

Çeşitli nörolojik hastalıklarda herpes simpleks virüs tip 1 pozitifliği

Herpes simplex virus type 1 positivity in various neurological diseases

Aylin ALTAY KOÇAK¹, Meryem ÇOLAK¹, Ceyla İRKEÇ², Ayşe SERDAROĞLU³, Anıl AKTAŞ-TAPISIZ⁴, Hasan TEZER⁵, Havva AVCIKÜÇÜK⁶, Işıl FİDAN¹, Seçil ÖZKAN⁷, Gülendam BOZDAYI¹

ÖZET

Amaç: Herpesvirüsler, immün yetmezliği olan ve olmayan çocuk ve yetişkinlerde görülen, önemli morbidite ve hatta mortalite ile seyredabilen çeşitli nörolojik hastalıklara yol açmaktadır. Bu virüsler ensefalit etiolojisinde önemli rol oynamakla birlikte multipl skleroz, Guillain Barre Sendromu gibi nörolojik hastalıklardaki rolleri tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda bu hastaların çok az bir kısmında virüs tespit edilebilmiştir. Fakat özellikle multipl skleroz patogeneğinde olmak üzere diğer bir çok nörolojik hastalıkta virüslerin, hastalığın tetikleyicisi olabileceği ve hastalığın ilerlemesinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızın amacı, nörolojik şikayetleri nedeniyle hastanemizin çeşitli kliniklerine başvuran hastalarda HSV-1 DNA varlığının real time PCR yöntemiyle saptanması ve pozitif bulunan hastalarda klinik tablonun gözden geçirilmesidir.

Yöntem: Çalışmamıza, Hastanemiz Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 1 Nisan 2014-31 Ocak 2016 tarihleri arasında örnekleri gönderilen 150 hasta dahil edilmiştir. Spin-kolon yöntemiyle (High Pure Viral Nucleic Acid Kit, Roche, Almanya) DNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen DNA'lar Light Cycler 2.0 (Roche, Almanya) cihazında

ABSTRACT

Objective: Herpesviruses are etiology of various neurological disorders causing morbidity and also mortality in both immunocompetent and immunocompromized children and adults. Viruses play an important role in etiology of encephalitis but their role is still unclear in neurologic diseases such as multiple sclerosis or Guillain-Barre syndrome. Studies revealed that only in few cases, viruses were isolated. But viruses are thought to have a role in triggering the diseases process or progression of the diseases in pathogenesis of neurological disorders, especially in multiple sclerosis. The aim of this study was detection of HSV-1 DNA by Real Time PCR in patients applying to our hospital with neurological symptoms and review of clinical picture in positive patients.

Methods: Totally 150 patients whose samples sent to Molecular Microbiology Laboratory between 1 April 2014- 31 January 2016 were included in this study. DNAs were extracted by spin-column method (High Pure Viral Nucleic Acid Kit, Roche, Germany). Amplification was done by Real time PCR method

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

²Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji Ana Bilim Dalı, Ankara

³Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Çocuk Nörolojisi Bilim Dalı, Ankara

⁴Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Ankara

⁵Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

⁶29 Mayıs Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara

⁷Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Ana Bilim Dalı, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Gülendam BOZDAYI

Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Beşevler Ankara - Türkiye
Tel : +90 312 202 54 76 E-posta / E-mail : gbozdai@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 22.08.2017
Kabul Tarihi / Accepted : 16.05.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.10337

Altay-Koçak A, Çolak M, İrkeç C, Serdaroğlu A, Aktaş-Tapisız A, Tezer H, Avciükük H, Fidan I, Özkan S, Bozdayı G. Çeşitli nörolojik hastalıklarda herpes simpleks virüs tip 1 pozitifliği. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(1): 23-30

Real Time polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle (LightCycler® HSV1/2 Qual Kit, Roche, Almanya) çalışılmış ve sonuçlar kalitatif olarak değerlendirilmiştir. Hastaların HSV-1 IgM ve HSV-1 IgG antikorları ELISA yöntemiyle (DIA. PRO, Milano, İtalya) çalışılmıştır.

