılır. Matür kapsid iç nükleer membrana doğru tomucuklanır ve bu tomucuklanma işlemi bir tegüment proteini UL31 tarafından yönetilir. Bu

tomucuklanmadan sonra kapsidin çevresinde geçici bir zarf oluşur. Geçici zarf dış nükleer membran ile birleşir ve kapsid nükleusun dışına çıkar. Kapsid sitoplazmada VP16 ve diğer tegüment proteinlerini alır. Kapsid Golgi kompleksinden oluşmuş bir vezikül içine tomucuklanma ile girer ve bu vezikülün yüzeyinde olan glikoproteinler matür kapsid ile birleşir ve burada virusun kalıcı zarfı oluşur. Vezikül membranı ile plazma membranı etkileşime girer ve virion hücreden salınır. Virus zarfı hücre içi mebranlardan oluşmasına rağmen, virusa ait glikoproteinler hücre yüzeyinde de bulunur ve infekte hücre ile infekte olmayan hücrenin füzyonunu sağlarlar. Bu etki ile infekte hücre kültürlerinde görülen sinsisya adı verilen dev hücrelerin oluşmasına sebep olur¹⁶.

2.2.5. Patogenez

Primer HSV infeksiyonları virus içeren sekresyonlarla direk temas sonucu oluşur. Otoinokülasyon yoluyla da bulaş olabilir. HSV müköz membranlar veya tahrip olmuş deriden vücuda girer. Primer HSV infeksiyonları sıklıkla asemptomatik seyrederek, klinik olarak belirgin bir lezyon yoktur. HSV ektodermal orijinli hücreleri infekte etmeye eğilimlidir. HSV patogenezinde virusun en önemli iki özelliği nörovirulans ve latensidir. Nörovirulans sorumlu γ 134.5 geni HSV DNA'nın uzun segmentinde bulunan tekrarlayan bölgelerinde yer alır³⁴.

HSV genellikle lokalize infeksiyonlara sebep olur. Histolojik olarak herpetik lezyonlarda derinin bazal tabakasında, multinükleer dev hücreler, intranükleer inklüzyon cisimcikleri (Cowdry A cisimcikleri), kromatin azalması, nekroz ve akut inflamatuvar reaksiyon görülür. Normalde konak hücre cevabı bu evrede virusun yayılımını sınırlar. Primer infeksiyon sırasında virus infeksiyon bölgesini innerve eden duysal ve otonom sinir uçlarına alınır. Daha sonra virus, aksonlar boyunca retrograd olarak hareket ederek yaşam boyu latent olarak kalacağı nöronun gövdesine ulaşır³⁵. Bu retrograd transport sırasında virus konak hücrenin miktotübüllerini kullanarak hareket eder. Primer infeksiyonu takiben virus, trigeminal, sakral, lomber, torasik, superior servikal ve vagal gangliyonlar olmak üzere duysal gangliyonların dorsal köklerinde latent infeksiyon oluşturur³⁶. HSV-1 daha çok trigeminal ve servikal, HSV-2 ise sakral gangliyonlarda latent kalır. Primer infeksiyonun iyileşmesinden sonra infeksiyöz HSV gangliyonlarda uzun süre kalmaz ancak primer infeksiyonun olduğu anatomik bölgede bulunan gangliyon hücrelerinde viral DNA % 10-25 oranında tespit edilebilmektedir. Gangliyon hücrelerinin sadece % 1'inde LAT (latency associated transcript) RNA ları

tespit edilebilir. HSV reaktivasyon sırasında duysal sinirlerden anterograd bir akımla kütanöz bölgeye geri gelir ve tekrar epitel hücrelerini infekte eder³⁷. Ultraviyole ışık, stres, travma, immun supresyon, menstrüasyon reaktivasyona sebep olduğu düşünülen durumlardır³⁸.Reaktivasyon sıklığı, viral subtip ve etkilenen anatomik bölge arasındaki ilişkiye bağlı olarak değişebilir. İmmun sistemi yeterli olan kişiler HSV-1 i hem oral hem de genital yolla aldıklarında, HSV-1 reaktivasyonu oral bölgede , genital bölgeye göre daha sık olmaktadır. Aynı şekilde HSV-2 yi hem oral hem de genital yolla alan hastalarda genital bölgede reaktivasyon sıklığı oral bölgeden 8-10 kat daha fazla olmaktadır³⁹. Konağa ait faktörler reaktivasyon oranlarını etkilemektedir. İmmün yetmezliği olan hastalarda reaktivasyon hem daha sık hem de daha ciddi olmaktadır. HSV yenidoğanlar, organ transplantı yapılan veya HIV ile infekte kişilerde sistemik infeksiyon oluşturmaya eğilimlidir. Virusun viseral organlara yayılımı yaşamı tehdit eden hastalıklara sebep olabilir⁴⁰. Kütanöz HSV infeksiyonları infekte eptelyal hücrelerde nükleer dejenerasyon ve hücre membranlarının kaybı ile birlikte balonlaşmaya sebep olur. İnfekte hücreler ya lizise uğrar ya da multinükleer dev hücreler oluşturmak üzere birleşirler. Hücre lizisi ile birlikte bol miktarda virus içeren hücre sıvısı, hücresel artıklar ve inflamatuvar hücreler epidermal ve dermal tabakalar arasında birikir. Mutinükleer dev hücreler genellikle vezikülün tabanında bulunur. Yoğun inflamatuvar cevap vezikülün tabanından dermise doğru yayılır. Lezyonlar iyileşmeye başladığı zaman veziküler sıvı inflamatuvar hücrelerin yoğunluğu sebebiyle pürülan bir hal alır. Daha sonra kabuk oluşur. Vezikül yerinde nadiren skar kalır. İnfeksiyon müköz membranları da tutarsa, ince epitelin hızlı rüptürüne bağlı olarak vezikülden daha çok yüzeysel ülserler oluşur. Mukozal lezyonların histopatolojik bulguları deri lezyonları ile aynıdır³⁹.

Herpes simpleks ensefaliti, virusun merkezi sinir sisteminde infeksiyona sebep olmasıyla gelişir. Virusun beyine girişi veya alternatif olarak virusun temporal loblarda reaktivasyonu tam olarak anlaşılamamış bir fenomendir. Bazı istisnalar hariç replikasyon ciddi MSS infeksiyonuna sebep olurken, konak-virus etkileşimi daha sıklıkla latensiye sebep olur. Primer infeksiyon sistemik olabilir ve merkezi ve periferik sinir sistemi dışında diğer organlar da etkilenebilir. Yenidoğanda, gebelikte ve dissemine HSV infeksiyonu sırasında diğer organlar da etkilenir. Multiorgan hastalıkları, genellikle virusun mukozal yüzeylerdeki replikasyonunu sınırlandıramayan konaklarda vireminin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Herpes simpleks ensefalitinin patogenezi 3 aylıktan büyük çocuklarda ve erişkinlerde kısmen anlaşılabilmiştir, fakat

bütün yaş gruplarında benzerdir. Hem primer hem de tekrarlayan HSV infeksiyonları MSS de hastalığa sebep olabilirler. Primer infeksiyonu olan hastaların büyük çoğunluğu 18 yaşından küçüktür. Geri kalan üçte ikilik kısımda spesifik antikorlar mevcuttur fakat hastaların yalnızca % 10'unda tekrarlayan herpes labialis öyküsü vardır⁴¹.

Özellikle insanlarda primer infeksiyon sırasında virusun MSS ne giriş yolu tartışma konusudur. Klasik çalışmalarda HSV nin hayvanlarda beyine giriş yolları hem olfaktör hem de trigeminal yollarla olduğu tanımlanmıştır. Fakat insanlarda bu virusun MSS ne ulaşma yolları kesin olarak aydınlatılamamıştır. Olfaktör traktustan limbik sisteme sinirlerin anatomik dağılımı, virusu temporal loblardan izole edilişi bu yolun virusun MSS ye ulaşması için uygun bir yol olduğu hipotezini destekler niteliktedir⁴². Elektron mikroskopisi herpes simpleks ensefaliti gelişen bazı hastalarda olfaktör yolun giriş yolu olduğunu göstermiştir. Fokal herpes simpleks ensefaliti oluşumu ile sonuçlanan HSV reaktivasyonu patogeneizde asıl önemli problemdir. İnfekte beyin dokusunda latent virusun varlığı kanıtlamış, fakat bu bölgelerde virus reaktivasyonu hipotez olarak kalmıştır. Virusun periferde reaktive olduğu ve nöronal yollarla MSS ye taşındığı öne sürülmektedir. Buna karşılık rekürren herpes labialis ile ilgili incelemelerde virusun reaktivasyonu trigeminal gangliyonlarda ortaya çıkar ve herpes simpleks ensefaliti bunun nadir bir sonucudur^{43,44}. Konağın immun cevabı herpes simpleks ensefaliti patogenezinde önemli fakat tam olarak tanımlanamamış bir role sahiptir. Herpes simpleks ensefaliti immunsuprese konaklarda normal konaklara göre daha sık ortaya çıkmaz fakat, ortaya çıktığı zaman atipik ve progresif seyir izler.

2.2.6. İmmünite

HSV'ların en önemli özelliği nöronları infekte edebilme ve bu hücrelerde persiste kalarak duysal gangliyonlarda latent infeksiyonlara yol açabilme yeteneğidir. Tekrarlayan HSV infeksiyonları gangliyonlarda viral reaktivasyon sonucu gelişir. Virus başlangıç infeksiyonun olduğu bölgeye geri döner ve asemptomatik infeksiyon veya tekrarlayan lezyonlara sebep olabilir. Primer HSV infeksiyonunda lokal kontrol mekanizmaları virusun yayılımını sınırlar ve infeksiyöz ajanı nötralize eder. Başlangıçta lokal immun cevap, IFN α ve IFN β , aktif doğal öldürücü hücreler ve makrofajlar gibi spesifik olmayan savunma mekanizmaları ve sonra sitotoksik T hücreleri gibi spesifik cevabı kapsamaktadır. Viral infeksiyondan sonra doğal immun

cevap tip I IFN α ve IFN β sentezi ve sekresyonu ile başlar. İnterferonlar infekte hücrede ve bu hücrelerin çevresini saran hücrelerde antiviral cevabı indükler. IFN bağımlı antiviral aktiviteye hücrel enzimler olan 2'-5' oligoadenilat sentetaz ve çift zincirli RNA bağımlı protein kinaz aracılık eder. Bu aşamada JAK/STAT kinaz yolunu aktive eden intraselüler sinyal molekülleri de görevlidir. HSV infeksiyonlarında IFN α çok erken gen ekspresyonunu inhibe etmektedir⁴⁵. Antiviral aktivitelerine ek olarak IFN'lar güçlü immunmodülatördürler. IFN lar makrofaj ve doğal öldürücü hücrelerin aktivasyonuna aracılık ederler. Ayrıca sitotoksik T hücrelerini aktive eder, MHC Class I ve II moleküllerinin ekspresyonunu artırır, hücre yüzeyindeki kostimülatör molekülleri indükler, sitokin sekresyonunu stimüle eder ve lokal inflamasyonu artırır. Merkezi sinir sisteminde $\gamma\delta$ T hücreleri, doğal öldürücü hücreler, CD4+ T hücreleri ve nöronların HSV infeksiyonuna karşı IFN γ ve TNF (Tumor necrosis factor) ürettikleri bilinmektedir^{46,47,48}.

Doğal öldürücü hücreler, doğal öldürücü T hücreleri⁴⁹ ve kompleman sistemi gibi doğal bağışıklık sistemi komponentleri HSV infeksiyonlarını in vivo olarak kontrol edebilmesine rağmen hiç biri semptomatik infeksiyondan korunmada tam olarak etkili değildir. Bunun tersine kazanılmış bağışıklık sistemi infeksiyona karşı korumada daha güçlüdür. Doğal öldürücü hücreler infeksiyona karşı savunmada ilk sırada yer alırlar. Doğal öldürücü hücreler, patojen ile infekte hücreleri spesifik sitotoksik T hücre cevabından önce lizise uğratar. Bu hücreler ayrıca insanlarda herpes virüsüne bağlı hastalıkların iyileşmesinde de önemli rol oynar. Doğal öldürücü hastalıkların aktivitesi azalırsa ciddi herpetik hastalıklar ortaya çıkar⁵⁰.

Makrofajlar gibi diğer mononükleer hücreler infeksiyon bölgesinde bulunur ve aktive olarak IFN γ ve interlökinler gibi immun hücre mediatörlerinin salınımını sağlar. Makrofajlar antikor bağımlı hücrel cevapta ve antijen sunumunda önemli rol oynarlar⁵¹.

Antijen sunan hücreler MHC Class I ve II eksprese ederek antijen spesifik T hücre aktivasyonunda stimülatör rol oynarlar. En güçlü antijen sunan hücreler dentritik hücrelerdir ve diğer antijen sunan hücrelerden farklı olarak naif T hücrelerini aktive edebilirler⁵². Farklı dentritik hücre tipleri tanımlanmıştır. Dokularda bulunan hücreler; epidermal Langerhans hücreleri, dermal veya submukozal dentritik hücrelerdir ve genellikle miyeloid orijinlidir. Lokal dokuda görev yapar ve bir stimulusla karşılaştığı zaman lenf nodlarına doğru hareket eder. Bu göç sırasında yüzeylerinde MHC Class II ve kostimülatör molekülleri artırarak olgun dentritik hücrelere farklılaşır. Dentritik

hücreler lenf nodunda antijenleri Th lenfositlerine sunar. Diğer bir grup dentritik hücre plasmasitoid dentritik hücrelerdir, bu hücreler kan dolaşımında bulunur, deri ve mukozada dinlenme halinde bulunmazlar. Plasmasitoid dentritik hücreler HSV ile invitro olarak stimüle oldukları zaman yüksek seviyelerde tip I interferon sekrete ederler. Diğer dentritik hücre alt grupları sekonder lenfoid organlarda bulunan ve CD8 α ekspresyonu yapan hücrelerdir. CD8 α + dentritik hücreler ekzojen antijenlerin CD8 T hücrelerine çapraz sunumunda özellikle önemlidir^{53,54}. Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, artmış dentritik hücre sayısı ile HSV enfeksiyonuna karşı korunmada bir korelasyon olduğu gösterilmiştir⁵⁵. HSV ve dentritik hücreler arasındaki etkileşim incelendiğinde, HSV'nin immun sistemden kaçabilmesi için dentritik hücre fonksiyonlarını baskılaması gerektiği düşünülmektedir⁵⁶. HSV-1 in vitro olarak human monosit derive dentritik hücreleri infekte eder ve enfeksiyon sırasında bu hücreler zayıf T hücre stimülatörleri olarak davranırlar. HSV-2 de benzer bir inhibitör etkiye sahiptir. Bu etkinin, MHC Class I antijenlerinin oluşumunu engellemesiyle ortaya çıktığı öne sürülmektedir. HSV-1 enfeksiyonları ayrıca dentritik hücrelerin morfolojisinde de değişiklik yapar ve kemotaktik stimuluslara karşı dentritik hücrelerin cevabını azaltır. HSV farklı stratejiler kullanarak profesyonel antijen sunan hücrelerin antijen sunumunu engeller. HSV-1 ve HSV-2 ile farelerde oluşan yüzeysel enfeksiyonlardan sonra viral replikasyon epidermal tabakada sınırlı kalır. Fakat insanlarda semptomatik enfeksiyon oluşumu için epidermal inokülasyonun yeterli olup olmadığı veya deri ve mukozada çizik ve ezilme gibi tahribatların gerekli olup olmadığı tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte dermal/submukozal doku fazla miktarda infekte olmayan dentritik hücre içermektedir. Fakat epidermiste bulunan dentritik hücrelerin özellikle Langerhans hücrelerinin fonksiyonları HSV taşıdıkları için zayıflar. İnfekte olmayan dermal/submukozal dentritik hücreler epidermiste bulunan virusla infekte ölmüş veya ölmek üzere olan hücrelerden viral antijenleri alır ve o bölgeyi drene eden lenf nodlarına gelerek antijenleri çapraz sunum ile sunar. Epidermal HSV-1 enfeksiyonundan sonra CD8+T hücreleri sadece lenf nodlarında bulunan CD8 α + dentritik hücreler tarafından aktive olurlar. Bunun aksine HSV-2 ile vajinal enfeksiyondan sonra virus spesifik CD4+ T hücreleri, CD11b+ submukozal dentritik hücreler ile aktive olur. HSV-1 ve HSV-2 enfeksiyonlarında bu fark tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte CD11b+ dentritik hücreler lenf nodlarına göç ettikleri zaman CD8 α + dentritik hücrelere dönüşebilirler. İnfekte olmuş dentritik hücrelerin morfolojileri ve kemotaksise verdikleri cevap bozulduğu için, lenf nodlarına göç etmeleri güçleşir. T hücre aktivasyonu için

infekte olmayan dentritik hücrelerin viral antijenleri çapraz sunum ile sunması gerekmektedir. Langerhans hücreleri CD8+ ve CD4+ T hücrelerinin aktivasyonundan sorumlu değildir. Langerhans hücreleri direk T hücre stimülasyonu yerine antijenin lenf noduna transferinde görevli olduğu düşünülmektedir^{53,54}.

Plazmasitoid dentritik hücrelerin HSV ile karşılaşmadan sonra çok yüksek miktarlarda tip I interferon sekrete ettikleri görülmüştür. İnterferon sekresyonu az metillenmiş CpG motiflerinden zengin olan HSV DNA'nın toll like reseptör 9'a (TLR9) bağlanması sonucu oluşabilir. Periferik HSV infeksiyonlarından sonra plazmasitoid dentritik hücreler lenf nodlarında fazla miktarda toplanır fakat T hücrelerine direk antijen sunumunda görev almaz. Bu hücreler ayrıca naif T hücrelerinin proliferasyonunu çok zayıf stimüle edebilir⁵⁷.

Erken ve geç HSV infeksiyonlarında çapraz sunumda tip I INF anahtar mediatördür. İnfeksiyonun erken fazlarında dokuda bulunan myeloid dentritik hücrelerden tip I INF sekrete edilir. Bu infekte olmayan dentritik hücreler için en önemli sinyaldir. Tip I INF, dentritik hücreleri uyararak bu hücrelerin matürasyonunu ve göçünü sağlar. Daha sonra parçalanmış infekte hücrelerden çapraz antijen sunumunu gerçekleştirir⁵⁸.

İnfeksiyon ilerledikçe virus spesifik immun cevap tespit edilebilir. İnfeksiyondan sonra 3-4 gün içinde HSV spesifik CD4+ Th 1 hücreleri mukoza ve lenf nodlarında tespit edilebilir⁵⁹.

Humoral immun cevap da HSV infeksiyonunun başlamasından hemen sonra gelişir. HSV-spesifik mukozal immun cevapta en fazla bulunan antikorlar, plazma hücrelerinden salınan IgA antikorlarıdır. IgA antikorları infeksiyonun başlangıcından itibaren ilk 3 günde görülür ve pik değerine 6. haftada ulaşır. HSV spesifik IgA antikorları en az 6 hafta ortamda bulunur ve seviyeleri giderek azalır. HSV spesifik IgA'nın ortaya çıkmasından sonra IgG1 ve IgG3 antikorları görülmeye başlar. HSV spesifik IgM sekrete eden B hücreleri kadın genital mukozasının sekresyonlarında tespit edilebilir⁶⁰.

İmmüsupresyon viral reaktivasyona katkıda bulunmasına rağmen, immünsistemin gangliyonda latent olarak kalan virusun reaktivasyonunda etkisi olduğuna dair deliller yoktur⁶¹. Tekrarlayan subklinik HSV epizodları başarılı bir antijenik stimülasyona sebep olabilir ve sonuçta HSV spesifik immun hafızanın oluşmasını sağlar. Tekrarlayan HSV infeksiyonu sırasında doğal öldürücü hücreler ve CD4+T hücreler genital lezyonlarda CD8+T hücrelerden daha erken tespit edilebilir.

CD4+ ve CD8+T hücreleri tekrarlayan epizodlarda virusun temizlenmesi için ana hücrelerdir. Vezikül sıvısında düşük IFN γ titreleri tekrarlayan infeksiyonların sıklığını artırır. Vezikül sıvısında T hücre proliferasyonu ise tekrarlayan infeksiyonların sıklığını azaltır. Tekrarlayan genital infeksiyonlarda sekretuar IgA'nın bulunması viral yayılım süresini kısaltır. HSV spesifik IgA, IgG1, IgG3 antikorları tekrarlayan HSV-2 epizodları sırasında bütün hastaların serumlarında bulunur. HSV spesifik IgM ve IgG4 antikorları bu hastaların % 70-80 inde tespit edilebilir⁶².

HSV infeksiyonları sırasında konak immün cevabı persiste kalır ve HSV ye bağlı hastalıkları kontrol etmeye çalışır. Bu yüzden genellikle tekrarlayan infeksiyonlar daha hafif geçer ve daha kısa sürer. HSV-1 ve HSV-2 arasında çapraz koruma olabileceği gibi, yenidoğanlarda anneden geçen antikorlar kısmen koruyucudur. HSV infeksiyonunun erken döneminde HSV-spesifik T hücre infiltratları herpetik lezyonlarda tespit edilebilir. HSV hastalığının iyileşmesinde hücresel immün cevap humoral immün cevaptan daha önemlidir. Doğal öldürücü hücreler, makrofajlar ve T lenfositler, ayrıca IFN γ ve IFN α , IL-2 ve IL-12 gibi sitokinler hastalığın iyileşmesinde büyük öneme sahiptir. HSV-spesifik CD4+ ve CD8+ T hücreleri rekürren epizodlarda oluşan lezyonlarda tespit edilebilir⁶³. Bunun aksine agamaglobulinemik hastalarda tekrarlayan HSV infeksiyonları normal popülasyondan daha ciddi ve daha sık görülmez⁶⁴. CD8 T hücre cevabı reaktif olmuş latent virusun oluşturduğu sekonder infeksiyonlardan da korunmada önemlidir. Uzun yıllardır HSV infeksiyonunun latent döneminde çok az veya hiç viral gen ekspresyonu olmadığına inanılıyordu, fakat farelerde yapılan çalışmalarda glikoprotein-B spesifik CD8 T hücrelerinin, dorsal kök gangliyonlarında bulunan nöronlarda HSV-1 reaktivasyonunu engellediği gösterilmiştir. Bu mekanizma infekte nöronlarla direk temas ve IFN γ sekresyonu ile olur⁶⁵. İnsanlardaki dorsal kök gangliyonlarının histopatolojik olarak incelenmesi ile CD8 T hücre infiltrasyonu ve inflamatuvar sitokinlerin varlığı bu bulguları doğrulamaktadır⁶⁶. Bu bulgular HSV'nin oluşturduğu latent infeksiyonların sadece virusun özelliğine bağlı olmadığını, konak immün cevabının latent fazın gelişimine katkıda bulunduğunu göstermiştir. Bu durum immün kompromize hastalarda artmış reaktivasyon sıklığını da açıklayabilir⁶⁷.

2.2.7 .HSV'nin yaptığı hastalıklar

2.2.7.1. Primer herpetik gingivostomatit

Primer herpetik gingivostomatit HSV-1 infeksiyonunun en sık rastlanılan klinik tablosudur. Oral veya perioral bölgede veziküler ve ülseratif lezyonlarla karakterizedir. Daha önce HSV-1 ve HSV-2 ye karşı antikör cevabı olmayan kişilerde bu viruslarla ilk karşılaşmadan sonra ortaya çıkar. Primer infeksiyonun çoğu subklinik seyreder⁶⁸. Tipik olarak 1-5 yaş arası çocuklar etkilenirken erişkinlerde de ortaya çıkabilir. İnfantlar yaşamın ilk altı ayında anebep geçen antikörlerle pasif olarak infeksiyona karşı korunurlar. Hem HSV-1 hem de HSV-2 primer oral infeksiyona sebep olabilirken vakaların hemen tamamına yakınında etken HSV-1 dir. Semptomatik infeksiyonda, inokulasyon bölgesinde yanma ve/veya parestezi, servikal veya submandibular lenfadenopati, ateş, halsizlik, kas ağrısı, iştah kaybı ve baş ağrısı görülebilir. Bir iki gün sonra oral mukozada veziküller görünür hale gelir ve bu veziküller hızla eritematöz zemin üzerinde 1-3 mm çapında gri beyaz ülserlere dönüşür. En karakteristik ortaya çıkış şekli akut gingivittir. Gingiva eritematöz ve ödemli görünür. Genç erişkinlerde farenjit ve mononükleoz benzeri sendrom HSV-1 primer oral infeksiyonu sırasında görülebilir. Hastalığın toplam süresi 10-21 gündür. Primer gingivostomatitte oral sekresyonlardan ortalama 7-10 gün süreyle virus atılımı gerçekleşir. Virus, asemptomatik çocukların da tükürüklerinden izole edilebilir⁶⁹.

2.2.7.2. Tekrarlayan orofasiyal herpes

Primer infeksiyondan sonra latent olarak kalan HSV periyodik olarak reaktive olur ve duysal gangliyondan infeksiyon bölgesine doğru göç eder. HSV-2 ye bağlı tekrarlayan orofasiyal hastalık çok nadirdir⁷⁰. Toplumda HSV-1 in yüksek prevalansına rağmen seropozitif hastaların sadece % 10-40'nda semptomatik tekrarlayan orofasiyal hastalık ortaya çıkar. Hastaların genetik yatkınlığı, immun durumları, yaşları, infeksiyonun anatomik bölgesi, inokulumun başlangıç dozu ve viral subtip gibi etkenler terarlayan infeksiyonların sıklığını belirler. Reaktivasyon sıklığı 35 yaşından sonra oldukça azalır⁷¹. Primer infeksiyonla karşılaştırıldığında tekrarlayan epizodlar daha hafif seyreder ve daha kısa sürer. Hastalığın ciddiyeti hafif bir rahatsızlık hissinden, dudaklar, burun , çene ve nazal septumu kapsayan bölgelerde yoğun veziküllere kadar değişir. Sağlıklı konaklarda terarlayan lezyonlar primer infeksiyonun olduğu dermatomla sınırlıdır ve sıklıkla hafif bir rahatsızlık hissine sebep olur⁶⁹. Herpes

simpleks labialis veya diğerk adıyla uçuk tekrarlayan orofasiyal herpesin en sık rastlanılan klinik formudur. Hastaların büyük kısmı yılda 2-3 atak geçirirken, % 5-10 kadarında yıllık atak sayısı 6 dan fazladır. Herpes labialis tipik olarak üst dudağın vermillon sınırı ve çevresindeki kütanöz bölgeyi tutar. Hastaların %60 ında vezikül ortaya çıkmadan önce o bölgede lokal ağrı, kaşınma ve yanma hissi bulunur. Prodromal semptomlar genellikle 6 saat sürer ve erken replikasyon mükokütanöz dermatomu innerve eden duysal sinirin uç kısmında olur. Tekrarlayan infeksiyonların dörtte biri prodromal evrede kalır, karakteristik veziküller oluşmaz. Klasik vakalarda prodrom döneminin başlaması ile birlikte 24 saat içinde çok sayıda vezikül oluşur, bu veziküller birleşir, rüptüre olur ve hızla kabuklanır. İlk birkaç günde ağrı ve rahatsızlık hissi daha fazla iken, lezyonlar iki haftadan daha kısa bir sürede skar bırakmadan iyileşir. Özellikle oral bölgeye travmatik işlem yapılan hastalarda tekrarlayan herpes infeksiyonları ilk kez oral kavitede görülebilir. İmmün sistemi yeterli olan hastalarda tekrarlayan intraoral herpes, herpes labialisten çok daha nadir görülür. Tekrarlayan intraoral herpes tipik olarak sert damağın keratinize dokularını etkiler ve büyük palatin sinir ve bukkal sinir ile innerve edilen gingivaya dağılır. Rüptüre olmaya eğilimli veziküller, tek taraflı olarak mandibular ve maksillar bölgede molar ve premolar bölgede ortaya çıkar ve veziküller orta hattı geçmez. Intraoral veziküller hızla rüptüre olarak birleşir ve düzensiz, yüzeysel ülserler oluşturur. Prodromal semptomlar tekrarlayan intraoral hastalıkta nadir görülür ve oral kavitede intakt vezikül gözlenmesi çok nadirdir. Sağlıklı insanlarda tekrarlayan intraoral herpes, herpes labialisin oluşmasından sonra gözlenir⁷⁰.