Bulgular: Çalışmamıza dahil edilen 164 örneğin %82.9'u (136/164) beyin omurilik sıvısından (BOS), %17.1'i (28/164) kandan oluşmaktadır. Bu örneklerin real time PCR ile %4.8'i (8/164) HSV-1 DNA pozitif bulunurken, aynı anda çalışılan HSV-2 DNA ise tüm örneklerde negatif bulunmuştur. Seroloji bakılan hastaların %6.2'sinde (2/32) HSV-1 IgM pozitif bulunurken, HSV-1 IgG ise hastaların %57.9'unda (11/19) pozitif bulunmuştur. BOS ve kan örnekleri çalışılan hastalarda, HSV-1 DNA pozitifliği ile yaşları ve cinsiyetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Pozitif bulunan hastaların 3 (%50)'ü Herpes simpleks ensefaliti ile ilişkilendirilmiştir. Diğer hastaların ise multiple skleroz, Guillain Barre Sendromu, Wilson hastalığı gibi tanıları mevcuttur.

Sonuç: Güvenilir ve duyarlı bir yöntem olan real time PCR sayesinde nörolojik semptomlu hastalara kısa sürede sonuç verilebilmekte, düşük pozitiflikler yakalanmaktadır. Bu sayede tedaviye erken başlanarak sekellerin gelişmesi engellenebilmektedir. Özellikle multiple skleroz ve Guillain Barre Sendromu gibi nörolojik rahatsızlıkların da HSV-1 ile ilişkili olabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Bu nedenle, diğer nörolojik rahatsızlığı olan hastalarda da HSV-1 çalışılmasının anlamlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: HSV, multiple skleroz, Guillain Barre sendromu, Wilson hastalığı, PCR

(LightCycler®HSV1/2 QualKit, Roche, Germany) in LightCycler 2.0 (Roche, Germany) device and the results were evaluated qualitatively. HSV-1 IgM and HSV-1 IgG antibody titres of the patients were studied by ELISA (DIA. PRO, Milan, Italy).

Results: Totally 164 samples were composed of 82.9% (136/164) CSF and 17.1% (28/164) blood. HSV-1 DNA was found positive for 4.8% (8/164) of samples while all samples were negative for HSV-2 DNA. HSV-1 IgM was positive for 6.2% (2/32) and HSV-1 IgG was positive for 57.9% (11/19) of patients. There was no statistically significant difference between HSV-1 DNA positivity in blood and CSF samples of patients and their ages and gender. Three (50%) of positive patients were associated with Herpes simplex encephalitis, the other positive patients had multiple sclerosis, Wilson disease and Guillain Barre syndromes.

Conclusion: Real time PCR is a reliable and sensitive method for giving results in short time to patients with neurological symptoms and detecting low positive results. Thus early treatment prevents sequels. There are studies demonstrating the relation of HSV-1 with neurological disorders especially multiple sclerosis and Guillain Barre syndrome. Therefore, we consider that testing HSV-1 can be sensible for the patients with variable neurological disorders.

Key Words: HSV, multiple sclerosis, Guillain Barre syndrome, Wilson disease, PCR

GİRİŞ

Viral merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonları, nörolojik hastalıkların önemli nedenlerindedir ve çeşitli şiddette menenjit, ensefalit ve miyelit ile sonuçlanabilmektedir. Bu klinikle ilgili en sık tanımlanan virüsler; enterovirüsler, herpesvirüsler ve arbovirüslerdir (1). Herpes simpleks virüs (HSV), çift zincirli bir DNA'ya sahip, büyük ve zarflı virüsler olan Herpesviridae ailesindedir ve HSV enfeksiyonlarının

büyük çoğunluğu çocukluk çağına meydana gelmekte ve latent kalmaktadır. Yaşam boyu, immün sistemin baskılanması ve reaktivasyon gibi nedenlerden dolayı nöksler ile seyretmektedir. Enfeksiyon nadiren ensefalit gibi daha ciddi komplikasyonlara ilerleyebilmektedir. Gelişmiş ülkelerde HSV-1, çocuklarda ve yetişkinlerdeki sporadik ensefalitlerin tanımlanmış en yaygın sebebidir (2,3). Bazı benzer

nörolojik semptomları olan birtakım nörolojik hastalıklarda ise HSV enfeksiyonu fark edilememekte ve hastalığın klinik tablosunda HSV atlanabilmektedir. Bu gibi durumlarda hastalığın seyrindeki değişikliklerde viral etkenler de düşünülmesi ve tedavi ona göre düzenlenmelidir.

HSV ile ilişkili enfeksiyonlarda, virolojik tanı için hücre kültürü ve viral antijen ve antikorların immünolojik olarak saptanmasının yerini, günümüzde artık moleküler yöntemler almaktadır. Bu durum nükleik asit testlerinin; hızlı sonuç alınması, geniş çeşitlilikte klinik örnek kullanılabilmesi, otomasyon kapasitesi, kontaminasyon riskinin azalması ve yüksek duyarlılık ve özgüllüğünün olması gibi birçok avantajına bağlıdır (4).