2.2.7.3. Genital Herpes

Genital herpes infeksiyonlarına hem HSV-2 hem de HSV-1 sebep olabilirler. Genital herpes, asemptomatik olabildiği gibi, hafif belirtilerden, üriner retansiyon ve menenjit gibi komplikasyonların görülebildiği ciddi hastalık tablosu ile de ortaya çıkabilir. Yapılan çalışmalar, HSV-2 infeksiyonlarının genellikle subklinik seyrettiğini göstermiştir. Klasik primer infeksiyon genital bölgede ağrı, yanma ve kaşınma gibi prodromal belirtiler ile başlar. Prodromal dönem yaklaşık 24 saat sürer. Baş ağrısı, ateş, halsizlik ve inguinal lenfadenopati gibi sistemik belirtiler sıklıkla bulunur. Seksüel temastan birkaç gün sonra kadınlarda labium minör, introitus ve üretra meatusunda değişen boyutlarda veziküller ortaya çıkar. Erkeklerde veziküller sıklıkla penis shaftında

ve glans penistedir. Kadınlarda primer infeksiyon sırasında sıklıkla servikal lezyonlar ortaya çıkar fakat anatomik lokalizasyonundan dolayı fark edilemeyebilir. Her iki cinste de perine, uyluk ve gluteal bölgede veziküller görülebilir. Veziküller yavaş yavaş rüptüre olur ve düzensiz, yüzeysel ülserler oluşur. Bu ülserler kabuklanır ve skar bırakmadan iyileşir⁷². Kadın genital sisteminin daha büyük bir alan kaplaması ve daha nemli bir bölge olması kadınlarda daha ciddi hastalık tablosunun ortaya çıkmasına sebep olur. Kadınlarda sistemik semptomlar olan aseptik menenjit ve dizüri gibi komplikasyonların gelişme ihtimali daha fazladır. Menenjit primer HSV infeksiyonundan sonra kadınların % 30'u ve erkeklerin % 10'unu etkileyen ciddi bir komplikasyondur. Primer HSV infeksiyonu 2-6 hafta kadar sürebilir fakat virusun genital traktüsten atılımı daha uzun sürer. Özellikle primer infeksiyon sırasında, dolaşımda antikorların bulunmadığı veya hala yükselmekte olduğu dönemde, diğer anatomik bölgelere otoinokülasyon mümkündür⁷³. Primer infeksiyonun ardından virus bölgesel duysal veya otonom gangliyonlarda latent kalır. Latent HSV-2'nin reaktivasyonu subklinik olabildiği gibi mükokütanöz hastalık olarak da ortaya çıkabilir. Tekrarlayan infeksiyonlar spontan olarak veya viral reaktivasyonun tetiklenmesi sonucu ortaya çıkabilir. Primer infeksiyonların aksine, tekrarlayan epizodlar klinik olarak daha hafif ve lokalizedir. Viral yayılım da daha az olarak görülür. Ciddi primer infeksiyon geçiren hastalarda asemptomatik tekrarlayan infeksiyon sıklığı daha fazladır. Tekrarlayan semptomatik infeksiyon erkeklerde daha sıktır bu durum erkekten kadına HSV transmisyonunun daha etkili olmasını kısmen açıklar⁷⁴. HSV-2 genital herpesin en sık sebebidir, fakat genital bölgede HSV-1 prevelansı giderek artmaktadır. Dünyanın değişik ülkelerinde HSV-1'e bağlı genital herpes vakaları Singapur, İsviçre, İngiltere, Norveç ve Japonya'da aşırı yükselmiş ve % 40'lara ulaşmıştır. Primer genital HSV-1 infeksiyonları kadınlarda daha sıktır ve genellikle semptomatiktir. Genital HSV-1 infeksiyonu genital-genital yol veya oral-genital yol ile virüsü aktif olarak yayan infekte hastalardan bulaşmaktadır. Fakat en sık görüleni virusun oral-genital yol ile bulaşmasıdır. HSV-1 e bağlı genital herpes vakaları beyazlarda siyalara oranla daha fazla görülmektedir. Bu durum çocukluk ve erken erişkinlik dönemlerinde siyalarda daha fazla görülen HSV-1 seropozitifliğinin genital infeksiyondan korunmada etkili olduğu şeklinde açıklanabilir. Yani çocukluk döneminde oral HSV-1 infeksiyonu geçirenler, gelecekte genital HSV-1 infeksiyonuna karşı daha az risk altındadırlar. HSV-2 antikorları rutin olarak ergenlerde görülmez ve antikor prevelansı seksüel aktivite ile korele olarak yükselir⁷⁵.

Küçük bir çocuğun genital bölgesinde bulunan herpes vezikülleri özellikle de bu lezyonlar HSV-2 ye bağlı ise çocuğun seksüel açıdan kötüye kullanımını düşündürebilir. Orolabial bölgeden otoinokülasyonla HSV-1 genital infeksiyonu mümkün olsa da bu durum da orogenital seksüel kötüye kullanmayı düşündürmelidir. Unutmamak gerekir ki neonatal HSV lezyonları hem HSV-1 hem de HSV-2 sebep olabilir, ve bu lezyonlar yenidoğanın genital bölgesinde olabilir. Bu genital lezyonlara başka yerdeki kütanöz lezyonlar da eşlik edebilir ve genital lezyonlar erken çocukluk döneminde reaktive olabilir⁷⁶.

2.2.7.4. Egzema Herpetikum

Atopik dermatitlilerde veya baş-boyun bölgesinde kozmetik cerrahi girişim geçirenlerde oral veya perioral HSV infeksiyonları komplike olabilir ve egzema herpetikum denilen ciddi, progresif bir hastalık tablosu ortaya çıkabilir. Egzema herpetikumda impetigoya benzeyen ani başlayan , geniş alana yayılan veziküloülseratif nodüller ve plaklar gözlenir. Veziküller ve püstüller birleşip rüptüre olur ve bakteriyel süperinfeksiyonlara açık geniş yüzeysel ülserler oluşur. Ülserler süper infeksiyonlarla komplike olmazsa kabuklanır ve yaklaşık bir ay içinde sekel bırakmadan iyileşir⁷⁷.

2.2.7.5. Herpes Gladyatorum

Genellikle güreş, futbol ve ragbi gibi sporlarla uğraşanların tahrip olmuş derilerinden HSV-1 in inokülasyonu sonucu oluşan bir hastalıktır. Yüzde, kulaklarda ve boyunda deriden deriye temas sonucu, iki hafta içinde karakteristik deri döküntüleri görülür. Tekrarlayan kütanöz infeksiyonlar görülebildiği gibi oküler ve sistemik belirtiler de görülebilir⁷⁸.

2.2.7.6. Herpetik Dolama

Kütanöz herpetik bir infeksiyon olan herpetik dolama genellikle sağlık çalışanları, genital HSV infeksiyonu olan erişkinler ve primer oral herpesi olan çocukların, el parmaklarının distal falanklarını etkiler. Dolama başka bir bölgede olan herpes infeksiyonunun parmaklardaki sıyrıklara otoinokülasyonu sonucu oluşur. Hem HSV-1 hem de HSV-2 etken olabilir. Primer herpetik gingivostomatiti olan küçük çocuklarda parmak emme ile otoinokülasyon olabilir. Sağlık çalışanlarında herpetik dolama önemli bir problemdir. Hastaların aktif oral veya genital lezyonlarından bulaşır.

Etkilenen dermatomda şişlik, kızarıklık, püstüler olmayan veziküller ve ciddi lokal ağrı ile seyreder. Kendi kendini sınırlayan ve cerrahi işlem gerektirmeyen bir hastalıktır. Bu yüzden bakteriyel felon ve paronişiden ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Hastalık 3-4 hafta içinde iyileşir, fakat tekrarlayan infeksiyonlar görülebilir⁷⁹.

2.2.7.7. Oküler herpes

Oküler HSV infeksiyonu korneal körlüklerin önemli bir sebebidir. Oküler HSV infeksiyonu olan hastaların %22'sinde eş zamanlı primer oral HSV infeksiyonu vardır. Hastaların % 58'inde ise primer oral HSV infeksiyonu kısa süre önce geçirilmiştir. Oküler HSV infeksiyonu tek veya çift taraflı keratokonjonktivit ve tekrarlayan oküler ülserlere sebep olur⁸⁰.

2.2.7.8. Neonatal Herpes

HSV'ye bağlı neonatal infeksiyonlar genellikle genital infeksiyonların bebeğe vertikal olarak geçişi sonucu ortaya çıkar. Çoğunlukla etken HSV-2 dir. HSV ile infekte infantlar sıklıkla prematüre ve düşük doğum ağırlıklıdır. HSV ile ilişkili neonatal infeksiyonlar ilk kez 1930 ların ortasında fatal bir vakanın histopatolojik bulgularını tarif eden Hass tarafından rapor edilmiştir⁸¹. Batignani 1934 yılında yeni doğanda HSV ye bağlı keratiti tarif etmiştir⁸². Geçen yıllar içinde HSV nin yeni doğanlarda sebep olduğu hastalık spekturumu daha iyi belirlenmiş ve antiviral tedavi daha etkili olarak kullanılmaya başlanmıştır. Gebelik döneminde en sık karşılaşılan genital HSV formu tekrarlayan genital herpes infeksiyonlarıdır⁸³. Gebelik sırasında primer genital HSV infeksiyonu geçiren gebelerin bebeklerine virüsü bulaştırma riski rekürren infeksiyon geçiren gebe kadınlara göre 10-30 kat daha fazladır. HSV-2 seronegatif olan gebe kadınların % 10 kadarında HSV-2 seropozitif seksüel partnerleri bulunmaktadır ve bu kadınlar primer infeksiyon geçirme riski ile karşı karşıyadır⁸⁴. Hem HSV-1 hem de HSV-2 için seronegatif olan kadınlar HSV-1 seropozitif olan eşlerinden de HSV-1 genital infeksiyonunu oral-genital yol ile alabilirler ki HSV-1 de aynı oranda yıkıcı infeksiyonlara yol açar. Bu bireylerde eşlerinden infeksiyon alma riski gebelik döneminde % 3,7'dir. HSV-1 için seropozitif kadınlarda gebelik döneminde HSV-2'ye yakalanma oranı % 1,7'dir. Bu oran HSV ile infekte bebek doğuran kadınların % 60-80'inde genital HSV infeksiyonu belirtisi ve öyküsü olmaması ile uyumludur⁸⁵.

Tekrarlayan genital HSV infeksiyonları ile karşılaştırıldığında primer infeksiyon geçiren hastalarda HSV spesifik antikorlar daha düşük konsantrasyonlarda plasentayı geçerler ve daha az reaktiftirler. Ayrıca primer infeksiyon geçiren anneler genital traktüste virüsü daha fazla yayarlar. Neonatal infeksiyonun oluşabilmesi için gebe kadının semptomatik veya asemptomatik olarak doğum sırasında virüsü yayması gerekmektedir⁸⁶. Maternal infeksiyonun tipi (primer/rekürren), annenin antikor düzeyi, membranların rüptüre olma süresi, mukokütanöz bariyerlerin durumu (fetal kafa elektrodlarının kullanımı vb), doğumun şekli (sezeryan/ vajinal doğum) neonatal dönemde bulaşı etkileyen faktörlerdir. Doğuma yakın zamanda primer genital herpes geçiren annelerin bebekleri neonatal hastalık gelişimi açısından en büyük risk altındadır. Bir kişide daha önceden HSV-1 veya 2'ye karşı antikor yok ve bu kişide HSV infeksiyonu gelişirse primer HSV infeksiyonunun ilk epizodunu geçirmektedir. Daha önceden HSV-1'e karşı antikorları var ve genital traktüste HSV-2 infeksiyonu başlamışsa bu kişi primer olmayan infeksiyonun ilk epizodunu geçiriyordur. Latent dönemden sonra viral reaktivasyon gerçekleşmiş ve virus deri ve mukozalara geri dönerek infeksiyon oluşursa rekürren infeksiyondur⁸⁷.

Neonatal HSV infeksiyonu gelişen bebeklerin % 57'sinde annede primer HSV infeksiyonunun ve ilk epizodu, % 25'inde primer olmayan infeksiyonun ilk epizodu, % 2 sinde tekrarlayan HSV infeksiyonu tespit edilmiştir. Uzamış membran rüptür zamanı neonatal infeksiyon riskini artırmaktadır⁸⁸. Aktif genital lezyonu olan gebe kadınların sezeryan ile doğum yaptırılması eğer membran rüptür zamanı 4 saati geçmemişse bebekte infeksiyon riskini azaltmaktadır. Membranların rüptür zamanına bağlı olarak sezeryan sonrası da infeksiyon gelişebildiği gösterilmiştir⁸⁹.

Neonatal herpes hastalığının insidansı 1/3000-1/ 20000 canlı doğum arasında değişmektedir⁹⁰. Bebek doğurma yaşındaki erişkinlerdeki genital HSV infeksiyon sıklığına göre neonatal infeksiyonlar çok daha nadir görülmektedir. HSV-2 genital infeksiyonunda artış neonatal HSV infeksiyonu artışına sebep olmaktadır. Neonatal HSV infeksiyonu insidansı son yıllarda sistematik olarak artmamasına rağmen son 5 yılda neonatal HSV hastalığının ciddiyeti, MSS (Merkezi Sinir Sistemi) ve dissemine infeksiyonların artışı dikkat çekmektedir. Yenidoğana HSV infeksiyonu intrauterin, peripartum ve postpartum dönemde bulaşabilir. Transmisyon zamanı infekte yenidoğanlarda % 85 oranında peripartum dönemdedir. İnfeksiyon yenidoğanların % 10'una postnatal bulaşırken, % 5'i inutero dönemde virüsü almaktadır⁷⁶. HSV infeksiyonu peripartum veya postpartum dönemde 3 şekilde ortaya çıkar:

- 1) Deri-göz ve ağızda lokalize hastalık (SEM; skin, eye, mouth) Neonatal HSV vakalarının % 45'ini oluşturur.
- 2) Ensefalit (SEM ile birlikte veya değil) vakaların % 30'unu oluşturur.
- 3) Yaygın infeksiyon. Multipl organ tutulumu vardır, vakaların % 25'inde MSS, akciğer, karaciğer, adrenal bezler, deri, gözler, ve veya ağız tutulumu vardır⁹¹.

Yenidoğanda HSV'ye bağlı lokal hastalık, ensefalit ve dissemine infeksiyonda mortalite ve morbidite oranları değişir.

İntrauterin HSV hastalığı 300.000 doğumda 1 görülmektedir⁹². İntrauterin infeksiyon nadir görülmesine karşın etkilenen bebekler gözden kaçabilir. İnutero infeksiyon sonucu bebekte, skarlar, aktif lezyonlar, hipopigmentasyon veya hiperpigmentasyon, aplazia kutis, ve/veya eritematöz maküle ekzantemler gibi deri belirtileri, mikroftalmi, retinal displazi, optik atrofi ve/veya koryoretinit gibi göz belirtileri, mikrosefali, ensefalomalazi, hidransefali, ve/veya intrakranyal kalsifikasyon gibi nörolojik belirtiler görülür⁹³.

Neonatal HSV infeksiyonu olanların yarısı veya üçte ikisinde dissemine hastalık ortaya çıkabilir. Ensefalit, dissemine hastalığı olanların % 60-75'inde görülür. Veziküler döküntülerin görülmesi tanıyı kolaylaştırarak tedavinin erken başlamasına sebep olsa da hastaların % 20'sinden fazlasında veziküler lezyonlar görülmez. Yaygın neonatal HSV infeksiyonunda ölüm ciddi koagülopati, karaciğer disfonksiyonu ve hastalığın akciğer tutulumuna bağlıdır⁹⁴.

HSV infeksiyonu olan yenidoğanların üçte birinde MSS hastalığı gelişir. MSS hastalığının klinik belirtileri fokal veya generalize nöbetler, letarji, iritabilite, tremor, vücut ısısı değişiklikleri ve bombe fontaneler olabilir. MSS hastalığı olduğu belirlenen bebeklerin % 60-70'inde hastalığın herhangi bir döneminde deri vezikülleri görülebilir. MSS hastalığı olan infantlarda mortalite akut nörolojik veya anatomik disfonksiyonla sonuçlanan beyin harabiyetine bağlıdır⁹⁵.

Neonatal HSV infeksiyonu olan yenidoğanlarda SEM hastalığı oranı % 18 iken erken antiviral tedavi ile sıklığı % 45'e yükselmiştir. SEM hastalığında viral yayılım sınırlıdır fakat viseral tutulumun olmadığı biyokimyasal veya klinik olarak kanıtlanmalıdır. Tanı ve tedavideki bu gelişmelere rağmen neonatal HSV infeksiyonunda özellikle dissemine olan formunda mortalite ve morbidite oranları kabul edilemeyecek kadar yüksektir⁹⁴.

Antiviral tedavinin bulunmasından önce disemine neonatal HSV hastalığı olanların % 85'i ve MSS neonatal HSV hastalığı olanların % 50'si 1 yaşına kadar yaşamlarını yitirmektedir. Antiviral tedavi ile 1 yaşına kadar disemine neonatal HSV hastalığı olanlarda mortalite % 29'a inerken, MSS neonatal HSV hastalığı olanlarda % 4'e kadar gerilemektedir. Letarji ve ciddi hepatit disemine neonatal HSV hastalığı olanlarda mortalite ile doğrudan ilişkilidir. MSS neonatal HSV hastalığı olanlarda mortalite, prematürite ve epileptik nöbetler ile ilişkilidir⁹⁶.

2.2.7.9. MSS de Herpes Simpleks Virus Hastalıkları

Herpes Simpleks Virus 1 ve 2, insanlarda merkezi sinir sisteminde çeşitli enfeksiyonlara sebep olabilen virustur. Hem primer hem de tekrarlayan herpesvirus enfeksiyonları MSS de enfeksiyon ve hastalığa yol açabilir. Bütün herpes simpleks ensefaliti gelişen hastalarının yarısı primer enfeksiyonu, yarısı ise tekrarlayan enfeksiyonu olan hastalardır. Herpes simplex ensefaliti 6 aydan büyük çocuklar ve erişkinlerde akut sporadik ölümcül ensefalitlerin en sık sebebidir. HSV bütün ensefalit vakalarının % 2-19'unu oluştururken, bütün nekrotizan ensefalit vakalarının % 20-75 ini oluşturur. Çoğunluğuna HSV-1 sebep olmaktadır³³.

HSV hem nöronları hem de glial hücreleri invaze ederek ve replike olarak beyin parenkiminde, özellikle temporal lobda nekrotizan ensefalit ve disemine hemorajik nekroz yapar. Merkezi sinir sisteminde Herpes simplex virus enfeksiyonları, yenidoğan döneminde (<1 ay) neonatal herpes olarak ortaya çıkabildiği gibi daha büyük çocuklar ve erişkinlerde hem hayatı tehdit eden herpes simplex ensefalitine hem de klinik olarak daha hafif seyreden selim aseptik menenjitlere sebep olabilir. HSV ayrıca miyelit ve/veya radikülitle birlikte olabilen tekrarlayan aseptik menenjit etkeni olabilir. Tekrarlayan HSV menenjitleri Mollaret menenjiti adı verilen farklı bir grupta ele alınır. Mollaret menenjiti terimi şimdi "idiyopatik tekrarlayan menenjitler" için kullanılmaktadır⁹⁷.

İmmün sistemi normal olan erişkinlerde Herpes Simpleks Ensefalitleri vakalarının % 90'ından fazlası HSV-1 enfeksiyonu ile oluşurken, geri kalan kısmı HSV-2 ile oluşmaktadır. HSV-2 ensefalit vakaları genellikle reaktivasyondan daha fazla primer enfeksiyon ile ortaya çıkmaktadır⁹⁸. AIDS'li hastalarda erişkinlerde HSV-2 meningoensefaliti de rapor edilmektedir⁹⁹. Primer enfeksiyon ve reaktivasyonu takiben HSV nin MSS ne ulaşması ve ensefalite sebep olması tam olarak anlaşılamamıştır.

Birkaç olasılıktan biri, trigeminal gangliyonda reaktif olmuş virus herpes labialis oluşturmak üzere yüze ve dudaklara gitmek yerine tentoriyal sinirler yoluyla ön ve orta kranyal çukura ulaşabilir. Primer infeksiyonlarda ise virus olfaktör bulbus aracılığı ile olfaktör yolları kullanarak orbitofrontal ve medial temporal loblara ulaşabilir¹⁰⁰. Büyük çocuklar ve erişkinlerde herpes simpleks ensefalitleri genellikle primer fokal ensefalit olarak görülür. Ateş, bilinç değişikliği, davranış bozukluğu, mental durum bozukluğu ve lokalize nörolojik bulgularla seyreder. Hastalık tipik olarak temporal loba lokalizedir. Herpes simpleks ensefaliti için patognomonik hiçbir belirti olmasa da bile diğer infeksiyon etkenlerinin yokluğunda değişen seviyelerde bilinç bulanıklığı, ateş, anormal BOS bulguları ve fokal nörolojik bulguların varlığı Herpes simpleks ensefalitini düşündürmelidir. Antiviral tedaviye rağmen mortalite % 19'dur ve nörolojik sekel oranı ise % 62'dir. Glasgow koma skoru 6'nın altında, yaşı 30'un üstünde ve ensefaliti 4 günden daha uzun süren hastalarda mortalite oranı daha yüksektir¹⁰¹.

Ensefalite sebep olan HSV infeksiyonlarının çoğu fokal bir ensefalopati gösterir. HSV replikasyonunun sebep olduğu balonlaşmış hücreler ve hücrelerin nükleusunda kromatini görülmesiyle başlayan nükleer dejenerasyon patolojik değişikliklerdir. Hücreler plazma membranlarını kaybederler ve birleşerek multinükleer dev hücre oluşumuna sebep olurlar. Konak savunması oluşmaya başladığında, mononükleer hücrelerin birikimi infekte dokuda tespit edilebilir. Herpes simpleks ensefaliti akut inflamasyon, konjesyon, ve/veya hemoraji ile sonuçlanır, dominant olarak temporal lobları etkiler, genellikle erişkinlerde asimetric, yeni doğanlarda ise diffüz bir görüntü sergiler. Çok yakın limbik bölgeler de infekte olabilir. Temporal lobları çevreleyen meninkslerde konjesyon görülebilir. Ortalama iki hafta sonra bu değişiklikler nekroza ve etkilenen beyin dokusunda likefaksiyona ilerler. En erken safhada histolojik değişiklikler dramatik değildir ve nonspesifik olabilir. Beyin korteksinde ve subkortikal beyaz maddede bulunan kapillerler ve diğer küçük damarlarda konjesyon ve peteşiler gibi diğer değişiklikler belirgindir. İnfeksiyon bölgesinde hemorajik nekroz ve perivasküler kaf (cuff) oluşumu rapor edilmiştir. Perivasküler kaf infeksiyonun özellikle ikinci ve üçüncü haftasında belirgin olur. Glial nodüller ikinci haftadan sonra görülen dissemine bulgulardır. Mikroskopik görüntü başlarda nekroz ve sonunda inflamasyon, daha sonra ise diffüz perivasküler subaraknoid hücre infiltrasyonu, gliosis ve satellitosis-nöronafaji belirgindir. Bu tür vakalarda, dissemine hemorajik nekroz alanları infeksiyon alanlarını yansıtır ve en göze çarpan bulgudur. Oligodendrositik

içerik ve gliozis (astrositik hücreler) dissemine bulgulardır, fakat bu değişiklikler hastalığın çok geç döneminde ortaya çıkar. Hastaların sadece yarısında intranükleer inklüzyon cisimlerinin bulunması viral infeksiyon tanısını destekler ve bu inklüzyonlar sıklıkla infeksiyonun ilk haftasında görülebilir. İnantrükleer inklüzyonlar (Cowdry tip A) eozinofilik homojen bir görünüm ile karakterizedir¹⁰².

MSS de HSV-2 infeksiyonları özellikle AIDS'li hastalarda subakut ensefalit, akut herpes simpleks ensefaliti, menenjit veya rekürren menenjit ve miyelit olarak ortaya çıkabilir. HSV-2 kan yoluyla ya da nöronal yolla meninkleri infekte edebilir. MSS'ne ulaştığı nöronal yollar tam olarak bilinmemektedir. İnfeksiyonun genellikle lumbosakral bölgede olması nörolojik semptomların yoğun olması, menenjit oluşumunun nöronal yolla olduğunu destekler bir bulgudur. HSV-2 menenjitleri diğer viral menenjitlerden daha sık fokal nörolojik komplikasyonlara sebep olur. HSV-2 immun sistemi normal bireylerde kendini sınırlayan aseptik menenjit benzeri bir tablo oluştururken tekrarlayan menenjitlere de sebep olabilir. Genital herpetik lezyonu olan hastalarda menenjit klinik bulguları bulunabilir ve bu hastalarda BOS viral kültürü sıklıkla negatiftir. Bu sebeple kadınlar erkeklerden daha sık etkilenir. HSV meningoensefalit vakalarının % 10-30 kadarı tedavinin tamamlanmasından ortalama 1 hafta – 3 ay arasında relaps gösterir. Bu tekrarlayan menenjitlere Mollaret menenjiti adı verilmektedir. Mollaret menenjiti genellikle tekrarlayan aseptik menenjitlerin iyi huylu bir formudur. Epizodlar birkaç gün sürer ve aylar veya yıllar sonra tekrarlar⁹⁷. Mollaret's menenjiti seksüel aktif kadınlarda klinik olarak fark edilebilen genital infeksiyon varlığında veya yokluğunda birkaç gün süren MSS semptomlarının görülmesi ile fark edilebilir. HSV-2 ile yapılan birkaç çalışmada deri ve genital lezyonlar olmasa bile Mollaret menenjitinin en sık sebebi HSV-2 olarak bulunmuştur. BOS'ta lenfositik pleositoz görülürken Mollaret hücreleri adı verilen ve büyük ihtimalle monositler olan büyük endotelyal hücreler görülür. Ataklar haftalar veya aylar içinde ortaya çıkabilir ve sıklıkla kendi kendini sınırlar¹⁰³.

2.2.7.10. HSV İle İlişkili Nörolojik sendromlar

HSV genellikle beyin dışındaki sinir sistemini daha sık tutar. Primer ve tekrarlayan genital herpes bir ekstremiteye lokalize nörit ve transvers myelit ile ilişkilidir. Nöriti olan hastalarda dizestezi, ani ağrı ve motor bozukluğu gibi belirtiler görülebilir. Üriner ve fekal inkontinans birkaç hastada bildirilmiştir. Bu belirtiler sadece

erişkinlerle sınırlı değildir çocuklarda da ortaya çıktığına dair raporlar vardır⁹⁷. Guillain-Barré sendromu ve lokalize dermatomal döküntüler, HSV infeksiyonunun da sebep olabildiği akut nöritlerle ilişkilidir. Akut retinal nekroz Herpes simpleks ensefalitinin uzun dönemde ortaya çıkan komplikasyonlarından biridir¹⁰⁴.

Çocuklarda herpes simpleks ensefalitinin iyileşmesinin ardından infeksiyon sonrası immun sistemle ilişkili ensefalit görülebilir. Bu epizodlar, tek veya çift taraflı olarak koreo-atetoid hareketlerin görüldüğü nörolojik durumun kötüleşmesi ile karakterizedir. Kluver–Bucy sendromu çift taraflı ciddi temporal lezyonları olan HSE’li çocuklarda tarif edilmiştir. Bu sendrom çocuklarda davranış bozukluğu ve blumia gibi beslenme alışkanlıklarında değişiklik ile karakterizedir¹⁰⁵.

2.2.8. Herpes Simpleks Virus İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

HSV infeksiyonları bütün dünyada yaygındır. Tek doğal konak insandır. Herpes simpleks viruslar konakta akut gingivostomatit, tekrarlayan herpes labialis, genital herpes, neonatal herpes ve merkezi sinir sistemi infeksiyonları gibi çeşitli infeksiyonlara sebep olurlar. Bu hastalıkların tek tek epidemiyolojileri de farklıdır. İnfeksiyon kaynağı genellikle semptomatik herpetik lezyonu olan hastalar veya tükürüklerinde virus taşıyan asemptomatik (% 1-5) kişilerdir. Erişkinlerin % 70-100’ü HSV-1 antikorlarına sahiptir. HSV-2 antikor oranı ise %20-65 arasındadır. Bir kişide daha önceden HSV-1 veya 2 ye karşı antikor yok ve bu kişide HSV infeksiyonu gelişirse primer HSV infeksiyonunun ilk epizodunu geçirmektedir. Daha önceden HSV-1’e karşı antikorları var ve genital traktüste HSV-2 infeksiyonu başlamışsa bu kişi primer olmayan infeksiyonun ilk epizodunu geçiriyordur. Latent dönemden sonra viral reaktivasyon gerçekleşmiş ve virus deri ve mukozalara geri dönerek infeksiyon oluşturursa tekrarlayan infeksiyondur¹⁰⁶.

Bütün orolabial herpetik hastalıklar, (birkaç HSV-2 nin de bazı çalışmalarda etken olarak gösterilmesine rağmen) HSV-1 tarafından oluşturulmaktadır. HSV-1 bütün dünyada yaygın olarak hem gelişmiş hem de gelişmemiş ülkelerde görülmektedir. İnsan HSV infeksiyonlarında hayvan vektörleri tanımlanmamıştır ve tek rezervuar insandan insana bulaştır. Virus ile infekte insandan diğer insanlara yakın temasla bulaşır. İnfeksiyon insidansında mevsimsel bir farklılık yoktur. İnfeksiyon nadiren fataldir ve HSV latent olarak kalır. Dünya popülasyonunun üçte birinden fazlası tekrarlayan HSV-1 infeksiyonu geçirir ve HSV geçişi aktif infeksiyon sırasında

olmaktadır. Toplumdaki HSV infeksiyonlarının en büyük rezervuarı tekrarlayan herpes labialis hastalığıdır. Tip spesifik serolojik deneyler kullanılarak ABD de HSV-1 infeksiyonunun seroprevalansı araştırılmıştır. “National Health Examination Survey” tarafından randomize olarak serumlar incelenmiş. 5 yaşına kadar siyah çocukların % 35’inden fazlası ve beyaz çocukların % 18’inden fazlası HSV-1 ile infekte bulunmuştur. Ergenlik dönemine kadar siyah ırkta HSV-1’e karşı antikor prevalansı beyazlara göre iki kat artmış, kadınlarda antikor prevalansı erkeklerden hafif yüksek bulunmuştur. Antikor prevalansı 40 yaşına kadar hem siyahlarda hem de beyazlarda birbirine yakındır ve % 70-80’i HSV-1 seropozitifdir¹⁰⁷.

Herpes simplex ensefalitleri 6 aydan büyük çocuklar ve erişkinlerde akut sporadik ensefalitlerin en sık sebebidir¹⁰⁸. Diğer menenjit etkenlerinden farklı olarak mevsimsel ve cinsiyet farklılıkları göstermez. Herpes simpleks ensefaliti vakaları nadir görülür ABD 250000 kişi /yıl da bir vaka görülürken, İsveçte 2.5 vaka 1milyon popülasyon/ yıl olarak görülür^{34,109}. Tedavi yapılmadığında mortalite % 70’lere ulaşmakta ve hastaların çok az bir kısmı normal beyin fonksiyonlarını geri kazanabilmektedir. Herpes simpleks ensefaliti bimodal bir dağılım gösterir; vakaların üçte biri 20 yaş ve altındayken, yarısı 50 yaşın üstündedir¹¹⁰.

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, klinik olarak viral ensefalit belirtileri gösteren 516 hasta PCR yöntemi ile incelenmiş, ve HSV vakaların % 7,4’ünde tespit edilmiştir. Çoğu Herpes simpleks ensefaliti vakası 40 yaş ve daha üstü kişilerde ortaya çıkmıştır. Herpes simpleks ensefalitinin tepe insidansı 60 ve 64 yaşları arasında bulunmakta ve bütün ensefalit vakalarının bu yaşlarda %37.5’lik bir kısmını oluşturmaktadır. Bu bimodal yaş dağılımı genç yaşlarda primer HSV infeksiyonunu, daha ileri yaşlarda reaktivasyon veya latent infeksiyonu düşündürür¹¹⁰. Ensefalit vakaların üçte ikisinden daha fazlasında endojen latent HSV-1 in reaktivasyonu söz konusudur¹¹¹. HSV-2 ensefalit vakaları genellikle aktivasyondan daha çok primer infeksiyon ile ortaya çıkmaktadır¹¹². AIDS li hastalarda erişkinlerde HSV-2 meningoensefaliti de rapor edilmektedir¹¹³.

Genital herpes infeksiyonlarına hem HSV-2 hem de HSV-1 sebep olabilir. Epidemiyolojik çalışmalarda HSV-2 seroprevalansı HSV-2 genital hastalığını yansıtmaktadır. HSV-2 antikorları rutin olarak ergenlerde görülmez ve antikor prevalansı seksüel aktivite ile korele olarak yükselir. HSV-2 infeksiyonlarının primer geçiş yolu infekte partnerden seksüel temas ile olmaktadır. ABD’de 1970 lerden sonra HSV-2 seroprevalansı, HIV epidemileri ile güvenli seks konusunda artan çalışmalara

rağmen % 30'a kadar yükselmiştir. ABD de yaşayan insanlarda 12 yaş ve daha üstü olanların seroprevelansı % 20 iken, 30 yaşında ve daha yukarı olanlarda bu oran % 25'tir. Bu infeksiyon oranları ve son iki dekatta hızlı yükseliş, genital herpesin epidemik ölçülere ulaştığını göstermektedir. HSV-2 seropozitifliği kadınlarda, siyahlarda veya Meksikalı Amerikalılarda, fazla miktarda seksüel partneri olanlarda, daha yaşlılarda, eğitim düzeyi düşük olanlarda ve yoksulluk sınırının altında yaşayanlarda daha fazla görülmektedir. Seksüel olarak aktif Amerikalılarda hayat boyu tek bir seksüel partneri olanlarda HSV-2 infeksiyonuna yakalanma oranları % 10,2'dir. HSV infeksiyonlarına yakalanma riski seksüel partner sayısı arttıkça yükselmektedir. Yaşam boyu 2-4 seksüel partneri olanlarda % 20,7, 5-9 seksüel partneri olanlarda % 25,9, 10-49 seksüel partneri olanlarda % 30,9; 50 ve üzeri seksüel partneri olanlarda % 46,1'dir. Bu yüksek seroprevelans oranlarına rağmen ABD'de rapor edilen genital herpes vakaları %2-3 oranındadır. Kişinin kendi infeksiyonunu fark edememesi gizli yayılıma zemin hazırlamaktadır. Genital HSV-2 infeksiyonunda hızlı yükselme ile birlikte dramatik bir biçimde genital HSV-1 infeksiyonunda da artışlar görülmektedir¹¹⁴.

Gebelik döneminde görülen genital herpes infeksiyonlarının en sık rastlanılan formu tekrarlayan infeksiyonlardır¹¹⁵. Primer genital HSV infeksiyonu olan kadınlar virüsü bebeklerine bulaştırmada en yüksek risk altındadırlar. HSV-2 seronegatif olan gebe kadınların % 10 kadarında HSV-2 seropozitif seksüel partnerleri bulunmaktadır ve bu kadınlar primer infeksiyon geçirme riski ile karşı karşıyadırlar⁸⁴. Gebelik döneminde genital herpes infeksiyonu olan kadınların üçte ikisinde infeksiyonu düşündürülen bulgular mevcut değildir. HSV ile infekte bebek doğuran kadınların %60-80 kadarında doğum sırasında genital infeksiyon belirtileri, geçirilmiş genital herpes hikayesi ve seksüel partnerinde genital herpes hikayesi bulunmamaktadır¹¹⁶. Neonatal infeksiyonun oluşabilmesi için gebe kadının semptomatik veya asemptomatik olarak doğum sırasında virüsü yayması gerekmektedir. Gebe olmayan HSV seropozitif kadınlarda yapılan çalışmalarda HSV varlığı PCR ile araştırılmış ve bu kadınların her üç günde bir virüsü asemptomatik olarak genital traktüste yaydıkları gösterilmiştir. Geçmiş hikayelerine bakılmaksızın bütün gebe kadınlarda gebeliğin başlangıçtan doğuma kadar olan sürede HSV yayma oranları % 0,20-0,39'dur. Bilinen tekrarlayan genital herpes olan kadınlarda bu oran % 0,77-1.4 arasındadır.

Neonatal HSV hastalığı olanların büyük kısmında anneden bebeğe geçiş söz konusu olduğu için gebe kadında genital HSV nin çok iyi araştırılması gerekir. Gebelik döneminin herhangi bir zamanında genital herpes ortaya çıkma riski yaklaşık % 1

kadardır. HSV-1 ve HSV-2'nin herikisine karşı seronegatif olan bu kadınların her iki virusa karşı serokonversiyon oranı % 3,7'dir. HSV-1 e karşı seropozitif olan kadınların HSV-2 ye serokonversiyon oluşturma oranı % 1,7'dir¹¹⁷.

2.2.9. Herpes Simpleks Virus İnfeksiyonlarının Tanısı

HSV infeksiyonlarının çoğunda lezyonlar tipiktir ve tanı klinik olarak konulabilir. Fakat immun yetmezlikli konaklarda ve asemptomatik infeksiyonlarda klinik tanı yeterli olmayabilir. HSV infeksiyonları genellikle kendi kendini sınırlayan infeksiyonlar olmalarına rağmen, neonatal herpes infeksiyonları ve herpes simpleks ensefaliti gibi ciddi hastalık tablolarında erken tanı çok büyük önem taşır. Bu virusların sebep olduğu hastalıkların spesifik antiviral tedavisi olması ve tedavi ile özellikle ensefalit ve neonatal hastalıklarda mortalite ve morbiditenin çok önemli oranlarda azalması erken tanıyı çok daha önemli hale getirir.

HSV izolasyonu veziküler sıvı, lezyon kazıntısı, boğaz sürüntüsü, konjonktiva kazıntısı, doku ve beyin omurilik sıvısından yapılabilir. HSV infeksiyonlarında histolojik inceleme, hücre kültürü, antijen, antikor, DNA tespiti ve HSV için spesifik enzimlerinin tespiti ile tanı konabilir.

HSV infeksiyonlarının tanısında klinik örneklerin direk incelenmesi yardımcı olabilir. Elektron mikroskopisi, Tzanck yayması ve floresan antikor boyama yöntemleri direkt tanı yöntemleridir. Tzanck yaymasında lezyondan hazırlanan preparat Wright, Giemsa, Papanicolaou gibi boyalarla boyanır. Çok çekirdekli dev hücreler veya intranükleer inklüzyonların görülmesi lezyonda HSV veya VZV varlığını düşündürür. Tzanck yayması hızlı ve kolay bir yöntemdir. Ancak duyarlılığı düşüktür ve bu yöntemle HSV ve VZV ayrımı yapılamamaktadır. Klinik örnekler floresan antikor yöntemi ile boyanarak viral antijenler araştırılabilir. Bu yöntemde klinik örnekte yeterli miktarda hücre bulunması gerekir. HSV spesifik floresan antikor yönteminin duyarlılığı % 70 ile 100 oranında değişir (Corey ve Spear 1986).

2.2.9.1. Hücre Kültüründe HSV izolasyonu

HSV infeksiyonlarının en duyarlı ve spesifik tanı metodu, virusun izolasyonudur. HSV çok çeşitli hücre kültürü tiplerinde kolaylıkla üreyebilir. Primer tavşan böbrek(Rabbit Kidney: RK) ve human akciğer fibroblast hücre dizilerinde (MRC-5) en iyi ürer. MRC-5 en dissemine olarak kullanılan fetal diploid hücre

dizisidir. Ayrıca primer insan embriyonik böbrek hücreleri (Human Embriyonik Kidney: HEK) ve Hep-2 ve HeLa gibi devamlı hücre dizileri de HSV izolasyonunda kullanılabilir. HSV hücre kültüründe çok çabuk ürer. Sitopatik etki sitoplazmik granülasyonla başlar, sonra hücreler büyür ve balonlaşır. Hücrelerin füzyonu ile çok çekirdekli dev hücreler ve sinsitya oluşumu gözlenir. Karakteristik sitopatik etkisi çok çekirdekli dev hücreler ve sinsitya oluşumudur. Sitopatik etki pozitif kültürlerin % 50'sinde ilk 24 saatte ortaya çıkarken, % 99'unda 4 gün içinde oluşmaktadır. HSV-2'de sinsitya oluşumu daha fazla gözlemlenmektedir. Sitopatik etki infekte hücre türüne göre de değişebilir. HSV'ye bağlı sitopatik etki MRC-5 hücre dizisinde daha iyi gözlemlenmektedir (Arvin ve Prober, 1995). HSV'nin kültürde izolasyonu neonatal HSV infeksiyonunda kesin tanı imkanı sağlar. Deri ve müköz membranlardaki lezyonlar kazınıp uygun bir viral transport besiyerine aktarılıp buz üzerinde testin yapılacağı laboratuvara ulaştırılmalıdır. Bu tür örnekler hücre kültürüne ekilip HSV replikasyonunu gösteren sitopatik etkileri gözlemlenir. HSV izolatının tiplendirilmesi birkaç teknik kullanılarak gerçekleştirilebilir. Direkt Floresan antikor testi ve immunohistokimyasal testler ile hücre kültüründe viral antijenlerin tespiti ve virus tiplendirilmesi yapılabilir. Direk floresan antikor (DFA) testinde HSV antijenleri monoklonal antikorlarla ile işaretlenir. DFA hızlı, duyarlı, spesifik ve ucuz bir yöntemdir (Balachandran ve ark. 1982). Neonatal HSV infeksiyonunda BOS, idrar, kan, dışkı veya, rektum, orofarinks ve konjonktiva sürüntüleri de örnek olarak kullanılabilir. Ayrıca neonatal HSV infeksiyonunda hepatit, nekrotizan enterokolit ve diğer gastrointestinal sistem hastalıkları bulunuyorsa duodonal aspirasyon sıvısı da örnek olarak kullanılabilir. Neonatal HSV MSS hastalığı olanların % 40 kadarında viral kültürle tanı konabilirken, herpes simpleks ensefaliti tanısı almış büyük çocuklar ve erişkinlerde BOS'ın viral kültürü ile tanı koyma şansı % 2-4'tür¹¹⁸. Herpes Simpleks ensefalitinde viral kültür için beyin biyopsisi örnekleri kullanılabilir. Beyin biyopsi materyali ile viral kültür yapılırsa tanı konma şansı % 45'e kadar yükselebilir. Beyin biyopsisi açık kranyotomi ile yapılmaktadır ve hemoraji gibi ciddi komplikasyonlar gelişebilir. Komplikasyon gelişme sıklığı % 2'dir. Beyin biyopsisi ile yanlış negatif tanı alma oranı % 4'dür. Viral kültürlerin negatif çıkması herpes virus infeksiyonlarını ekarte etmez. Kurumuş, kabuklanmış ve eski veziküler lezyonlarda viral kültürlerin duyarlılığı düşüktür. Ayrıca primer infeksiyonlarda tekrarlayan infeksiyonlara göre viral kültürle tanı koyma imkanı daha fazladır¹¹⁹. Tekrarlayan genital herpes tanısında viral kültürler hastaların yaklaşık yarısında pozitifdir. Pozitif HSV kültürleri, infeksiyon

etyolojisinden her zaman HSV nin sorumlu olduğunu göstermez. Bazen asemptomatik HSV hastalığı olanlarda, genital lezyonlar, HSV ile infekte sekresyonlarla kontamine olabilir. Yüksek sensitivite ve spesifitesine rağmen yüksek ekonomik maliyet ve tanının gecikmesi gibi sebeplerle viral kültür rutin olarak klinikte sık kullanılmamaktadır¹²⁰.

HSV, deney hayvanları ve embriyolu yumurtanın koryoallantoik membranında üreyebilir. HSV bebek fareleri öldürürken, embriyolu yumurtanın koryoallantoik membranında poks oluşturur. Bu oluşan pokslar HSV-1 ve HSV-2 nin ayırımında kullanılabilir. HSV-2'nin oluşturduğu pokslar HSV-1 in oluşturduğu pokslara oranla daha büyüktür.

2.2.9.2. Serolojik yöntemler ile HSV Tanısı

HSV'ye karşı oluşan antikorlar, nötralizasyon, kompleman birleşmesi, hemaglütinasyon, indirekt, immunofloresan, RIA (radioimmunoassay), ELISA (enzyme-linked immunosorbent), gibi çeşitli serolojik yöntemlerle araştırılabilir¹⁶.

Son yıllara kadar HSV-1 ve HSV-2 arasında tam bir ayırım yapmak serolojik testlerle mümkün değildi. Son birkaç yılda tip spesifik antikor testleri FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylandı ve ticari olarak satılmaya başlandı¹²¹. Diğer konjenital ve neonatal infeksiyonların aksine neonatal HSV infeksiyonunda serolojik tanının klinik değeri azdır. Neonatal HSV infeksiyonundan kuşkulanan bebeklerde tip spesifik testlerin yapılması serolojik sonuçların yorumlanmasına katkı sağlamıştır. Çocuklarda ve genç erişkinlerde başlangıç serum HSV antikorlarının ölçümü, infeksiyon zamanının belirlenmesine yardımcı olan HSV IgG avidite testleri, tek bir serum örneği ile primer infeksiyonla, reaktivasyon/reinfeksiyon ayırımına imkan sağlamaktadır. Primer infeksiyondan sonra oluşan erken spesifik IgG yanıtı, düşük aviditeli antikorlar içerirken, birkaç ay sonra avidite artmaktadır. Bu sebeple IgG aviditesi primer infeksiyonu, genital herpes infeksiyonunun rekürren veya primer olmayan ilk epizodu ayırt etmede önemli bir serolojik gösterge olabilmektedir. Düşük antikor avidite düzeyleri primer infeksiyonun özelliğidir ve neonatal infeksiyonda artmış riski gösterir. Yüksek antikor avidite düzeyleri daha önce geçirilmiş yada tekrarlayan infeksiyon göstergesidir ve neonatal infeksiyon riskinin düşük olduğunu gösterir. HSV-2 IgG avidite testleri geliştirilmiştir ve HSV-1 IgG avidite testlerinin de geliştirilmesi zorunlu olmuştur. Neonatal HSV hastalıklarının 1/3'ü HSV-1 tarafından oluşturulmaktadır¹²².

Antiviral tedavi hem hastalığın iyileşmesinde etkin hem de mortalite ve morbiditeyi azalttığı için herpes simpleks ensefalitinin erken tanısı çok önemlidir. Başlangıç belirti ve bulguların nonspesifik olması tanıyı zorlaştırır. Akut tanısız dönemde intratekal antikor ölçümleri önerilmemektedir. İntratekal antikor tespiti için serum ve BOS albümin ve herpes IgG oranları bilinmelidir. Buna rağmen intratekal antikor ölçümü retrospektif tanıda veya infeksiyonun geç dönemlerinde BOS'un elde edilebildiği zamanlarda ve PCR negatif ise faydalı olabilir. Sadece serum HSV antikorlarının ölçümü HSV ensefalitlerinde faydalı bir tanı yöntemi değildir. Herpes Simpleks ensefalitleri olan hastaların yaklaşık yarısında tekrarlayan infeksiyonlar görülür, yani antikorlar zaten ortamda mevcuttur. Ensefalitlerde serum antikor titresinde 4 kat artışın gösterilmesi genellikle yararlı değildir çünkü tek başına ateş bile herpes labialis aktive ederek antikor miktarını artırabilir. BOS antikor düzeyinde 4 kat artış hastalığın başlangıcından 1 ay içinde daha sık ortaya çıkar. Klinik olarak hastalığın ortaya çıktığı ilk günlerde Herpes Simpleks ensefaliti olan hastalarda BOS ta 4 kat antikor atışı hastaların % 29'unda tespit edilebilir. Hastalığın başlangıcından 10 gün sonra bu oran % 50'ye çıkar. Bu test yalnızca retrospektif tanı için uygundur. Serum/BOS HSV spesifik antikor oranı 20 ve üstünde ise intratekal antikor sentezi olduğunu düşündürür⁴¹.

2.2.9.3. Polimeraz zincir reaksiyonu ile HSV infeksiyonlarının tanısı

Polimeraz zincir reaksiyonu nükleik asitlerin ortamda bulunduğu herhangi bir hastalıkta tanı yöntemi olarak kullanılabilir. Herpesviruslarla ilişkili hastalıklarda BOS gibi ayrıcalıklı bölgelerden infeksiyon ajanının kültürü zor hatta imkansızdır. BOS ta PCR analizleri HSV, VZV ve CMV infeksiyonları için önerilmektedir. PCR, HSV amplikonlarının tespiti ve bu amplikona dizi analizi yapılmasına imkan vermektedir. PCR ile nörovirulans genlerinin tespiti, bu virus tarafından yapılan MSS infeksiyonlarına konağın cevabını ve HSV nin antiviral ilaçlara karşı fenotipik direnci ile genotipik direnci arasındaki korelasyonu anlamamızda klinik olarak faydalı bir yöntemdir¹²³. PCR yöntemi tekrarlayan virus infeksiyonu (HSV DNA pozitif) ve postinfeksiyöz immun sistemle ilişkili hastalıkları (HSV DNA negatif) birbirinden ayırt etmede faydalı olabilir. Örneğin bazı hastalar Herpes simpleks ensefaliti tedavisi ile klinik iyileşme gösterebilirler. Pozitif PCR reaksiyonu hastalığın rekürren virus infeksiyonlarından kaynaklandığını ve antiviral tedavinin yeniden düzenlenmesi

gerektiğini gösterebilir. Negatif bir PCR sonucu ise hastalığın postinfeksiyöz immunsistemle ilişkili olduğunu ve ek bir antiviral tedaviye gerek görülmediğini belirtir¹²⁴.

Neonatal HSV infeksiyonunun tanısı PCR yönteminin kan ve BOS gibi örneklerde kullanılması ile daha kolay hale gelmiştir. Son yıllarda yapılan bir çalışmada viral kültürle neonatal HSV infeksiyonu olduğu kanıtlanmış 77 hastaya retrospektif olarak PCR yöntemi uygulanmış. HSV DNA BOS tan PCR yöntemiyle SEM olarak kategorize edilen hastaların % 24'ünde pozitif bulunmuş. SEM hastalarında subklinik bir MSS tutulumu mevcuttur. Yaygın infeksiyonu olanların % 93'ünde ve MSS hastalığı olanların % 76'sında HSV DNA tespit edilebilmiştir. HSV DNA tespitinin çok önemli bir klinik değeri vardır. Antiviral tedaviye rağmen tedaviden sonra BOS ta HSV DNA tespit edilen bebekler ya yaşamlarını kaybetmişler ya da ciddi nörolojik hasarla yaşamlarına devam etmişlerdir. Tedaviden sonra HSV DNA tespit edilemeyenlerde bu oran çok daha düşüktür. MSS de HSV tutulumu olan bütün hastalar intravenöz asiklovir kullanımından sonra da PCR ile tekrar değerlendirilmeli ve HSV DNA tespit edilenlerde tedaviye devam edilmesi önerilmelidir¹²⁵.

Herpes simpleks ensefaliti olduğundan şüphe edilen hastalarda BOS ta HSV PCR testi en güvenilir ve invaziv olmayan bir testtir. Böylece BOS PCR testleri spesifik intratekal antikor sentezi ve BOS kültürü yerine kullanılabilir. Kantitatif BOS PCR analizleri MSS deki hastalığın ciddiyetini anlamak, antiviral tedaviyi takip etmek ve akademik çalışmalarda testlerin standardizasyonunu sağlamak için kullanılabilir. Herpes simpleks ensefaliti nin erken tanısı ile mortalite önemli oranda azalmasına rağmen nörolojik sekel kalma oranı hastaların yarısında mevcuttur. BOS ta hemoglobin gibi inhibitör maddelerin varlığında yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir. Yükselmiş protein düzeyleri HSV DNA aramak için yapılan PCR testlerini etkilemez. BOS PCR testinde en iyi sonuçları almak için taze örnekler kullanılmalıdır. Eski örnekler kullanılırsa replike olan virus ve virus DNA'sı persiste kalmaz ve test sonuçları belirsiz ve negatif olabilir. Menenjit veya meningoensefalitten şüphelenilen hastalarda, nörolojik semptomların ortaya çıktığı 1-2 gün içinde test sonuçları pozitif olur, bu sonuç 2 haftadan 4 haftaya kadar pozitif kalabilir¹²⁶.