Yüksek morbidite ve mortaliteye bağlı olarak, MSS enfeksiyonlarında HSV tanısını koymak ve en kısa sürede tedaviyi başlatmak çok önemlidir. Özellikle 18 yaş altı ve immün sistemi baskılanmış bireylerde reaktivasyon sonucu nöronal yayılım ile ensefalit gibi komplikasyonlara yol açması, HSV tanısının en hızlı şekilde konmasını gerektirmektedir. Çalışmamızın amacı, nörolojik şikayetleri nedeniyle hastanemizin çeşitli kliniklerine başvuran hastalarda HSV-1 DNA varlığının real time PCR yöntemiyle saptanması ve pozitif bulunan hastalarda klinik tablonun gözden geçirilmesidir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza, Hastanemiz Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 1 Nisan 2014-31 Ocak 2016 tarihleri arasında Nöroloji, Enfeksiyon Hastalıkları ve diğer kliniklerden (Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım, Baş Ağrısı Araş. ve Uygulama Merkezi, Beyin Cerrahisi, Hematoloji, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, İç Hastalıkları, Psikiyatri) başvuran 5 aylık ile 82 yaşları (kan örneği çalışılan hastalar için SD=25,25±24,56; BOS örneği çalışılan hastalar için SD=34,57±22,59) arasında 77 (%51.3)'si kadın, 73 (%48.7)'ü erkek olmak üzere toplam 150 hasta dahil edilmiştir. Bu hastalardan; 136 (%82.9) BOS, 28 (%17.1) kan olmak üzere toplam 164 örnek gönderilmiştir. Hastaların

%5.3 (8/150)'ünün kan ve BOS örnekleri birlikte yollanmıştır. Laboratuvarımıza gönderilen kan ve BOS örneklerinden, kan örnekleri 3000 devirde 5 dk santrifüj edilip serum kısmı ayrılarak, BOS örnekleri ise direkt olarak, çalışma zamanına kadar -20°C'de saklanmıştır.

Seroloji

Hastaların HSV-1 IgM ve HSV-1 IgG antikorları ELISA yöntemi ile (DIA. PRO, Milano, İtalya) çalışılarak üreticinin talimatları doğrultusunda uygulandı. Çalışmanın sonunda mikroplak, spektrofotometrede (TECAN, İsviçre) 450 nm dalga boyunda okutularak elde edilen optik dansite (OD) sonuçları değerlendirildi. Üreticinin talimatlarına göre, HSV-1 IgM testi için negatif kontrol OD < 0.200, pozitif kontrol OD > 1.000 ise testin doğru çalıştığı kabul edildi. HSV-1 IgG testi için ise, kalibratör 1 (CAL 1) < 0.150, kalibratör 2 (CAL 2) > CAL1+0.100, kalibratör 6 (CAL 6) > 1.000 ise testin doğru çalıştığı kabul edildi. HSV-1 IgM testinin eşik değeri (cut-off) negatif kontrolün optik dansitesine 0.250 eklenerek hesaplandı ve hasta sonucu 1.0'dan küçük ise negatif, 1.2'den büyük ise pozitif, 1.0-1.2 arasında ise şüpheli olarak kabul edildi. HSV-1 IgG testinin eşik değeri (cut-off) ise 5 arbU/ml'dir. Kitlerin kullanım kılavuzunda, kullanılan yöntemin çapraz reaksiyon göstermediği ve duyarlılığının ve özgüllüğünün >%98 olduğu belirtilmektedir.

Nükleik Asit İzolasyonu ve Real Time PCR Yöntemi ile amplifikasyon (DNA çoğaltılması)

Klinik örneklerden DNA izolasyonu "Spin-Kolon" yöntemi ile "High Pure Viral Nucleic Acid Kit" (Roche, Almanya) kullanılarak yapılmıştır. Viral DNA eldesi üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA'lar amplifikasyon yapılarına kadar -20°C'de saklanmıştır. Kapiller tüplerin her birine 10 µl master mix ve 10'ar µl izole edilmiş DNA örneklerinden koyularak toplam 20 µl reaksiyon hacmi elde edilmiştir. Kapiller tüpler 2000 devirde 10 sn santrifüj edilerek Light Cycler® 2.0 (Roche Applied Science, Almanya) cihazına yüklenmiştir. İzole edilen viral DNA'ların amplifikasyonu Real Time PCR yöntemi (LightCycler® HSV1/2 Qual Kit, Roche, Almanya) ile Light Cycler® 2.0 (Roche Applied Science, Almanya)

cihazında çalışılmış ve sonuçlar kalitatif olarak değerlendirilmiştir.