BOS örneğinin özelliklerine ek olarak uygun PCR testini seçmek için birkaç önemli değişken daha vardır. PCR yönteminin geliştirilmesinden önce Herpes simpleks ensefaliti kesin tanısı için beyin biyopsisi ile elde edilmiş materyalden viral kültür yapılması gerekli idi. Bir çok çalışma BOS ta PCR ile hızlı tanı koymanın hem yüksek

sensitivite hem de yüksek spesifite gösterdiğini kanıtlamıştır. Geçmişte beyin biyopsisi %99 sensitivite ve %100 spesifite ile herpes simpleks ensefaliti tanısında altın standart olarak kabul edilmekte idi. Herpes simpleks ensefaliti olduğu beyin biyopsisi ile kanıtlanan hastalardan BOS örneklerinde HSV için ta PCR yöntemi ile araştırma yapılmış ve çok sayıda hasta içeren tek bir çalışma yayınlanmıştır¹²⁷. Bu çalışmada biyopsi pozitif 54 hastanın 53'ünde HSV DNA PCR ile tespit edilmiştir ve sensitivitesi % 98, spesifitesi % 94 bulunmuştur. Herpes simpleks ensefaliti nin PCR ile tanısını araştıran diğer büyük çalışmalarda çok farklı yöntemler kullanılmıştır. Bu çalışmalarda Herpes simpleks ensefaliti nin çocuk ve erişkin hastalarda PCR ile kesin tanısı % 93-100 arasında değişmektedir. Bu bilgiler ışığında ve beyin biyopsisinin invaziv bir girişim gerektirdiği düşünülürse HSV MSS hastalıklarında PCR yeni altın standart tanı testidir.

Ensefalite sebep olan çoğu HSV infeksiyonları fokal bir ensefalopati gösterir. Popülasyonda yüksek oranda HSV seroprevelansı bulunmasına rağmen , nörolojik hastalığı olmayan gönüllülerde BOS'ta HSV DNA tespit edilememektedir. PCR ile HSV DNA tespitinde 7 majör hedef bölge belirlenmiştir. Bu bölgeler, Timidin kinaz (UL23), glikoprotein B (UL27), DNA polimeraz (UL30), DNA-bağlayan protein (UL42), glikoprotein C (UL44), glikoprotein G (UL45) ve glikoprotein D (UL60)'dir. Timidin kinaz ve DNA polimeraz geni dışında bütün genetik hedefler yapısal komponentleri kodlar. Her iki tip HSV ayrımı genellikle epidemiyolojik çalışmalar için kullanılır¹²⁸.

HSV tiplendirilmesi, spesifik primerler kullanılan nested PCR, restriksiyon enzim analizi, tip spesifik proplar ve zaman eğrisi analizi gibi yöntemlerle yapılabilir¹³. Bu sebeple BOS örneklerinde yapısal genleri hedef alan HSV DNA PCR'ı henüz HSV genotip dizaynı hakkında tam olarak fikir vermemektedir. HSV'nin yapısal proteinlerini kodlayan HSV genlerinin nükleotit dizilerindeki farklılıklar ayırt edilemediği için HSV-1 ile HSV-2'nin ayrımı rutin olarak yapılmaz. HSV 2 suşlarının spesifik tanısında tek bir enzimle kesilecek restriksiyon bölgelerinin yokluğu sebebiyle tanı bu ampliconlar bantlaşmanın olmaması ile tanı konabilir. Buna karşın HSV 1, PCR hedefleri olarak kullanılan TK geni yüksek oranda değişebilen nükleotit dizisine sahiptir. Timidin Kinaz geni içinde bulunan 335 bp'lik ampliconun analizi 51. nükleotidde HSV1 ve HSV 2 farklılık gösterir¹²⁹.

HSV için BOS PCR testi Herpes simpleks ensefaliti de referans standart metod olmasına rağmen bir çok klinik viroloji laboratuvarı standardizasyona gereksinim

duymaktadır. HSV-1 veya HSV-2 için pozitif çıkan PCR genellikle MSS klinik sendromları ile uyuşur¹³⁰.

Bazı çalışmalarda , HSV DNA tespiti ile bilgisayarlı tomografide fokal lezyonu olan hastalarda pozitif bir korelasyon gösterilmiştir. Aynı korelasyon protein seviyeleri, hücre sayıları, EEG, bilinç bulanıklığı derecesi, Glasgow Koma Skalası, disfazi, fokal veya generalize epilepsi ile gösterilememiştir¹³¹. Yapılan farklı çalışmalarda BOS ta HSV DNA tespiti ile bilinç bulanıklığı seviyesi ve Glasgow Koma Skalası arasında büyük bir ilişki olduğunu göstermiştir.

Lumbar ponksiyon ile alınan 0.5 ml BOS örneği laboratuvara +4°Cde steril vidalı kapaklı kutularda taşınmalıdır. Örnekler bu sıcaklıkta günler haftalarca kalabilir, ama örnek dondurulacaksa tekrarlayan dondurma çözme işlemlerinden sakınılmalıdır. Viral nükleik asit ekstraksiyonu için birkaç farklı yöntem bulunmaktadır. İdeal bir ekstraksiyon yöntemi viral nükleik asidi izole edebilmeli, konsantre edebilmeli ve inhibitörlerden arınmış saf bir ürün elde edilebilmelidir. İnhibitörler amplifikasyonun etkinliğini ve PCR duyarlılığını azaltabilirler. Uygun ekstraksiyon yöntem seçilirken dikkat edilmesi gereken faktörler; örneğin tipi, örneğin hacmi, istenilen duyarlılık, bir örnekle bir çok farklı test yapılması gerekliliği, reagenlerin toksisitesi ve geride kalan PCR inhibitörlerin etkisi yer alır.Yapılan bir çalışmada guanidyum tiosüyanat ile DNA ekstraksiyonu, Proteinaz K ile lizis ve fenol-kloroform, proteinaz K ve sodyum dedozil sülfat , RNAzin ve sodyum dedozil sülfat ve LiCl artı 6 M üre ile yapılan ekstraksiyon yöntemlerinden üstün bulunmuştur¹³².

Reagenlerin hazırlanması, örneğin ekstraksiyonu ve hedefin yüklenmesi aşamaları için en az 3 oda kullanılmalıdır¹³³. Her odada ayrı şekilde laboratuvar kıyafetleri, eldivenler, galoşlar ve temizlik malzemeleri bulunmalıdır. Ayrıca ayrı pipetler, çalışma kabinleri, biyolojik güvenli kabinler, dondurucular ve buzdolapları bulunmalı ve dondurucular hasta örnekleri ve reagenler için ayrı düzenlenmelidir. Bariyerli pipet uçları örnekler arasındaki nükleik asit kontaminasyonunu azaltabilir. Master miks hazırlanması için kullanılan reagenler küçük miktarlara bölünerek kullanılmalıdır¹³⁴.

PCR performansını kontrol etmek için pozitif ve negatif kontroller ekstraksiyon, amplifikasyon ve analiz aşamalarında kullanılmalıdır. Örneğin, BOS örnekleri inhibitörler içerebilirler ve bu PCR sonuçlarını % 1,2-5,4 oranında değiştirebilir¹³⁵.

Revello ve arkadaşları viral ensefalitli hastalarla primer veya tekrarlayan HSV enfeksiyonlu hastaların başlangıçta DNA seviyelerinin farklı olmadığını göstermiştir¹³⁶.

Viral titreler klinik semptomlarla bağlantılı değildir, klinik seyri önceden bildirmez ve asiklovir ile tedavi edilenlerde ve edilmeyenlerde seviyelerinin değişmediğini vurgulamışlardır. Ando ve arkadaşları klinik belirtilerle HSV DNA kopya sayısı arasında bir korelasyon olmadığını fakat çalışmalarında kantitatif PCR testlerinin antiviral tedaviyi izlemek yönünden faydalı olduğunu göstermişlerdir¹³⁷. İlginç olarak HSV DNA seviyeleri antiviral tedavinin ilk 5 gününde yükselir, bunun sebebi de belki ortamda asiklovir varlığında virus replike olurken viral genomik DNA'nın bir çok küçük bölgesinin çoğalmasına bağlıdır¹³⁸. Tespit edilebilir DNA seviyeleri 5-14 gün içinde sıklıkla bulunur, bazen semptomların ortaya çıkmasından 30 gün sonra bile persiste kalabilir¹³⁹. Domingues ve arkadaşları kompetitif PCR yöntemini kullanarak HSV DNA'yı sayabilmişler ve asiklovir tedavisinin başlamasından önce ve tedavi sırasında ilk 4 gün içinde 25-18.000 gen kopyası/μl BOS'da tespit etmişlerdir. HSV DNA kopya sayısı 100 gen kopyası/μl'den daha fazla olan hastalar 100/μl den daha az olan hastalara kıyasla , daha yaşlı, BT ile tespit edilen beyin lezyonları olan, ve genel klinik durumu daha kötü olan hastalardan oluşmakta idi. Gelecekte, kantitatif protokoller ve otomatize deneyler daha ulaşılabilir olduğunda bu testler HSV MSS hastalığı olan kişilerde prognozu belirlemede ve hastaların monitörizasyonunda faydalı olabilir¹⁴⁰.

PCR ürünlerinin analizi genellikle Southern blot ile veya tek başına agaroz jel elektroforezi ve DNA prob hibridizasyonu ile yapılır¹⁴¹. Agaroz jelde DNA bantlarının görüntülenmesine ilave olarak Southern blot gibi hibridizasyon teknikleri sensitiviteyi artırır. Southern blot teknikleri agaroz jelde farklı manipülasyonlar ister ve sonuçların elde edilmesi 24-48 saat gerektirir. Bu yüzden ampikonların tespiti için alternatif metodlar geliştirilmiştir. Bu metodlardan biri mikrotitre plağı kolorimetrik olarak ampikonların tespiti oldukça popolarite kazanmıştır. Mikrotitre plağında hibridizasyon ve PCR ürünlerinin tespiti, ELISA yöntemi kullanılarak spektrofotometrede okunabilen renk değişikliği esas alınarak yapılır. Bu formatta çok sayıda PCR testi geliştirilmiştir.

Moleküler tanı kitlerinin bir dezavantajı dar bir spektrumda bu testlerin kullanılabilmesidir. Belirli mikroorganizma ve ona spesifik nükleik asit tespiti için klinisyen ve laboratuvar çalışanı hangi patojenin hangi hastalığa sebep olduğunu iyi bilmelidir. Ancak bu şekilde test yararlı ve maliyeti az olur. Nükleik asit araştırılan yöntemlerde çoklu infeksiyonlar eğer laboratuvar spesifik olarak bir çok mikroorganizmayı araştıramıyorsa önemli bir problem olabilir¹⁴². En yararlı moleküler tanı testleri aynı anda pek çok mikroorganizmayı tespit edebilen testlerdir. Bu sorunu

çözmek için çoklu primerlerin kullanıldığı, tek bir reaksiyon tüpünde gerçekleşen ve farklı mikroorganizmaların nükleik asit fragmanlarını amplifiye edebilen Multipleks PCR yöntemi kullanılabilir¹⁴³.

HSV infeksiyonlarını doğrulamada her ne kadar PCR çok önemli ve invaziv olmayan bir tanı yöntemi olsa da özellikle hastalığın ilk dönemlerinde klinisyenin hastalıktan şüphelenmesi en önemli tanı değeridir. PCR sonuçları hastanın klinik durumu ile birlikte değerlendirilmelidir.

HSV'un sebep olduğu menenjit ve ensefalitlerin tanısında, BOS ta pleositozis ve protein artışı Elektroensefalografi, bilgisayarlı beyin tomografisi ve manyetik rezonans görüntüleme gibi tanı yöntemleri de kullanılabilir.

Herpes simpleks ensefaliti olan hastalarda BOS bulguları sıklıkla tam tanı koydurmaz, Herpes simpleks ensefalitini taklit eden durumlarda da aynı bulgular olabilir¹⁴⁴. Hastalık ilerledikçe hem BOS hücre sayısı hem de protein miktarı artmaktadır. Ortalama BOS beyaz hücre sayısı 100 hücre/ml ve ortalama protein miktarı 100 mg/dL'dir. Herpes simpleks ensefalitinde de protein ve hücre miktarı artmıştır. BOS ta kırmızı kan hücrelerinin bulunması Herpes simpleks ensefaliti için tanı koydurucu değildir. Hastaların % 5-10 kadarında BOS'un ilk incelenmesinde normal bulgular ortaya çıkabilir. Bu durum genellikle ateş, ensefalopati ve mental durum değişikliği olan çocuklarda daha sık görülür. Bu vakalarda da 24 saat içinde tekrarlayan BOS incelemesinde anomaliler genellikle bulunur

EEG'deki fokal değişiklikler olarak diken ve yavaş dalga aktivitesi görülebilir. Temporal loba ulaşan periyodik lateralize epileptiform deşarjlar görülebilir¹⁴⁵. Fokal veya jeneralize nöbetler, Herpes simpleks ensefaliti olduğu doğrulanan hastaların üçte ikisinde ortaya çıkmaktadır. Temporal lobda lokalize lezyonlar sıklıkla Herpes simpleks ensefaliti yi düşündürürken, bu tarz lezyonlara sebep olan başka hastalıklar da vardır. Hastalığın başlangıcında anormal elektrikselle aktivite genellikle bir temporal lobda lokalize iken hastalığın 7-10. gününde diğer temporal loba da yayılır. EEG sensitivitesi %84 oranında iken spesifitesi % 32,5 kadardır.

İnvaziv olmayan MSS görüntüleme çalışmaları da Herpes simpleks ensefaliti yi destekler. Bilgisayarlı tomografi başlangıçta temporal loba lokalize kitle etkisi ile düşük yoğunluklu alanlar gösterir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde radyolusen ve/veya hemorajik lezyonlar görülebilir. Tedavi uygulanmadığı zaman özellikle hastalığın ilerleyen dönemlerinde genellikle her iki temporal lobda da lezyon ortaya çıkar. Nörodiagnostik testlerin tanıda kullanılması ile sensitivite artmakta iken spesifite hala

yetersizdir. Manyetik rezonans görüntüleme (MRI), Herpes simpleks ensefaliti ye bağlı lezyonları BT görüntülemeden daha erken tespit eder¹⁴⁶.

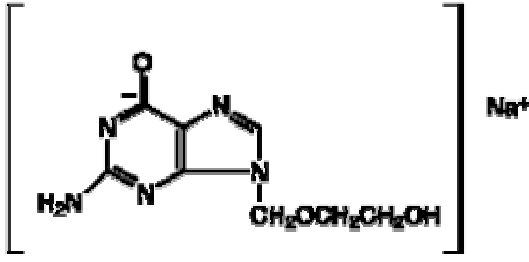
2.2.10. Herpes Simpleks Virus İnfeksiyonlarının Tedavisi

HSV infeksiyonlarının tedavisi ile viral eradikasyon mümkün değildir. Fakat antiviral tedavi ile bulaştan korunma, tekrarlayan infeksiyonların baskılanması, viral yayılma ve komplikasyonlar engellenebilir, klinik iyileşme sağlanabilir. Tekrarlayan herpes infeksiyonlarının doğası göz önüne alındığında, replikasyonun başlamasından itibaren ilk 48 saatte tedaviye başlanırsa görünür lezyonlar ortaya çıkması engellenebilir. Topikal, oral ve intravenöz ajanlar HSV infeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilir. Topikal ajanların etkili olabilmesi için, ajanların epitele iyi penetre olması ve replikasyonun gerçekleştiği duysal sinir uçlarına ulaşabilmesi gerekir. Topikal ajanlar genellikle diğer ajanlara göre lezyon bölgesine daha zor ulaşırlar. Burun septumunu, iç kulağı, saçlı deriyi veya iç genital organları etkileyen lezyonlarda sistemik antiviraller daha iyi seçenektirler¹⁴⁷.

Topikal ajanlarla karşılaştırıldığında oral antiviraller, viral replikasyon bölgesine daha hızlı ulaşırlar, biyoyararlanımı daha yüksektir ve hastaların ilaca uyumu daha iyidir. Sık ve ciddi herpes virus infeksiyonu olanlarda oral antiviraller uzun süreli supresyon tedavisinde kullanılabilir. Sistemik antiviraller, egzema herpetikum, neonatal herpes, herpes ensefaliti, oküler herpes ve immun yetmezliği olan hastalarda tercih edilmelidir¹⁴⁸.

Dokazanolun % 10'luk topikal kremi, tekrarlayan herpes labialisin tedavisinde kullanılan indirek bir antiviral ajandır. Bu ajan 22 karbonlu primer bir alkol olup, epitel hücrenin reseptör yapısını değiştirerek virusun hücre içine girmesini ve hücre içindeki virusun hapsolmasını sağlar. Prodromal dönemde kullanılırsa tekrarlayan herpes labialise bağlı belirti ve bulguları azaltır¹⁴⁹.

Asiklovir HSV de bulunan timidin kinaz enzimine yüksek afinitesi olan bir guanozin analogudur. Asiklovirin kimyasal adı 2-amino-1,9-dihidro-9-[(2-hidroksietoksi) metil]-6*H*-pürin-6-*bir*' dir.



Şekil 2- Asiklovir'in kimyasal yapısı
2-amino-1,9-dihidro-9-[(2-hidroksietoksi)metil]-6H-pürin-6-ylidene

Timidin kinaz enzimi asikloviri bir nükleotid analogu olan asiklovir mono fosfata çevirir. Monofosfat formu hücrel guanilat siklaz ile difosfat şekline ve bir çok hücrel enzimle trifosfat şekline dönüşür. Asiklovir trifosfat HSV DNA'nın replikasyonunu, replike olan viral DNA zincirinin terminal bölgesi ile birleşerek ve viral DNA polimeraz enzimini inaktive ederek engeller. Asiklovir viral DNA polimeraz enzimini inhibe ederken, hücrel DNA polimeraz enzimini minimal etkiler¹⁵⁰. Bir guanin analogu olan **Pensiklovirin** % 1'lik ve asiklovirin % 5'lik kremleri immün sistemi yeterli hastalarda tekrarlayan herpes labialisin tedavisinde kullanılır. Ayrıca immün sistemi bozuk hastalarda mukokütanöz HSV infeksiyonlarında kullanılabilir. Asiklovirin ayrıca oral ve intravenöz formları da bulunmaktadır ve hastalar tarafından iyi tolere edilir¹⁵¹. Yüksek doz asiklovirin hızlı intravenöz uygulama ile nadir görülen bir yan etkisi kristal nefropatisidir. Oral asiklovir, intravenöz forma göre, düşük biyoyararlanıma ve daha kısa plazma yarılanma ömrüne sahiptir. Asiklovir ile karşılaştırıldığında pensiklovir daha uzun yarılanma ömrüne sahiptir. Pensiklovir HSV ile infekte hücrelerde daha yüksek konsantrasyona ulaşır fakat asiklovire göre viral DNA polimerazı inhibe etmede 100-160 kez daha az potentdir. Pensiklovir viral DNA sentezini DNA polimerazı inhibe etmekten daha çok DNA zincirini sonlandırarak inhibe eder¹⁵². **Valasiklovir** tekrarlayan herpes labialis tedavisinde kullanılan sistemik bir antiviraldir. Karaciğer ve barsakta asiklovir ve L-valine dönüşür. Valasiklovirin, asiklovire göre biyoyararlanımı beş kat daha fazladır. Doz aralığı daha geniştir ve bu yüzden hasta uyumu daha iyidir. Sağlıklı ve HIV ile infekte hastalarda en sık rapor edilen yan etkisi baş ağrısıdır. İmmün sistemi bozuk hastalarda uzun süre yüksek doz asiklovir kullanımı ciddi ve potansiyel ölümcül olan trombotik mikroangiopatiye sebep

olabilir. Bu komplikasyon ciddi immun yetmezliği olmayan HIV seropozitif hastalarda düşük doz valasiklovir tedavisinden sonra da rapor edilmiřtir¹⁵³.

Famsiklovir immunkompromize hastalarda orolabial herpesin tedavisinde kullanılan sistemik bir antiviraldir. Pensiklovirin diasetil ester ön ilacıdır. Gastrointestinal sistemden hızlıca emilir Sindirim sırasında pensiklovire dönüşür. HSV infeksiyonlarının tedavisinde famsiklovirin pensiklovire göre oral Emilimi daha fazla, biyoyararlanımı daha yüksek ve doz aralıkları daha uzundur. Famsiklovir DNA polimeraz enzimini DNA zincirini sonlandırarak inhibe eder¹⁵⁴.

Foskarnet, immunkompromize hastalarda asiklovire dirençli HSV tedavisinde intravenöz olarak kullanılan bir antiviraldir. Sağlıklı kişilerde asiklovir direnci oldukça nadirdir. Asiklovir direnci en sık timidin kinaz genindeki mutasyonlara bağlı olarak ortaya çıkar. Fakat DNA polimeraz enzimidaki değişiklikler de dirence sebep olabilir. Foskarnet, viral veya hücresele kinazlarla fosforilasyondan bağımsız bir pirofosfat analogudur. Viral DNA polimeraza bağlanarak direkt olarak etkisini inhibe eder. Foskarnetin en ciddi yan etkisi böbrek toksisitesidir. Foskarnet direnci çok nadirdir ve HSV DNA polimeraz enzimidaki nokta mutasyonlarla ortaya çıkar¹⁵⁵.

Vidarabin (9-β-D-ribofuranosyladenine) D-riboz şekeri yerine D-arabinoz eklenmiş bir adenin analogudur. Sistemik herpes virus infeksiyonunda lisans alan ilk nükleozid analogudur¹⁵⁶.

Vidarabin fosforillenerek aktif hale gelir ve ara-ATP'ye dönüşür. Vidarabinin aktif formu olan ara-ATP viral DNA polimerazın substratı ve inhibitörüdür¹⁵⁷.

Idoxuridine (IDU) yeni sentezlenen DNA'da geri dönüşsüz olarak timidinin yerine geçer ve DNA'nın fonksiyonel olmasını engeller. Yüksek sistemik toksisitesi sebebiyle sadece herpes simpleks keratokonjonktivite topikal olarak kullanılabilir¹⁵⁴.

Sidofovir, hücresele kinazlarla fosforile olan asiklik nükleozid 5-monofosfattır ve virusun DNA polimeraz enzimini inhibe eder. Yüksek nefrotoksitesinden dolayı, sadece asiklovir ve foskarnete dirençli HSV tedavisinde önerilmektedir. Sidofovirin, aktive olması için timidin kinaza ihtiyacı yoktur. Uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir ve intravenöz olarak haftada bir kez kullanılır. Viral DNA polimerazda olan mutasyonlar sidofovir direncine yol açabilir¹⁵⁴.

Subklinik seyreden primer herpetik gingivostomatitler genellikle tanı ve tedavi almazlar. Sağlıklı insanlarda semptomatik primer oral herpes vakalarında genellikle destekleyici tedavi verilir. Çocuklarda günde 5 kez, 15mg/kg dozda 3 gün süreyle oral

asiklovir süspansiyonunun lezyonların iyileşmesini hızlandırdığı ve viral yayılımı azalttığı gösterilmiştir. İmmun sistemi bozuk hastaların tersine sağlıklı erişkinlerde sistemik antiviral ajanların kullanımı hala tartışma konusudur. Profilaktik asiklovir UV ışık, yüz cerrahisi, güneşte ve rüzgarda fazla kalma durumlarında kullanılabilir. Topikal asiklovir profilaktik olarak kayakçılarda tekrarlayan herpes labialis önlemede ve bir yıl içinde çok fazla tekrarlayan herpes labialis olanlarda kullanılabilir. Oral asiklovir ve valasiklovir ile uzun süre supresyon tedavisi oral infeksiyonların tekrarlama sıklığını azaltır¹⁵⁸.

Primer genital herpesi olduğu kanıtlanan ya da şüphelenilen hastalarda antiviral ajanlar semptomları azaltmak ve nörolojik komplikasyonları engellemek için kullanılmalıdır. Tedavi immün sistemi bozuk hastalarda mutlaka gereklidir. Asiklovir, famsiklovir ve valasiklovir primer genital herpes tedavisinde etkili ve güvenilir antivirallerdir. Bu üç ajan semptomların ciddiyetini, lezyonların iyileşme süresini ve viral yayılımı azaltır. Topikal asiklovir de primer genital herpeste kullanılabilir fakat daha uzun süre ve daha sık aralıklarla kullanılması gerekir. Lezyonlar iyileşene kadar tedaviye 5-10 gün süreyle devam edilebilir. İlk epizodun tedavi edilmesi tekrarlayan infeksiyonların sıklığını ve ciddiyetini azaltmaz. Uzun süreli supresyon tedavisi semptomların ciddiyetini, seksüel partnere yayılımını özellikle gebe kadınlarda bebeğe bulaşma riskini azaltır. İmmün sistemi bozuk hastalarda tekrarlayan genital infeksiyonları önlemek için asiklovir ile uzun süreli supresyon tedavisi kullanılabilir^{154,159}.

Neonatal HSV infeksiyonu tedavisinde intravenöz. asiklovir 60 mg/kg/gün şeklinde ve 4 doza bölünerek verilmesi önerilmektedir. Asiklovirin doz aralıklarının prematüre bebeklerde bebeğin kreatinin klirensine bağlı olarak ayarlanması gerekebilir. Tedavi süresi dissemine veya MSS neonatal hastalığı olanlarda 21 gün iken, yalnızca SEM olan infeksiyonlarda 14 gündür. Antiviral tedavinin bulunmasından önce dissemine neonatal HSV hastalığı olanların % 85'i, MSS neonatal HSV hastalığı olanların % 50'si 1 yaşına kadar yaşamlarını kaybetmektedir¹⁶⁰. Antiviral tedavi ile 1 yaşına kadar dissemine neonatal HSV hastalığı olanlarda mortalite % 29'a inerken, MSS neonatal HSV hastalığı olanlarda % 4'e kadar gerilemiştir¹⁶¹. Letarji ve ciddi hepatit dissemine neonatal HSV hastalığı olanlarda mortalite yüksektir. MSS neonatal HSV hastalığı olanlarda mortalite prematürite ve epileptik nöbetler ile ilişkilidir. Antiviral tedavi ile morbiditede olan azalma mortalitedeki azalma kadar dramatik değildir. Yaygın hastalığı olan bebeklerde antiviral tedaviden önce normal nörolojik

gelişim gösterme şansı % 50 iken, tedaviden sonra bu oran % 83'e yükselmiştir. MSS hastalığı olan yenidoğanlarda tedaviden önce normal nörolojik gelişim gösterme şansı % 31 iken, tedaviden sonra bu oran % 33'dür¹⁶⁰. Antiviral tedavinin başlangıç aşamasında ya da öncesinde epileptik nöbet geçiren hastalarda morbidite hem HSV MSS hastalığı olanlarda hem de dissemine infeksiyonu olanlarda daha yüksektir. Bu iki formun aksine antiviral tedavi SEM hastalığı geçirenlerde morbiditeyi dramatik olarak azaltır. Vidarabin ve asiklovirin geliştirilmesinden önce bu hastalarda gelişme geriliği % 38 iken tedaviyle bu oran % 2'lere kadar gerilemiştir.

Neonatal HSV hastalıklarında en önemli sekel nörolojik gelişme bozukluklarıdır. Neonatal HSV infeksiyonu olan çocuklar çok yakından takip edilmelidir. Fiziksel terapi, mesleki terapi ve konuşma terapisi gibi programlar bu hastalara uygulanmalıdır. Deride oluşan tekrarlayan hastalık nörolojik sekel kadar önemli olmasa da çok sık görülür. Bu durum hastaların hayatında ciddi problemler oluşturabilir, özellikle kreş ve okullarda sorunlara sebep olabilir¹⁶².

Herpes simpleks ensefalitinin etkili tedavisi için ilk öne sürülen antiviral ilaç idoxuridin dir, fakat daha sonra hem etkisiz hem de toksik olduğu kanıtlanmıştır¹⁶⁰. Daha sonra vidarabin beyin biyopsisi ile Herpes Simpleks ensefalitleri olduğu kanıtlanmış hastalarda kullanılmış ve yararlı sonuçlar vermiştir. Ama asiklovir daha sonra klinisyenlerin ortak görüşü ile vidarabinin yerini almıştır. Bu çalışmalar sırasında hastaların yaşı, hastalığın süresi ve hastalık başladığı zaman bilinç bulanıklığı seviyesi klinik gelişmede majör belirleyiciler olmuştur. Otuz yaşından daha genç olan, bilinç bulanıklığı daha az bulunan hastalar, daha yaşlı ve yarı koma veya koma durumundaki hastalara göre normal fonksiyonlarına daha hızlı dönebilmişlerdir. Önemli bir nokta ise 30 yaşından küçük hastaların % 90'ı çocuk ve erken erişkinlik dönemindeki hastalardır. Bu bilgiler ışığında 30 yaşından daha büyük hastalar ve koma veya yarı koma durumunda bulunan hastalarda tedaviye rağmen ölüm oranı % 70 civarındadır ve bu oran plasebo ile birbirine çok yakındır¹⁰¹. Tedavinin etkili olabilmesi için antiviraller dominant temporal lobda hemorajik nekrozun ortaya çıkmasından ve bilinç bulanıklığının artmasından önce verilmelidir. Asiklovir Herpes Simpleks ensefalitleri tedavisinde vidarabinden daha üstün bir seçenektir. Asiklovir mortalite oranını tedaviden 6 ay sonrasında % 19'a kadar azaltmaktadır. Daha da önemlisi hastaların % 38 kadarı yaşlarından bağımsız olarak normal fonksiyonlarına geri dönebilmektedirler. Maalesef yaşayan hastaların büyük bir bölümü ciddi nörolojik defektle yaşamlarına devam etmektedir. NIAID CASG çalışmasında vidarabin tedavisi sonrası 6-18 ayda

mortalite oranını % 55 olarak bulurken , asiklovir tedavisinden 6 ay sonra mortalite oranı % 19, 18 ay sonra ise % 28 olarak tespit etmişlerdir. Geç ölümler persistan enfeksiyona veya reaktivasyona bağlı olmayıp, ciddi olarak beyin hasarı oluşmuş hastalarda ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada mortalite oranları çocuk ve genç erişkinlerde daha düşük bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya konamamıştır. Yapılan çalışmalarda yaş ve bilinç bulanıklığı seviyesinin uzun süreli iyileşmede etkin olduğu gösterilmiştir. Bilinç bulanıklığının objektif bir göstergesi Glasgow koma skalasıdır (GCS). Yaş ve GCS birlikte değerlendirildiği zaman GCS 6 veya daha düşük olan hastalar yaş ve kullanılan terapötik ajandan bağımsız olarak daha kötü prognaza sahiptirler⁶⁶. Morbidite oranları göz önüne alındığı zaman vidarabin tedavisi alan hastaların % 15-20 kadarı normal fonksiyonlarına geri dönebilmektedir. Vidarabin alan hastaların % 13 kadarı sekelsiz veya minör sekelle yaşamlarını sürdürürken % 22 kadarında orta ve ciddi sekeler gelişmektedir. Hastaların % 65'i ise daha ileri dönemde yaşamlarını kaybetmektedir. Asiklovir tedavisi alan hastalarda ise % 38'i sekelsiz veya minör sekelle, % 9 kadarı orta derecede sekelle % 53 kadarı ciddi sekel geliştirmiş veya yaşamlarını kaybetmiştir. Hiçbir hasta tedavinin tamamlanmasından sonra relapsla NIAID ye tekrar başvurmamıştır. Asiklovirin 10 mg/kg her 8 saatte (30 mg/kg/gün), 14-21 günlük bir süre boyunca verilmesi önerilmektedir. Genellikle antiviral tedavinin başlandığı ilk haftada HSV DNA bütün vakalarda PCR ile tespit edilebilir Tedavinin ikinci haftasında HSV DNA hastaların yaklaşık yarısında tespit edilebilir ve 15. günün sonunda hastaların % 20'sinden azında HSV DNA tespit edilebilir. HSV viral yükü ve nörolojik sekel kalma oranı arasında bir ilişki vardır. Özellikle HSV DNA konsantrasyonları 100 kopya/µl den fazla ise nörolojik sekel kalma oranı yüksektir. Tedavinin daha uzun sürmesi relaps olasılığını azaltmak için yararlı olabilir^{101,119}.

2.3. Aseptik menenjit ve ensefalit etkeni olan diğer viruslar

Aseptik menenjit ve ensefalitlere enteroviruslar, herpes viruslar, flaviviruslar, kabakulak, HIV, LCMV(Lenfositik koryomenenjit virusu), rabdovirus ve parvovirus B19 gibi bir çok virus sebep olabilir.

2.3.1 Enteroviruslar

İnsan enterovirusları polio, el-ayak-ağız hastalığı, miyokardit ve aseptik menenjit gibi bir çok hastalığa sebep olabilen, çoğunlukla çocukları etkileyen viruslardır¹⁶³. Enteroviruslar; A,B,C,D ve polio viruslar olarak 5 gruba ayrılır. Enteroviral menenjitler aseptik menenjitlerin en sık sebebidir ve vakaların % 75-90'ını oluştururlar. Hastalığın hem epidemik hem de endemik paternlerini görülebilir. En sık rastlanılan serotipler echoviruses 6, 9, 11, 13, 19 ve 30. Rapor edilen insidans her zaman gerçeği yansıtmayabilir, çoğu vaka kendini sınırlar ve hastaneye yatış ve lomber ponksiyon gerektirmeyebilirler. Yaz ve sonbahar aylarında enteroviral infeksiyonlar daha çok fekal-oral yolla bulaşır ve genellikle kreş ve anaokullarını etkiler. Enteroviral menenjit çocuklarda kusma, anoreksi, döküntü, solunum yolu semptomları, meningizm şeklinde ortaya çıkabildiği gibi gribal infeksiyon, yutma güçlüğü gibi belirtilerle başlayabilir¹⁶⁴. Fokal nörolojik belirtiler yeni doğanlar dışında nadirdir, yeni doğanlar miyokardit, nekrotizan enterokolit gibi ciddi komplikasyonlara daha çok yatkındır ve bu da mortaliteyi artırır. Spesifik klinik belirtiler bazı enteroviruslarda tanıyı kolaylaştırır: herpanjina coxsackievirus A infeksiyonunu, dissemine makülopapüler döküntüler sıklıkla echovirus 9 infeksiyonunu düşündürür. Erişkinlerdeki klinik belirtiler genellikle bakteriyel menenjitlere benzer, ancak enteroviral menenjitlerde fotofobi daha baskın olabilir. Belli belirsiz görülebilen döküntüler meningokokal septisemiye düşündürülebilir. Enteroviral menenjitler sıklıkla selim seyirli olarak düşünülmesine rağmen yüksek oranda morbiditeye, hastanede kalış süresinin uzamasına ve erişkinlerde iş gücü kaybına sebep olur^{164,165}. Enteroviral menenjitlerde ciddi komplikasyonlar nadirdir ve genellikle immunkompromize hastalarda görülür. İmmün sistemi sağlıklı bireylerde enteroviral menenjitlerin akut ve kronik komplikasyonları sık görülmemesine rağmen el-ayak-ağız hastalığı epidemilerinde enterovirus 71'in etkeni olduğu menenjitler çocuklarda yüksek oranda mortalite ve morbiditeyle seyredir¹⁶⁶. Bir yaşın altında menenjit geçiren çocuklarda daha ileri yaşlarda konuşma güçlüğü gibi nörolojik gelişim problemleri görülebilir¹⁶⁷. Primer immün defekti olan çocuklarda, özellikle X'e bağlı agamaglobulinemi hastalarında, echovirus 11 ile ilişkili ciddi ve kronik formda menenjit geçirme olasılığı yüksektir¹⁶⁸. Bu komplikasyon CEMA (chronic encephalitis and meningitis with agammaglobulinaemia) olarak adlandırılmıştır. Bu vakaların büyük bir kısmında dermatomiyozit, hepatit, artrit ve miyokardit gelişir. CEMA gelişen hastaların büyük bir kısmında yetersiz immunglobulin düzeyleri bulunur ve bu hastalarda tanıdan sonra 5 yıl içinde mortalite oranı % 50'dir¹⁶⁹.

Viral ensefalit vakalarının % 10-20 kadarına Enteroviruslar sebep olmaktadır. Coxsackie Virus A ensefalitlerle ilişkili enterovirus alt grubudur. Klinik olarak enterovirus menenjitinde görülen belirtilere ek olarak ensefalit gelişen çocuklarda letarjiden hafif disoryantasyon ve komaya kadar gidebilen belirtiler görülebilir. Fokal nörolojik bulgular bazen Herpes simpleks ensefaliti ini taklit eder. EV71 in bazı suşları ile oluşan infeksiyonlar çocuklarda ciddi beyin sapı ensefaliti (Rhombencephalit) şeklinde ortaya çıkabilir. BOS bulguları minimal olabilir, çok azında yükselmiş beyaz küre ve protein düzeylerine rastlanır. EEG de fokal değişiklikler görülebilir. Diffüz veya fokal beyin lezyonları bazı ensefalit vakalarında ortaya çıkabilir. EV71 in sebep olduğu rhombencephalit vakalarında MRI ile yüksek yoğunluklu lezyon görülebilir¹⁷⁰.

2.3.2. VZV, HHV-6, CMV ve EBV

VZV, HHV-6, CMV ve EBV sağlıklı çocuklarda ortaya çıkan menenjit ve ensefalitlerin nadir etkenleri arasında sayılabilir. PCR ın tanı yöntemi olarak geliştirilmesi ile bu virusların MSS infeksiyonlarına sebep olabildiği gösterilmiştir. PCR ile HHV-6'nın immun yetmezliği olanlarda meningoensefalit ve ensefalit sebebi olabildiği gösterilmiştir.

Sağlıklı infekte çocuklarda VZV ye bağlı nörolojik komplikasyon gelişme oranı % 1'den azdır. Bu düşük insidans VZV aşısının dissemine olarak kullanımına da bağlı olabilir. Primer VZV infeksiyonlarının en sık rastlanılan (1/4000) komplikasyonu serebellar ataksidir. Serebellumun VZV ile direkt infeksiyonu veya post infeksiyöz immun mekanizmalar bu komplikasyona sebep olabilir. Çoğu vakada ataksi, döküntülerle beraber görülür. Bazen ataksi döküntülerin ortaya çıkmasından birkaç gün önce veya ortaya çıkmasından iki hafta sonra görülebilir. Bulantı, nistagmus, baş ağrısı ve ense sertliği bu belirtilere eşlik edebilir. Çoğu vakada BOS incelemesi ile anormal bulgular ortaya çıkmaz. Vakaların % 20-30 kadarında hafif bir lenfositik pleositozis (<100 hücre/mm³) ve hafif bir protein yüksekliği görülebilir. Tanı genellikle klinik olarak döküntülere eşlik eden ataksi ile konulur. MRI ile nadiren serebellum ve beyin sapında lezyonlar gözlenebilir. Bu virus hücre kültürü yöntemi ile nadiren izole edilebilir. Serebellar ataksilerin tedavisinin yararları konusunda kesin ve net veriler olmamasına rağmen kullanımı önerilebilir. Tedavi edilmese bile tamamen iyileşme istisnalar dışında mümkündür. VZV infeksiyonu sonrası ciddi ensefalit görülme ihtimali 1-2 vaka/ 10.000 VZV infeksiyonudur. Beynin VZV ile direkt infeksiyonu veya post

infeksiyöz immun mekanizmalar bu komplikasyona sebep olabilir. İmmün yetmezlikli bireylerde ani başlayan baş ağrısı, duyu değişiklikleri ve kusma varicellaya bağlı döküntülerin ortaya çıkmasından bir hafta sonra ortaya çıkar. Epileptik nöbetler vakaların 1/2-1/3'ü arasında görülebilir. Anormal plantar refleksler, hipo veya hiperrefleksi, hipo veya hipertermi, hemiparezi ve duysal değişiklikler gibi ek nörolojik bulgular olabilir. BOS anomalileri sıklıkla görülür. EEG de diffüz ensefalopati ve yavaş dalga aktivitesi gözlenir. Görüntüleme yöntemlerinde serebral ödem veya demiyelinizasyon bulguları bulunabilir. Hastaların büyük kısmı sekel bırakmadan iyileşmesine rağmen bu sendroma bağlı mortalite oranları % 5-10 kadardır. Bu hastalarda asiklovir kullanımı kesin kanıtlanmış yararlar olmamasına rağmen önerilmektedir¹⁷¹.

2.3.3.Flaviviruslar

Sinekler ve kenelerle bulaşan flaviviruslar spesifik coğrafi bölgelerde ve belirli mevsimlerde infeksiyon yaparlar. Japon ensefalit kompleksi en önemli menenjit etkenidir. Japon B ensefaliti Güney Asveya, West Nile Virus Batı Asya, Ortadoğu, Afrika Orta ve Güney Avrupa ve Kuzey Amerikada endemiktir. Kenelerle bulaşan ensefalitler Orta ve Doğu Avrupada orman ve otlakların bulunduğu bölgelerde ve Asya'da, St. Louis ensefalit virusu yalnızca Amerika'da, Murray Vadisi Ensefalit Virusu ise Avusturalya ve Yeni Zelenda'da endemiktir. West Nile Virus 1999 yılında Kuzey Amerika'da yeni bir patojen olarak izole edilmiş ve daha sonra doğuda yayılarak 2002 yılında 3000 menenjit vakası ve 276 ölüm vakası ile dikkatleri üzerine çekmiştir¹⁷. Aynı yıl içinde virusun transfüzyon ve organ transplantasyonu ile bulaşabildiği rapor edilmiştir¹⁸. West Nile virus, Japon B ensefaliti ve Murray vadisi virusu gibi genellikle çocukları ve bağışık olmayan erişkinleri etkilerken ABD de öncelikli erişkinleri etkilemiştir. Diğer yandan St Louis ensefaliti, bütün yaş gruplarında ve ABD'nin güney ve doğu eyaletlerinde epidemiler gösterme eğilimindedir. Çoğu flaviviral infeksiyonlar asemptomatik seyreder veya 5-15 gün inkübasyon periyodu olan menenjit görülmeyen febril bir infeksiyon şeklinde görülür. Klinik belirtiler olarak West Nile ateşi; ateş, artralji ve döküntü ile Japon B ensefaliti ise abdominal ağrı , kusma ve bulantıyla seyreder. MSS belirtileri her virus için farklı olabilir. Japon B ensefaliti genellikle ensefalit olarak seyrederken, West Nile virus % 40 oranında menenjit şeklinde ortaya çıkar. Kene ile bulaşabilen infeksiyonlar bifazik bir seyir gösterirler, hastaların küçük

bir bölümünde başlangıçta febril bir hastalığın ardından menenjit ve ensefalit gelişir. Menenjitin tipik klinik belirtilerinden farklı olarak özellikle çocuklarda çoğu infeksiyon değişen seviyelerde bilinç bulanıklığı veya hemiparezi ve kranyal sinir felçleri gibi diğer ensefalit komplikasyonları ile ortaya çıkabilir. İnfeksiyonların diğer iki ortaya çıkış şekli flask paralizi ile seyreden poliomyelit benzeri sendrom ve anteriör spinal kord ve bazal ganglionlarda hasar sonucu ortaya çıkan Parkinson benzeri sendromdur. Ölümü de kapsayan ciddi nörolojik ve sistemik komplikasyonlar yaşlı erişkinlerde, immun sistemi bozuk ve diyabetik hastalarda daha siktir. Meningoensefalit gelişen hastaların yaklaşık % 50'sinde uzun süren nörolojik bozukluk veya psikiyatrik sekel kalır. Diğer flaviviruslardan Deng ateşi ve Sarı ateş grupları çok nadir olmakla birlikte MSS infeksiyonlarına sebep olabilir.

Kene ile bulaşan viruslarla ilişkili meningoensefalitler Orta Avrupa ve Asya da iyi tanınmakta ve yaz aylarında en yüksek insidansa ulaşmaktadır. Böceklerle bulaşan diğer viruslar da arboviruslar gibi menenjit etkeni olabilir¹⁷².

2.3.4.Kabakulak

Kabakulak virusu, bu virusa karşı aşılammış popülasyonda en sık karşılaşılan menenjit etkenidir. İnfekte insanların % 10- 30 kadarında menenjit gelişir. Erkeklerde bu infeksiyon riski kadınlara oranla 2-3 kat daha fazladır, çocuklar daha fazla etkilenirken aşının bütün dozlarını tamamlamamış genç erişkinlerde de oran yüksektir. Menenjit, ensefalitten daha sık ortaya çıkan bir tablodur, ateş ve bulantı en sık görülen klinik belirtiler iken hastaların yalnızca yarısında parotis ve diğer tükürük bezlerinde genişleme tespit edilir. Menenjit olan bireylerin çok az bir kısmında ensefalit,nöropatiler, myelit veya Guillain–Barré sendromu görülebilir, ölüm nadir bir komplikasyondur. Kabakulak aşısının nadir bir komplikasyonu olarak aseptik menenjit ortaya çıkabilir¹⁷¹.

2.3.5. HIV

Yeni HIV tanısı konmuş hastaların % 5-10 kadarında menenjit hastalığın başlangıç komponenti olarak ortaya çıkar. Ateş, lenfadenopati, boğaz ağrısı veya döküntü ile seyreden mononükleozise benzer sendroma sebep olabilir. Hastaların küçük bir kısmında kranyal nöropatiler ve diğer fokal belirtiler gibi komplikasyonu olan kronik menenjit gelişir. HIV infeksiyon belirtileri var ve alternatif bir patojen tespit

edilemiyorsa aseptik menenjit gelişen hastalarda HIV araştırması yapılmalıdır. CMV gibi oportunistik virusların sebep olduğu aseptik menenjitlerde başka bir immunsupresyon sebebi yok ise HIV mutlaka araştırılmalıdır. HIV ensefalopatisi, MSS de kronik HIV infeksiyonunun sebep olduğu, antiretroviral tedavi verildiğinde daha az görülen bir komplikasyondur¹⁷³.

2.3.6. Diğer Viruslar

Birçok virusa menenjit etkeni olarak nadir de olsa rastlanılabilir. Kızamık infeksiyonu da özellikle aşının yoğun olarak uygulandığı ülkelerde aşı sonrası aseptik menenjit tablosuna sebep olabilir. Lenfositik koryomenenjit virusu (LCMV) ev fareleri ve hamsterlerden damlacık yolu ile bulaşan bir virustur. Sonbahar aylarında pik yapar. Menenjit genelde nonspesifik prodromal bir hastalıktan sonra ortaya çıkar ve hastaların bir kısmı farenjit ve miyalji gibi semptomlar bildirir. Menenjit komplikasyonları artrit, perikardit ve alopesi olabilir. Konjenital LCMV, fetal anomalilerin sebebi olabilir. Aseptik menenjitler adenovirus, parainfluenza ve influenza infeksiyonları ile komplike olabilir. İnfluenza aşısı, rabdovirus, parvovirus B19, mobilivirus, bunyavirus ve togaviruslar çok nadir olmakla birlikte akut aseptik menenjit etkeni olabilir¹⁷³.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı hastanesinin çeşitli polikliniklerine ve Adana Çukurova Eğitim ve Araştırma Hastanesine 2006 Mayıs ve 2008 Mayıs tarihleri arasında başvuran ve klinik olarak aseptik menenjit veya ensefalit ön tanısı konan hastalarda beyin omurilik sıvısında Herpes simpleks virus 1 ve 2 DNA'sı PCR ile ve HSV spesifik IgG antikor cevabı ELISA yöntemi ile araştırıldı. Klinik olarak ateş, baş ağrısı, ense sertliği, Kernig ve Brudzinski belirtileri olan hastalar menenjit olarak değerlendirilirken, bu belirtilere ek olarak, değişen seviyelerde bilinç bulanıklığı, fokal nörolojik bulgular olan hastalar ensefalit olarak değerlendirildi. BOS ve kan örnekleri eş zamanlı olarak alındı. HSV-DNA'sında bulunan iyi korunmuş bir bölge olan 532 baz çiftlik DNA polimeraz geni amplifiye edildi. Daha sonra tiplendirilme için restriksiyon enzim analizi yapıldı.

Aseptik menenjit veya ensefalit şüphesi olan hastalardan lomber ponksiyon ile beyin omurilik sıvısı ve kan örnekleri alındı ve hızlı bir şekilde buz kalıplarının üzerinde laboratuara ulaştırıldı. Alınan BOS örnekleri test edilinceye kadar -80 °C de saklandı. Kan örnekleri serumlarına ayrıştırılarak, serumlar test edilinceye kadar -80 °C de saklandı. Alınan BOS örneklerinde glukoz ve protein düzeyleri gibi biyokimyasal parametrelere bakıldı. Rutin mikrobiyolojik tetkikler yapıldı. Rutin mikrobiyolojik tetkikler sonucu bakteri veya mantar tespit edilen örnekler çalışmaya dahil edilmedi.

3.1. DNA ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu High Pure Viral Nucleic Acid (Roche; kat. No: 11 858 874 001) kiti kullanılarak üretici firmanın talimatlarına göre aşağıdaki gibi yapıldı.

Çözeltilerin Hazırlanması

Proteinaz K hazırlanışı: Liyofilize 100 mg proteinaz K, 5 ml elution buffer (nükleaz olmayan steril distile su) içinde çözülerek erimesi sağlandı. Bu karışım 500 µl'lik hacimlere bölünerek ependorf tüplerinde -20 °C de saklandı.

Liyofilize halde bulunan 2 mg poly (A) taşıyıcı RNA 0.5 ml elution buffer ile çözüldü. İyice karıştırıldı ve bu karışım 50 µl'lik hacimlere bölünerek ependorf tüplerinde -20°C'de saklandı. Çalışma sırasında bu 50 µl'lik karışıma, 2.5 ml binding buffer [6M guanidine-HCl, 10mM Tris-HCl, % 20 Triton X-100(w/v), pH 4.4 (25°C)] eklendi. Binding buffer ve poly(A) karışımı her çalışma sırasında yeniden hazırlandı.

İnhibitor removal buffer'ın 33 ml'sine [5M guanidine-HCl, 20mM Tris-HCl pH 6.6 (25 °C) etanol eklendikten sonraki konsantrasyonu], 20 ml saf etanol eklendi.

Yıkama buffer, [2X10 ml, 20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH 7.5 (25 °C) etanol eklendikten sonraki konsantrasyonu], 40 ml saf etanol ile karıştırıldı.

Ekstraksiyon aşamaları

- 1) Hastalardan alınan 200 µl BOS örneğine 2.5 ml binding buffer ve 50 µl Poli A karışımından 200 µl alınıp örneklerin bulunduğu ependorf tüplerine eklendi. Ayrıca her bir örneğin üzerine 50 µl proteinaz K (20 mg/ml) eklenip vortekslendi ve 72 °C'de 10 dakika inkübe edildi
- 2) İnkübasyondan sonra kapakta sıvı kalmaması için kısa süreli santrifüj edildi. Üzerine 100 µl binding buffer eklendi.
- 3) Kit içerisindeki toplama kapları ve filtreli tüpler iç içe geçirilerek birleştirildi ve bir sonraki aşama için hazırlandı.
- 4) Örneklerin bulunduğu ependorf tüpündeki karışım, hazırlanan toplama kaplarına üstten yavaşça aktarıldı ve 15 saniye süreyle vorteks yapıldı ve 8000 X g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- 5) Santrifüj sonrası, alttaki sıvı biriken toplama kabı atıldı. Üstteki filtre tüpü yeni toplama kapları üzerine yerleştirildi.
- 6) Üzerine 500 µl inhibitor removal buffer eklenip 8000 X g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- 7) Santrifüj sonrası alttaki sıvı biriken toplama kabı atıldı. Üstteki filtre tüpü yeni toplama kapları üzerine yerleştirildi.
- 8) Üzerine 450 µl Wash Buffer eklendi ve 8000 X g'de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası alttaki sıvı biriken toplama kabı atıldı. Üstteki filtre tüpü

yeni toplama kapları üzerine yerleştirildi. Bu basamak bir kez daha tekrarlandı.

- 9) Sonra 13000 X g'de 10 saniye santrifüj edildi. Santrifüj sonrası alttaki sıvı biriken toplama kabı atıldı. Üstteki filtre tüpü 1.5 ml'lik eppendorf tüplerine yerleştirildi.
- 10) Üzerine 50 µl Elution Buffer eklendi ve 8000 X g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- 11) Eppendorf tüp içindeki filtre tüpü atıldı ve daha sonra bu tüpler -20°C'de saklandı.

3.2. Konsensus PCR ile HSV amplifikasyonu

Primerler Herpes simpleks virusların iyi korunmuş bölgesi olan 532 baz çifti uzunluğunda DNA polimeraz geni içinden seçildi.

HSV-P1 (5'-GTGGTGGACTTTGCCAGCCTGTACCC-3') ve

HSV-P2 (5'-TAAACATGGAGTCCGTGTCGCCGTAGATGA-3') primerleri kullanıldı. Primerler, Rozenberg ve Lebon tarafından 1992 de tanımlanmıştır¹⁷⁴.

Amplifikasyon 10x PCR Buffer [100 mM Tris-HCl (pH 8.8), 500 mM KCl], 1.5 mM MgCl₂, herbir dNTP'den 200 µM, her bir primerden 50 pmol (1pmol/ µl), 2U *Taq* polymerase (Fermentas) ve 10 µl kalıp DNA içeren toplam 50 µl PCR karışımında gerçekleştirildi. Her PCR testinde 10 örnek, bir pozitif kontrol ve bir negatif kontrol örneği çalışıldı.

HSV konsensus PCR, 95°C de 12 dakika süren ön denatürasyonu takiben aşağıda belirtilen siklulardan oluşmuştur.

95°C	de	(denatürasyon)	1 dakika	} 3 siklus
60°C	de	(bağlanma)	1 dakika	
72°C	de	(uzama)	1 dakika	
95°C	de	(denatürasyon)	1 dakika	} 37 siklus
55°C	de	(bağlanma)	45 saniye	
72°C	de	(uzama)	1 dakika	

Son elongasyon için örnekler, 72°C de 3 dakika bekletildi.