HSV-1 sonuçları 530, HSV-2 sonuçları 560 kanalında 'absolute quantification' analizi ile değerlendirilmiştir. Saptama limiti 200 µl BOS için %95 güven aralığında 80 kopya/ml'dir. Kitin HSV-1 ve HSV-2 analizleri arasında çapraz reaksiyon bulunmamaktadır.

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

İstatistiksel analiz olarak 'Fisher's Exact Test' yöntemi kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen 150 hastadan alınan 164 örneğin %82.9 (136/164)'u BOS, %17.1 (28/164)'i kandır. Bu örneklerin real time PCR ile %4.8 (8/164)'i

HSV1 pozitif bulunmuştur. Pozitif örneklerin %62.5 (5/8)'i BOS, %37.5 (3/8)'i kan örneğidir. Hastaların %5.3 (8/150)'ünün hem kan hem de BOS örnekleri çalışılmış ve bu hastalardan sadece birinde, her ikisi de pozitif saptanmıştır. Örneklerin %4.8 (8/164)'inde HSV-1 DNA pozitif bulunurken, aynı anda çalışılan HSV-2 DNA ise tüm örneklerde negatif bulunmuştur. Pozitif bulunan 5 BOS örneğinin ikisi aynı hastanın iki hafta ara ile gönderilmiş örnekleridir ve eş zamanlı olarak kan örneği de gönderilmiş ve pozitif bulunmuştur, dolayısıyla hastaların %4 (6/150)'ü HSV-1 DNA pozitifdir (Tablo 1).

Hastaların %21.3 (32/150)'ünün HSV-1 IgM, %12.6 (19/150)'ünün ise HSV-1 IgG sonuçları mevcuttur. Seroloji bakılan hastaların %6.2 (2/32)'sinde HSV-1 IgM pozitif bulunmuştur. HSV-1 IgG ise hastaların %57.9 (11/19)'unda pozitif bulunmuştur. PCR pozitif hastaların seroloji (IgM, IgG) sonuçları incelendiğinde; bir hastada IgM, iki hastada IgG pozitifliği görülmüştür. IgM'i pozitif olan hastanın IgG testi çalışılmamıştır. IgG'si pozitif olan hastaların ise IgM sonuçları negatiftir (Tablo 1).

Tablo 4. BOS ve serumda Real Time PCR ile HSV-1 pozitifliği ve pozitif hastaların seroloji sonuçları

	Real Time PCR Pozitif				Seroloji Pozitifliği	
	Kadın (n/Yaş) (n=4)	Erkek (n/Yaş) (n=2)	BOS (n=4)	Serum (n=2)	HSV IgM Pozitif (n=1)	HSV IgG Pozitif(n=2)
<i>Klinik</i>						
<i>Ensefalit (n=3)</i>	2/(1,4)	1/(65)	2	1	1	-
<i>Multiple Skleroz (n=1)</i>	1/(49)	-	1	-	-	-
<i>Guillain Barre Sendromu (n=1)</i>	1/(5)	-	1	-	Negatif	1
<i>Wilson Hastalığı, Karaciğer transplantasyonu (n=1)</i>	-	1/(24)	-	1	Negatif	1

BOS p=0.631, Serum p=0.596 (Fisher's Exact Test)

Çalışmamızın sonuçlarını cinsiyete göre incelediğimizde; kadın hastaların %5 (4/77)'i, erkek hastaların da %2.7 (2/73)'si pozitif bulunmuştur. Cinsiyet ile BOS ve kan örneklerindeki HSV1 DNA pozitifliği arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır (Fisher's exact test). Pozitif hastaları yaşlarına göre değerlendirdiğimizde ise %50 (3/6)'sinin 18 yaş altı, %50 (3/6)'sinin ise 18 yaş üstü olduğunu görmekteyiz. BOS ve kan örnekleri çalışılan hastalardaki HSV1 DNA pozitifliği ile yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Fisher's exact test).

Geldikleri kliniklere göre incelendiğinde ise örneklerin %65 (108/164)'i nöroloji kliniklerinden (erişkin ve çocuk), %13 (21/164)'ü çocuk sağlığı ve hastalıkları kliniklerinden, %10 (16/164)'u enfeksiyon hastalıkları kliniklerinden (erişkin ve çocuk), %8 (13/164)'i çeşitli yoğun bakım servislerinden ve kalan %4 (6/164)'ü diğer kliniklerden (Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım, Baş Ağrısı Araş. ve Uygulama Merkezi, Beyin Cerrahisi, Hematoloji, İç Hastalıkları, Psikiyatri) gönderilmiştir.