DNA ekstraksiyonu, PCR ana karışımının hazırlanması ("master mix"), ve örneklerin ana karışıma eklenmesi izole edilmiş 3 ayrı odada yapıldı. PCR

kontaminasyonunu engellemek için reagenler, küçük hacimlerde tüplere bölündü. Aeresol bariyerli pipet uçların kullanımı, eldivenlerin sık sık değiştirilmesi ve yüzeylerin dekontaminasyonu için UV ışık ve sodyum hipokloritle silinmesi gibi kontaminasyona karşı genel önlemler alındı.

3.3. Amplifiye edilen PCR ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde gösterilmesi

Amplifikasyon ürünleri etidyum bromürlü % 1,6'lık agaroz jel elektroforezi ile araştırıldı. Hem tank tamponu olarak, hem de agaroz jelinin hazırlanmasında TAE tamponu kullanıldı. TAE (Tris, Asetat, EDTA) konsantre şeklinde (40xTAE) stok solüsyon olarak hazırlandı ve gerektiğinde 1xTAE olacak şekilde sulandırıldı.

40xTAE tamponunun hazırlanması

38.72 gr	Tris-Base (1.6 M) (Sigma)
21.78 gr	Na Asetat x3 H ₂ O (0.8 M)
3.04 gr	EDTA (40 M) (Sigma)

eritilip distile su ile 200 ml'ye tamamlandı.(pH: 7.2)

Uygulama

1. Elektroforez için kullanılan tampon 1xTAE solüsyonu elde etmek için 40x TAE solüsyonu distile su ile dilüe edildi.
2. Eridiğinde % 1.6'lık jel oluşturacak şekilde agaroz tartılıp bir balon içerisine konuldu.
3. Üzerine 1xTAE tamponu ilave edilerek mikrodalga fırında eritildi.
4. Bir süre 60 °C'nin altına düşmeyecek şekilde soğutuldu.
5. İçerisine 100ml'lik jel için 5 µl etidyum bromid (10 mg/ml'lik stok) eklenerek karıştırıldı.
6. Jel, önceden hazırlanmış ve tarakları uygun olarak yerleştirilmiş kalıp tepsisinin üzerine yavaşça döküldü.
7. Oda sıcaklığında 20-30 dakika bekletilerek katılaşması sağlandı.
8. Jel kalıbı tanka (OWL Separation Systems Model B2 Mini Gel Electrophoresis System) yerleştirilerek taraklar yavaşça çıkarıldı.
9. Örneklerden 10'ar µl alınarak parafilm üzerinde 1µl yükleme tamponu (% 20 sükröz, % 0,25 brom fenol mavisi (1xTAE ile hazırlanmış)) ile karıştırılarak,

açılan her kuyuya bir örnek olacak şekilde konuldu. İlk kuyuya DNA markeri yüklendi.

10. Tankın güç kaynağı (LABNET International Power Station 300) çalıştırılarak 100 V akım verildi.
11. Brom fenol mavisinin migrasyonu takip edilerek jelin 2/3'lik kısmına ulaştığında elektroforez durduruldu.

Jel tanktan çıkarıldı ve jel görüntüleme sistemi (DNR Bio-Imaging Systems Visible & Ultraviolet Transilluminator, MiniBIS Bio-Imaging System) ile görüntülenerek incelendi.

3.4. Restriksiyon enzimi ile kesme

HSV spesifik ampliconlar tespit edilmiş (10 µl) HSV-1 ve HSV-2 ayırımı yapabilmek için restriksiyon enzimleri ile kesildi. *Bam*HI (Fermentas; Lot: 00006511) ve *Bsh*1236I (Fermentas Lot:1545) restriksiyon enzimleri kullanıldı.

*Bam*HI enzimi ampliconu

5' G↓ G A T C C 3' bölgesinden kesmektedir.
3' C C T A G↑ G 5'

*Bsh*1236I enzimi ise ampliconu 5' C G ↓ C G 3' bölgesinden kesmektedir.

3' G C ↑ G C 5'

Enzimler, test edilene kadar -20 °C' de saklandı.

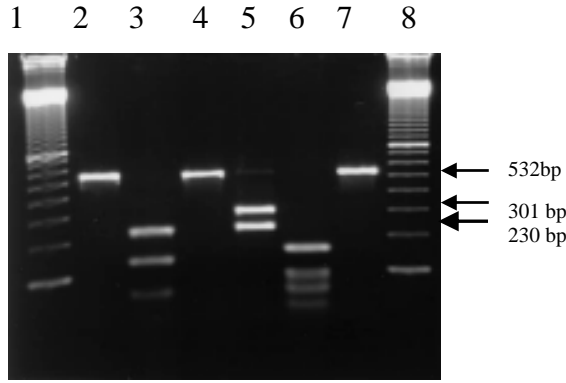
Restriksiyon enzimi ile kesme işlemi

*Bam*HI için, 10 µl PCR ürünü, 2 µl enzim buffer [10X, 10mM Tris-HCl (pH 8.0), 5 mM MgCl₂, 100 mM KCl, 1 mM 2-mercaptoethanol, % 0,02 Triton X-100, 0.1 mg/ml BSA], 1 µl enzim (enzim konsantrasyonu 10 u/µl) ve 16 µl iki kez distile edilmiş steril su ile 29 µl'ye tamamlandı. Bütün işlemler buz üzerinde gerçekleştirildi. Karışım, 37°C de 1 saat inkübe edildi. Daha sonra enzimin inaktivasyonu için karışım 80°C'de 20 dakika bekletildi.

*Bsh*1236I için 10 µl PCR ürünü, 2 µl Buffer R [10X, 10mM Tris-HCl (pH 8.0), 10 mM MgCl₂, 100 mM KCl, 0.1 mg/ml BSA], 1 µl enzim (enzim konsantrasyonu 10 u/µl) ve 16 µl iki kez distile edilmiş steril su ile 29 µl ye tamamlandı. Bütün işlemler buz üzerinde gerçekleştirildi. Karışım, 37°C de 1 saat inkübe edildi. Daha sonra

enzimin inaktivasyonu için karışım 65°C’de 20 dakika bekletildi.

Enzimle kesilmemiş tüm amplicon, BamHI ile kesilmiş amplicon ve Bsh1236I ile kesilmiş amplicon sırasıyla 1.6 gram agar içeren etidyum bromidli jelde yürütüldü. Pozitif kontrol örnekleri Ankara’da bulunan Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezinden temin edildi (Şekil 3).



Şekil 3- Pozitif kontrol örneklerinin profili

1:DNA ladder, 2:HSV-1 enzimle kesilmemiş ampliconu, 3:HSV-1’in Bsh1236I ile kesilmiş ampliconu, 4:HSV-1’in BamHI enzimi ile muamele edilmiş ampliconu, 5: HSV-2’nin BamHI ile kesilmiş ampliconu, 6: HSV-2’nin Bsh1236I ile kesilmiş ampliconu, 7:HSV-2’nin enzimle kesilmemiş ampliconu, 8: DNA ladder

3.5. BOS’da spesifik IgG antikorlarının tespiti için ELISA yönteminin uygulanması

Hastalardan alınan BOS örneklerinde intratekal antikor sentezinin gösterilmesi için BOS için CSF: Anti-HSV-2-ELISA IgG(Euroimmun ELISA, Deutschland) ve CSF: Anti-HSV-1-ELISA IgG (Euroimmun ELISA, Deutschland) kitleri kullanıldı. HSV-1(HSV-1;EI 2531-9601-L G) ve HSV-2’ye (HSV-2; EI 2532-9601-L G) karşı oluşan antikorlar ayrı ayrı incelendi. ve Kitler kullanılacağı süreye kadar +4°C’de bekletildi. Uygulamadan 30 dakika önce buzdolabından çıkarılarak oda ısısında bekletildi.

3.5.1. Anti- HSV-1 ELISA testinin yapılışı

Hastalardan alınan kan örnekleri santrifüj edilerek serumları ayrıştırıldı. Serumlar sample buffer içinde 1/401 oranında dilüe edildi.

BOS örnekleri sample buffer ile 1/2 oranında dilüe edildi. ELISA testi

üreticisinin talimatına göre aşağıdaki gibi yapıldı.

- 1) BOS kalibratörleri sırayla 100'er µl ve dilüe edilmiş serum ve BOS örneklerinden 100'er µl mikro plağın kuyucuklarına eklendi. Oda ısısında 60 dakika inkübe edildi.
- 2) İnkübasyondan sonra plaklar 3 kez 400 µl, 1X Wash Buffer solusyonu ile yıkandı ve sonunda 2 kez aspire edilip iyice kurutuldu. Hiç sıvı kalmaması için kurutma kağıdı üzerinde plak ters çevrilip birkaç kez tap yapıldı.
- 3) Her bir kuyucuğa 100 µl enzim konjugatı (peroksidaz işaretli anti-human IgG) eklendi ve oda ısısında 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 4) Plaklar 2. basamakta tarif edildiği gibi yıkandı.
- 5) Her bir kuyucuğa 100 µl kromojen substrat solüsyonu eklendi ve direk güneş ışığından koruyarak, oda ısısında 15 dakika inkübe edildi.
- 6) Her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu eklendi.
- 7) Plaklar hafifçe sallanarak homojen bir solüsyon elde edilmeye çalışıldı.
- 8) Fotometrik ölçüm 450 nm dalga boyunda ve referans dalga boyu da 620 nm olarak belirlendi.

3.5.2. Anti-HSV-2 IgG ELISA testinin yapılışı

Serum örnekleri 1/401 oranında sample buffer ile dilüe edildi. BOS örnekleri ½ oranında sample buffer ile dilüe edildi.

Testin yapılışı

- 1) BOS kalibratörlerinden 100'er µl, dilüe edilmiş BOS ve serum örneklerden 100'er µl mikroplakta bulunan kuyucuklara sırasıyla aktarıldı. Oda ısısında 60 dakika inkübe edildi.
- 2) İnkübasyondan sonra plaklar 3 kez 400 µl, 1X Wash Buffer solusyonu ile yıkandı ve sonunda 2 kez aspire edilip iyice kurutuldu. Hiç sıvı kalmaması için kurutma kağıdı üzerinde plak ters çevrilip birkaç kez tap yapıldı.
- 3) Her bir kuyucuğa 100 µl enzim konjugatı (peroksidaz ile işaretlenmiş anti-human IgG) eklendi. Oda ısısında 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 4) Kuyucuklar boşaltıldı ve 2. basamakta tarif edildiği gibi yıkandı.
- 5) Her bir kuyucuğa 100 µl kromojen substrat solüsyonu eklendi ve direk güneş ışığından koruyarak, oda ısısında 15 dakika inkübe edildi.

- 6) Her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu eklendi.
- 7) Plaklar hafifçe sallanarak homojen bir solüsyon elde edilmeye çalışıldı.
- 8) Fotometrik ölçüm 450 nm dalga boyunda ölçüldü ve referans dalga boyu da 620 nm olarak belirlendi.

Testin hesaplanması IgG sınıf antikorlarının intratekal sentezi antikor indeksi kullanılarak doğrulanmıştır. AI (Antikor indeksi), BOS albümin ve BOS ta total IgG sayımı serum örneklerinin ki ile karşılaştırılarak hesaplandı. AI değerleri ≥ 4 olması intratekal antikor sentezinin olduğu anlamına gelmektedir (Reiber ve Lange, 1991).

4. BULGULAR

Bölgemizde aseptik menenjit veya ensefalitlerde HSV-1 ve HSV-2 insidansını belirlemek amacıyla Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi poliklinikleri ve Adana Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvuran ve klinik olarak aseptik menenjit veya ensefalit ön tanısı almış 81 kadın (% 43), 107 erkek (% 57) hastadan alınan BOS ve kan örnekleri PCR ve ELISA yöntemiyle değerlendirildi. Toplam 188 vakanın 80'i (% 42) klinik olarak ensefalit olarak değerlendirilirken, 108'i (% 58) menenjit olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirilmeye alınan hastaların 17 (% 9)'si 0-1 yaş, 68 (% 36)'i 1-10 yaş, 32 (% 17)'si 10-18 yaş, 37 (% 19,7)'si 18-40 yaş, 22 (% 11,7)'si 40-60 yaş, 12 (% 6,2)'si 60 yaş ve üzeri yaş grubunda yer almakta idi (Tablo-2).

Tablo-2. Aseptik menenjit veya ensefalitli hastaların cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

Cinsiyet	Yaş grupları													
	0-1 yaş		1-10 yaş		10-18 yaş		18-40 yaş		40-60 yaş		≥ 60 yaş		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	Sayı	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Kız	7	3,7	31	16,4	13	6,9	21	11,2	6	3,2	3	1,6	81	43
Erkek	10	5,3	37	19,6	19	10,1	16	8,5	16	8,5	9	4,8	107	57
Toplam	17	9	68	36	32	17	37	19,7	22	11,7	12	6,2	188	100

BOS'nın biyokimyasal analizi sonucunda hastaların, % 65,9'unda normal protein, % 88,9'unda normal glukoz düzeyi bulundu, örneklerin % 32,5'inde yüksek protein düzeyi, % 4,2'sinde düşük glukoz düzeyi tespit edilmiştir (Tablo 2, Tablo 3).

Tablo-3. BOS protein değerlerindeki değişimlerin hastalara göre dağılımı

BOS'nın kimyasal analizi	Normal değer	Kadın		Erkek		Toplam	
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Protein <	15-45 mg/dL	3	1,6	-	-	3	1,6
Protein >		23	12,2	38	20,3	61	32,5
Normal		55	29,2	69	36,7	124	65,9

PCR yöntemi ile HSV-1 DNA tespit edilen 4 hastanın tamamında protein düzeyleri yüksek bulunmuştur (Ortalama:180mg/dL).

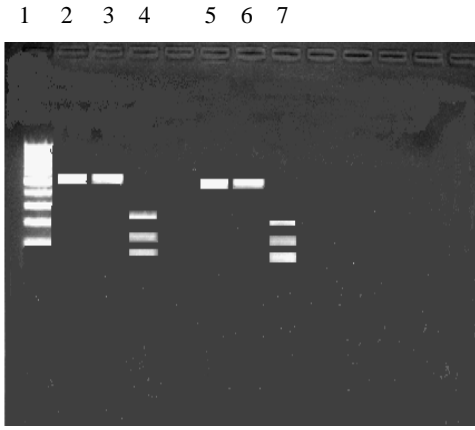
Tablo-4. BOS glukoz değerlerindeki değişimlerin hastalara göre dağılımı

BOS'nın kimyasal analizi	Normal değer	Kadın		Erkek		Toplam	
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Glukoz <	40-70 mg/dL	3	1,6	5	2,6	8	4,2
Glukoz >		6	3,2	7	3,7	13	6,9
Normal		72	38,2	95	50,7	167	88,9

PCR yöntemi ile BOS'da HSV DNA tespit edilen hastalarda glukoz düzeyleri normal sınırlarda idi. (40-70 mg/dL)

HSV-1 ve HSV-2 genomunda bulunan DNA polimeraz genini hedef alan primerler kullanılarak yapılan PCR sonucu, 532 baz çifti uzunluğunda olan bölge amplifiye edildi. Bu ampliconlar 2'si kadın, 2'si erkek toplam 4 hastada agaroz jel elektroforezinde tespit edildi. Pozitif bulunan ampliconlar HSV-1 ve HSV-2 tiplendirilmesi için BamHI ve Bsh1236I restriksiyon enzimleri kullanılarak kesildi. HSV-1 ampliconu BamHI ile kesilmezken, HSV-2 ampliconu bu enzimle 230 baz çifti ve

301 baz çifti uzunluğunda iki parçaya kesildi. HSV-1 ampliconu Bsh1236I enzimi ile 228, 361, 383, 397, 404, 418, 420, 476 baz çifti bölgesinden kesilmekte, HSV-2 ampliconu ise 88, 167, 194, 228, 383, 397, 402, 404, 406, 418, 420, 476 baz çifti bölgelerinden kesilmektedir. Elde edilen ampliconlar sırasıyla kesilmemiş amplicon, BamHI ile kesilmiş amplicon ve Bsh1236I ile kesilmiş amplicon olarak 1,6 gram etidium bromide'li jelde yürütüldü. Pozitif bulunan 4 örneğin tamamı HSV-1 olarak tiplendirildi. Pozitif kontrol örnekleri Ankara'da bulunan Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi'nden temin edilmiştir.



Şekil 4- Hasta sonuçları

1:DNA ladder, 2:HSV-1 pozitif kontrol enzimle kesilmemiş amplicon, 3:Pozitif kontrol HSV-1 BamHI ile muamele edilmiş amplicon, 4:HSV-1'in Bsh1236I ile kesilmiş ampliconu, 5:Hastadan elde edilen BOS'ta amplifiye edilen ürün, 6:Hastadan elde edilen ampliconun BamHI ile kesilmiş ürünü, 7: Hastadan elde edilen ampliconun Bsh1236I ile kesilmiş ürünü,

Pozitif bulunan 4 örneğin tamamı HSV-1 olarak tiplendirildi .Pozitif örnekler yaş gruplarına göre dağıldığı zaman 2'si kadın, 1'i erkek hasta 1-10 yaş (sırasıyla 7, 8 ve 4 yaş) grubunda bulunmaktadır. HSV-1 pozitif olan 1 hasta ise 60 yaş ve üzeri grupta (63 yaş) yer almaktadır.

Tablo 5: HSV-1 DNA ve HSV-2 DNA nin yaş gruplarına göre dağılımı

HSV tipleri	Yaş grupları													
	0-1 yaş		1-10 yaş		10-18 yaş		18-40 yaş		40-60 yaş		≥ 60 yaş		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
HSV-1	-	-	3	1,6	-	-	-	-	-	-	1	0,5	4	2,1
HSV-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Toplam 188 hastanın 180'inde ELISA testi ile HSV-1 ve HSV-2' ye karşı oluşan IgG antikorları araştırıldı. Hastaların 8'inde BOS miktarı yeterli olmadığı için HSV IgG ELISA testi yapılamadı.

Tablo 6: Toplam 180 hastanın HSV-1 DNA ve HSV-1 IgG sonuçları

	HSV-1 DNA (pozitif)	HSV-1 DNA (negatif)
HSV-1 IgG pozitif	2	1
HSV-1 IgG negatif	2	175

PCR testi ile pozitif amplikon tespit edilen 2 hastada HSV-1'e karşı oluşan intratekal IgG antikorları tespit edildi. Ayrıca PCR ile amplikon tespit edilmeyen bir hastada HSV-1'e karşı oluşan IgG antikorları tespit edildi. HSV-2 spesifik IgG antikorları BOS'da hiçbir hastada tespit edilemedi.

5.TARTIŞMA

Aseptik menenjitler meninkslerin inflamasyonudur ve ani başlayan ateş, başağrısı, fotofobi ve ense sertliği gibi belirtilerle seyrederek. Sıklıkla bulantı ve kusma eşlik eder. Aseptik menenjitlerde etken yaklaşık % 50-80 oranında en sık enteroviruslar olmakla beraber herpes simpleks virus, Ebstein-Barr virus (EBV), kızamık virusu, varicella zoster virus (VZV), cytomegalovirus (CMV), kabakulak virusu, adenovirus ve rubella virusu gibi viruslar da artan bir şekilde etken olarak tespit edilmektedir. Bakteriyel menenjitli vakalar tedavi edilmediğinde prognoz daha kötüleşirken viral menenjitler genellikle spontan olarak iyileşir¹.

Ensefalit beynin akut inflamasyonu olup çoğunlukla viral infeksiyon sonucu gelişir ve sıklıkla menenjitte birlikte görülür. Viral ensefalitlerde meningeal inflamasyon belirtilerine ek olarak letarji, konfüzyon ve komaya kadar ilerleyebilen bilinç düzeyinde değişiklikler görülür. Viral ensefalitlerin en sık sebebi % 10-20 oranında enteroviruslar iken HSV akut sporadik ensefalitlerin % 2-19 oranla en sık sebebidir².

Herpes viruslar çift iplikli DNA içeren, ikozahedral kapsid simetrisine sahip, zarflı viruslardır. Çift iplikli DNA genomu lineer yapıdadır. Zarflı virus 120-200 nm çapındadır. Viral genomu ikozahedral simetride 162 kapsomerden oluşan 100-110 nm çapında bir kapsid çevrelemektedir. Patogeneizde en önemli özelliği dorsal kök gangliyonlarında latent olarak kalabilmesidir¹⁵.

HSV, primer herpetik gingivostomatit, tekrarlayan orofasiyal herpes, genital herpes, egzema herpetikum, herpes gladyatorum, herpetik dolama, oküler herpes, neonatal herpes ve MSS'de ensefalit ve menenjit gibi hastalıklara sebep olabilir⁶⁹⁻⁷². HSV infeksiyonları bütün dünyada yaygındır. Tek doğal konak insandır. Erişkinlerde HSV-1 antikoru toplumun % 70-100'ünde bulunmaktadır. HSV-2 antikor oranı ise % 20-65 arasındadır.

Primer ve tekrarlayan herpes virus infeksiyonları sonucu MSS hastalıkları oluşabilir. Bütün herpes simpleks ensefaliti gelişen hastaların yarısı primer infeksiyonu, yarısı ise tekrarlayan infeksiyonu olan hastalardır. HSV, ensefalit vakalarının % 2-

19'undan nekrotizan ensefalitlerin % 20-75'inden sorumludur. HSE yıllık insidansı 1-4/1 milyon popülasyondur³³. HSV-1'in etken olduğu MSS infeksiyonları immun sistemi normal olan erişkinlerde vakaların % 90'ını oluştururken geri kalan kısmında etken HSV-2'dir. HSV-2 immun sistemi normal 3 aylıktan büyük kişilerde menenjit, meningoensefalit ve myelit sıklıkla ile ilişkilidir. HSV-2 ensefaliti genellikle primer infeksiyon sonucu oluşmaktadır. Erişkinlerde ve 6 aydan büyük çocuklarda herpes simplex ensefaliti akut sporadik ensefalitlerin en sık sebebidir. Herpes simpleks ensefaliti bimodal bir dağılım gösterir; vakaların üçte biri 20 yaş ve altındayken, yarısı 50 yaşın üstündedir. HSV menenjit ve ensefaliti mevsim ve cinsiyet farklılığı göstermez. Tedavi yapılmadığında mortalite oranı % 70'tir ve hastaların çok az bir kısmında beyin fonksiyonları normale dönebilir. Fakat intravenöz asiklovir tedavisi ile mortalite oranı % 19'a kadar düşmektedir¹⁰⁶.

Annesinde genital herpes olan yenidoğanlarda HSV'nin etken olduğu neonatal infeksiyonlar sırasında da MSS infeksiyonları ortaya çıkabilir. Antiviral tedavinin bulunmasından önce dissemine neonatal HSV hastalığı olanların % 85'i ve MSS neonatal HSV hastalığı olanların % 50'si 1 yaşına kadar yaşamlarını yitirmekte idi. Antiviral tedavi ile 1 yaşına kadar dissemine neonatal HSV hastalığı olanlarda mortalite % 29'a inerken , MSS neonatal HSV hastalığı olanlarda % 4'e kadar gerilemektedir. Antiviral tedavi ile morbiditede olan azalma mortalitedeki azalma kadar dramatik değildir. Yaygın hastalığı olan bebeklerde antiviral tedaviden önce normal nörolojik gelişim gösterme şansı % 50 iken, tedaviden sonra bu oran % 83'e yükselmiştir. MSS hastalığı olan yenidoğanlarda tedaviden önce normal nörolojik gelişim gösterme şansı % 31 iken, tedaviden sonra bu oran % 33'dür. Bu durum erken tanı ve tedaviye erken başlanmasının ne kadar önemli olduğunu kanıtlar¹¹⁴⁻¹¹⁶.

HSV infeksiyonlarının çoğunda lezyonlar tipiktir ve tanı klinik olarak konulabilir. Fakat immun yetmezlikli konaklarda ve asemptomatik infeksiyonlarda klinik tanı yeterli olmayabilir. HSV infeksiyonları genellikle kendi kendini sınırlayan infeksiyonlar olmalarına rağmen, neonatal herpes infeksiyonları ve herpes simpleks ensefaliti gibi ciddi hastalık tablolarında erken tanı çok büyük önem taşır.

HSV infeksiyonlarının en duyarlı ve spesifik tanı metodu virusun izolasyonudur. HSV çeşitli hücre kültürü dizilerinde kolaylıkla üreyebilir. Primer tavşan böbrek ve MRC-5 gibi human akciğer fibroblast hücre dizilerinde en iyi ürer. MRC-5 en yaygın olarak kullanılan fetal diploid hücre dizisidir. HSV'ye karşı oluşan antikolar ise en sık ELISA ve IFA yöntemleri ile araştırılır.

Herpes simpleks ensefaliti veya menenjit şüphe edilen hastaların tanısında BOS ta HSV PCR testi en güvenilir ve invaziv olmayan bir testtir. BOS PCR testleri spesifik intratekal antikor sentezi ve BOS kültürü yerine kullanılabilir. Kantitatif BOS PCR analizleri MSS deki hastalığın ciddiyetini anlamak, antiviral tedaviyi takip etmek ve akademik çalışmalarda testlerin standardizasyonunu sağlamak için kullanılabilir¹¹⁸.

BOS'ta uygulanan PCR yöntemi HSV ve MSS'de infeksiyon yapabilen diğer mikroorganizmaların da tespitinde altın standart haline gelmiştir. Fakat bu durumda spesifik olmayan belirtileri olan hastalarda bu tekniğin gereksiz kullanımı ciddi miktarda bir maddi yük getirmiştir. Aynı anda kullanılan bu testlerin toplam maliyeti 1,000 dolara kadar yükselebilmektedir. Test sonuçlarının çoğunun negatif olduğu göz önüne alınırsa tanı için maliyet oldukça yükselmektedir. BOS ta lökosit sayısı ve total protein seviyeleri HSV MSS infeksiyonları için bir ön belirtidir. BOS pleositozu HSV ensefaliti olan vakaların % 97'sinde mevcuttur¹¹¹. Tang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 732 BOS örneği herpesviruslar için araştırılmış ve anormal lökosit sayısı ve yüksek total protein seviyeleri olan 523 örneğin 24'ünde (% 4,6) HSV DNA bulunurken normal lökosit ve protein seviyeleri olan 209 örneğin hiç birinde HSV DNA tespit edilememiştir. Hem lökosit hem de protein seviyeleri yüksek olan örneklerde herpes virusların tespit edilme şansı daha yüksek bulunmuştur¹⁷⁵. Bu sonuçlara göre lökosit ve protein seviyeleri ölçümü HSV için PCR testlerinden önce yapılması önerilmektedir. Yükselmiş protein düzeyleri HSV DNA aramak için yapılan PCR testlerini etkilemez. Normal lökosit ve protein seviyeleri olan hastaların eliminasyonu herpesvirus araştırma testlerinin maliyetini üçte bir oranında düşürmektedir. Bizim çalışmamızda toplam 188 hastanın 61'inde (% 32,5) BOS'ta ölçülen protein miktarı yüksek bulunmuştur. PCR yöntemi ile HSV-1 DNA tespit edilen 4 hastanın (ortalama: 180mg/dL) tamamında protein düzeyleri yüksek bulunmuştur. Merkezi sinir sistemi HSV infeksiyonlarında BOS glukoz düzeyi sıklıkla normaldir. Çalışmamızda PCR yöntemi ile BOS'da HSV DNA tespit edilen hastalarda glukoz düzeyleri normal sınırlarda (40-70 mg/dL) tespit edilmiştir.

PCR testi MSS'nin HSV kaynaklı infeksiyonlarının tanısında kullanımı klinik olarak büyük yararlar sağlamıştır. Geçmişte klinisyenler MSS HSV hastalığının akut tanısı için klinik bulgular, bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme teknikleri ve beyin biyopsisinin kültürü ile sınırlı kalmışlardır. Genellikle çok tipik ve ciddi MSS hastalığı olanlar tanı almakta, sıklıkla hastalığın erken döneminde laboratuvar tanısı invaziv yöntemler gerektirdiği için etkili antiviral tedavinin başlaması

gecikmekte idi. Günümüzde ise klinisyenler beyin biyopsisi yerine BOS'u örnek olarak tercih etmekte ve HSV infeksiyonu şüphelenilen durumda hemen HSV DNA PCR testine yönelmektedir. Bu yüzden daha önce fark edilemeyen menenjit ve ensefalitlerin hafif ya da atipik formları tespit edilerek klinik spektrum hızla genişlemiştir. Ek olarak PCR sonuçları BT ve MRI teknikleri ve elektroensefalogram (EEG) sonuçları ile birlikte değerlendirilmelidir. EEG deki fokal değişiklikler olarak diken ve yavaş dalga aktivitesi görülebilir. Temporal loba ulaşan periyodik lateralize epileptiform deşarjlar gözlenebilir. Hastalığın başlangıcında anormal elektriksel aktivite genellikle bir temporal lobda lokalize iken hastalığın 7-10. gününde diğer temporal loba da yayılır. EEG sensitivitesi % 84 oranında iken spesifitesi % 32,5 kadardır. Bilgisayarlı tomografi başlangıçta temporal loba lokalize kitle etkisi ile düşük yoğunluklu alanlar gösterir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde radyolusen ve/veya hemorajik lezyonlar görülebilir. Tedavi uygulanmadığı zaman özellikle hastalığın ilerleyen dönemlerinde genellikle her iki temporal lobda da lezyon ortaya çıkar. Nörodiagnostik testlerin tanıda kullanılması ile sensitivite artmakta fakat spesifite hala yetersizdir^{176,177}. Çalışmamızda HSV-1 DNA pozitif bulunan bir hastada manyetik rezonans görüntülemesi yapılmıştır. Bu hastada tipik olarak sol temporal loba lokalize lezyonlar tespit edilmiştir.

HSV DNA BOS'da persiste olmadığından dolayı PCR testinde en iyi sonuçları almak için taze örnekler kullanılmalıdır. Menenjit veya meningoensefalitten şüphelenilen hastalarda, nörolojik semptomların ortaya çıktığı 1-2 gün içinde PCR test sonuçları pozitif olur, bu sonuç en az 2 hafta hatta 4 haftaya kadar pozitif kalabilir¹²⁶. Bizim çalışmamızda, HSV DNA tespit edilen 4 hastada, hastalık semptomlarının ortaya çıkmasından itibaren BOS örnekleri ortalama 6 günde (3, 4, 8 ve 10 gün) elde edilmiştir

Çalışmamızda tek başına menenjit olarak tanı konan hastaların hiç birinde HSV-2 ve HSV-1 DNA tespit edilmedi. Klinik olarak ensefalit tanısı alan 80 hastanın 4'ünde (% 5) HSV-1 DNA tespit edildi. Koskiniemi ve arkadaşlarının yaptığı 2 yıl süren çalışmada ensefalitten şüphelenilen 175 hastada % 5 oranında HSV-1 DNA bulunmuştur ki bizim bulgumuzla benzerdir¹⁷⁸. Herpesviruslar viral ensefalitlerin en sık sebeplerinden biri olmasına rağmen bulgularımız HSV'ye bağlı ensefalitlerin çok nadir olduğunu göstermiştir. Buxbaum ve arkadaşlarının Almanya'da yaptıkları bir çalışmada yaklaşık 5 yıllık bir periyoda HSE den şüphelenilen 2121 hasta'nın sadece 120'sinde (% 6) PCR ile HSV DNA tespit edilebilmiştir. Yine bizim % 5'lik bulgumuzla uyumludur¹⁷⁹. İbrahim ve arkadaşları Suriye'de 106 ensefalit vakasından 32 (% 30)

hastada HSV-1 DNA pozitif bulmuşlar; tek başına menenjit olan vakaların hiç birinde HSV DNA bulamamışlardır¹⁸⁰. Fakat İbrahim ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada herpes simpleks menenjit ve ensefalit olduğundan şüphelenilen hastalar çalışmaya alınmış, başka bir virolojik etken tespit edilenler ise çalışmaya dahil edilmemiştir. Bu sebep buldukları % 30'luk yüksek oranı açıklayabilir.

Ensefalit erken tanısı etkili antiviral tedaviye başlamak ve HSE ye benzer sendromların ekarte edilmesinde önemlidir. HSE kesin tanı metodu virusun beyin dokusundan izolasyonudur, fakat bu invaziv girişimin yapıldığı vakaların % 40-60'ında HSV olmadığı tespit edilmiştir. HSV nadiren BOS ile yapılan hücre kültürlerinde izole edilebilir. HSV ensefalitlerinde diğer bir tanı intratekal olarak HSV spesifik immünglobulinlerin tespitidir. Fakat akut HSV ensefalitinden sonra uzun süre antijen stimülasyonu mevcut olduğu için serolojik incelemelerde immünglobulin ve albümin değerleri birlikte değerlendirilmelidir. Çalışmamızda PCR yöntemi ile HSV DNA tespit edilen 2 hastada HSV-1 spesifik intratekal IgG üretimi tespit edildi. Bu hastalarda BOS ve serum elde edilme zamanı bir hastada hastalık semptomlarının ortaya çıkmasından itibaren 8. gün iken diğer hastada 10.gündür. Çalışmamızda BOS'da HSV-DNA tespit edilmeyen bir hastada intratekal antikor sentezi bulundu. Bu hasta 2 yaşında ve BOS örneği hastalık semptomlarının başlamasından itibaren 12. günde elde edilmişti. Sauerbrei ve arkadaşlarının yaptığı retrospektif bir çalışmada 2700 ensefalit şüpheli hastadan 2200 kan ve 620 BOS örneği toplamışlar. Örnekler nörolojik semptomların ortaya çıkmasından itibaren 14. gün -5 ay arasında alınmıştır. Sauerbrei ve arkadaşları ensefalitli vakalara ait BOS örneklerinde HSV DNA tespit edilen hastaların hiçbirinde intratekal antikor üretiminin varlığını gösterememişlerdir. Hastalığın başlangıcından 14 gün sonra elde edilen BOS örneklerinde intratekal IgG ve IgM antikorlarını vakaların % 3,9'unda pozitif bulmuşlar ve bu örneklerin hiç biri PCR yöntemi ile pozitif bulunmamıştır¹⁸¹. Daha önce yapılan çalışmalarda hem HSV-DNA hem de intratekal sentezlenen antikorların yalnızca nadir vakalarda gözlenebildiği rapor edilmiştir. (Fomsgaard ve ark., 1998). Normalde IgG antikorları hastalığın post akut evresinde ortalama 10-12 gün içinde ölçülebilir düzeylerde ve en yüksek seviyeye 20. günde ulaşır ve birkaç yıl persiste kalır. İntratekal immun cevap eğer tedavi erken başlamışsa gecikebilir veya hiç oluşmayabilir. (Linde ve ark., 1997). Çalışmamızda intratekal anti-HSV-1 IgG antikorları 3 hastada (% 1,5) tespit edildi. Bu hastaların 2'sinde HSV-1 DNA pozitif bulundu. İntratekal antikor sentezini ölçmede antikor indeksi (AI; Antibody index) değeri basit ve güvenilir bir metoddur. Bu yolla kan beyin bariyeri

ciddi biçimde zedelense bile spesifik intratekal antikor sentezini ölçmek mümkün olmaktadır. (Reiber ve Lange, 1991). Herpes virus infeksiyonlarında serum antikorlarının ölçümü çok yaygın kullanılan bir yöntemdir. MSS infeksiyonlarında, özellikle HSE tanısında virus spesifik serum antikorları sıklıkla yüksek bulunmaktadır. Buna karşılık HSV infeksiyonunun tanısında otoantikolar ve antiselüler antikorların varlığı, klinik belirtiler olmaksızın viral reaktivasyon veya kros reaksiyonlara bağlı olarak yanlış pozitif sonuçlar ortaya çıkabilir (Linde et al., 1997).

HSV-1 ensefalitleri her yaşta görülebildiği gibi hastaların üçte biri 20 yaşından küçüktür. Hastaların yarısı ise 50 yaş ve üzerindedir¹⁸². Koskiniemi ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada, klinik olarak viral ensefalit belirtileri gösteren 516 hasta PCR yöntemi ile incelenmiş, ve HSV vakaların % 7,4'ünde tespit edilmiştir¹¹⁰ ki bu oran bizim ensefalit vaka grubunda bulduğumuz % 5'lik orana yakındır. Koskiniemi'nin çalışmasında herpes simpleks ensefaliti 40 yaş ve daha üstü kişilerde ortaya çıkmıştır¹¹⁰. Genellikle herpes simpleks ensefalitinin tepe insidansı 60 ve 64 yaşları arasında bulunmakta ve bütün ensefalit vakalarının bu yaşlarda % 37,5 lik bir kısmını oluşturmaktadır. Çalışmamızda ise PCR ve ELISA testi ile HSE olduğu kanıtlanan 5 vakanın 4'ü (% 80) 10 yaş altı çocuklardan oluşmaktadır. Geri kalan 1 vaka ise 60 yaş üstündedir. Bu bimodal yaş dağılımı genç yaşlarda primer HSV infeksiyonunu, daha ileri yaşlarda reaktivasyon veya latent infeksiyonu düşündürür. İmmün sistemi normal olan erişkinlerde Herpes simpleks ensefaliti vakalarının %90'ından fazlası HSV-1 infeksiyonu ile oluşurken, geri kalan kısmı HSV -2 ile oluşmaktadır¹¹².

Merkezi sinir sistemi infeksiyonlarında HSV'nin araştırıldığı başka bir çalışmada Markoulatos ve arkadaşları Yunanistanda menenjit, ensefalit ve meningoensefalitden şüphelenilen hastalardan alınan 86 BOS örneğini incelemişler ve ensefaliti olan 3 hastada (% 3,5) HSV-1 DNA tespit etmişlerdir¹⁸³. Çalışmamızda ise bütün aseptik menenjit ve ensefalit vakalarında HSV-1 DNA 188 hastanın 4'ünde (% 2,1) tespit edildi, ensefaliti olan 1 hastada ise HSV-1 DNA BOS'da bulunmamasına rağmen ELISA yöntemi ile intratekal sentezlenen HSV-1 spesifik IgG tespit edilmiştir. HSV PCR ve ELISA birlikte değerlendirildiğinde toplam 188 MSS infeksiyonu olan hastanın 5'inde (% 2,6) HSV-1 etken olarak tanınmıştır ki % 2,6'lık bulgumuz Markoulatos ve arkadaşlarının bildirdiği %3,5'lik orana benzerdir. Yine diğer bir çalışmada Najioullah ve arkadaşları Fransa'da MSS infeksiyonundan şüphelenilen 1339 hastadan alınan 1431 BOS örneğini incelemişler ve HSV DNA'yı oldukça düşük bir oranda hastaların % 0,8'inde tespit etmişlerdir. HSV DNA pozitif 11 hastanın 7'si

ensefalit, 4'ü menenjit olup, HSV tiplendirilmesi yapıldığında HSV-1 DNA, 7 ensefalit vakasının 6'sında bulunmuş ve 1 ensefalit ve 4 menenjit vakasında ise HSV-2 DNA tespit edilmiştir¹⁸⁴. Çalışmamızda HSV-2 DNA menenjit olan hastalarda bulunmamıştır. Ensefalit vakalarının hepsinde HSV-1 etken olarak tespit edilmiştir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. Bölgemizde aseptik menenjit veya ensefalit ön tanısı alan hastalarda HSV enfeksiyon insidansını araştırmak amacıyla yapılan bu çalışmaya 108'i aseptik menenjitli ve 80'i de ensefalitli olmak üzere toplam 188 hastadan enfeksiyonun akut döneminde alınan kan ve BOS örnekleri dahil edildi.

2. BOS örneklerinin, HSV genomunda bulunan DNA polimeraz genini hedef alan primerlerin kullanıldığı konsensus HSV PCR yöntemi ile amplifikasyonu sonucu; ensefalitli 80 hastanın 4'ünde (% 5) HSV DNA hedef dizilerinin varlığı tespit edildi.

3. Aseptik menenjitli hasta örneklerinin hiç birinde HSV genomunda hedeflenen bölgelerin olmadığı görüldü.

4. HSV-DNA yönünden pozitif bulunan ampliconların Bam HI ve *Bsh*1236I restriksiyon enzimleri ile kesilmesi sonucu oluşan DNA fragmanlarının polimorfizmine göre tanımlamada ampliconların tamamının HSV-1 olduğu görüldü.

5. Toplam 180 hastadan alınan kan ve BOS örneği HSV-1 (CSF: Anti-HSV-1-IgG) ve HSV-2 (CSF: Anti-HSV-2-IgG) ELISA testi ile çalışıldı. Toplam 3 hastada intratekal sentezlenen spesifik HSV-1 IgG antikorları tespit edildi. Bu 3 hastaya ait BOS örneklerinin 2'sinde aynı zamanda HSV-1 DNA da bulundu. Tek başına HSV-1 IgG antikorları tespit edilen bir hasta da herpes simpleks ensefaliti tanısı kondu.

6. HSV-2 spesifik IgG antikorları hiçbir hastada

7. PCR ve ELISA birlikte değerlendirildiğinde ensefalitli 80 hastanın 5'inde (% 6,25) etken HSV-1 idi. Ensefalitli vakalarda HSV-2 bulunmadı.

8. Aseptik menenjit ve ensefalit olan toplam 188 vakanın 5'inden (% 2,6) HSV-1 sorumlu bulundu.

Sonuç olarak; Herpes simpleks virusun etken olduğu menenjit ve ensefalit vakalarında spesifik antiviral tedavi ile mortalite önemli ölçüde azaldığından, erken tanı çok büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda erken tanıda PCR'ın hızlı ve güvenilir bir yöntem olduğu ve intratekal sentezlenen HSV-IgG testinin tek başına tanısal değerinin sınırlı olup PCR ile birlikte değerlendirildiğinde tanıya katkısı olduğu sonucuna varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. **David R. Chadwick**, Viral Meningitis .*British Medical Bulletin* **2005**; 75 and 76:1-14.
2. **David W. Kimberlin** Herpes Simplex Virus Infections of the Central Nervous System, *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, **2003**; 14(2): 83-89
3. **Wallgren, A.**: Une nouvelle maladie infectieuse du système nerveux central. *Acta pediat.* **1924**; 4:158.
4. **Rivers, T. M. and SCOTT, T. F. M.**: Meningitis in man caused by a filterable virus. *Science* **1935**; 81:439.
5. **Armstrong, C. and Lillie, H. D.**: Experimental lymphocytic choriomeningitis of monkeys and mice produced by a virus encountered in studies of the 1933 St. Louis encephalitis epidemic. *Pub. Health Rep.* **1934**; 49: 1019.
6. **Dalldorf, G. and Sickles, G. M.**: An unidentified, filterable agent isolated from the feces of children with paralysis. *Science* **1948**; 108: 61.
7. **Wildy P.** Herpes history and classification. In: As K, ed. The Herpes Viruses. New York: *Academic Press*; **1973**; 1.
8. **Astruc J.** De morbis venereis libri sex Paris. **1736**.
9. **Parker F, Nye R.** Studies on filterable viruses: II. Cultivation of herpes virus. *Am J Pathol.* **1925**; 1:337.
10. **Mathewson Commission**: Epidemic encephalitis: etiology, epidemiology, treatment. Report of a Survey by the Mathewson Commission. *New York- Columbia University Press*, **1929**
11. **Smith MG, Lennette EH, Reames HR**: Isolation of the virus of herpes simplex and the demonstration of intranuclear inclusions in a case of acute encephalitis. *Am J Pathol* **1941**; 17:55-68.
12. **Zarafonitis CJD, Smodel MC, Adams JW, et al**: Fatal herpes simplex encephalitis in man. *Am J Pathol* **1944**; 20:429-445.
13. **Nahmias AJ, Dowdle WR**: Antigenic and biologic differences in herpesvirus hominis. *Prog Med Virol* **1968**; 10:110-159.
14. **Whitley RJ, Soong S-J, Linneman C Jr, et al**: Herpes simplex encephalitis: clinical assessment. *JAMA* **1982**; 247:317-320.
15. **Roizman B.** The structure and isomerization of herpes simplex virus genomes. *Cell.* **1979**;16:481.
16. **Roizman, B., and A. E. Sears.** Herpes simplex viruses and their replication, In B. N. Fields, D. M. Knipe, and P. M. Howley (ed.), *Fields virology*. Lippincott-Raven, Philadelphia, Pa. **2001**; 72:2399-2459.

17. **Zhou, Z. H., S. J. Macnab, J. Jakana, et al.** 1998. Identification of the sites of interaction between the scaffold and outer shell in herpes simplex virus-1 capsids by difference electron imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**; 95:2778–2783.
18. **Zhou ZH, Chen DH, Jakana J, Rixon FJ, Chiu W:** Visualization of tegument-capsid interactions and DNA in intact herpes simplex virus type I virions. *J Virol* **1999**; 73:3210-3218.
19. **Spivack JG, Fraser NW:** Expression of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) latency-associated transcripts and transcripts affected by the deletion in avirulent mutant HFEM: evidence for a new class of HSV-1 genes. *J Virol* **1988**; 62:3281-3287.
20. **Thompson RL, Sawtell NM:** The herpes simplex virus type 1 latency-associated transcript gene regulates the establishment of latency. *J Virol* **1997**; 71:5432-5440.
21. **Craig A. S., Bilyana P., Peter X., John P.C. ve James R. S.** Herpes Simplex Virus VP16 Forms a Complex with the Virion Host Shutoff Protein vhs. *Journal of Virology* **1994**; p. 2339-2346
22. **Dolan A, Jamieson FE, Cunningham C, et al.** The genome sequence of herpes simplex virus type 2. *J Virol.* **1998**; 72:2010.
23. **Wadsworth S, Jacob RJ, Roizman B:** Anatomy of herpes simplex virus DNA. II. Size, composition and arrangement of inverted terminal repetitions. *J Virol* **1975**; 15:1487-1497
24. **McGeoch DJ, Dalrymple MA, Davison AJ, Dolan A, Frame MC, McNab D, Perry LJ, Scott JE, Taylor P:** The complete DNA sequence of the long unique region in the genome of herpes simplex virus type 1. *J Gen Virol* **1988**, 69:1531-1574.
25. **Rajcani J, Andrea V, Ingeborg R:** Peculiarities of herpes simplex virus (HSV) transcription: an overview. *Virus Genes* **2004**, 28:293-310.
26. **Shukla D, Spear PG:** Herpesviruses and heparan sulfate: an intimate relationship in aid of viral entry. *J Clin Invest* **2001**; 108:503-510.
27. **Montgomery RI, Warner MS, Lum BJ, Spear PG:** Herpes simplex virus-1 entry into cells mediated by a novel member of the TNF/NGF receptor family. *Cell* **1996**, 87:427-436.
28. **Spear PG, Longnecker R:** Herpesvirus entry: an update. *J Virol* **2003**, 77:10179-10185.
29. **Gerber SI, Belval BJ, Herold BC:** Differences in the role of glycoprotein C of HSV-1 and HSV-2 in viral binding may contribute to serotype differences in cell tropism. *Virol* **1995**, 214:29-39.
30. **Nicola AV, Straus SE:** Cellular and viral requirements for rapid endocytic entry of herpes simplex virus. *J Virol* **2004**, 78:7508-7517.
31. **Sodeik B, Ebersold MW, Helenius A:** Microtubule-mediated transport of incoming herpes simplex virus 1 capsids to the nucleus. *J Cell Biol* **1997**; 136:1007-1021.
32. **Ojala PM, Sodeik B, Ebersold MW, Kutay U, Helenius A:** Herpes simplex virus type 1 entry into host cells: reconstitution of capsid binding and uncoating at the nuclear pore complex in vitro. *Mol Cell Biol* **2000**, 20:4922-4931.
33. **Whitley RJ:** Herpes simplex viruses. In *Fields Virology Volume 73*. Fourth edition. Edited by: Knipe DM and Howley PM. Lippincott Williams & Wilkins; **2001**; 2461-2509.
34. **Whitley RJ, Roizman B.** Herpes simplex virus infections. *Lancet* **2001**; 357:1513-8.

35. **Brooks GF, Butel JS, Ornston LN, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA.** Herpesviruses. In: Medical Microbiology. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg E (eds). 21th edition. Appleton&Lange, Connecticut, **1998**; p:385.
36. **Stevens JG, Cook ML.** Latent herpes simplex virus in spinal ganglia of mice. *Science* **1971**; 173:843-5.
37. **Baringer JR, Pisani P.** Herpes simplex virus genomes in human nervous system tissue analyzed by polymerase chain reaction. *Ann Neurol* **1994**; 36:823–829.
38. **Lautenschlager S, Echmann A.** The heterogenous clinical spectrum of genital herpes. *Dermatology* **2001**; 202:211-9.
39. **Mandel, Bennett & Dolin:** Principles and Practise of Infectious Disease 6th. **2005**; P:1762-1778.
40. **Pass RF, Whitley RJ, Whelchel JD, et al.** Identification of patients with increased risk of infection with herpes simplex virus after renal transplantation. *J Infect Dis.* **1979**; 140:487.
41. **Richard J. Whitley, MD, and David W. Kimberlin, MD** Herpes Simplex: Encephalitis Children and Adolescents: *Semin Pediatr Infect Dis* **2005**; 16:17-23.
42. **Dinn JJ.** Transolfactory spread of virus in herpes simplex encephalitis. *Br Med J* **1980**; 281:1392.
43. **Schlitt M, Lakeman FD, Wilson ER, et al:** A rabbit model of focal herpes simplex encephalitis. *J Infect Dis* **1986**; 153:732-735.
44. **Stroop WG, Schaefer DC:** Production of encephalitis restricted to the temporal lobes by experimental reactivation of herpes simplex virus. *J Infect Dis* **1986**; 153:721-731.
45. **De Stasio, P.R. and M.W. Taylor.** Specific effect of interferon on the herpes simplex virus type 1 transactivation event. *J. Virol.* **1990**; 64:2588–2593
46. **Kadowaki, N., S. Antonenko, J.Y. Lau, Y.J. Liu..** Natural interferon alpha/beta-producing cells link innate and adaptive immunity. *J. Exp. Med.* **2000**; 192:219–226.
47. **Le Bon, A., D.F. Tough.** Links between innate and adaptive immunity via type I interferon. *Curr. Opin. Immunol.* **2002**; 14:432–436.
48. **Medzhitov, R., C.A. Janeway, Jr.** Innate immune induction of the adaptive immune response. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **1999**; 64:429–435.
49. **Pereira RA, Scalzo A, Simmons A,** Cutting edge: aNK complex-linked locus governs acute versus latent herpes simplex virus infections of neurons. *J Immunol* **2001**; 166:5869-5873
50. **Polara G., David R. Katz, Benjamin M. Chain:** The host immun response to herpes simplex virus infections: *Current Opinion in Infect Dis* **2004**; 17:199-203.
51. **Lopez, C., A.M. Arvin, and R. Ashley.** 1993. Immunity to herpesvirus infections in humans. Pp. 397–425. In: B.Roizman, R.J. Whitley, and C. Lopez, (eds.): The human herpesviruses, Raven Press, New York
52. **Stumbles P.A., A.S. McWilliam, and P.G. Holt.** 1998. Dendritic cells and mucosal macrophages. Pp. 397–412. In P. Ogra, J. Mestecky, M. Lamm, W. Strober, R. McGhee, and J. Bienenstock, (eds.): Mucosal immunology, Academic Press, New York.
53. **Iyoda T, Shimoyama S, Liu K:** The CD8+ dendritic cell subset selectively endocytoses dying cells in culture and in vivo. *J Exp Med* **2002**; 195:1289-1302.

54. **Schulz O, Reis e Sousa C.** Cross-presentation of cell-associated antigens by CD8alpha+ dendritic cells is attributable to their ability to internalize dead cells. *Immunology* **2002**; 107:183-189
55. **Volstedt S, Franchini M, Hefti HP,** Flt3 ligand-treated neonatal mice have increased innate immunity against intracellular pathogens and efficiently control virus infections. *J Exp Med* **2003**; 197:575-584
56. **Koella DM, Corey L.** Recent progress in herpes simplex virus immunobiology and vaccine research. *Clin. Microbiol Rev* **2003**;16:96-113.
57. **Lund J, Sato A, Akira S.** Toll-like reseptor 9-mediated recognition of herpes simplex virus-2 by plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med* **2003**; 198:513-520.
58. **Polara G, Speidel K, Samady L:** Herpes simplex virus infections of dendritic cells: balance among activation, inhibition and immunity. *J Infect Dis* **2003**; 187:165-178.
59. **Milligan, G.N., and D.I. Bernstein.** Analysis of herpes simplex virus-specific T cells in the murine female genital tract following infection with herpes simplex virus type 2. *Virology* **1995**; 212:481-489.
60. **Murphy, B.R. 1998.** Mucosal immunity to viruses. Pp. 695-707. In P. Ogra, J. Mestecky, M. Lamm, W. Strober, J.R. McGhee, and J. Bienenstock, (eds.): Mucosal immunology. Academic Press, New York.
61. **Dasheshia, M., L.T. Feldman, and B.T. Rouse.** Herpes simplex virus latency and the immune response. *Curr. Opin. Microbiol.* **1998**; 1:430-435.
62. **Hashido, M. and T. Kawana.** Herpes simplex virus-specific IgM, IgA and IgG subclass antibody responses in primary and nonprimary genital herpes patients. *Microbiol. Immunol.* **1997**; 41:415-420.
63. **Posavad, C.M., D.M. Koelle, and L. Corey.** Tipping the scales of herpes simplex virus reactivation: The important responses are local. *Nat. Med.* **1998**; 4:381-382.
64. **Krause, P.R., and S.E. Straus.** Herpesvirus vaccines. Development, controversies and applications. *Infect. Dis. Clin. North Am.* **1999**; 13:61-81.
65. **Khanna KM, Bonneau RH, Kinchington PR, Hendricks RL.** Herpes simplex virus-specific memory CD8+ T cells are selectively activated and retained in latently infected sensory ganglia. *Immunity* **2003**;18: 593-603
66. **Theil D, Derfuss T, Paripovic I:** Latent herpesvirus infection in human trigeminal ganglia causes chronic immune responce. *Am J Pathol* **2003**; 163:2179-2184
67. **Schacker T, Zeh J, Hu HL.** Frequency of symptomatic and asymptomatic herpes simplex virus type 2 reactivations among human immunodeficiency virus-infected men. *J Infect Dis* **1998**; 178:1616-1622
68. **Huber MA.** Herpes simplex type-1 virus infection. *Quintessence Int* 2003;34:453-67.
69. **Nadelman CM, Newcomer VD.** Herpes simplex virus infections. *Postgrad Med* **2000**;107:189-200.
70. **Esmann J.** The many challenges of facial herpes simplex virus infection. *J Antimicrobiol Chem* **2001**;47:17-27.
71. **Straus S, Rooney J, Sever J, Seildin M, Nusinoff-Lehrman S, Cremer K.** Herpes simplex virus infection: biology, treatment and prevention. *Ann Intern Med* **1985**; 103:404-19.