Pozitif hastaların 2 (%33.3)'si çeşitli yoğun bakım servislerinde, 3 (%50)'ü nöroloji servisinde, biri (%16.7) ise çocuk sağlığı ve hastalıkları kliniğinde tedavi almıştır. Pozitif hastaların 3 (%50)'ü *Herpes simplex* ensefaliti ile ilişkilendirilmiş, diğer hastaların multiple skleroz, Guillain Barre Sendromu ve Wilson hastalığı gibi tanıları mevcuttur.

HSV1 DNA pozitif bulunan hastaların klinik tabloları incelediğinde; herpes ensefaliti tanısı almış üç hasta bulunmaktadır. Hastaneye başvurusundan bir hafta önce kaplıcaya gitme öyküsü bulunan, baş ağrısı, emmede azalma, göz kayması, çene ve dilinde atma şikayetleri bulunan, bir yaşında kız hasta herpes ensefaliti ön tanısıyla hastanemize kabul edilmiştir. Bilinci kapalı olduğu için lomber ponksiyon yapılamayan hastanın kan örneğinde HSV PCR çalışılmış ve HSV-1 DNA pozitif olarak saptanmıştır. İkinci hasta, konuşmada peltekleşme, uyku hali ve ateş şikayetleri olan dört yaşında kız hastadır. Ensefalit ön tanısı ile hastanemize yatışı yapılmıştır.

Epstein-Barr virus (EBV) ve sitomegalovirüs (CMV) PCR sonuçları negatiftir. Üçüncü hasta ise 30 yıldır depresyon ve şizofreni tedavisi olan 65 yaşında erkek hastadır. Hastaneye başvurusundan üç gün önce halsizlik, iştahsızlık, bilinç bulanıklığı, yürüyememe ve ateş gibi şikayetleri olmuştur. Ensefalit ön tanısı ile yoğun bakım servisine yatırılmıştır.

Multiple skleroz (MS) tanısı almış olan hasta 49 yaşında kadın hastadır. Hastanın uzun yıllardır devam eden ancak son bir ayda sürekli hale gelen şiddetli baş ağrısı ve buna eşlik eden bulantı-kusma, konuşma bozukluğu şikayetleri bulunmaktadır. Hastanın CMV PCR testi negatif çıkmıştır. Hastamızdaki klinik bulgular HSV ile uyumlu bulunmuştur.

Guillain Barre sendromu (GBS) tanısı almış olan hasta beş yaşındaki çocuk hastadır. Hastaneye başvurusundan yaklaşık üç hafta önce üst solunum yolu enfeksiyonu geçirme öyküsü bulunan hasta tükürüğünü yutamama nedeniyle çocuk acil polikliniğine başvurmuştur. Hastanın sağ dudağında çekilme olması nedeniyle grade 1/2 fascial paralizi olarak değerlendirilmiştir. Elektroensefalografisinde sözel bilateral fokal bozukluk, manyetik rezonans görüntülemeye heptomeningeal tutulum saptanmış, kitle saptanmamıştır. Ancak konuşması giderek bozulmuş ve bilinci progresif olarak kötüleşmiştir. Hastanın EBV ve CMV PCR sonuçları negatif çıkmıştır.

Kan örneğinde HSV-1 DNA pozitif saptanan hasta; Wilson'a bağlı karaciğer hastalığı nedeniyle karaciğer transplantasyonu yapılmış 24 yaşında erkektir. Transplantasyon sonrası solunum yetmezliği şikayeti ile yoğun bakım servisinde izlenmesi devam ederken konvülsiyon geçirmiştir. Wilson hastalığı sebebiyle hastanın nörolojik semptomları bulunmaktadır.

TARTIŞMA

Herpesvirüslerin toplumda yaygın olarak görülmesinden dolayı erişkinlerde her zaman ölçülebilen antikor düzeyleri bulunması ve IgM pozitifliğinin primer enfeksiyon ile tekrarlayan

enfeksiyonu ayıramaması gibi sebeplerden dolayı HSV'ye özgü IgM ve IgG antikorlarını araştıran serolojik yöntemlerin duyarlılığı ve özgüllüğü düşüktür. Dolayısıyla bu testlerin tanı açısından bir yarar olmayıp daha çok epidemiyolojik araştırmalarda kullanılmaktadır (5, 6). Herpes simpleks virüs enfeksiyonu tanısında, PCR yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Real time PCR yöntemi ise daha hızlı ve duyarlı olma avantajlarına sahiptir. Real time PCR yöntemi kullanılarak BOS'ta HSV-1 ve HSV-2 DNA saptanması, HSV ensefaliti ve herpes menenjitisi tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir. HSV-1/2'nin saptanması ve ayrımı için geliştirilmiş real time PCR yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri %95'in üzerindedir (7). İnsan herpesvirüsleri, hem sağlıklı hem de immün sistemi baskılanmış kişilerde önemli morbidite ve hatta mortalite ile ilişkili çeşitli akut, subakut ve kronik nörolojik hastalıklara yol açmaktadırlar (8).

Herpes simpleks ensefaliti, eksik antiviral tedavi alan veya tedavi almayan hastalarda önemli derecede morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Tedavi alınmadığında, mortalite oranı %70'i aşmakta ve kurtulanların sadece %20'si normal beyin fonksiyonlarını tamamen geri kazanabilmektedir. Primer tanı ve asiklovir tedavisi, mortaliteyi ve iyileşenlerde de nörolojik sekel kalma riskini azaltmada temel oluşturmaktadır (9).

Akut sporadik viral ensefalitlerin en sık nedeni herpesvirüsler olup, nadir görülmekle birlikte yüksek mortalite ve morbidite oranlarına sahip olması ve kalıcı nörolojik sekel olasılığının yüksek olması açısından önemlidir (10). İran'da 2015'te yapılan bir çalışmada, Herpes simpleks ensefaliti şüpheli 791 hastanın 44 (%5.6)'ünde real time PCR yöntemiyle HSV-1 pozitifliği saptanmıştır (9). 2015'te 239 yeni doğandan alınan BOS örnekleri ile yapılan bir başka çalışmada ise %2.1 oranında HSV DNA pozitifliği saptanmıştır (11). 1999-2013 yılları arasında, BOS örneklerinde HSV-1 PCR pozitif bulunan 21 hastanın incelendiği bir çalışmada, bu hastaların %62'sinin

(13/21) ensefalit ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (12). Sili ve ark.ları ise, 17 hastanedeki son 10 yılın herpes ensefaliti tanısı almış hastalarını taramışlar ve toplam 106 hastayı incelemişlerdir. Hastaların %69'unun HSV-PCR pozitif olduğu bulunmuştur. HSV-PCR pozitif bulunan vakaların %91'inde HSV-1 tespit edilmiştir. Toplam 97 hastanın prognostik faktörleri analiz edilebilmiştir. Hastaların %8'inin kaybedildiği, %23'ünde tam iyileşme sağlandığı ve %69'unda ise sekel kaldığı gözlenmiştir (13). Çalışmamızda da tüm örneklerdeki pozitiflik oranı %4.8 olarak bulunmuştur ve genel literatür ile uyumludur. Pozitif bulunan hastaların üçü ensefalit tanısı almıştır.

MS'in etiyolojisi bilinmemektedir, ancak MSS'de otoimmün inflamatuvar bir reaksiyon olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır. Hem genetik hem de çevresel faktörler hastalığın başlamasına katkı sağlayabilmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, MS ile enfeksiyöz bir ajanın ilişkili olabileceğini öne sürmektedir (14). Ancak, herpesvirüsler ile MS gelişimi arasındaki ilişki tam olarak belirlenememiştir (8). Herpesviridae ailesi üyesi olan çoğu virüsün MS patogeneğinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Çünkü bu virüs ailesinin çoğu nörotropik olup, latensi geliştirirler ve periyodik olarak reaktivasyon gösterirler. Ayrıca demiyelinizasyonu indüklemeye kapasitesine de sahiptirler (15). Yapılan çalışmalar MSS'deki aktif viral enfeksiyonun MS'i tetikleyebileceği ve demiyelinizasyonu artırarak hastalığın ilerlemesinde etkili olabileceği hipotezini desteklemektedir (8, 16). Çalışmamızda da MS tanısı almış bir hastaya ait BOS örneğinde HSV1 DNA pozitif bulunmuştur.

GBS, istisnai bir organ-spesifik immün yanıt sonucu olduğu düşünülen akut flaksid paralizin en sık nedenidir. Ancak GBS'ye neden olan mekanizmaların anlaşılmasıyla ilgili bilgiler hala sınırlıdır. Özellikle, enfeksiyöz ajanlar GBS'nin olası tetikleyicileri olarak tartışılmaktadır. CMV, GBS ile ilişkili en yaygın viral enfeksiyondur ve CMV-spesifik IgM, GBS hastalarının %10-15'inde tanımlanmaktadır

(17). Bunun yanında; Varicella zoster virüsün neden olduğu herpes zoster enfeksiyonunu takiben ortaya çıkan, EBV reaktivasyonu ile ilişkili ve nadiren de HSV enfeksiyonunu takiben meydana gelen GBS'ler ile ilgili yayınlar da bulunmaktadır (18-22). Çalışmamızda GBS tanısı almış hastada HSV1 DNA'nın pozitif bulunması, HSV-1'in GBS'yi tetiklemiş olabileceğini düşündürmektedir.

Wilson hastalığı, bakır metabolizmasının bozukluğunun bir sonucu olarak ortaya çıkan otozomal resesif bir rahatsızlıktır. Hastalardaki metabolizma bozukluğu adenozin trifosfat 7B (ATP7B) genindeki mutasyonların sonucu olarak gelişir. Beyin tutulumunun bir sonucu olarak meydana gelen bulgular neredeyse her zaman motor sistemle sınırlıdır ve tipik olarak hareket bozukluklarını kapsamaktadır. Ana hareket bozuklukları; distoni, tremor, ataksi ve motor kontrol kaybıdır (23). Çalışmamızda Wilson'a bağlı karaciğer hastalığı bulunan bir hastanın kan örneğinde HSV-1 DNA pozitif saptanmıştır. Wilson hastalığı sebebiyle nörolojik semptomları bulunan bu hastada, hastalığın seyrindeki ufak bir değişiklikte viral etkenler de akla getirilmelidir. Bu hastada, klinik tabloyu HSV-1

enfeksiyonunun da etkilemiş olabileceğini ve klinik bulguları tetikleyebileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak HSV-1 ve 2 virüslerinin ikisi de nörotropiktir ve ensefalit ile menenjitin önemli sebepleridir (24). Herpesvirüslerin ensefalitteki rolü net olarak bilinmesine rağmen, MS ve GBS gibi nörolojik hastalıklardaki rolü tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak hastalığın tetiklenmesinde ve ilerlemesinde etkili olabilecekleri düşünüldüğünden bu virüslerin tespiti oldukça önemlidir. Wilson hastalığı ile HSV arasındaki ilişkiye ait bir kanıt bulunmamakla birlikte virüsün, hastalığı tetikleyebileceği göz ardı edilmemelidir. Aynı zamanda insan herpesvirüslerinin çeşitli ve sıklıkla spesifik olmayan semptomlara yol açtığı da düşünülürse, kesin tanının konması gereklidir. Günümüzde BOS analizi için PCR yöntemi tercih edilmektedir. Real time PCR yöntemi kullanılarak BOS örneklerinde HSV-1 ve HSV-2 DNA saptanması, HSV ensefaliti ve herpes menenjiti tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir. HSV-1/2'nin saptanması ve ayırımı için geliştirilmiş real time PCR yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri %95'in üzerindedir.

KAYNAKLAR

1. Akhvlediani T, Bautista CT, Shakarishvili R, Tsertsvadze T, Imnadze P, Tatishvili T, et al. Etiologic agents of central nervous system infections among febrile hospitalized patients in the country of Georgia. *PLoS ONE*, 2014; 9(11): e111393. DOI:10.1371/journal.pone.0111393.
2. Looker KJ, Magaret AS, May MT, Turner KME, Vickerman P, Gottlieb SL, et al. Global and regional estimates of prevalent and incident herpes simplex virus type 1 infections in 2012. *PLoS ONE*, 2015; 10(10): e0140765. DOI:10.1371/journal.pone.0140765.
3. Pinninti SG, Kimberlin DW. Preventing HSV in the newborn. *Clin Perinatol*, 2014; 41 (4): 945-55.
4. Pillet S, Verhoeven PO, Epercieux A, Bourlet T, Pozzetto B. Development and validation of a laboratory-developed multiplex real-time PCR assay on the BD max system for detection of herpes simplex virus and varicella zoster virus DNA in various clinical specimens. *J Clin Microbiol*, 2015; 53 (6): 1921-6.
5. Durmaz Çetin B, Hasman H. Herpes ensefalitleri. *Klinik Dergisi*, 2004; 17 (2): 68-71.
6. Yağmur G, Özbal Y, Gökahmetoğlu S. Herpes simpleks virus (HSV) enfeksiyonu şüphesi olan hastaların klinik örneklerinde üç farklı yöntemle HSV varlığının araştırılması. *Mikrobiyol Bul*, 2010; 44: 47-56.

7. Binnicker MJ, Espy MJ, Irish CL. Rapid and direct detection of herpes simplex virus in cerebrospinal fluid by use of a commercial real-time PCR assay. *J Clin Microbiol*, 2014; 52 (12): 4361-2.
8. Gaeta A, Verzaro S, Cristina LM, Mancini C, Nazzari C. Diagnosis of neurological herpesvirus infections: real time PCR in cerebral spinal fluid analysis. *New Microbiologica*, 2009; 32: 333-40.
9. Aliabadi N, Jamalidoust M, Asaei S, Namayandeh M, Ziyaeyan M. Diagnosing of herpes simplex virus infections in suspected patients using real-time PCR. *Jundishapur J Microbiol*, 2015; 8 (2): e16727. DOI:10.5812/jjm.16727.
10. Kabakuş N, Aydın M., Herpes simpleks virüs tip-1'in neden olduğu sinir sisteminin farklı enfeksiyöz ve postenfeksiyöz bozuklukları: Klinik seri. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, 2005; 19 (3): 213-20.
11. Messacar K, Breazeale G, Wei Q, Robinson CC, Dominguez SR. Epidemiology and clinical characteristics of infants with human parechovirus or human herpes virus-6 detected in cerebrospinal fluid tested for enterovirus or herpes simplex virus. *J Med Virol*, 2015; 87: 829-35.
12. Moon SM, Kim T, Lee EM, Kang JK, Lee SA, Choi SH. Comparison of clinical manifestations, outcomes and cerebrospinal fluid findings between herpes simplex type 1 and type 2 central nervous system infections in adults. *J Med Virol*, 2014; 86:1766-71.
13. Sili U, Kaya A, Mert A, HSV Encephalitis Study Group. Herpes simplex virus encephalitis: Clinical manifestations, diagnosis and outcome in 106 adult patients. *J Clin Virol*, 2014; 60:112-8.
14. Mirza M. Multipl sklerozun etiyoloji ve epidemiyolojisi. *Erciyes Tıp Dergisi*, 2002; 24 (1): 40-7.
15. Martin C, Enbom M, Soderstrom M, Fredrikson S, Dahl H, Lycke L, et al. Absence of seven human herpesviruses, including HHV-6, by polymerase chain reaction in CSF and blood from patients with multiple sclerosis and optic neuritis. *Acta Neurol Scand*, 1997; 95: 280-3.
16. Ferro MT, Franciotta D, Prella A, Bestetti A, Cinque P. Active intrathecal herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and human herpesvirus-6 (HHV-6) infection at onset of multiple sclerosis. *J Neurovirol*, 2012; 18:437-40.
17. Steininger C, Popow-Kraupp T, Seiser A, Gueler N, Stanek G, Puchhammer E. Presence of cytomegalovirus in cerebrospinal fluid of patients with guillain-barre syndrome. *The Journal of Infectious Diseases*, 2004; 189: 984-9.
18. Bitan M, Or R, Shapira MY, Mador N, Resnick IB, Saleh N, et al. Early-onset guillain-barre ´ syndrome associated with reactivation of epstein-barr virus infection after nonmyeloablative stem cell transplantation. *Clin Infect Dis*, 2004; 39:1076-8.
19. Wakasugi K, Imaizumi T, Nishimura Y, Fujimoto H, Ayabe M, Shoji H, et al. Guillain-barre syndrome associated with herpes zoster. *Internal Medicine*, 2001; 40 (6): 552.
20. Kang JH, Sheu JJ, Lin HC. Increased risk of guillain-barre syndrome following recent herpes zoster: A population-based study across Taiwan. *Clin Infect Dis*. 2010; 51 (5):525-30.
21. Hart IK, Kennedy PGE. Guillain-Barre syndrome associated with herpes zoster. *Postgraduate Medical Journal*, 1987; 63: 1087-8.
22. Bernsen HJJA, Van Loon AM, Poels RFJ, Verhagen WIM, Frenken CWGM. Herpes simplex virus specific antibody determined by immunoblotting in cerebrospinal fluid of a patient with the guillain-barre syndrome. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 1989; 52:788-91.
23. Kaçar Bayram A, Gümüş H, Arslan D, Kaya Özçora G, Kumandaş S, Karacabey N, et al. Neurological features and management of wilson disease in children: an evaluation of 12 cases. *Türk Pediatri Ars*, 2016; 51: 15-21.
24. Noska A, Kyrillos R, Hansen G, Hirigoyen D, Williams DN. The role of antiviral therapy in immunocompromised patients with herpes simplex virus meningitis. *Clin Infect Dis*, 2015; 60 (2): 237-42.