72. **Steben M.** Genital herpes simplex virus infection. *Clin Obstet Gynecol* **2005**; 48:838-44.
73. **Beauman JG.** Genital herpes: a review. *Am Fam Physician* **2005**;72:1527-34.
74. **Benedetti J, Corey L, Ashley R.** Recurrence rates in genital herpes after symptomatic first-episode infection. *Ann Intern Med* **1994**;121:847-54.
75. **Lafferty W.** The challenging epidemiology of HSV-1 and HSV-2 and implications for serological testing. *Herpes* **2002**; 9:51-5.
76. **David W. Kimberlin, MD.** Herpes Simplex Virus Infections in Neonates and Early Childhood. *Semin Pediatr Infect Dis* **2005**; 16:271-281
77. **Marcus B, Lipozencic J, Mafz H, Orion E, Wolf R.** Herpes simplex: autoinoculation versus dissemination. *Acta Dermatovenerol Croat* **2005**; 13:237-41
78. **Dworkin MS, Shoemaker PC, Spitters C, Cent A, Hobson AC, Vieira J, et al.** Endemic spread of herpes simplex virus type1 among adolescent wrestlers and their coaches. *Pediatr Infect Dis J* **1999**; 18:1108-9.
79. **Feder H, Long S.** Herpetic whitlow. Epidemiology, clinical characteristics, diagnosis, and treatment. *Am J Dis Child* **1983**; 137:861-3.
80. **Sudesh S, Laibson P.** The impact of the herpetic eye disease studies on the management of herpes simplex virus ocular infections. *Curr Opin Ophthalmol* **1999**;10:230-3.
81. **Hass, M.** Hepatoadrenal necrosis with intranuclear inclusion bodies: report of a case. *Am. J. Pathol.* **1935**; 11:127
82. **Batignani, A.** Conjunctivite da virus erpetico in neonato. *Boll. Ocul.* **1934**; 13:1217.
83. **Whitley, R. J.** 1990. Herpes simplex virus infections, p. 282–305. In J. S. Remington and J. O. Klein (ed.), *Infectious diseases of the fetus and newborn infants*, 3rd ed. The W. B. Saunders Co., Philadelphia, Pa.
84. **Kulhanjian, J. A., V. Soroush, D. S. Au, R. N. Bronzan, L. L. Yasukawa, L. E. Weylman, A. M. Arvin, and C. G. Prober.** Identification of women at unsuspected risk of primary infection with herpes simplex virus type 2 during pregnancy. *N. Engl. J. Med.* **1992**; 326:916–920.
85. **Brown, Z. A., S. Selke, J. Zeh, J. Kopelman, A. Maslow, R. L. Ashley, D. H. Watts, S. Berry, M. Herd, and L. Corey.** The acquisition of herpes simplex virus during pregnancy. *N. Engl. J. Med.* **1997**; 337:509–515.
86. **Wald, A., L. Corey, R. Cone, A. Hobson, G. Davis, and J. Zeh.** 1997. Frequent genital herpes simplex virus 2 shedding in immunocompetent women. Effect of acyclovir treatment. *J. Clin. Investig.* **1997**; 99:1092–1097.
87. **Brown, Z. A., A. Wald, R. A. Morrow, S. Selke, J. Zeh, and L. Corey.** 2003. Effect of serologic status and cesarean delivery on transmission rates of herpes simplex virus from mother to infant. *JAMA* **2003**; 289:203–209.
88. **Nahmias, A. J., W. E. Josey, Z. M. Naib, M. G. Freeman, R. J. Fernandez, and J. H. Wheeler.** 1971. Perinatal risk associated with maternal genital herpes simplex virus infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1971**; 110:825–837.
89. **S.L. Sacks , P.D. Griffiths , L. Corey , C. Cohend, A. Cunninghame, G.M. Dusheiko S. Self S. Spruance , L.R. Stanberry , A. Waldi, R.J. Whitley** HSV shedding. *Antiviral Research* **63S1** **2004**; S19–S26.

90. **Nahmias, A. J., H. L. Keyserling, and G. M. Kerrick.** 1983. Herpes simplex, P:636–678. *In* J. S. Remington and J. O. Klein (ed.), *Infectious diseases of the fetus and newborn infants*, 2nd ed. The W. B. Saunders Co., Philadelphia, Pa.
91. **Kimberlin DW, Lin CY, Jacobs RF, et al:** Natural history of neonatal herpes simplex virus infections in the acyclovir era. *Pediatrics* **2001**; 108:223-229.
92. **Baldwin, S., and R. J. Whitley.** Intrauterine herpes simplex virus infection. *Teratology* **1989**; 39:1–10.
93. **Karesh, J. W., S. Kapur, and M. MacDonald.** Herpes simplex virus and congenital malformations. *South. Med. J.* **1983**; 76:1561–1563.
94. **Whitley, R. J., L. Corey, A. Arvin, F. D. Lakeman, C. V. Sumaya, P. F. Wright, L. M. Dunkle, R. W. Steele, S. J. Soong, and A. J. Nahmias.** Changing presentation of herpes simplex virus infection in neonates. *J. Infect. Dis.* **1988**; 158:109–116
95. **Kimberlin, D. W., C. Y. Lin, R. F. Jacobs, D. A. Powell, L. M. Frenkel, W. C. Gruber, M. Rathore, J. S. Bradley, P. S. Diaz, M. Kumar, A. M. Arvin, K. Gutierrez, M. Shelton, L. B. Weiner, J. W. Sleasman, T. M. de Sierra, S. J. Soong, J. Kiell, F. D. Lakeman, R. J. Whitley, and The National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group.** Natural history of neonatal herpes simplex virus infections in the acyclovir era. *Pediatrics* **2001**; 108:223–229.
96. **Whitley, R. J., A. J. Nahmias, S. J. Soong, G. G. Galasso, C. L. Fleming, and C. A. Alford.** Vidarabine therapy of neonatal herpes simplex virus infection. *Pediatrics* **1980**; 66:495–501
97. **Kenneth L Tyler,** HSV Infections of the CNS: Encephalitis and Meningitis, Including Mollaret's • *HERPES 11 Supplement 2* 2004
98. **Aurelius E, Johansson B, Skoldenberg B, Forsgren M.** Encephalitis in immunocompetent patients due to herpes simplex virus type 1 or 2 as determined by type-specific polymerase chain reaction and antibody assays of cerebrospinal fluid. *J Med Virol* **1993**; 39:179–186.
99. **Schiff D, Rosenblum MK.** Herpes simplex encephalitis (HSE) and the immunocompromised: A clinical and autopsy study of HSE in the settings of cancer and human immunodeficiency virus-type 1 infection. *Hum Pathol* **1998**; 29:215–222.
100. **Dinn JJ.** Transolfactory spread of virus in herpes simplex encephalitis. *Br Med J* **1980**; 281:1392.
101. **Whitley RJ, Alford CA Jr, Hirsch MS, et al:** Vidarabine versus acyclovir therapy in herpes simplex encephalitis. *N Engl J Med* **1986**; 314:144-149.
102. **Boos J, Kim JH:** Biopsy histopathology in herpes simplex encephalitis and in encephalitis of undefined etiology. *Yale J Biol Med* **1984**; 57:751-755.
103. **Tedder, D. G., R. Ashley, K. L. Tyler, and M. J. Levin.** Herpes simplex virus infection as a cause of benign recurrent lymphocytic meningitis. *Ann. Intern. Med.* **1994**; 121:334–338.
104. **Kim C, Yoon YH:** Unilateral acute retinal necrosis occurring 2 years after herpes simplex type 1 encephalitis. *Ophthalmic Surg Lasers.* **2002**; 33:250-252,
105. **Xavier De Tie`gea, Corinne De Laetb, Nathalie Mazoinb, Catherine Christophec, Leena D. Mewasinghd, Catherine Wetzburgera, Bernard Dand** Postinfectious immune-mediated encephalitis after pediatric herpes simplex encephalitis *Brain & Development* **2005**; 27:304–307

106. **Nahmias AJ, Lee FK, Beckman-Nahmias S:** Sero-epidemiological and-sociological patterns of herpes simplex virus infection in the world. *Scand J Infect Dis Suppl* **1990**; 69:19-36.
107. **Johnson RE, Nahmias AJ, Magder LS, et al:** A seroepidemiologic survey of the prevalence of herpes simplex virus type 2 infection in the United States. *N Engl J Med* **1989**; 321:7-12.
108. **Whitley RJ.** Herpes simplex virus. In: Scheld WM, Whitley RJ, Durack DT (eds). *Infections of the Central Nervous System*, 2nd edn. Philadelphia: Lippincott-Raven, **1997**; pp:73–89.
109. **Skoldenberg B, Forsgren M, Alestig K, Bergstrom T, Burman L, Dahlqvist E et al.** Acyclovir versus vidarabine in herpes simplex encephalitis. Randomised multicentre study in consecutive Swedish patients. *Lancet* **1984**; 2:707–711
110. **Koskiniemi M, Piiparinen H, Mannonen L, Rantalaiho T, Vaheri A.** Herpes encephalitis is a disease of middle aged and elderly people: polymerase chain reaction for detection of herpes simplex virus in the CSF of 516 patients with encephalitis.The Study Group. *J NeurolNeurosurg Psychiatry* **1996**; 60:174–178.
111. **Nahmias AJ, Whitley RJ, Visintine AN, Takei Y, Alford CA.** Herpes simplex virus encephalitis: laboratory evaluations and their diagnostic significance. *J Infect Dis* **1982**; 145:829–836.
112. **Skoldenberg B, Forsgren M.** Encephalitis in immunocompetent patients due to herpes simplex virus type 1 or 2 as determined by type-specific polymerase chain reaction and antibody assays of cerebrospinal fluid. *J Med Virol* **1993**; 39:179–186.
113. **Mommeja-Marin H, Lafaurie M, Scieux C, Galicier L, Oksendler E, Molina JM.** Herpes simplex virus type 2 as a cause of severe meningitis in immunocompromised adults. *Clin Infect Dis* **2003**; 37: 1527–1533.
114. **Johnson, R. E., A. J. Nahmias, L. S. Magder, F. K. Lee, C. A. Brooks, and C. B. Snowden.** A seroepidemiologic survey of the prevalence of herpes simplex virus type 2 infection in the United States. *N. Engl. J. Med.* **1989**; 321:7–12.
115. **Whitley, R. J.** 1990. Herpes simplex virus infections, p. 282–305. In J. S. Remington and J. O. Klein (ed.), *Infectious diseases of the fetus and newborn infants*, 3rd ed. The W. B. Saunders Co., Philadelphia, Pa.
116. **Brown, Z. A., S. Selke, J. Zeh, J. Kopelman, A. Maslow, R. L. Ashley, D. H. Watts, S. Berry, M. Herd, and L. Corey.** 1997. The acquisition of herpes simplex virus during pregnancy. *N. Engl. J. Med.* **1997**; 337:509–515.
117. **Arvin, A. M., P. A. Hensleigh, C. G. Prober, D. S. Au, L. L. Yasukawa, A. E. Wittek, P. E. Palumbo, S. G. Paryani, and A. S. Yeager.** Failure of antepartum maternal cultures to predict the infant's risk of exposure to herpes simplex virus at delivery. *N. Engl. J. Med.* **1986**; 315:796–800.
118. **American Academy of Pediatrics:** Herpes simplex, in Pickering LK (ed): 2003 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases (ed 26). Elk Grove Village, IL, *American Academy of Pediatrics*, **2003**; pp 344-353
119. **Whitley RJ, Soong SJ, Dolin R, et al.** Adenine arabinoside therapy of biopsy-proven herpes simplex encephalitis: National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study. *N Engl J Med* **1977**; 297:289–94.
120. **Huber MA.** Herpes simplex type-1 virus infection. *Quintessence Int* **2003**; 34:453-67.

121. **Prince HE, Ernst CE, Hogrefe WR:** Evaluation of an enzyme immunoassay system for measuring herpes simplex virus (HSV) type 1-specific and HSV type 2-specific IgG antibodies. *J Clin Lab Anal* **2000**; 14:13-16.
122. **Michael K. Lindsay, MD, MPH .**HSV neutralizing antibodies further refinement in preventing neonatal Herpes infection American Journal of Obstetrics and Gynecology **2006**; 195: 4–6.
123. **Tebas, P., R. F. Nease, and G. A. Storch.** Use of polymerase chain reaction in the diagnosis of herpes simplex encephalitis: a decision analysis model. *Am. J. Med.* **1998**; 105:287–295.
124. **DeBiasi RL, Tyler KL.** Polymerase chain reaction in the diagnosis and management of central nervous system infections. *Arch Neurol* **1999**; 56:1215–1219.
125. **Kimberlin DW, Lakeman FD, Arvin AM, et al:** Application of the polymerase chain reaction to the diagnosis and management of neonatal herpes simplex virus disease. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group. *J Infect Dis* **1996**; 174:1162-1167.
126. **Weber T, Frye S, Bodemer M, Otto M, Luke W.** Clinical implications of nucleic acid amplification methods for the diagnosis of viral infections of the nervous system. *J Neurovirol* **1996**; 2:175–190.
127. **Lakeman FD, Whitley RJ:** Diagnosis of herpes simplex encephalitis: application of polymerase chain reaction to cerebrospinal fluid from brain-biopsied patients and correlation with disease. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group. *J Infect Dis.* 171:857-863.
128. **Tang YW, Mitchell PS, Espy MJ, Smith TF, Persing DH.** Molecular diagnosis of herpes simplex virus infections in the central nervous system. *J Clin Microbiol* **1999**; 37:2127–2136.
129. **Guy Boivin.** Diagnosis of Herpesvirus Infections of the Central Nervous System Diagnosis of Herpesvirus Infections of the CNS • *HERPES 11 Supplement 2, 2004*
130. **Bouquillon C, Dewilde A, Androletti L, Lambert V, Chieux V, Gerard Y et al.** Simultaneous detection of 6 human herpesviruses in cerebrospinal fluid and aqueous fluid by a single PCR using stair primers. *J Med Virol* **2000**; 62:349–353.
131. **Lakeman FD, Whitley RJ.** Diagnosis of herpes simplex encephalitis: application of polymerase chain reaction to cerebrospinal fluid from brain-biopsied patients and correlation with disease. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group. *J Infect Dis* **1995**; 171: 857–863.
132. **Casas, I., L. Powell, P. E. Klapper, and G. M. Cleator.** New method for the extraction of viral RNA and DNA from cerebrospinal fluid for use in the polymerase chain reaction assay. *J. Virol. Methods* **1995**; 53:25–36.
133. **Persing, D. H.** Polymerase chain reaction: trenches to benches. *J. Clin. Microbiol.* **1991**; 29:1281–1285.
134. **Cimino, G. D., K. Metchette, S. T. Isaacs, and Y. S. Zhu.** More false-positive problems. *Nature* **1990**; 345:773–774. (Letter and comment.)
135. **Mitchell, P. S., M. J. Espy, T. F. Smith, D. R. Toal, P. N. Rys, E. F. Barbari, D. R. Osmon, and D. H. Persing.** Laboratory diagnosis of central nervous system infections with herpes simplex virus by PCR performed with cerebrospinal fluid specimens. *J. Clin. Microbiol.* **1997**; 35:2873–2877.

136. **Revello, M. G., F. Baldanti, A. Sarasini, D. Zella, M. Zavattoni, and G. Gerna.** Quantitation of herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid of patients with herpes simplex encephalitis by the polymerase chain reaction. *Clin. Diagn. Virol.* **1997**; 7:183–191.
137. **Ando, Y., H. Kimura, H. Miwata, T. Kudo, M. Shibata, and T. Morishima.** Quantitative analysis of herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid of children with herpes simplex encephalitis. *J. Med. Virol.* **1993**; 41:170–173.
138. **Puchhammer-Stöckl, E., T. Popow-Kraupp, F. X. Heinz, C. W. Mandl, and C. Kunz.** Establishment of PCR for the early diagnosis of herpes simplex encephalitis. *J. Med. Virol.* **1990**; 32:77–82.
139. **Aurelius, E., B. Johansson, B. Skölden, A. Staland, and M. Forsgren.** Rapid diagnosis of herpes simplex encephalitis by nested polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid. *Lancet* **1991**; 337:189–192.
140. **Domingues, R. B., F. D. Lakeman, M. S. Mayo, and R. J. Whitley.** Application of competitive PCR to cerebrospinal fluid samples from patients with herpes simplex encephalitis. *J. Clin. Microbiol.* **1998**; 36:2229–2234.
141. **Klapper, P. E., G. M. Cleator, C. Dennett, and A. G. Lewis.** Diagnosis of herpes encephalitis via Southern blotting of cerebrospinal fluid DNA amplified by polymerase chain reaction. *J. Med. Virol.* **1990**; 32:261–264.
142. **Tang, Y.-W., M. J. Espy, D. H. Persing, and T. F. Smith.** Molecular evidence and clinical significance of herpesvirus coinfection in the central nervous system. *J. Clin. Microbiol.* **1997**; 35:2869–2872.
143. **Chamberlain, J. S., R. A. Gibbs, J. E. Ranier, P. N. Nguyen, and C. T. Caskey.** Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic Acids Res.* **1988**; 16:11141–11156
144. **Guffond, T., A. Dewilde, P. E. Lobert, D. Caparros-Lefebvre, D. Hober, and P. Wattre.** Significance and clinical relevance of the detection of herpes simplex virus DNA by the polymerase chain reaction in cerebrospinal fluid from patients with presumed encephalitis. *Clin. Infect. Dis.* **1994**; 18:744–749.
145. **Hanley, D. F., R. T. Johnson, and R. J. Whitley.** Yes, brain biopsy should be a prerequisite for herpes simplex encephalitis treatment. *Arch. Neurol.* **1987**; 44:1289–1290.
146. **Domingues RB, Fink MC, Tsanaclis AM, de Castro CC, Cerri GG, Mayo MS et al.** Diagnosis of herpes simplex encephalitis by magnetic resonance imaging and polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid. *J Neurol Sci* **1998**; 157:148–153.
147. **Greenberg MS.** Ulcerative, vesicular, and bullous lesions. In: Greenberg MS, Glick M, editors. *Burket's oral medicine, diagnosis and treatment*. 10th ed. Hamilton, Ontario: BC Decker; **2003**; pp. 50-84.
148. **Esmann J.** The many challenges of facial herpes simplex virus infection. *J Antimicrobiol Chem* **2001**; 47:17-27.
149. **Sciubba JJ.** Recurrent herpes labialis; current treatment perspectives. *Compendium* **2002**; 23(Suppl 2):4-12.
150. **Brown TJ, McCrary M, Tying SK.** Antiviral agents: nonantiviral drugs. *J Am Acad Dermatol* **2002**; 47:581-99.

151. **Spruance SL, Rea TL, Thoming C, Tucker R, Saltzman R, Boon R.** Penciclovir cream for the treatment of herpes simplex labialis: a randomized, multicenter, double-blind, placebo controlled trial. *JAMA* **1997**; 277:1374-9.
152. **Huber MA.** Herpes simplex type-1 virus infection. *Quintessence Int* **2003**; 34:453-67.
153. **Omrod D, Scott L, Perry C.** Valcyclovir: A review of its long term utility in the management of genital herpes simplex virus and cytomegalovirus infections. *Drugs* **2000**; 598:39-63.
154. **Brady R, Bernstein D.** Treatment of herpes simplex infections. *Antiviral Res* **2004**;61:73-81.
155. **Snoeck R, Andrei G, Gerard M, Silverman A, Hedderman A, Balzarini J.** Successful treatment of progressive mucocutaneous infection due to acyclovir and foscarnet-resistant herpes simplex virus with (s)-1-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl) cytosine (HPMPC). *Clin Infect Dis* **1994**; 18:570-8.
156. **White, O. D.;** Fenner, F. J. Medicinal Virology. 3rd Ed
157. **McGuigan, C.** Antiviral Chemotherapy – Cardiff University, 3rd Year Pharmacy Notes Lecture Notes
158. **Lynch DP.** Oral viral infections. *Clin Dermatol* **2000**; 18:619-28.
159. **Steben M.** Genital herpes simplex virus infection. *Clin Obstet Gynecol.* **2005**;48:838-44.
160. **Whitley, R. J., A. J. Nahmias, S. J. Soong, G. G. Galasso, C. L. Fleming, and C. A. Alford.** Vidarabine therapy of neonatal herpes simplex virus infection. *Pediatrics* **1980**; 66:495–501.
161. **Kimberlin, D. W., C. Y. Lin, R. F. Jacobs, D. A. Powell, L. Corey, W. C. Gruber, M. Rathore, J. S. Bradley, P. S. Diaz, M. Kumar, A. M. Arvin, K. Gutierrez, M. Shelton, L. B. Weiner, J. W. Sleasman, T. M. de Sierra, S. Weller, S. J. Soong, J. Kiell, F. D. Lakeman, R. J. Whitley, and The National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group.** Safety and efficacy of high-dose intravenous acyclovir in the management of neonatal herpes simplex virus infections. *Pediatrics.* **2001**; 108:230–238.
162. **Gutierrez K, Arvin AM:** Long term antiviral suppression after treatment for neonatal herpes infection. *Pediatr Infect Dis J* **1993**; 22:371-372.
163. **Rotbart HA, Brennan PJ, Fife KH et al.** Enterovirus meningitis in adults. *Clin Infect Dis* **1998**; 27:896–8.
164. **Dagan R, Jenista JA, Menegus MA.** Association of clinical presentation, laboratory findings, and virus serotypes with the presence of meningitis in hospitalized infants with enterovirus infection. *J Pediatr* **1988**; 113:975–8.
165. **Chadwick DR, Lever AM.** The impact of new diagnostic methodologies in the management of meningitis in adults at a teaching hospital. *QJM* **2002**; 95:663–70.
166. **Huang CC, Liu CC, Chang YC et al.** Neurologic complications in children with enterovirus 71infection. *N Engl J Med* **1999**; 341:936–942.
167. **Wilfert CM, Thompson RJ Jr, Sunder TR et al.** Longitudinal assessment of children with enteroviral meningitis during the first 3 months of life. *Pediatrics* **1981**; 67:811–5.
168. **Rudge P, Webster AD, Revesz T et al.** Encephalomyelitis in primary hypogammaglobulinaemia. *Brain* **1996**; 119:1–15.

169. **Halliday E, Winkelstein J, Webster AD.** Enteroviral infections in primary immunodeficiency (PID): a survey of morbidity and mortality. *J Infect* **2003**; 46:1–8.
170. **Modlin JF, Dagan R, Berlin LE, et al:** Focal encephalitis with enterovirus infections. *Pediatrics* **1991**; 88:841-845.
171. **Johnson RP, Gluckman SJ.** Overview of viral infections of the central nervous system. UpToDate, **2003**.
172. **Solomon T.** Flavivirus encephalitis. *N Engl J Med* **2004**; 351:370–8.
173. **Jose´ R. Romero, Jason G.** Viral Meningitis and Encephalitis: Traditional and Emerging Viral Agents. *Seminars in Pediatric Infectious Disease*. **2003**; 14(2): 72-82.
174. **Johnson G., Nelson S., Petric M., Telher R:** Comprehensive PCR-Based Assay for Detection and Species Identification of Human Herpesviruses *Journal of Clinical Microbiology*, Sept. **2000**; p:3274–3279
175. **Tang, Y.-W., J. R. Hibbs, K. R. Tau, Q. Qian, H. A. Skarhus, T. F. Smith, and D. H. Persing.** Effective use of PCR for diagnosis of central nervous system infections. Submitted for publication
176. **Zimmerman RA, Bilaniuk LT, Sze MG:** Intracranial infection, in Brant-Zawadski M, Norman D (eds): *Magnetic Resonance Imaging of the Central Nervous System*. New York, Raven Press, **1987**; pp 235-257
177. **Sener RN:** Herpes simplex encephalitis: diffusion MR imaging findings. *Comput Med Imaging Graph* **2001**; 25:391-397.
178. **M. Koskiniemi á M. Korppi á K. Mustonen á H. Rantala M. Muttillainen á E. HerrgaÊrd á P. Ukkonen A. Vaheri á Study Group** Epidemiology of encephalitis in children. A prospective multicentre study. *Eur J Pediatr* **1997**; 156: 541-545
179. **S. Buxbaum M. Geers G. Gross H. H. F. Rabenau H. W. Doerr** Epidemiology of herpes simplex virus types 1 and 2 in Germany: what has changed? *Med Microbiol Immunol* **2003**; 192: 177–181
180. **Ali I. Ibrahim, Michel T. Obeid, Muhidien J. Jouma, Klaus Roemer, Nikolaus Mueller-Lantzsch, and Barbara C. Gartner.** Prevalence of Herpes Simplex Virus (Types 1 and 2), Varicella-Zoster Virus, Cytomegalovirus, and Human Herpesvirus 6 and 7 DNA in Cerebrospinal Fluid of Middle Eastern Patients with Encephalitis *Journal of Clinical Microbiology*, Aug. **2005**, p. 4172–4174
181. **A. Sauerbrei, P. Wutzler** Laboratory diagnosis of central nervous system infections caused by herpesviruses *Journal of Clinical Virology* **2002**; 25: 45–51
182. **Whitley, R. J., and J. W. Gnann.** Viral encephalitis: familiar infections and emerging pathogens. *Lancet* **2002**; 359:507–513.
183. Panayotis Markoulatos, Amalia Georgopoulou, Nikolaos Sifakas, Elias Plakokefalos, Georgina Tzanakaki, Jenny Kourea-Kremastinou. Laboratory Diagnosis of Common Herpesvirus Infections of the Central Nervous System by a Multiplex PCR Assay. *Journal of Clinical Microbiology*, Dec. **2001**; p: 4426–4432.
184. **Fatiha Najioullah, Sylvie Bosshard, Danie` le Thouvenot, Andre´ Boibieux, Bruno Menager, Franc_ois Biron, Miche` le Aymard, and Bruno Lina.** Diagnosis and Surveillance of Herpes Simplex Virus Infection of the Central Nervous System *Journal of Medical Virology* **2000**; 61:468–473.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Fatma Polat Semerci
Doğum Tarih ve Yeri	:1976 Niğde
Medeni Durumu	: Evli
Adres	:
Telefon	:
Faks	:
E.posta	: fpsemerci@yahoo.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi	: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Varsa Mezuniyet Derecesi	:İyi
Görev Yerleri	: Niğde Merkez 3 No'lu Sağlık Ocağı
Dernek Üyelikleri	:
Alınan Burslar	:
Yabancı Dil(ler)	: İngilizce, Almanca
Diğer Hususlar	: