



**ATİPİK MENENJİT/ENSEFALİT TANISI ALMIŞ HASTALARDA,  
ENTEROVİRÜSLER, HERPESVİRÜSLER (1, 2, 6, 7), FLAVİVİRÜSLER VE  
FLEBOVİRÜSLERİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU YÖNTEMİ İLE  
ARAŞTIRILMASI**

**Aylin ALTAY KOÇAK**

**DOKTORA TEZİ  
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAYIS 2017**

Aylin ALTAY KOÇAK tarafından hazırlanan "Atipik menenjit/ensefalit tanısı almış hastalarda, enterovirüsler, herpesvirüsler (1, 2, 6, 7), flavivirüsler ve flebovirüslerin polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile araştırılması" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. Gülendamar BOZDAYI

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

**İkinci Danışman:** Doç. Dr. Koray ERGÜNAY

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

**Başkan :** Prof. Dr. Kayhan ÇAĞLAR

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

**Üye :** Prof. Dr. Ahmet PINAR

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

**Üye :** Prof. Dr. Nedim SULTAN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

**Üye :** Prof. Dr. Ayşe KALKANCI

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

**Üye :** Prof. Dr. Aydın KARAARSLAN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Tez Savunma Tarihi: 15/05/2017

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



The image shows seven handwritten signatures in blue ink, each placed above a dotted line. The signatures are: 1. Gülendamar Bozdayı, 2. Koray Ergünay, 3. Kayhan Çağlar, 4. Ahmet Pinar, 5. Nedim Sultan, 6. Ayşe Kalkancı, and 7. Aydın Karaarslan.

## ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Aylin ALTAY KOÇAK

15.05.2017



ATİPİK MENENJİT/ENSEFALİT TANISI ALMIŞ HASTALARDA,  
ENTEROVİRÜSLER, HERPESVİRÜSLER (1, 2, 6, 7), FLAVİVİRÜSLER VE  
FLEBOVİRÜSLERİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU YÖNTEMİ İLE

ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

Aylin ALTAY KOÇAK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Mayıs 2017

ÖZET

Bu çalışmada, atipik menenjit/ensefalitli hastalarda, PZR yöntemi ile herpesvirüsler (tip 1,2,6,7), enterovirüsler (EV), flavivirüsler ve flebovirüslerin araştırılması ve epidemiyolojik veri elde edilmesi amaçlanmıştır. Ankara'da iki farklı hastanenin Çocuk Enfeksiyon Bölümü'ne Ekim 2011-Aralık 2015 tarihleri arasında nörolojik şikayetlerle başvuran, 0-18 yaş arasındaki 100 hastadan beyin omurilik sıvısı (BOS) örnekleri toplanmıştır. Nükleik asit ekstraksiyonu ve cDNA sentezi için ticari kitler kullanılmıştır. HSV1/2 gerçek zamanlı PZR (LightCycler® HSV1/2 QualKit, Roche, Almanya); enterovirüsler, flavi- ve flebovirüsler geleneksel PZR yöntemi ile araştırılmış ve ayrıca çeşitli menenjit etkenlerini saptayabilen gerçek zamanlı multipleks PZR yöntemi (MeningoFinder® 2SMART, Hollanda) kullanılmıştır. Çalışılan 100 örneğin 7'si (%7) viral etkenler (2 HSV1, 4 HHV6, 1 EV) açısından pozitif; diğer etkenler negatif bulunmuştur. HHV6 pozitif saptanan 4 hastanın 2'si 1-6 aylık, 1'i 13-36 aylık ve diğeri ise 4-6 yaş grubundadır. HHV6 pozitif hastaların 3'ü menenjit, 1'i viral ensefalit; HSV1 pozitif hastalar viral ensefalit; EV pozitif hasta ise menenjit ön tanısı almıştır. Merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarında çok sayıda virüs etken olabilmektedir ve etkeni saptanabilen olgu sayısı düşüktür. HSV1 viral ensefalit etkenleri arasında başlarda yer alsa da, HHV6 ile nadir karşılaşılmaktadır. Ayrıca HHV6'nın etken olma durumu, latent bir virüs olması nedeniyle her olguda kesin değildir. Yine de bu etkenlerin, MSS enfeksiyonlarında rolü olabileceği için, tanı algoritmalarında değerlendirilmesi gerekmektedir.

Bilim Kodu : 1039

Anahtar Kelimeler : Flavivirüs, Flebovirüs, Enterovirüs, Herpesvirüs, Beyin omurilik sıvısı, Polimeraz zincir reaksiyonu

Sayfa Adedi : 77

Danışman : Prof. Dr. Gülendaml BOZDAYI

İkinci Danışman : Doç. Dr. Koray ERGÜNAY

INVESTIGATION OF ENTEROVIRUSES, HERPESVIRUSES (1, 2, 6, 7),  
FLAVIRUSES AND PHLEBOVIRUSES IN PATIENTS WITH ATYPICAL  
MENINGITIDES/ENCEPHALITIS BY POLYMERASE CHAIN REACTION  
(Ph. D. Thesis)

Aylin ALTAY KOÇAK

GAZI UNIVERSITY  
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES  
May 2017

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the impact of enteroviruses (EV), herpesviruses (types 1,2,6,7), flaviviruses and phleboviruses in patients with atypical meningitis/encephalitis and to obtain epidemiological data. One hundred cerebrospinal fluid (CSF) specimens were collected from 100 patients (age:0-18) that presented with neurological complaints at Paediatric Infections Clinics of two hospitals in Ankara from October 2011 to December 2015. Commercial kits were used for nucleic acid extraction and cDNA synthesis. A commercial real time PCR assay (LightCycler® HSV1/2 QualKit, Roche, Germany) was employed for HSV1/2 detection; enteroviruses, flaviviruses, phleboviruses were investigated by in house PCR methods. Also a commercial real time multiplex PCR method (MeningoFinder® 2SMART, The Netherlands), which can detect various meningitis agents, was used. A total of 7 specimens (7%) were positive for viral agents (2 HSV1, 4 HHV6, 1 EV) and other agents tested were negative. Two of HHV6 positive patients were 1-6 months old, 1 was 13-36 months old and the other was 4-6 years old. HHV6 was detected in 3 patients with meningitis, in 1 patient with viral encephalitis, HSV1 was detected in 2 patients with viral encephalitis and EV positive patient had meningitis. Many viral agents can cause central nervous infections and detectable number of cases is low. Although HSV1 is the most common agent in viral encephalitis cases, HHV6 is a rare agent. Thus, these viral agents that might have a role in CNS infections, should be considered in diagnostic algorithms.

Science Code : 1039

Key Words : Flavivirus, Phlebovirus, Enterovirus, Herpesvirus, cerebrospinal fluid, polimerase chain reaction

Page Number : 77

Advisor : Prof. Dr. Gülendem BOZDAYI

Co-Advisor : Assoc. Prof. Dr. Koray ERGÜNAY

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilimsel katkıları, değerli görüş, öneri, deneyimleri ile yönlendirici ve yol gösterici olan, doktora eğitimim süresince desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve bilimsel olarak her imkânı sağlayan değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gülendârn BOZDAYI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince tez konumun seçilmesinden çalışmalarımın tamamlanmasına kadar her konuda bana yol gösteren, bilgi ve tecrübesi ile her zaman katkı sağlayan değerli tez 2. danışman hocam Sayın Doç. Dr. Koray ERGÜNAY'a çok teşekkür ederim.

Tezimde araştırılan örneklerin ve hasta verilerinin toplanmasını sağlayan Uzm. Dr. Meltem POLAT ve Prof. Dr. Hasan TEZER'e yardımları için teşekkür ederim.

Tez İzleme Komitesinde bulunan hocalarım; Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kayhan ÇAĞLAR'a ve Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Ahmet PINAR'a bilimsel katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Doktora eğitimim boyunca bilgileri ile bana yol gösteren Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyelerine emekleri için teşekkür ederim.

Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda birlikte çalıştığım, doktora eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Beni en iyi şekilde yetiştirmeye çalışarak bugünlere gelmemi sağlayan ve doktora eğitimim süresince manevi desteklerini ve varlıklarını yanımda hissettiğim canım anne ve babama, her zaman yanımda olarak bana her koşulda destek olan sevgili eşim Mehmet KOÇAK'a ve ailemin tüm üyelerine çok teşekkür ederim.

**İÇİNDEKİLER**

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
TEŞEKKÜR .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ .....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ .....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ .....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xiii
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>5</b>
2.1. Tarihçe .....	5
2.1.1. Herpesvirüsler .....	5
2.1.2. Enterovirüsler .....	5
2.1.3. Flavivirüsler .....	6
2.1.4. Flebovirüsler .....	6
2.2. Sınıflandırma .....	7
2.2.1. Herpesvirüsler .....	7
2.2.2. Enterovirüsler .....	7
2.2.3. Flavivirüsler .....	8
2.2.4. Flebovirüsler .....	9
2.3. Virion ve Genom Yapısı .....	10
2.3.1. Herpesvirüsler .....	10
2.3.2. Enterovirüsler .....	13

	<b>Sayfa</b>
2.3.3. Flavivirüsler.....	15
2.3.4. Flebovirüsler .....	16
2.4. Replikasyon. ....	17
2.4.1. Herpesvirüsler .....	17
2.4.2. Enterovirüsler .....	18
2.4.3. Flavivirüsler.....	19
2.4.4. Flebovirüsler .....	20
2.5. Viral Ensefalit ve Menenjitlerin Patogenezi. ....	21
2.6. Viral Ensefalit ve Menenjitlerin Kliniği.....	24
2.7. Viral Ensefalit ve Menenjitlerin Bulaş Yolları. ....	27
2.8. Viral Ensefalit ve Menenjitlerin Epidemiyolojisi.....	29
2.9. Viral Ensefalit ve Menenjitlerin Laboratuvar Tanısı. ....	33
2.10. Viral Ensefalit ve Menenjitlerde Tedavi ve Korunma.....	34
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>37</b>
3.1. Beyin-Omurilik Sıvısı (BOS) Örneklerinin Toplanması .....	37
3.2. BOS Örneklerinden Nükleik Asit Ekstraksiyonu .....	37
3.3. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi .....	39
3.4. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Gerçek Zamanlı PZR) Yöntemi ile HSV1/2'nin Saptanması.....	39
3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Yöntemi ile Enterovirus, Flavivirüs ve Flebovirüslerin Saptanması .....	40
3.5.1. Enterovirüs PZR.....	40
3.5.2. Flavivirüs PZR.....	42
3.5.3. Flebovirüs PZR .....	43
3.5.4. Amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi .....	45

	<b>Sayfa</b>
3.6. Multipleks PZR Yöntemi ile MSS Enfeksiyonu Etkenlerinin Belirlenmesi... ..	46
4. BULGULAR.....	51
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇ.....	63
KAYNAKLAR.....	65
EKLER.....	73
EK-1. Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Değerlendirme Formu.	74
ÖZGEÇMİŞ.....	76

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 2.1. Ensefalite yol açan flavivirüs türleri.....	9
Çizelge 2.2. Flebovirüs cinsindeki başlıca türler .....	10
Çizelge 3.1. HSV1/2 Gerçek Zamanlı PZR programı.....	40
Çizelge 3.2. Enterovirüs PZR primerleri .....	41
Çizelge 3.3. Enterovirüs PZR döngüleri .....	42
Çizelge 3.4. Pan-flavivirüs primer dizileri ve viral genomdaki yerleşimleri.....	42
Çizelge 3.5. Flavivirüs PZR döngüleri .....	43
Çizelge 3.6. Pan-flebovirüs primer dizileri ve viral genomdaki yerleşimleri .....	44
Çizelge 3.7. Flebovirüs PZR döngüleri.....	45
Çizelge 3.8. MeningoFinder® 2SMART kapsamındaki etkenler .....	47
Çizelge 3.9. Multipleks PZR ön amplifikasyon döngüleri .....	48
Çizelge 3.10. Multipleks Gerçek Zamanlı PZR programı.....	49
Çizelge 4.1. Hastaların cinsiyetlere göre dağılımı (n=100).....	51
Çizelge 4.2. Hastaların BOS biyokimyasalarına göre dağılımı .....	52
Çizelge 4.3. Pozitif bulunan viral etkenler.....	53
Çizelge 4.4. HSV1 pozitif hastaların demografik ve klinik bulguları .....	56
Çizelge 4.5. HHV6 pozitif hastaların demografik ve klinik bulguları .....	56

**ŞEKİLLERİN LİSTESİ**

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Enterovirüslerin sınıflandırılması.....	8
Şekil 2.2. Herpesvirüslerin yapısı .....	11
Şekil 2.3. Herpesvirüs genom yapılarının sınıfları .....	12
Şekil 2.4. HSV1 genom yapısı.....	12
Şekil 2.5. HHV-6 ve HHV-7 genom yapıları.....	13
Şekil 2.6. Enterovirüs virion yapısı .....	14
Şekil 2.7. Enterovirüsün genom yapısı .....	14
Şekil 2.8. Flavivirüslerin virion ve genom yapısı .....	15
Şekil 2.9. Flebovirüslerin virion yapısı .....	16
Şekil 2.10. Flebovirüslerin 3 segmentli genom yapısı.....	16
Şekil 2.11. HSV yaşam döngüsü .....	17
Şekil 2.12. Enterovirüs replikasyon döngüsü.....	19
Şekil 2.13. Flavivirüslerin replikasyonu.....	20
Şekil 2.14. Flebovirüslerin replikasyonu .....	21
Şekil 2.15. Arbovirüslerin MSS'ye giriş yolları .....	24
Şekil 2.16. Virüs tipine göre klinik durumlar .....	27
Şekil 2.17. Arbovirüslerin yaşam döngüsü.....	28
Şekil 2.18. Ensefalit etiyolojileriyle ilgili epidemiyolojik çalışmalar .....	30
Şekil 4.1. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı .....	51

**RESİMLERİN LİSTESİ**

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
Resim 4.1. HSV1 Gerçek Zamanlı PZR sonuç analizi.....	53
Resim 4.2. HHV6 Gerçek Zamanlı Multipleks PZR sonuç analizi .....	54
Resim 4.3. Enterovirüs Gerçek Zamanlı Multipleks PZR sonuç analizi .....	54
Resim 4.4. Enterovirüs PZR agaroz jel görüntüsü.....	54
Resim 4.5. Flavivirüs PZR agaroz jel görüntüsü .....	55
Resim 4.6. Flebovirüs PZR agaroz jel görüntüsü.....	55

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

### Simgeler

### Açıklamalar

dk	Dakika
dl	Desilitre
ml	Mililitre
mm <sup>3</sup>	Milimetreküp
rpm	Rounds per minute
sn	Saniye
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

### Kısaltmalar

### Açıklamalar

AME	Akut menenjit ve ensefalit
BNV	Batı Nil virüsü
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CMV	Sitomegalovirüs
DENV	Dengue virüsü
DNA	Deoksiribonükleik asit
EBV	Epstein Barr virüs
EV	Enterovirüs
HHV	Human herpes virüs
HSV	Herpes simpleks virüs
JEV	Japon ensefalit virüsü
KKEV	Kene kaynaklı ensefalit virüsü

**Kısaltmalar****Açıklamalar****MSS**

Merkezi sinir sistemi

**ORF**

Açık okuma bölgesi

**PZR**

Polimeraz zincir reaksiyonu

**RNA**

Ribonükleik asit

**RNP**

Ribonükleoprotein

**SHV**

Sarıhumma virüsü

**TOSV**

Toscana virüs

**UTR**

Translasyonu yapılamayan bölge

**VZV**

Varicella zoster virüs

**ZIKV**

Zika virüs

## 1. GİRİŞ

Akut menenjit ve ensefalit (AME); bakteriler, virüsler, mantarlar veya parazitlerin neden olduğu; nörolojik hasara ve ölüme yol açabilen, şiddetli bir merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonudur (Xie ve diğerleri, 2015). Viral ensefalit, beyin parankimasının viral enfeksiyonunun sonucu olarak, genellikle menenjit eşliğinde, dolayısıyla meningoensefalit oluşturarak meydana gelmektedir (Kennedy, 2005).

Farklı patojenik mekanizmalar aracılığıyla çeşitli nörolojik hastalıklara yol açan geniş bir yelpazedeki viral ajanların neden olduğu klinik tablo, her zaman belirgin ve kesin değildir; ancak meningoensefalit, meningomyelit veya meningoensefalomyelit özelliklerini oldukça yansıtmaktadır (Studahl ve diğerleri, 2013). Dünya genelinde bildirilen viral ensefalit olgusu miktarı, yılda yaklaşık 200 000 civarındadır. Akut menenjit ve ensefalit etiyolojisinde 100'den fazla virüs tanımlanmıştır (Xie ve diğerleri, 2015). Ancak, önemli derecede morbidite ve mortalite ile ilişkili kompleks ve şiddetli bir nörolojik sendrom olan viral ensefalitin etiyolojisi çoğunlukla tanımlanamamaktadır (Glaser ve diğerleri, 2006). Ensefalit ile ilişkili en yaygın virüsler; human herpesvirüsler, flavivirüsler, enterovirüsler ve alfavirüslerdir (Yavarian ve diğerleri, 2014).

Akut menenjit ise, acil servislerde sık karşılaşılan bir sendromdur. Hızlı bir etiyolojik tanıya ulaşmak, bakteriyel ve viral menenjiti birbirinden ayırarak antibiyotik tedavisinin erken başlanması veya viral enfeksiyonlar için gereksiz kullanımından kaçınmak için çok önemlidir (Casaroto ve diğerleri, 2013). Aseptik menenjite, çoğunlukla *Herpesviridae* ailesindeki viral ajanlar sebep olmaktadır. Merkezi sinir sistemini en çok enfekte eden herpesvirüsler, 6 aylıktan büyük çocuklar ve erişkinlerdeki akut sporadik ensefalitin yaygın nedeni olan Herpes simpleks virüs (HSV) tip 1 ve 2'dir (Akyü ve diğerleri, 2015). Herpesvirüsler arasında human herpes virüs 6 (HHV6) ise, şüpheli viral MSS enfeksiyonlu hastaların %10'unda bulunmaktadır (Yavarian ve diğerleri, 2014). İki varyantı (HHV6A, HHV6B) ile birlikte nörotropizm gösterir ve özellikle solid organ veya kemik iliği transplantasyonu yapılmış hastalarda, nörolojik hastalıkların önemli bir nedeni olarak gösterilmektedir (Gaeta, Verzaro, Cristina, Mancini ve Nazzari, 2009). Enterovirüsler ise, tüm menenjit olgularının %80-85'inden sorumludur ve bu

hastalıkla ilişkili bakteriyel ajanlarla birlikte en yaygın görülen patojenlerdendir (Casaroto ve diğerleri, 2013).

Menenjit, ensefalit, miyelit, ensefalomiyelit, nörit ve miyozit gibi nörolojik hastalıklara sık olmamakla birlikte yol açan diğer etkenler ise, arbovirüslerdir. Virüs ve immün aracılı hasar, şiddetli ve kalıcı nörolojik hasara veya ölüme ilerleyebilmektedir. Arbovirüsler; çeşitli coğrafik bölgelerde, nörolojik ve sistemik enfeksiyonlarla dünya çapında dağılım gösteren, artropod kaynaklı virüslerdir. Omurgalı konaklara, sivrisinek, kene ve kum sineği gibi artropodların kan emmesi sırasında bulaşılır (Salimi ve diğerleri, 2016). Flavivirüslerin yol açtığı hastalıklara genel olarak; Batı Nil virüsü (BNV), sarıhumma virüsü (SHV), Japon ensefalit virüsü (JEV), kene-kaynaklı ensefalit virüsü (KKEV), Dengue virüsü (DENV) ve Zika virüsü (ZIKV) neden olmaktadır (Oliveira ve diğerleri, 2017). Flavivirüs cinsi, başlıca BNV, KKEV ve JEV'nin dahil olduğu; enfekte konaklarda çoğunun MSS enfeksiyonunu indüklemeye kapasitesi olan, oldukça önemli insan patojenlerinden oluşmaktadır. *Bunyaviridae* ailesindeki *Flebovirüs* cinsi ise, çoğunlukla '*Phlebotomus*' cinsi tatarcık sinekleriyle omurgalılara taşınan, coğrafik olarak Avrupa, Orta Asya, Afrika ve Amerika'da dağılım gösteren virüsleri içermektedir. Flebovirüslerin arasında Toscana virüsü (TOSV), Akdeniz ülkelerinde yaz mevsimi boyunca meydana gelen aseptik menenjitlerde en sık görülen viral patojendir (Ergünay ve diğerleri, 2012).

Ülkemiz, çeşitli arbovirüsler için endemik olan Akdeniz çevresinde bulunmaktadır ve sivrisinek ile tatarcık kaynaklı viral enfeksiyonların, Türkiye'de dolaşımında olduğu bilinmektedir (Ergünay ve Koçak Tufan, 2014). Ancak ülkemizin endemik bir bölgede yer almasına rağmen, Flavi- ve Flebovirüsler ile ilişkili MSS enfeksiyonları nispeten sınırlıdır (Ergünay ve diğerleri, 2012).

Etkenin tanımlanması için beyin omurilik sıvısının (BOS) çeşitli yöntemlerle analizi oldukça önem taşımaktadır ve enfeksiyonun viral kaynaklı olduğunun belirlenmesi antiviral tedaviye karar verilmesi açısından gereklidir. Merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarındaki etken virüsleri tanımlamak için en sık kullanılan yöntemlerden biri polimeraz zincir reaksiyonudur (Jarrin ve diğerleri, 2016).

Ülkemizde atipik menenjit ve viral ensefalitlerin etiyolojisi; rutin tanı ile çoğunlukla belirlenmemektedir ve etkenin tanımlanması, tedavinin belirlenmesi ve

epidemiyolojik veri elde edilmesi için önemlidir. Bu doğrultuda, çalışmamızda, atipik menenjit/ensefalitli 0-18 yaş arasındaki hastalardan BOS rnekleri toplanarak, PZR yöntemi ile HSV tip 1 ve 2, HHV tip 6 ve 7, enterovirüsler, flavivirüsler ve flebovirüslerin araştırılması amaçlanmıştır.





## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tarihçe

#### 2.1.1. Herpesvirüsler

Milattan önce 3. yüzyılda Sümerlerin tabletlerinde ve M.Ö 1500'lü yıllarda Eber'lerin papirüslerinde, HSV'nin neden olduğu genital lezyonları andıran bazı tanımlamalar geçmektedir. Herpes simpleks virüs enfeksiyonları, tarihte ilk kez Antik Yunan Dönemi'nde Hipokrat'ın 'sürünme-yavaş ve derinden hareket etme' anlamına gelen 'herpes (Yunanca *-herpein*)' kelimesini kullanması ile kayıtlara geçmiştir (Durmaz Çetin ve Hasman, 2004; Rechenchoski ve diğerleri, 2017).

Goodpasture ve diğerleri, herpetik dudak ve genital lezyonların tavşanlarda kornea veya derideki bir çatlığa yerleştirildiği zaman ensefalite yol açtığını göstermişlerdir (Goodpasture, 1993). Mathewson komisyonu, 1920'lerde HSV'nin insanlarda ensefalite neden olduğunu bildiren ilk raporların arasındadır. Herpes simpleks virüs ensefalitinin ilk pediatrik olgusu 1941'de yayımlanmıştır. İlk erişkin olgu ise, 1944'te yayımlanan, baş ağrısı, ateş, afazi ve sol pupiller dilatasyon şikayetleri olan 25 yaşında bir erkek hastadır (Bradshaw ve Venkatesan, 2016).

Human herpes virüs 6A (HHV6A), 1986 yılında yeni retrovirüslerin araştırılması için yapılan T hücre kan kültürlerinden tesadüfen izole edilmiştir. Human herpes virüs 6B de, 1988'de benzer koşullarda tanımlanmıştır. Human herpes virüs 7 (HHV7) ise, genetik olarak HHV6 ile ilişkilidir ve 1990'da tanımlanmıştır (Agut, Bonnafous ve Gautheret-Dejean, 2016). Son yıllarda birçok araştırma, gelişen febril konvülsiyonlardaki viral enfeksiyonların rolünü değerlendirmek için yürütülmektedir. Viral enfeksiyonların arasında HHV6, febril konvülsiyonun olası bir nedeni olarak düşünülmekte ve prevalansı dünyanın çeşitli bölgelerinde değerlendirilmektedir (Mamishi ve diğerleri, 2014).

#### 2.1.2. Enterovirüsler

Enterovirüs ensefalit ve meningoensefalit olguları, ilk kez 1950'lerin sonlarında bildirilmiştir ve bu olgulardaki EV'ler non-polio ve -ekovirüslerden oluşmaktaydı. Enterovirüs-A71 ise, ilk kez 1969'da Kaliforniya'daki nörolojik hastalığı olan vakalardan izole edilmiş ve tanımlanmıştır ve izole edildiğinden beri, dünya

genelinde özellikle Batı Pasifik bölgesinde el-ayak-ağız hastalığı salgınları meydana getirmektedir (Jain, Patel ve Bhatt, 2014; Mao, Wang, Bian, Xu ve Liang, 2016). 'Coxsackie' virüs-A16 ile ilişkili ilk el-ayak-ağız hastalığı salgını ise, 1957'de Toronto, Kanada'da bildirilmiştir. Önceleri, enfeksiyonun sadece hafif semptomlara neden olduğu düşünülse de, bazı hastalarda aseptik menenjit ve ensefalit gelişmesine yol açtığı görülmüştür (Mao ve diğerleri, 2016).

Enterovirüs-D68 ilk kez 1962 yılında Kaliforniya'da pnömoni ve bronşiyolitli 4 çocukta tanımlanmıştır (Huang ve diğerleri, 2015). Son zamanlarda, EV-D68 yeniden ortaya çıkmış ve dünya genelinde çocuklarda önemli derecede morbidite ve mortaliteye neden olmuştur (Vollbach ve diğerleri, 2015). 'Coxsackie' virüs-B altgrubunun, miyokardit ve ensefalit gibi şiddetli hastalıklardan da sorumlu olduğu bilinmektedir. 'Coxsackie' virüs-B5, 50 yıldan uzun bir süredir tanınmaktadır ve en sık bildirilen EV serotiplerinden biridir. Dünya genelinde ve ABD, Güney Kore ve Çin gibi ülkelerde ensefalit salgınlarına yol açmıştır. (Liu ve diğerleri, 2014; Mao ve diğerleri, 2016).

### **2.1.3. Flavivirüsler**

İlk flavivirüslerin orijininin, son buzul çağından sonra dayandığı düşünülmekteydi. Ancak bu iddia, kene kaynaklı flavivirüslerin en az 16 000 yıl önce ortaya çıktığını tahmin eden son analizlerle çelişmektedir. Yani, flavivirüslerin orijininin, 10 000 yıldan daha az bir süre önce olan son buzul çağına değil; yaklaşık 85 000-120 000 yıl önce ortaya çıktığı tahmin edilmektedir. Flavivirüslerin atasının, Afrika'da vektörü olmayan bir memeli virüsü olduğu öne sürülmektedir. Çoğu üyesi, ilk atadan ayrıldıktan sonra, yaklaşık 50 000 yıl önce, günümüzdeki flavivirüslerde görülen konak-vektör ilişkilerine doğru farklılaşmaya başlamışlardır (Petersson, 2013: 60).

### **2.1.4. Flebovirüsler**

Tatarcık kaynaklı fleboviral enfeksiyonlar, askeri birliklerdeki ateşli hastalıkların önemli bir nedeni olmuştur ve Napolyon savaşları, Balkan savaşları ve Hindistan ile Pakistan'daki İngiliz kolonilerinde örnekleri görülmüştür (Alkan ve diğerleri, 2013). Tatarcık ateşi, klinik olarak ilk kez 1886 yılında hastalığın endemik formunun sık görüldüğü Balkanlar'da Alois Pick tarafından tanımlanmıştır (Pick ve

diğerleri, 1886). Toskana virüs ise ilk kez 1971'de İtalya'da *P. perniciosus*'tan izole edilmiştir. İnsan patojenitesi ve nörotropizm yapabildiği 1983'ten beri bildirilmektedir (Magurano ve diğerleri, 2014). İnsan patojenitesi ile ilgili ilk kanıtlar, Portekiz ve İtalya ziyaretleri sonrası ülkelerine dönen İsveç ve Amerikalılardaki MSS enfeksiyonlarını takiben görülmüştür. Daha sonraları, Toskana virüsün Orta İtalya'da aseptik menenjitli bir kadından izolasyonu, MSS enfeksiyonlarının başlıca nedeni olarak doğrulanmıştır (Alkan ve diğerleri, 2013).

## 2.2. Sınıflandırma

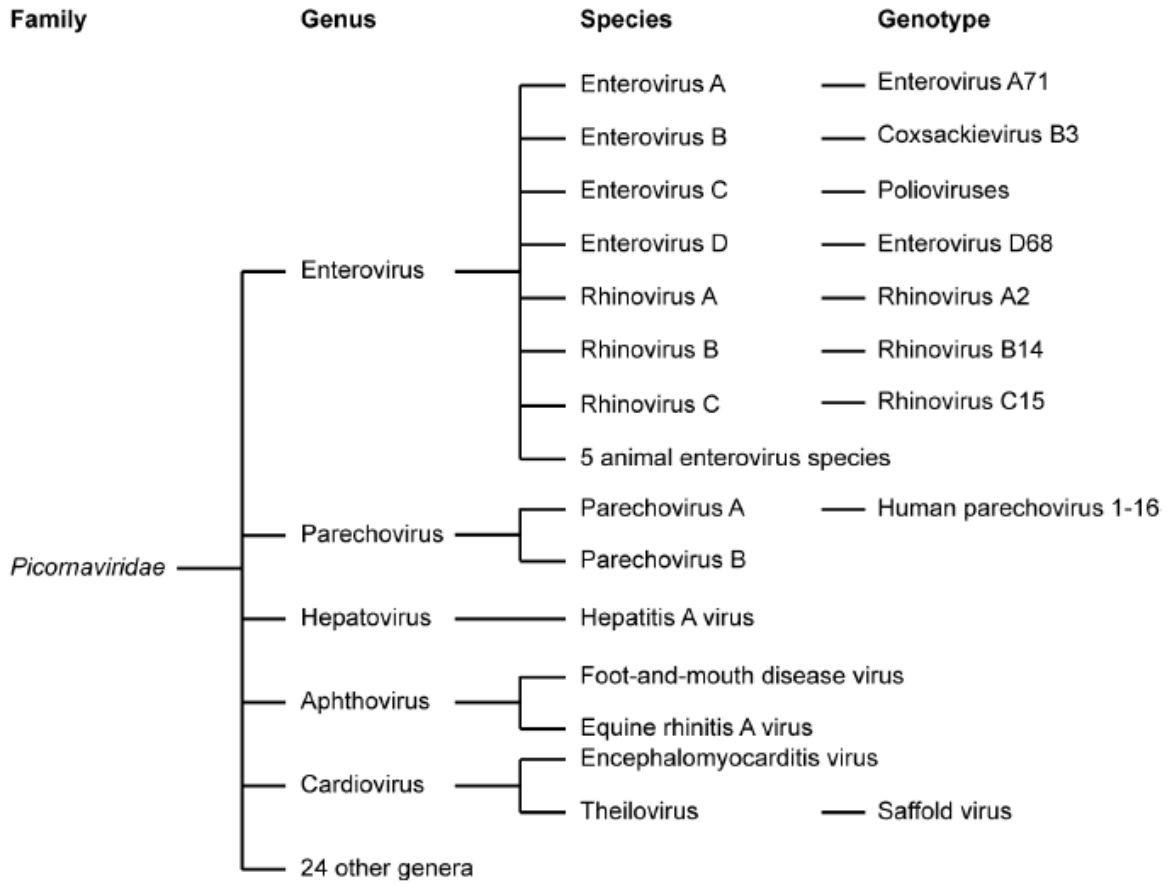
### 2.2.1. Herpesvirüsler

Herpesviridae ailesi, farklı türleri enfekte edebilen 200'den fazla üye içermektedir ve günümüzde bunların arasında 8'inin insanlarda hastalık yaptığı bilinmektedir. 'Human' herpesvirüsler; genom yapısı, doku tropizmi, sitopatolojik etkisi, latent enfeksiyonun yeri, patogenezi ve hastalığın özelliklerine dayanarak *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* ve *Gammaherpesvirinae* olmak üzere 3 alt ailede gruplanmaktadır. *Alphaherpesvirinae* alt ailesi Herpes simpleks virüs Tip 1 ve 2 ile Varicella zoster virüsü içermektedir. *Betaherpesvirinae* alt ailesinin üyeleri *Cytomegalovirus* (CMV) ve *Roseolovirus* (HHV Tip 6A, 6B ve 7) cinslerinden oluşmaktadır. *Gammaherpesvirinae* alt ailesi ise, Epstein Barr virüs (EBV) ve HHV8'i içermektedir (Rechenchoski ve diğerleri, 2017).

### 2.2.2. Enterovirüsler

Enterovirüs cinsi; '*Rhinovirus*', '*Hepatovirus*', '*Parechovirus*', '*Aphthovirus*' ve '*Cardiovirus*' cinsleri ile birlikte *Picornaviridae* ailesinde yer almaktadır. Enterovirüs cinsi, A'dan D'ye 4'ünün insanlarda enfeksiyon yaptığı toplam 12 tür içermektedir (Şekil 2.1) (van der Linden, Wolthers ve Kuppeveld, 2015). Enterovirüsler; eski taksonomisine göre Poliovirüsler, 'Coxsackie' virüs grup A, 'Coxsackie' virüs grup B, Ekovirüsler, EV tip 68-78 (72 hariç) gruplarına ayrılmaktadır. Sonradan eklenen EV tipleri (79-101) geçici olarak tanımlanmıştır. 1969'dan beri de yeni EV tipleri 'Coxsackie' virüs veya Ekovirüs olarak sınıflandırılmak yerine EV tip no'ları ile adlandırılmaktadır. Önceden EV olarak sınıflandırılan Ekovirüs 22 ve 23 olarak adlandırılan virüsler, son yıllarda insan 'parecho' virüsler olarak yeniden

sınıflandırılmıştır (Brooks, Carroll, Butel, Morse ve Mietzner, 2010, 492-493; Jain ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.1. Enterovirüslerin sınıflandırılması (van der Linden, Wolthers ve Kuppeveld, 2015)

### 2.2.3. Flavivirüsler

*Flaviviridae* ailesi *Flavivirus*, *Pestivirus* ve *Hepacivirus* cinslerinden oluşmaktadır. Flavivirüs cinsinde çoğunluğunun artropodlar (sivrisinek ve keneler) tarafından taşındığı ve yarısından çoğunun insan hastalıklarıyla ilişkili olduğu, 70'in üzerinde farklı etken bulunmaktadır (Çizelge 2.1). Tanımlanan 70 ayrı virüsün sınıflandırılması, antijenik farklılıklara bağlıdır. Nötralizasyon testleri kullanılarak, 6'sının insan patojeni olduğu, en az 8 antijenik komplekste sınıflandırılmaktadırlar (Richman, Whitley ve Hayden, 2002: 1097; Murray, Rosenthal ve Pfaller, 2013: 549).

Çizelge 2.1. Ensefalite yol açan flavivirüs türleri (Richman, Whitley ve Hayden, 2002: 1097; Murray, Rosenthal ve Pfaller, 2013: 549)

Virüs Türleri	Vektör	Konak	Yayılım	Hastalık
Japon ensefalit virüsü	Culex	Domuzlar, kuşlar	Asya	Ensefalit
Batı Nil virüsü	Culex	Kuşlar	Afrika,Avrupa,Orta Asya,Kuzey Amerika	Ateş, ensefalit, hepatit
Kene-kaynaklı ensefalit virüsü	Ixodes	Omurgalılar	Orta Avrupa, Uzak Doğu Asya	Menenjit,Ensefalit
St. Louis ensefalit virüsü	Culex	Kuşlar	Kuzey Amerika	Ensefalit
Rus ilkbahar-yaz ensefaliti virüsü	Ixodes ve Dermacentor	Kuşlar	Rusya	Ensefalit
Powassan ensefaliti virüsü	Ixodes	Küçük memeliler	Kuzey Amerika	Ensefalit

#### 2.2.4. Flebovirüsler

Flebovirüs cinsi ise serolojik, morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre; *Bunyavirus*, *Nairovirus* ve *Hantavirus* cinsleriyle birlikte *Bunyaviridae* ailesinde bulunmaktadır. Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi'nin (ICTV) en son raporuna göre, Flebovirüs cinsi 70 virüs türü içermektedir (Çizelge 2.2). Flebovirüs cinsindeki 'tatarcık ateşi' grubunda başlıca, Toskana virüs, Rift Vadisi Ateşi ve tatarcık ateşi virüsleri yer almaktadır (Elliot ve Brennan, 2014; Richman, Whitley ve Hayden, 2002: 921, 922).

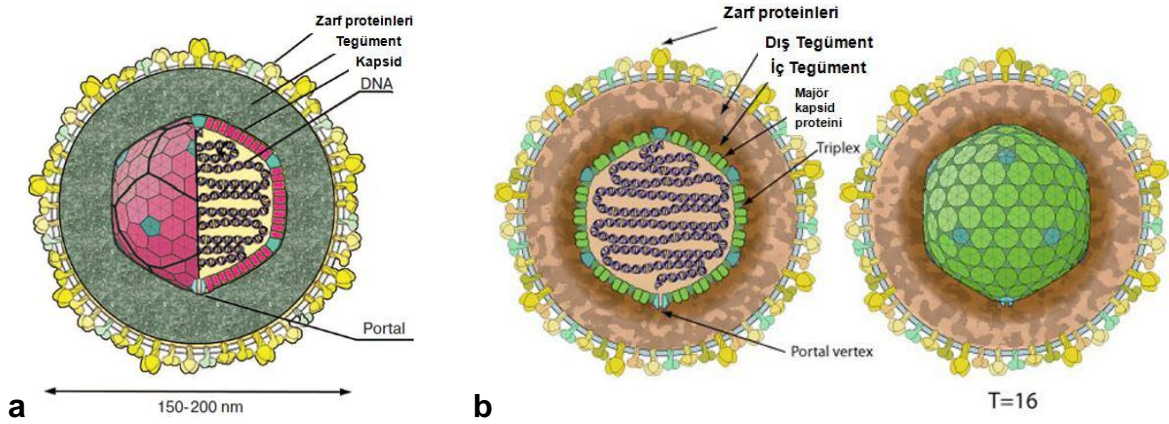
Çizelge 2.2. Flebovirüs cinsindeki başlıca türler (Richman, Whitley ve Hayden, 2002: 921, 922)

Türler	Önemli Virüsler	Coğrafik Dağılımı	Başlıca Vektör	Hastalık yaptığı canlı
Tatarcık ateşi	Tatarcık ateşi	Avrupa, Afrika,	Phlebotomus	İnsan
Napoli virüsü	Napoli virüsü	Asya		
	Tatarcık ateşi	Avrupa	Phlebotomus	İnsan
	Sicilya virüsü			
	<b>Toscana virüs</b>	<b>Avrupa</b>	<b>Phlebotomus</b>	<b>İnsan</b>
Rift Vadisi Ateşi virüsü	Rift Vadisi Ateşi virüsü	Afrika	Sivrisinekler	İnsan, sığır
Punta Toro virüs	Punta Toro virüs	Güney Amerika, Kuzey Amerika	Phlebotomus	İnsan
Salehabad virüs	Salehabad virüs	Asya	Phlebotomus	
Uukuniemi virüs	Uukuniemi virüs	Avrupa	Keneler	
Bujaru virüs	Bujaru virüs	Güney Amerika	Bilinmiyor	
Candiru virüs	Alenquer virüs	Güney Amerika	Bilinmiyor	
	Candiru virüs			

## 2.3. Virion ve Genom Yapısı

### 2.3.1. Herpesvirüsler

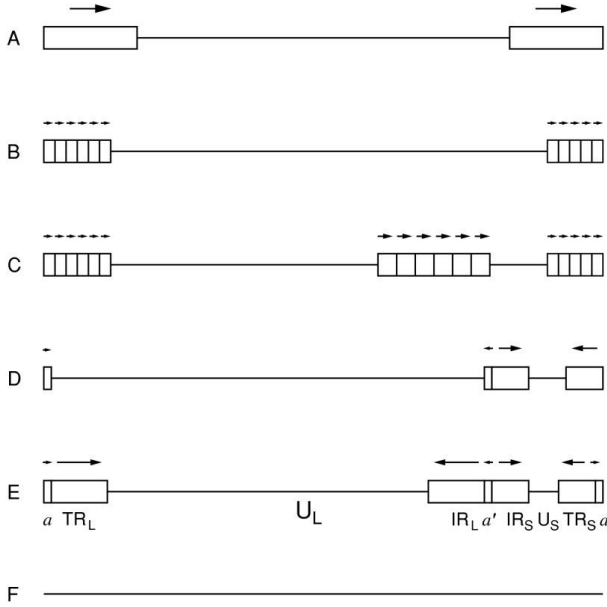
Herpesviridae ailesi ortak bir virion yapısını paylaşan virüsleri içermektedir. Viral partikül, çift zincirli bir DNA'yı saran 162 kapsomerden oluşan ikozahedral bir kapsidden oluşmaktadır. Kapsidin dışında ise; glikoprotein içeren çift tabakalı lipid bir zarf tarafından çevrelenen, tegument adı verilen yapısal olmayan protein bir matriks bulunmaktadır (Şekil 2.2) (Kukhanova ve diğerleri, 2014). Zarflı virüs 150-200 nm, çıplak virion 125 nm çapındadır (Brooks ve diğerleri, 2010, 433).



Şekil 2.2. Herpesvirüslerin Yapısı a. Herpes simpleks virüsün yapısı. b. Roseolovirüsün yapısı

Herpesvirüslerin genom yapıları A'dan F'ye 6 sınıfa ayrılmaktadır. Herpes simpleks virüs 1 ve 2, sınıf E'dedir. Sınıf E en kompleks genom yapısına sahip ve ilk tanımlanan sınıftır. HHV6 ve HHV7 ise sınıf A'da bulunmaktadır (Şekil 2.3) (Arvin ve diğerleri, 2007).

Herpesvirüsler, büyüklüğü 120-260 nm arasında değişen büyük DNA virüsleridir. Herpes simpleks virüsün genomu 90 özgün transkripsiyonel birimi kodlayan 150 kb uzunluğundadır (Zarroouk, Piret ve Boivin, 2017). Genom en az 100 farklı proteini kodlamaktadır. Bu polipeptidlerin 35'i virüs partikülünün yapısındadır ve en az 10'u viral zarfın bir parçasıdır (Brooks ve diğerleri, 2010, 433). Nükleotid kompozisyonu, virüs türüne bağlı olarak %32-75 G+C arasında değişmektedir. Herpesvirüslerin genomu, basit bir DNA yapısında değildir, karakteristik olarak direkt veya ters çevrilmiş tekrarlar içermektedir (Arvin ve diğerleri, 2007). Herpesvirüs genomları arasında, HSV1 ve 2 hariç, yaklaşık %50 oranında DNA dizi homolojisi bulunmaktadır. Human herpes virüs 6 ve 7 ile diğer herpesvirüslerin arasında ise bu oran (%30-50) daha sınırlıdır (Brooks ve diğerleri, 2010, 433).



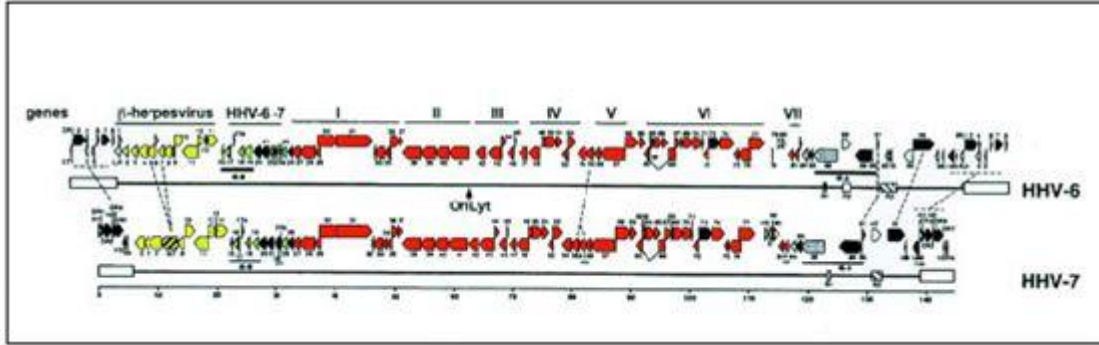
Şekil 2.3. Herpesvirüs genom yapılarının sınıfları. Özgün ve tekrarlı bölgeler, sırasıyla yatay çizgi ve dikdörtgen olarak gösterilmiştir. Tekrarlı bölgelerin yönleri oklarla gösterilmiştir.  $\alpha$ : Terminal fazlalık,  $\alpha'$ :  $\alpha$ 'nın iç kısımdaki ters kopyası,  $U_L$  ve  $U_S$ : Özgün bölgeler,  $TR_L/IR_L$  ve  $TR_S/IR_S$ : Ters tekrarlı bölgeler (Arvin ve diğerleri, 2007)

Herpes simpleks virüs tip 1 genomunun, uzun ( $U_L$ ) ve kısa ( $U_S$ ) olmak üzere ters bir tekrar dizisi tarafından ayrılan, iki ayrı birimden oluştuğu düşünülmektedir (Şekil 2.4) (Kukhanova ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.4. HSV1 genom yapısı. Genomun uzun componentinin iki ucunda  $ab$  ve  $ab'$  tekrarlı dizileri, kısa componentinin iki ucunda  $ac$  ve  $ac'$  dizileri bulunmaktadır. Terminal  $a_L$  ve  $a_S$  dizileri özgün ve asimmetriktir ve  $a_n$  ile  $a_m$  terminal  $a$  dizisinin tekrarlarıdır (Kukhanova ve diğerleri, 2014)

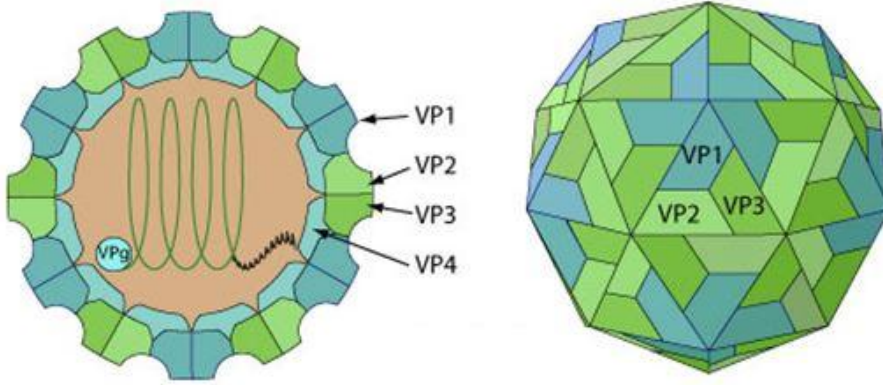
'Human' herpesvirüs 6'nın, 6A ve 6B olmak üzere iki farklı varyantı vardır. Bu varyantların prototiplerinin karşılaştırmalı genomik analizlerine göre çok sayıda homolog genleri (%90 nükleotid benzerliği) bulunur, ancak viral proteinlerinde de önemli farkları mevcuttur. 'Human' herpesvirüs 6A, 6B ve 7 genomları da birbirine oldukça homologtur ve farklı boyutları olmasına rağmen benzer bir organizasyona sahiptirler (Şekil 2.5) (Arvin ve diğerleri, 2007; Agut ve diğerleri, 2016).



Şekil 2.5. HHV6 ve HHV7 genom yapıları arasında 46.6% - 84.9% homoloji vardır. Kırmızı bloklar: Kor genleri (I-VII). Sarı bloklar: Beta herpesvirüslere özgü genler (U2-U14). Yeşil bloklar: Sadece *Roseolovirus* cinsine ait genler. HHV-6'da 3 ORF bulunur (U22, U83, U94) HHV-7'de yoktur (Campadelli-Fiume, Mirandola ve Menotti, 1999)

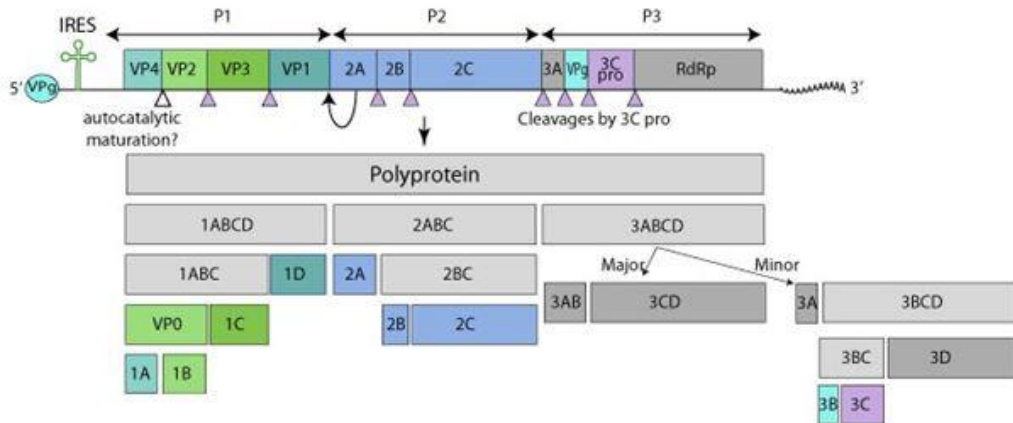
### 2.3.2. Enterovirüsler

Enterovirüsler, 100'den fazla serotipten oluşan, pozitif polariteli tek zincirli RNA virüsleridir. Virion, yaklaşık 27 nm çapında küresel simetrik, zarfsız bir partiküldür. İkozaedral simetrik kapsidi, 4 viral proteinden (VP1-4) oluşan 60 kapsomerden meydana gelmektedir (Şekil 2.6) (Zuckerman ve diğerleri, 2009, 602).



Şekil 2.6. Enterovirüs virion yapısı. Zarfsız, küresel, 30 nm çapında, RNA'yı çevreleyen ikozahedral kapsidli. Her birinin 4 polipeptidden (VP1, VP2, VP3, VP4) oluştuğu 60 protomerin karışımı ikozahedral kapsidi meydana getirir. VP4 kapsidin iç kısmında yer almaktadır. Genomun 5' ucunda viral protein (VPg) bulunmaktadır.

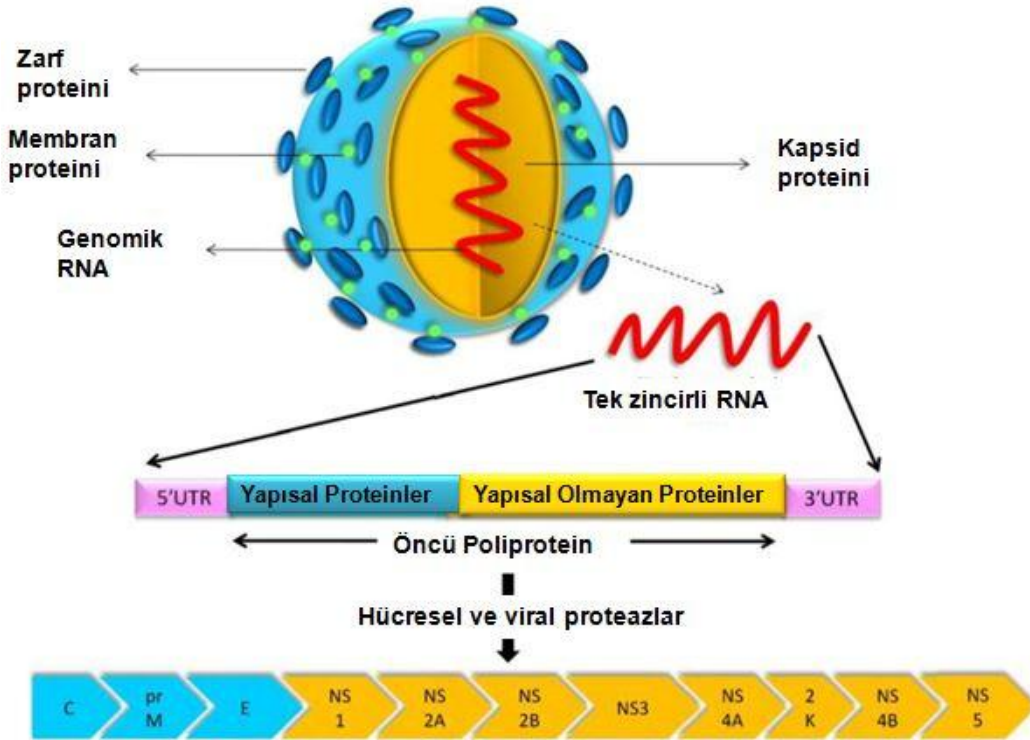
Enterovirüs genomu tipik olarak, yaklaşık 7500 bazdan oluşan tek bir açık okuma bölgesinden (ORF) oluşmaktadır. ORF, 5' ucundaki uzun translasyonu yapılamayan bölge (5' UTR) ile 3' ucundaki kısa translasyonu yapılamayan bölgenin (3' UTR) yanında yer almaktadır ve P1 bölgesindeki yapısal proteinler (VP1-4) ile P2 ve P3 bölgelerindeki yapısal olmayan proteinleri (2A-2C ve 3A-3D) içeren bir poliproteini kodlamaktadır. 5' UTR, yüksek olarak korunmuş internal ribozom girişi bölgesi ve ORF arasında değişken bir ara parça içermektedir (Şekil 2.7) (Huang ve diğerleri, 2015; van der Linden ve diğerleri, 2015).



Şekil 2.7. Enterovirüsün genom yapısı 7.2-8.5 kb'lık lineer ssRNA(+)ten oluşmaktadır. 5' ucundaki uzun UTR tip I internal ribozom giriş yeri içermektedir. P1 bölgesi yapısal polipeptidleri, P2 ve P3 bölgeleri replikasyon ile ilişkili yapısal olmayan proteinleri kodlamaktadır

### 2.3.3. Flavivirüsler

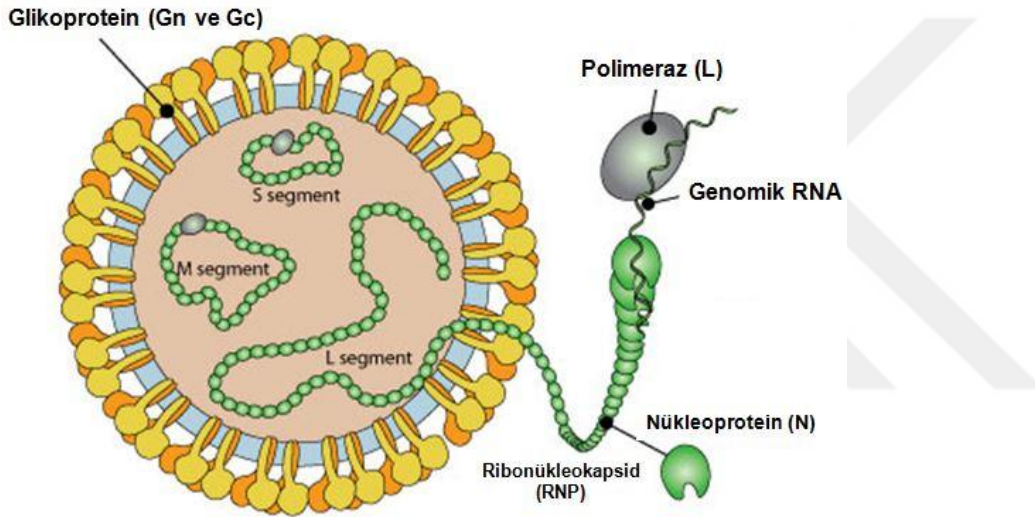
Flavivirüsler zarflı, yaklaşık 50 nm çapında küresel bir partiküle sahip virüslerdir. Pozitif polariteli, tek zincirli, ~11 kb'lık RNA genomundan oluşan ko- ve post-translasyonel olarak olgun proteinlere modifiye olan tek bir poliprotein kodlayan basit virüslerdir. Genomun iki ucunda kodlama yapmayan 5' ve 3' bölgeler içeren uzun bir ORF, enfekte konak hücresinin sitoplazmasında uzun bir polipeptid translasyonu yapmaktadır. Polipeptid daha sonra konak proteazları ve viral proteazlar tarafından, 3 yapısal ve 7 yapısal olmayan proteine ayrılmaktadır. Yapısal proteinler; zarf proteini (E), kapsid proteini (C), ve öncü membran proteini (prM), yapısal olmayan proteinler ise; NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B ve NS5'tir (Şekil 2.8). Yapısal ve yapısal olmayan viral proteinler multifonksiyoneldir ve viral replikasyon ile konak immün sistemindeki bozukluklardan sorumludurlar (Rastogi, Sharma ve Singh, 2016; Lopez-Denman ve Mackenzie, 2017; Simmonds ve diğerleri, 2017).



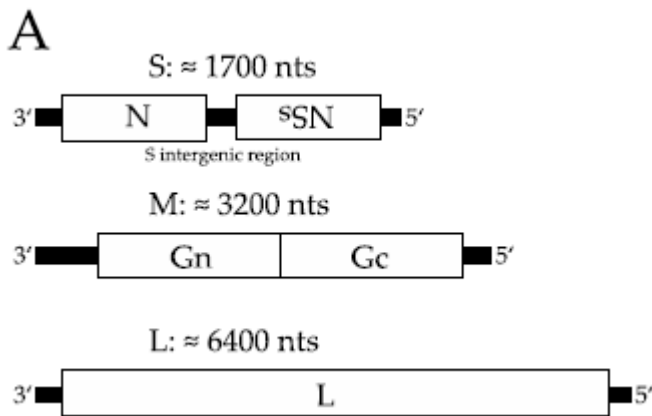
Şekil 2.8. Flavivirüslerin virion ve genom yapısı: Yapısal proteinler zarf proteini (E), kapsid proteini (C), ve öncü membran proteini (prM); yapısal olmayan proteinler NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B ve NS5 (Ashraf ve diğerleri, 2015)

### 2.3.4. Flebovirüsler

Flebovirüs virionları ikozahedral simetrik, zarflı, yaklaşık 100 nm çapında küresel yapıdadırlar. Virionlar, çift tabakalı lipid zarfa saplı olan Gn ve Gc glikoproteinleri ile 3 genomik ribonükleoproteinden (RNP) oluşmaktadır (Şekil 2.9) (Hornak, Lanchy ve Lodmell, 2016). Genomları, 3 segmentli, negatif polariteli, tek zincirli RNA yapısındadır (Şekil 2.10). Genomun L segmenti viral polimerazı, M segmenti Gn ve Gc viral glikoproteinlerini ve S segmenti nükleokapsid proteinini kodlamaktadır. Ayrıca, yapısal olmayan proteinler, S ve M segmenti tarafından da kodlanabilmektedir (Spiegel, Plegge ve Pöhlmann, 2016).



Şekil 2.9. Flebovirüslerin virion yapısı

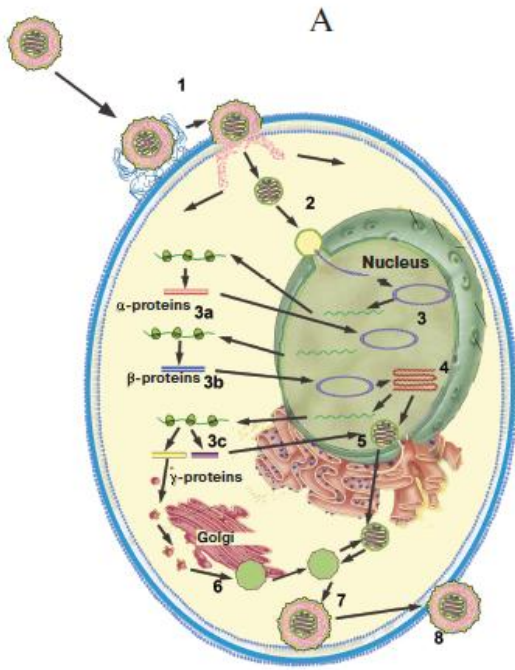


Şekil 2.10. Flebovirüslerin 3 segmentli genom yapısı. Translasyon yapmayan bölgeler siyah renkle gösterilmiştir. S segmentinin 'ambisense'i yapısal olmayan NS<sub>S</sub> proteininin ters yazılmışı olarak gösterilmiştir (Hornak ve diğerleri, 2016)

## 2.4. Replikasyon

### 2.4.1. Herpesvirüsler

Herpes simpleks virüsün yaşam döngüsü kısaca; konak hücreye giriş, viral genlerin ekspresyonu, replikasyon, virionun biraraya gelmesi ve yeni viral partiküllerin hücreden çıkışı adımlarından oluşmaktadır (Şekil 2.11) (Kukhanova ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.11. HSV yaşam döngüsü 1) Virionun hücreye tutunması ve hücreye girişi 2) Nükleusa transport 3) Viral gen ekspresyonu: çok erken (a), erken (b), geç (c) 4) Viral DNA replikasyonu 5) Nükleokapsidin toplanması 6) Kapsidin olgunlaşması 7) Primer zarfın şekillenmesi 8) Hücreden çıkışı (Kukhanova ve diğerleri, 2014)

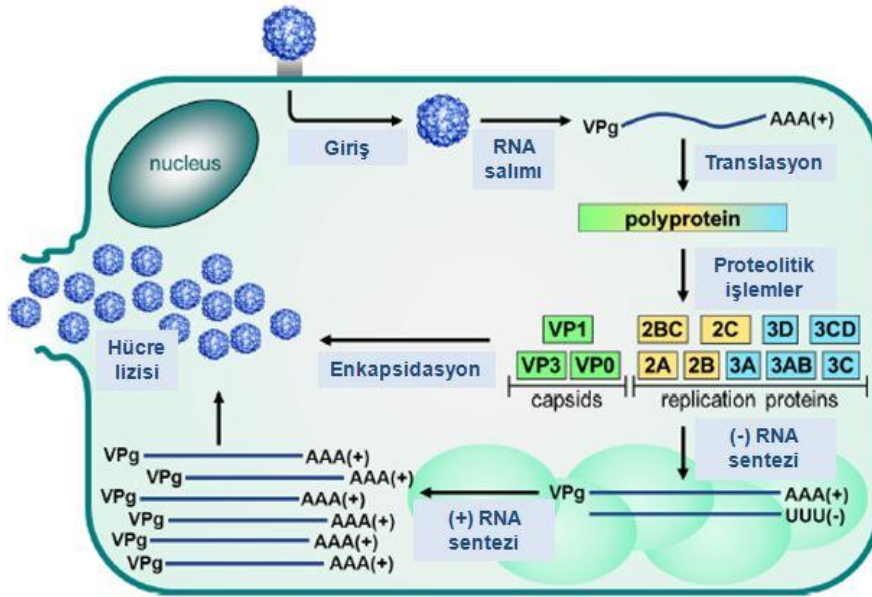
Herpes simpleks virüs enfeksiyonu, hücre yüzeyinde bulunan glikozaminoglikan zincirlerine bağlanan viral glikoproteinlerin aracılık ettiği adsorbsiyon ile başlatılır. Bunların arasında hedef hücre yüzeyindeki glikoprotein C ve B'nin adherensinde anahtar rolü olan ve daha sonra glikoprotein D spesifik reseptörüne bağlanan heparan sülfat reseptörü, HSV'nin bağlandığı ana reseptör olarak düşünülmektedir (Di Giovine ve diğerleri, 2011).

Sitoplazmaya penetrasyondan sonra, viral nükleokapsid hücre iskeletinin mikrotübülleri aracılığıyla, viral DNA'nın hücre nükleusuna salındığı nükleer membran poruna taşınır. Viral genomun transkripsiyon ve replikasyon süreci ile öncü kapsidlerin toplanması, nükleusun içinde gerçekleşir. Herpes simpleks

virüsün litik döngüsü, 3 viral genin ardışık ekspresyonundan meydana gelmektedir. Bu genler; sırasıyla  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  olarak adlandırılan 'çok erken (IE)', 'erken' ve 'geç' genlerdir (Rechenchoski ve diğerleri, 2017).  $\alpha$  geni tarafından kodlanan proteinlerin ana fonksiyonu,  $\beta$  geninin ekspresyonunun aktivasyonudur.  $\beta$  geni tarafından kodlanan protein ve enzimler (HSV DNA polimeraz, UL30) viral genom replikasyonunda, nükleotid metabolizmasının regülasyonunda,  $\alpha$  geninin baskılanmasında ve  $\gamma$  geninin aktivasyonunda rol almaktadır (Kukhanova ve diğerleri, 2014).

#### **2.4.2. Enterovirüsler**

Enterovirüsler, virüsün kan dolaşımı aracılığıyla hedef organlara yayılabildiği; gastrointestinal sistem ve solunum yolu olmak üzere iki replikasyon bölgesine sahiptir. Replikasyon döngüsü, virüsün reseptöre bağlanıp hücre içerisine girmesiyle başlamakta ve serotipe bağlı olarak 5-10 saat sürmektedir. Hücre içine giren viriondan, endozomdaki düşük pH ve virüsün ko-reseptörlerle etkileşimi sonucunda viral RNA salınır ve tek bir poliprotein translasyonu ile viral proteinlerin sentezi gerçekleşir. Genetik materyal, DNA virüslerinin aksine (+)RNA virüslerinde nükleusun içine taşınmaz ve viral proteinlerin üretimi amacıyla translasyon için direkt kalıp olarak kullanılır. Sentezlenen viral proteinler yeterince yüksek seviyeye ulaştığı zaman, genomik RNA replikasyon için kalıp olarak kullanılır. Yapısal olmayan proteinler, negatif zincir aracılığıyla RNA genomunun replikasyonuna aracılık eder. Yeni sentezlenen pozitif zincirli RNA molekülleri ya yeni bir translasyon ve replikasyon döngüsüne girer ya da yeni enfeksiyöz virüs partiküllerini oluşturmak için viral kapsid proteinlerinin içerisine paketlenir. Oluşan viral partiküller de hücre lizisi ile hücre dışına salınır (Şekil 2.12) (van der Linden ve diğerleri, 2015; Dutkiewicz, Stachowiak, Swiatkowska ve Ciesiolka, 2016).

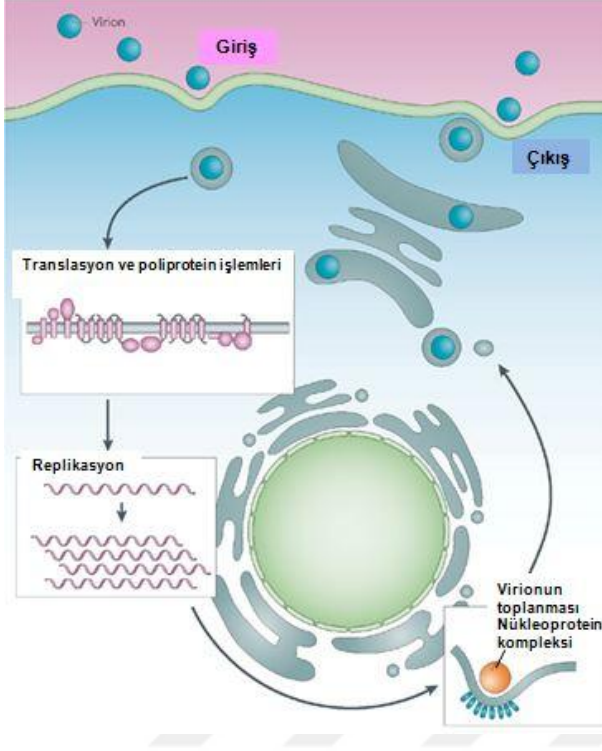


Şekil 2.12. Enterovirüs replikasyon döngüsü: Virüsün reseptöre bağlanıp hücre içerisine girmesiyle başlatılmaktadır. Daha sonra viral RNA genomu viriondan salınır ve translasyon ile tek bir poliprotein sentezlenir ve viral proteazlar tarafından viral proteinler serbest bırakılır. Yapısal olmayan proteinler RNA genomunun negatif zinciri aracılığıyla replikasyona aracılık eder. Bu, hücresel membranların yeniden düzenlenmesi sonucu şekillenen replikasyon organellerinde meydana gelir. Yeni sentezlenmiş pozitif zincirli RNA molekülleri ya yeni bir translasyon ve replikasyon döngüsüne girer ya da yeni enfeksiyöz virüs partiküllerini oluşturmak için viral kapsid proteinlerinin içerisine paketlenir. Oluşan viral partiküller de hücre lizisi ve çeşitli litik olmayan mekanizmalar ile hücre dışına salınır (van der Linden ve diğerleri, 2015)

### 2.4.3. Flavivirüsler

Flavivirüslerin replikasyonu, genomik RNA üretimi için kalıp olarak antijenom sentezi ile meydana gelmektedir. Reseptör aracılı endositoz yolu ile hücre içine girdikten sonra endozomun asidik ortamı nükleokapsidin açılıp pozitif zincirli RNA'nın sitoplazma içinde serbest kalmasını sağlar. Replikasyonun iki fazı bulunmaktadır; erken fazda pozitif zincirli RNA, mRNA görevi görerek polipeptid translasyonunu ve viral proteinlerin sentezini gerçekleştirir. Geç fazda ise, viral proteinler konak hücre proteinleri ile etkileşir ve 5' ile 3' uçlardaki kodlama yapmayan bölgelerdeki sekonder yapılar, negatif zincirin sentezine yardımcı olur. Negatif zincir de yeni pozitif zincirli RNA kopyalarının sentezi için kalıp olarak kullanılır. Nükleokapsid kompleksi içerisine paketlenen yeni RNA kopyaları

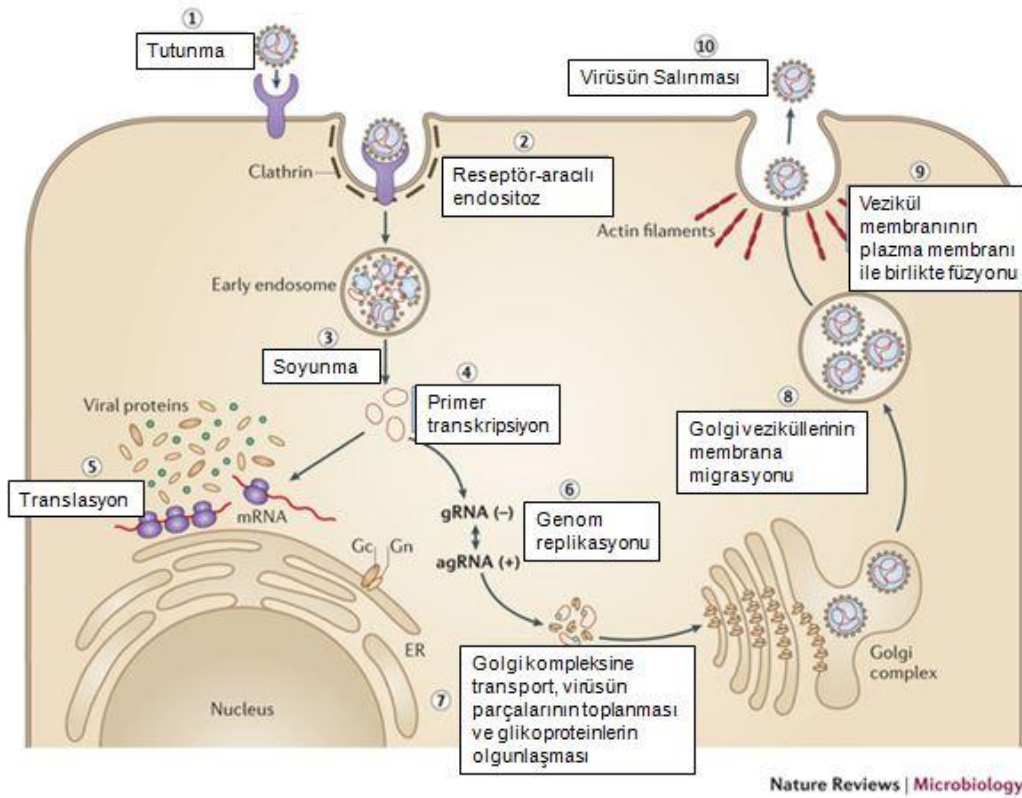
membrandaki viral glikoproteinleri yapısına almak için, endoplazmik retikulumun (ER) lümeninden tomurcuklanır ve viral partiküller olgunlaşır (Şekil 2.13) (Simmonds ve diğerleri, 2017; Rastogi ve diğerleri, 2016).



Şekil 2.13. Flavivirüslerin Replikasyonu: Virüs hücre içine girdikten sonra translasyon ve poliprotein sentezi meydana gelir. Genom replikasyonu olduktan sonra virion parçaları bir araya gelerek nükleoprotein kompleksi oluşturulur ve olgunlaşan viral partiküller hücreden tomurcuklanır.

#### 2.4.4. Flebovirüsler

Virüs reseptör aracılı endositoz yoluyla konak hücreye girer. Viral RNA'nın mRNA'ya transkripsiyonu için, genomik RNA nükleokapsid içerisinden sitoplazmaya çıkararak kalıp olarak kullanılır ve protein sentezi başlar. Endoplazmik retikulumda sentezlenen glikoproteinler golgi aparatına transfer edilir ve virionlar golgi aparatından tomurcuklanarak hücre lizisi veya ekzositoz ile hücre dışına salınır (Şekil 2.14) (Hornak ve diğerleri, 2016; Spiegel ve diğerleri, 2016).



Şekil 2.14. Flebovirüslerin Replikasyonu: 1) Tutunma 2) Reseptör-aracılı endositoz 3) Soyunma 4) Primer transkripsiyon 5) Translasyon 6) Genom replikasyonu 7) Golgi kompleksine transport, virüsün parçalarının toplanması ve glikoproteinlerin olgunlaşması 8) Golgi veziküllerinin membrana migrasyonu 9) Vezikül membranının plazma membranı ile birlikte füzyonu (Elliot, 2014)

## 2.5. Viral Ensefalit ve Menenjitlerin Patogenezi

Virüsler, MSS'ni ve beyin hücrelerini enfekte etme eğilimlerinde farklılıklar göstermektedir. . Viral ensefalitlerdeki genel düşünce, bazen geri dönüşsüz olarak beyin fonksiyonlarını ciddi şekilde etkileyen diffüz bir inflamatuvar süreç ile birlikte gelişen akut bir hastalıktır (Kennedy, 2005). Virüs, enfeksiyonu başlatmak için öncelikle konak epitel hücrelerine tutunup hücre içine girer. Daha sonra da replike olacağı doku veya organlara yayılır. Primer viremi, virüsün konağın uzak bölgelerine yerleşmesini ve klinik hastalığın başlamasını sağlar. Nadiren, MSS primer viremi sırasında enfekte olur, ancak viral enfeksiyonların çoğunda MSS'ne ulaşmadan önce ara bir organdan geçerler. Sekonder viremi ise; yüksek titrelili virüsün MSS yayılımına olanak sağlayarak, kan dolaşımında uzun süreli periyotlarda kalması ile sonuçlanır. Ancak kandan beyne viral transportun

patofizyolojisi ve viral endotelyal hücre tropizmi tam olarak bilinmemektedir. Virüs hasarlı endotelden sızarak endotelyal hücreleri enfekte eder. Bu transendotelyal geçiş, koroid pleksusun damarlarında, meninklerde veya serebrumda meydana gelmektedir (Richman, Whitley ve Hayden, 2002: 29).

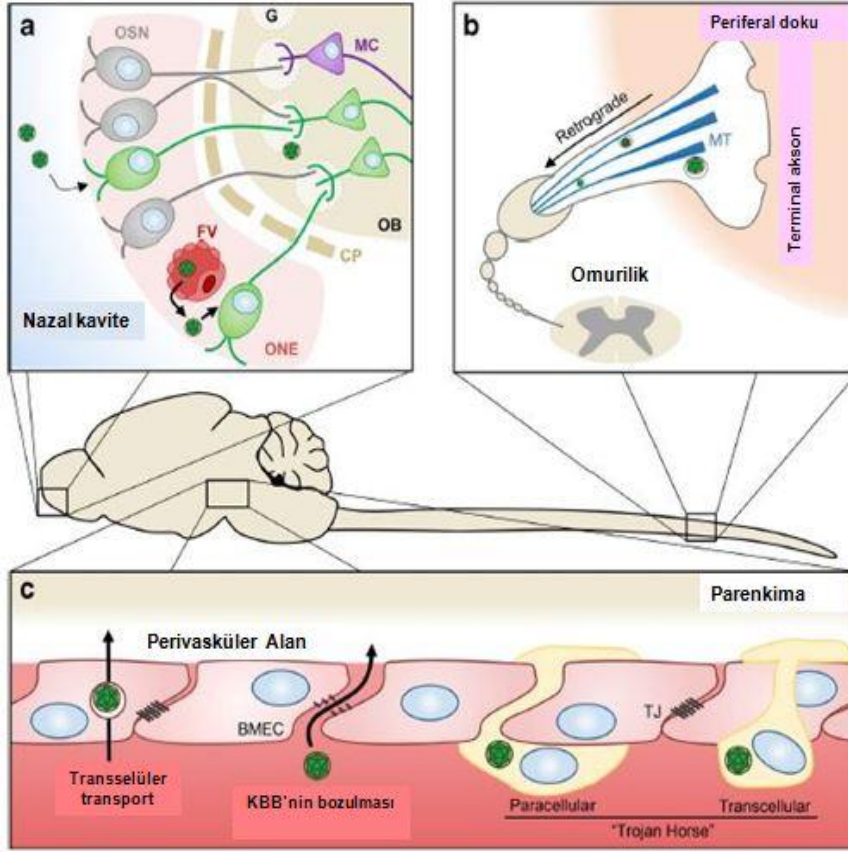
Virüslerin MSS'ne erişimi hematogen veya nöronal yollarla olmaktadır. Hematojen yayılım en yaygın yoldur ve kan-beyin bariyerinin bozulmasıyla sonuçlanabilmektedir (Whitley ve Gnann, 2002). Bazı virüsler vasküler endotelden direkt olarak (pasif transport) küçük serebral endotellere geçebilirken, bazıları enfekte monosit ve lökositlerle taşınmaktadır. Bazı virüsler ise koroid pleksusdan BOS'a geçmektedir. Nöronal yayılımda ise virionlar, duyu veya motor sinir uçlarından alınarak endonöral aralıklardan geçerek veya Schwann hücrelerinin enfeksiyonu ile akson boyunca ilerlemektedirler. Virüsler MSS'ne girdikten sonra BOS'daki subaraknoid bölgeden yayılarak inflamatuvar yanıt oluşturarak menenjitte yol açmaktadırlar. Nöral doku içinde de direkt olarak veya inflamatuvar lökositler yoluyla yayılabilir ve nöron ve glial hücreleri enfekte edebilirler (Us ve Ergünay, 2012: 273).

Herpes simpleks virüsler, sinir sistemine intranöronal yollarla erişebilmektedir. En olası rotalar, olfaktör veya trigeminal sinirler aracılığı ile retrograd transporttur. Deney modelleri (tavşan ve fare) ve insan olgularının verileri, MSS'ne geçişin trigeminal veya olfaktör yollarla olduğunu desteklemektedir ve virionların anteriyör komisür aracılığıyla kontralateral temporal loba yayıldığını öne sürmektedir. Herpes simpleks ensefalitine latent virüsün reaktivasyonunun veya primer enfeksiyonun yol açtığı da ayrı bir tartışma konusudur, iki durum da olabilmektedir. Beyin ekstraktlarının nükleik asit analizlerinden elde edilen veriler, HSV'nin MSS içinde latent durumda bulunabildiğini göstermektedir. Önerilen patojenik mekanizmalar, enfeksiyonun temporal ve frontal loblara daha sonraki yayılımı, primer MSS enfeksiyonu veya beyin parankimasındaki latent virüsün reaktivasyonu ile trigeminal gangliondaki latent HSV'nin reaktivasyonunu içermektedir. (Whitley ve Gnann, 2002; Bradshaw ve Venkatesan, 2016).

Primer HHV6 enfeksiyonunda nadiren gelişen komplikasyonlar, MSS invazyonuna yol açarak virüsün latensi ve reaktivasyon yaptığı organlara yayılabildiğini göstermektedir. Virüs ilk olarak tükrük bezleri ve tükrükte replike olmaktadır.

Lenfosit ve monositlerde latent olarak bulunur ve periferik mononükleer hücrelerden reaktif olur. Farklı dokularda da virüsün kendisi veya DNA'sı saptanmıştır, bu da virüsün farklı dokularda da latent olarak kalabildiğini göstermektedir. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda ise, primer enfeksiyon veya reaktivasyonla birçok ciddi klinik duruma neden olan HHV6, ensefalit ve ensefalopatiye de yol açmaktadır (Campedelli-Fiume ve diğeri, 1999).

Arbovirüslerin insanlardaki patogenezinin tam olarak keşfedilmemesine rağmen, hayvan modellerinin kullanımı bilinmeyen mekanizmaları ve arbovirüs enfeksiyonu ile konak savunması stratejilerini aydınlatmaktadır. Enfeksiyonun erken fazı sırasında deride replike olmaya başlamakta ve daha sonra dendritik hücrelere geçmektedirler. Dendritik hücreler de lenf nodlarına göçerler ve virüs oradan lenf sistemine giriş yapar. Kan dolaşımına ulaşan virüs visseral organlara (dalak, böbrek) yayılır. Viremiden hemen sonra, konak faktörlerine ve viral faktörlere bağlı olarak çeşitli mekanizmalar aracılığıyla MSS'ye girerler (Şekil 2.15). Merkezi sinir sisteminin içinde ensefalitik flavivirüsler ve Bunyaviridae ailesinin üyeleri için ana hedef hücreler nöronlardır. Arboviral nöropatogenez iki farklı özellik içermektedir: nöroinvazyon ve nörovirulans. Nöronal hasar ise, ya direkt arboviral enfeksiyon ile ya da indirekt olarak, replike olan virüse karşı kontrol edilemeyen immün yanıt ile meydana gelmektedir (Salimi ve diğeri, 2016).



Şekil 2.15. Arbovirüslerin MSS'ye giriş yolları. a) İntranazal inokülasyonu takiben olfaktor nöroepitelyumunda (ONE) olfaktor duyu nöronlarının (OSN) enfeksiyonu. FV: Delikli damarlar, CP: Kalbur plak, MC: Mitral hücreler, G: Glomerul, OB: Olfaktor bulbus b) Virüsün, periferol nöronların akson mikrotübülleri boyunca retrograd transportun yardımı ile omurilikten MSS'ye girişi c) Kan-beyin bariyeri (KBB) yoluyla virüs girişi, virionların beyin mikrovasküler endotel hücreleri (BMEC) tarafından hücreler arası transportuna veya sıkı bağlantıların (TJ) bozulmasını takiben virionların paraselüler göçüne bağlıdır (Salimi ve diğerleri, 2016)

## 2.6. Viral Ensefalit ve Menenjitlerin Kliniği

Ensefalit, davranış anormallikleri veya konfüzyon gibi bilinç veya mental durum değişikliği olan her hastada düşünülmelidir. Ateş beklenen bir belirtidir, ancak sabit bir klinik özellik değildir. Ateşin yokluğu ensefalit olasılığını dışlamamaktadır. Baş ağrısı genel bir şikayettir ve birçok hastada miyalji, bulantı, kusma, diyare veya solunum yolu semptomları gibi grip benzeri belirtileri olan prodromal hastalık görülmektedir (Billar ve Ferro, 2014: 1378). Viral ensefalit medikal olarak acil bir durumdur. Beyin tutulumunun özellikleri ve hastalığın prognozu patojene (Şekil 2.16) ve konağın fiziksel durumuna bağlıdır. Viral ensefalit sıkça meninksleri

tutarak meningoensefalite, veya omuriliği tutarak ensefalomiyelite yol açmaktadır (Ongradi, Ablashi, Yoshikawa, Sterez ve Ogata, 2017).

Ensefalit, beynin inflamasyonu olarak tanımlanırken; menenjit, meninkslerin inflamasyonu olarak tanımlanmaktadır. Eğer her ikisi de iltihaplanırsa, hastanın meningoensefaliti olduğu anlamına gelmektedir. Menenjit, hastanın mental durumunu baskılamaktansa; ateş, meningismus, baş ve boyun ağrısına neden olmaktadır ancak kortikal beyin fonksiyonları etkilenmemektedir. Merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarında ilk saatte tanımlanması gereken en önemli iki durum, bakteriyel menenjit ve herpes ensefalitidir; çünkü bu hastalıklar önemli morbidite ve mortalite oluşturmaktadır ve tedavi hızlı bir şekilde verilirse, hastanın durumunu iyileştirebilen spesifik tedavileri mevcuttur. Bu hastalıklarda ateş başlıca belirti olmasına rağmen; ense sertliği, döküntü, fokal nörolojik bulgular veya nöbetler gibi ilave semptomlar da MSS enfeksiyonu şüphesini arttırmaktadır (Gaieski, Nathan, O'Brien, 2015).

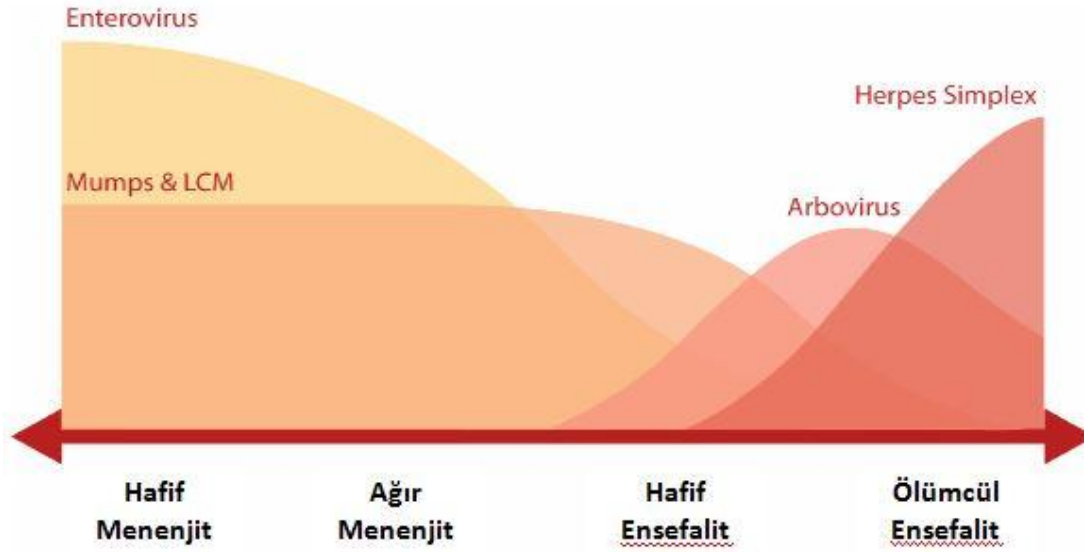
Herpes ensefaliti, primer enfeksiyonu takiben ortaya çıkan, yüksek mortalite ve nörolojik sekellerle ilişkili komplikasyonlardan biridir (Rechenchoski ve diğerleri, 2017). Tedavi edilmezse, mortalite oranı %70'lere kadar çıkabilmekte ve bu oran yeterli tedaviyle %30'lara düşmektedir; ancak tedavi verilen vakalarda bile nörolojik sekellerle sık karşılaşmaktadır. Geleneksel olarak, HSV1'in ensefalit ile, HSV2'nin ise aseptik menenjit ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Ancak, bu durumun tersi de önemli derecede mevcuttur ve HSV2'ye bağlı MSS enfeksiyonu olan hastaların %15'inden çoğunda menenjit yerine ensefalit görülmektedir (Jaques ve diğerleri, 2016). Herpes simpleks virüs 2 ensefaliti olgularının çoğuna, doğum sırasında genital yolda virüs ile temas sonrası yenidoğanlarda rastlanmaktadır. Bu enfeksiyon, yenidoğanlarda sistemik hastalıklara, deri, göz ve ağız sendromuna veya %50 fatalite ile birlikte ensefalite neden olmaktadır (Stahl, Mailles, Dacheux ve Morand, 2011).

'Human' herpes virüs 6, çocukluk çağı hastalığı olan ekzantem subitum'a ek olarak, febril nöbet ile ilişkili immünkompetan çocuk ve erişkinlerde ensefalite neden olabilmektedir (Tyler, 2009). Hayatın ilk iki yılında meydana gelen primer HHV6 enfeksiyonundan sonra, periferik mononükleer kan hücreleri, tükürük bezleri ve MSS'de hayat boyu kalmaktadır. Primer enfeksiyonun komplikasyonları yaygın

değildir ve nadiren ölümcüldür. Çoğunlukla olgu bildirimleri olarak raporlanmakta ve meningoensefalit, nöbet, kusma, diyare, hiperpireksi, dissemine enfeksiyon ve hepatosplenomegali ile birlikte MSS'de invazyon yapmaktadır (Campedelli-Fiume ve diğerleri, 1999).

Enterovirüs menenjit, aniden ve ateş ile birlikte başlamaktadır. Büyük çocuklar ve erişkinlerde ateş, bifazik olabilmektedir. Başlangıçta spesifik olmayan semptomları, kısa periyotlu ateş takip etmekte ve ardından nörolojik semptomların başlangıcına geri dönülmektedir. Yenidoğanlar ve bebekler, genellikle zayıf beslenme, kusma, ekzantem ve solunum yolu bulguları gibi spesifik olmayan bulgular sergilemektedirler. Daha büyük çocuklarda, ergenlerde ve erişkinlerde ise spesifik olmayan semptomlar (anoreksiya, kusma, baş ağrısı, ekzantem, miyalji, alt ve üst solunum yolu semptomları ve karın ağrısı) daha değişkendir (Romero ve Newland, 2003).

Menenjit ve ensefalit, arbovirüslerle olan nöroinvazif hastalıkların en yaygın klinik durumlarıdır. Arbovirüslerin yol açtığı MSS enfeksiyonlarının klinik görüntüsü, asemptomatikten nöbetlerin eşlik ettiği ensefalite, komaya ve ölüme kadar değişebilmektedir. Genelde, semptomatik hastalar başlangıçta baş ağrısı, ateş, farejit ve miyalji ile birlikte grip-benzeri bir hastalık geliştirirler. Etken olan virüse bağlı olarak bu semptomlar bulantı, kusma ve meningismusa ilerleyebilmektedir veya başağrısı ve nörolojik semptomlara ilerleyen ateş tekrar tekrar ortaya çıkmaktadır (Salimi, Gain ve Klein, 2016). Arbovirüs ensefaliti olan hastalarda ise, bilinç bulanıklığı görülebilmektedir. Ayrıca BNV hastalarının fokal eksiklik, tremor veya nöromuskular zayıflık gibi genellikle mekanik ventilasyon gerektiren önemli nörolojik belirtileri bulunmaktadır (Gaieski ve diğerleri, 2015).



Şekil 2.16. Virüs tipine göre klinik durumlar

## 2.7. Viral Ensefalit ve Menenjitlerin Bulaş Yolları

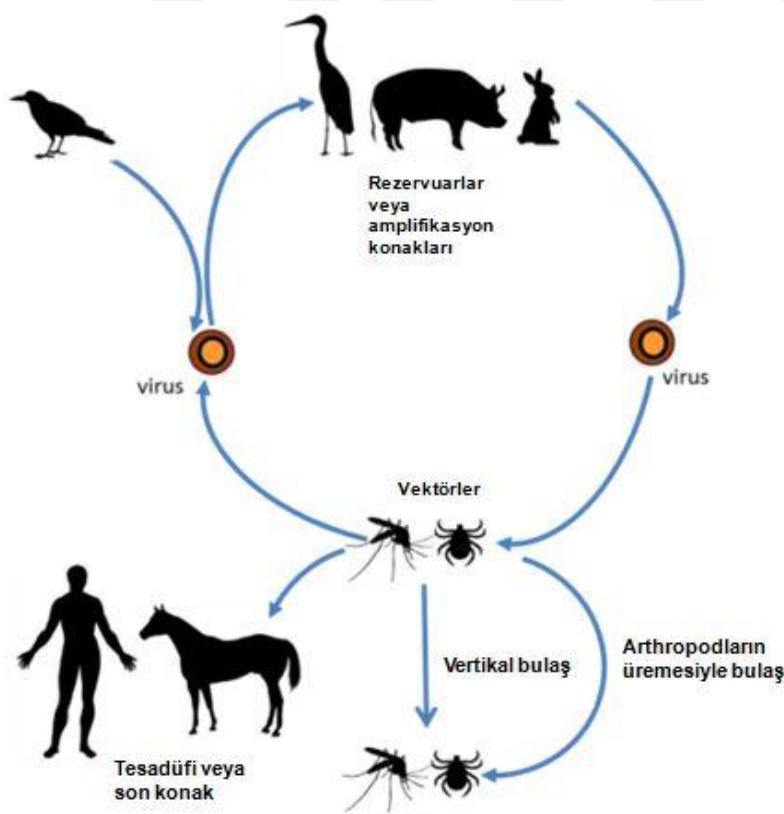
Ensefalit ve menenjite yol açan bazı virüsler insandan-insana bulaşırken, bazı virüsler hayvanlardan insanlara bulaşmaktadır. Bazıları vektör kaynaklı ve bu nedenle coğrafik olarak sınırlı olup, hava yoluyla bulaşan virüsler ise dünya geneline yayılabilmektedir (Stahl ve diğerleri, 2011).

Herpes simpleks virüs tip 1 ve 2, insandan-insana yakın temas ile tükürük ve vajinal sekresyonlar ile bulaşmaktadır. Zarflı bir virüs olan HSV, oldukça labildir ve kuruluğa, deterjanlara ve gastrointestinal sistemin koşullarına karşı dayanıksızdır. Herpes simpleks virüs tip 1 genellikle oral yolla bulaşırken, HSV2 genital yolla bulaşmaktadır. Yenidoğana ise, doğum sırasında genital yolla temas ile bulaşmaktadır. Tükürük bezlerinde replike olan HHV6 ve HHV7 de tükürük aracılığıyla bulaşmaktadır (Murray ve diğerleri, 2010: 465, 466).

Enterovirüsler fekal-oral ve oral-oral yollarla veya direkt temas, su, gıda veya dışkıyla kontamine toprak ile yayılmaktadır. Bulaşma kapasitesi viral suşa, iklime, mevsime, coğrafyaya, kalabalıklığa ve sosyo-ekonomik duruma göre değişebilmektedir (Joshi, Kim E-H, Kim J-H, Kim H ve Cheong, 2016). İnsanlar, insan enterovirüs grubu üyelerinin bilinen tek rezervuarıdır. Virüs genellikle dışkıdan, üst sindirim kanalının sekresyonlarında olduğundan daha uzun periyotlarla yayılmaktadır. Genel uygulamalardaki klorlamaya ve kanalizasyon

sağaltımına dayanıklıdır. Virüsün uzun mesafeler boyunca ekfeksiyöz kaldığı gösterilmiştir (Brooks ve diğerleri, 2010: 501).

Arbovirüsler, artropodlar ve omurgalı konaklar arasındaki bir transmisyon döngüsü içindedirler (Şekil 2.17). İnsanlar primer olarak enfekte kene veya sivrisinek tarafından ısırıldıklarında enfekte olmaktadır. Domestik arbovirüslerin insandan-insana kan transfüzyonu ve organ transplantasyonu aracılığıyla da bulaşabildiği bildirilmiştir (Krow-Lucal, Lindsey, Lehman, Fischer ve Staples, 2017). Flavivirüsler, sivrisinek cinslerinin omurgalı konaklardan kan emmesiyle; flebovirüsler ise tatarcık sineklerinin ısırmasıyla bulaşmaktadır (Ergünay ve diğerleri, 2013; Ergünay, Ayhan ve Charrel, 2016).

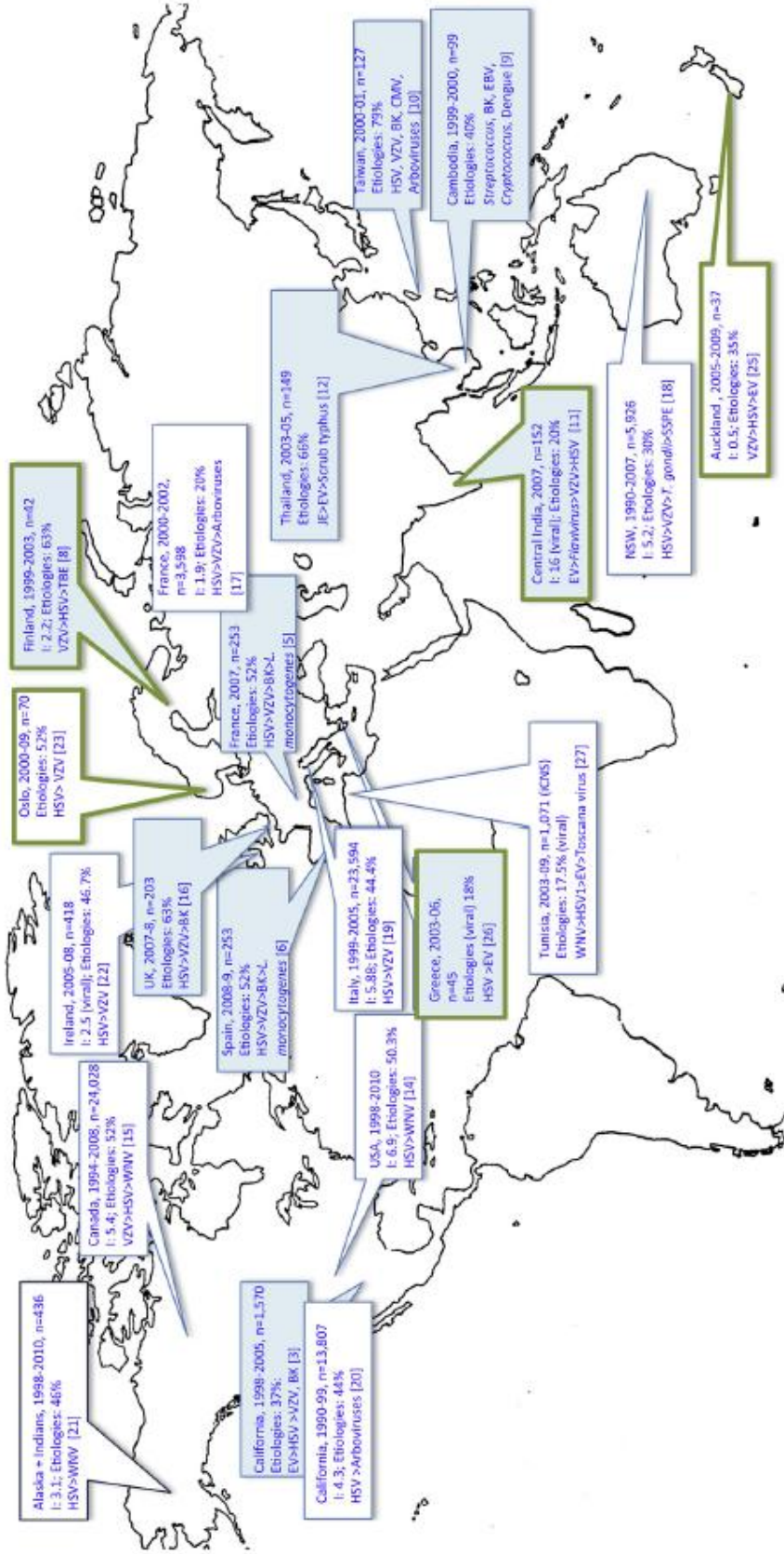


Şekil 2.17. Arbovirüslerin yaşam döngüsü. Arbovirüslerinin çoğunun bulaşında başlıca iki döngü vardır. Biri insandan insana bulaşı, diğeri genellikle diğer memeliler ve kuşları içerir (Perng ve Chen, 2013: 75)

## 2.8. Viral Ensefalit ve Menenjitlerin Epidemiyolojisi

Ensefalitin epidemiyolojisi sürekli olarak değişmektedir. Yeni ajanların yayılımı ve/veya ortaya çıkışı ensefalit epidemiyolojisini etkileyebilmektedir. Bu yayılım; çevresel, sosyal ve ekonomik değişiklikler (iklim değişikliği, nüfus hareketliliği, ormanların parçalanması, şehirleşme) tarafından teşvik edilmektedir (Boucher ve diğerleri, 2017). Viral ensefalitlerin epidemiyolojisi; bulaş yolları, viral taksonomi, epidemik potansiyeli, immünkompetan veya immünsüprese hastalardaki meydana geliş sıklığı, özgün tedavinin varlığı ve aşular gibi çeşitli bakış açılarına göre ortaya çıkmaktadır (Stahl ve diğerleri, 2011). Viral menenjit, dünya geneline yayılmış olarak görülmektedir. Menenjite neden olan viral ajanların prevalansı ve dağılımı dünyanın farklı bölgeleri arasında değişmektedir (Oliveira ve diğerleri, 2017).

Aseptik menenjit ve ensefalit ile ilgili yayımlanan birçok çalışmaya göre herpesvirüsler ve enterovirüsler her zaman en yaygın saptanan sebepler olmuştur (Calleri, Libanore, Corclone, De Rosa ve Caramello, 2017). Amerika'da yapılan 'Kaliforniya Ensefalit Projesi', ensefalitlerin etiyolojik tanısını geliştirmeyi amaçlamış ve çalışmaya 1998'den 2005'e kadar 1448 hasta dahil etmiştir. En sık tanımlanan viral ajanlar; etiyolojik tanısı konan hastaların %30'unun arasında EV (%16), HSV (%13), VZV (%6), BNV ve EBV (%4) olmuştur (Stahl ve diğerleri, 2011). Yayımlanmış çalışmalarda, muhtemel enfeksiyöz ensefalitlerinin yıllık insidansı, epidemiler haricinde 1,5-7 olgu/100 000 birey olarak tahmin edilmektedir. En sık saptanan viral ensefalit etkenleri ise, HSV ve EV'lerdir (Şekil 2.18) (Boucher ve diğerleri, 2017).



Şekil 2.18. Ensefalit etiyolojileriyle ilgili epidemiyolojik çalışmalar. Mavi kutucuklar: Prospektif çalışmalar, Beyaz kutucuklar: Retrospektif çalışmalar, Yeşil çerçeveler: Erişkin çalışmaları, Siyah çerçeveler: Çocuk ve erişkin çalışmaları, n: Hasta sayısı, I: İnsidans (Boucher ve diğerleri, 2017)

Mevsimsel bir özelliği olmayan herpesvirüslerden HSV1, erişkin ve adölesan herpes simpleks ensefalitlerinde HSV2'den çok daha sık görülmektedir. Herpes simpleks ensefalitlerinde fatalite oranı, spesifik tedavi verilmeyen hastalar arasında %70 civarındadır (Stahl ve diğerleri, 2011). Herpes simpleks virüs tipleri, hem erişkinlerde hem de 6 aydan büyük çocuklarda sporadik ensefalitin en sık rastlanılan etkenleridir. Herpes simpleks ensefaliti, hayatın iki farklı döneminde daha sık ortaya çıkmaktadır. Bunlardan birisi primer enfeksiyonun kazanıldığı döneme denk gelen 20 yaş altında bireyler, diğeri ise reaktivasyonun ortaya çıktığı dönemi yansıtan 50 yaş üzerindeki bireylerdir. Amerika Birleşik Devletleri'nde viral ensefalitli olgu sayısının yılda 2000 civarında olduğu bildirilmektedir. Bunların yaklaşık 700'ü ise HSV ensefaliti olgusudur. HSV ensefalitleri mevsimsel dağılım göstermeksizin sporadik olarak ortaya çıkmaktadır (Us ve Ergünay, 2012: 277).

Seroepidemiolojik ve viral DNA'yı saptayan PZR temelli çalışmalar, HHV6'nın insan popülasyonunda oldukça yaygın olduğunu göstermektedir. Bir yaş üstü çocukların ve erişkinlerin %90'ının HHV6 pozitif olduğu tahmin edilmektedir (Brooks ve diğerleri, 2010: 453). Primer HHV6B enfeksiyonlarının çoğu hayatın ikinci 6 aylık döneminde meydana gelirken, HHV7 enfeksiyonları 2. veya 3. yılında meydana gelmektedir. HHV7 de dünya genelinde her yerde ve her zaman bulunabilmektedir. Primer enfeksiyonu 4 yaşındaki çocukların yaklaşık %70'i geçirmiştir. Ancak HHV6 ve HHV7'nin primer enfeksiyonuna bağlı ensefalit olgularıyla çok nadir karşılaşılmaktadır. Bunun yanında, kök hücre, kemik iliği ve solid organ transplantasyonu geçirmiş bazı immün sistemi baskılanmış hastalarda ise HHV6 ve HHV7'nin reaktivasyonu sonucu ensefalit gelişebilmektedir. Birçok çalışmada HHV6 ve HHV7 ensefaliti geçiren çocuk ve erişkinlerin çoğunun erkek olduğu görülmüş ve en yüksek ensefalit insidansı kış mevsimlerinde görülmüştür (Ongradi ve diğerleri, 2017).

Enterovirüs enfeksiyonu olan hastaların çoğunda hafif/ağır menenjit görülmektedir. Nörolojik EV enfeksiyonlarının sadece %3'ünde ensefalit meydana gelmektedir. Özellikle EV71'in epidemik potansiyeli 1969'dan beri dünya genelinde bilinmektedir. Asya'da EV71, pediatrik epidemilerde gözlenen beyin sapı (rhombencephalitis) veya beyin kökü ensefalitinden sorumludur. Ancak gelişmiş ülkelerde EV71 epidemileri nadiren gözlenmektedir (Stahl ve diğerleri, 2011).

Enterovirüslere bağlı ensefalit ve menenjit salgınlarının başlıca nedenleri CV-B5 ve E30'dur (Mao ve diğerleri, 2016).

Enteroviral hastalıklar, tropikal ve yarı-tropikal iklimlerde yıl boyunca ve ılıman bölgelerde öncelikle yaz ve sonbahar aylarında görülmektedir. Aseptik menenjite neden olan başlıca enteroviral ajanlar; 'Coxsackie' A virüs (serotip 2, 4, 10, 24), 'Coxsackie' B virüs (serotip 5) ve ekovirüs (serotip 4, 6, 9, 12, 13, 25, 30, 33)'tür. Aseptik menenjit salgınları Kore, Tayvan ve Çin'de ağırlıklı olarak yaz ayları boyunca çocuklar arasında meydana gelmektedir. Aseptik menenjitlerin mevsimselliği, meteorolojik faktörlerin EV'lerin yayılım ve dağılımını etkileyebileceğini göstermektedir; çünkü EV'lerin canlı ve stabil kalma durumları genellikle çevresel ve iklimsel değişkenlerden etkilenmektedir. Örneğin Kore'de ciddi bir halk sağlığı problemi olan enteroviral aseptik menenjit salgınları, 1990'dan beri ortalama her üç yılda bir meydana gelmektedir (Joshi ve diğerleri, 2016).

Arboviral enfeksiyonlar, yaz ayları boyunca meydana gelmektedir ve artropod vektörlerinin aktivitelerinin arttığı dönemlerle kesişmektedir (Romero ve Newland, 2003). Flavivirüs örnekleri, devam eden evrimleriyle birlikte tüm kıtalarda bulunmaktadır ve ekolojik nişlerin sağlamlanmasıyla yayılmaktadır. Bu virüslerin; çevresel kontrol yöntemlerine, insanoğlunun aşırı seyahat etmesi ve diğer hayvanların göç vb. yer değişimi durumlarına ve muhtemelen küresel iklim değişikliklerine dikkat çeken uyumluluğu, bu virüslerin ortaya koyduğu tehdidi arttırmıştır (Rust, 2012). Tatarcık sineği kaynaklı flebovirüsler ise Akdeniz çevresinde, Afrika'da, Hindistan'da, Orta Doğu'da ve Asya'nın merkezinde dağılım göstermektedir (Alkan ve diğerleri, 2013). Flebovirüs cinsinde yer alan ensefalit etkenlerinden biri olan TOSV, Avrupa'da yaz boyunca görülen MSS enfeksiyonlarının en sık nedenlerinden biridir. Avrupa'daki endemik alanlar İtalya, İspanya, Portekiz, Fransa, Yunanistan ve Kıbrıs'tır. Son yıllarda Avrupa'daki endemik bölgelere seyahat edenlerde TOSV enfeksiyonu bildirimleri artmıştır. Ayrıca, Akdeniz bölgesinden dönen ABD'li turistlerden de TOSV meningoensefaliti olguları bildirilmiştir (Jaijakul ve diğerleri, 2012).

## 2.9. Viral Ensefalit ve Menenjitlerin Laboratuvar Tanısı

Ensefalitli hastalardaki beklenen BOS anormallikleri lenfositik pleositoz, hafif-orta dereceli protein konsantrasyonu artışı ve normal glukoz seviyeleridir. Bilinç bozukluğu ve yüksek açılış basıncı gözlenmektedir. Herpes simpleks ensefalitinin tanısı hemen konulmalıdır. BOS'ta PZR ile viral DNA'nın saptanması, zamanla beyin biyopsisi ve BOS'ta antikor saptanmasının yerini alarak, tanıda altın standart olmuştur. BOS'ta HSV1 PZR, yüksek oranda duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. Hastalığın erken döneminde ve özellikle çocuklarda semptomlar başladıktan sonraki ilk 24-72 saatte ve 10. günden sonra PZR'de yalancı negatiflikler olabilmektedir. Eğer şüphe varsa, 3-7 gün sonra PZR tekrarlanmalıdır. Serum ve BOS örneklerinde antikor bakılması da tanıya yardımcıdır. İntratekal antikor üretimi semptomların başlangıcından sonraki 8 günden 3 aya kadar saptanabilmektedir (Biller ve Ferro, 2014: 1378, 1379; Whitley, 2015; Bradshaw ve Venkatesan, 2016).

Şüpheli roseolovirüsler ile ilişkili ensefalitlerde, BOS'ta uygulanan standart testlerin tanıya katkısı sınırlıdır. Hematopoietik kök hücre naklini takip eden HHV6 ensefalitlerindeki BOS biyokimyası, bazı olgulardaki artmış protein seviyesi haricinde genellikle normaldir. Pleositoz ise nadiren görülmektedir. HHV7 ensefalitlerinde laboratuvar sonuçları tamamen farklıdır. BOS incelenmesinde normal veya artmış protein ve glukoz seviyeleri, pleositoz ve lenfositoz saptanmaktadır. Klinik ile ilişkili HHV6 veya HHV7 MSS enfeksiyonunu tanımlamak, bu virüslerin her zaman bulunmaları ve latent doğaları nedeniyle zordur. PZR temelli yöntemlerle BOS'ta spesifik nükleik asit testleri kullanılmaktadır. Kan, doku ve BOS'ta en yüksek viral yük, genellikle semptomların başlangıcını izleyen ilk haftada virüsün geçici olarak ortaya çıktığı zaman elde edilmektedir (Ongradi ve diğerleri, 2017).

Enterovirüs tanısında ise, önceleri hücre kültürü kullanılırken; yöntemin duyarlılığının %65-75 oranında olması, ancak 4-8 günde sonuç vermesi ve Coxsackie virüs A serotiplerinin kültürde üretilmemesi gibi çeşitli sınırlamaları nedeniyle yerini en duyarlı, özgül ve hızlı olan ters transkriptaz PZR (RT-PZR) yöntemiyle yapılan nükleik asit amplifikasyonuna bırakmıştır. RT-PZR'nun duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %86-100 ve % 92-100'dür. RT-PZR sayesinde

hücre kültüründe negatif olan BOS'larda EV yakalanabilmekte ve günler yerine saatler içinde sonuç verilebilmektedir. Bu da hastanede yatış süresini ve antibiyotik kullanımını azaltmaktadır (Romero ve Newland, 2003).

Arbovirüslerin tanısında da, spesifik IgM antikorlarını saptayan ELISA testleri kullanılmaktadır. İdeal olanı hem serum hem de BOS örneklerinde virüse özgü IgM'in saptanmasıdır. BOS'ta tek başına IgM pozitifliği tanı için yeterlidir, ancak serumda tek başına saptanan IgM enfeksiyonu konfirme etmemektedir. Çünkü IgM pozitifliği, 1 yıla kadar devam edebilmektedir (Romero ve Newland, 2003). Bazı durumlarda ölümcül arboviral ensefalitler, hastanın zayıf antikor yanıtı olması nedeniyle meydana gelmektedir. Bu nedenle serum veya BOS'taki düşük antikor titreleri arboviral ensefalit tanısını dışlamamaktadır. Karakteristik arboviral BOS bulguları ise, hafif protein artışıyla lenfositik pleositozdur, glukoz oranları genellikle normaldir ve 250 mm'ye kadar yükselen BOS açılış basıncı görülmektedir (Rust, 2012). Klinik örneklerde (kan, doku, BOS) virusün gösterilmesi için antijen yakalayan ELISA ve RT-PZR yöntemleri geliştirilmiştir. Moleküler tanıda, flavivirüs enfeksiyonlarında kullanılan ve NS5 geninin hedeflendiği gruba özgü RT-PZR uygulanabilmektedir. Bu yöntem, virüse özgü primerlerle uygulanan semi-nested PZR ile kombine edilerek tür düzeyinde tanımlama da yapılabilmektedir. Tıbbi önemi bulunan flebovirüslerin erken tanısında viral RNA'nın RT-PZR ya da diğer nükleik asit testleri ile saptanması sıklıkla uygulanan yaklaşımdır. Erken dönemde klinik örneklerden Vero hücreleri kullanılarak virüs izolasyonu mümkündür, ancak duyarlılığı düşüktür (Us ve Ergünay, 2012: 400, 404).

## **2.10. Viral Ensefalit ve Menenjitlerde Tedavi ve Korunma**

Herpes simpleks virüs enfeksiyonlarına karşı, ilaç tedavisi etkilidir. İntravenöz asiklovirin HSV ensefaliti ve yenidoğan HSV enfeksiyonundaki faydası iyi yerleşmiştir. Ancak HSV menenjiti için olan antiviral ilaçların değerlendirilmesiyle ilgili veriler dağınık ve yetersizdir (Kaewpoowat, Salazar, Agullere, Wootton ve Hasbun, 2016). Asiklovir, Herpes simpleks ensefalitinin tedavisi için FDA onaylı tek ilaçtır. Önerilen doz, 14-21 gün boyunca, her 8 saatte bir intravenöz olarak 10 mg/kg'dır. Bazı klinisyenlerin kısa bir 3 günlük kortikosteroid tedavisi vermesine rağmen, ek bir tedavinin kullanışlı olduğu kanıtlanmamıştır. Asiklovirin diğer antiherpetik ilaçlarla kombinasyonunun sinerjistik veya aditif olduğuna dair bir veri

yoktur. Sonuç olarak, herpes simpleks ensefaliti şüphesi varsa, tedaviye mümkün olan en kısa sürede başlanmalıdır (Whitley, 2015).

'Human' herpesvirüs 6 ve 7'nin replikasyonunun ise, in vitro olarak foskarnet, gansiklovir ve sidofovir tarafından inhibe edilebildiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu ilaçlar, U38 geni tarafından kodlanan viral DNA polimerazın inhibitörleridir ve CMV'ye karşı etkili olan konsantrasyonlarda aktiflerdir. Bunun tersine, asiklovir ve valasiklovirin önemli bir aktivitesi yoktur (Agut ve diğerleri, 2016).

Enterovirüslerin yol açtığı el-ayak-ağız hastalığı ve diğer hastalıklar için etkili bir tedavi olmaması nedeniyle EV ile ilişkili hastalıklardan korunmanın en etkili ve ekonomik çözüm yolu aşılardır. Çin'de Aralık 2015'te ilk el-ayak-ağız hastalığı aşısı olan iki inaktive EV-A71 aşısı FDA tarafından onaylanmıştır. Buna ek olarak, CV-A16 monovalan aşısı ve EV-A71/CV-A16 bivalan aşısı da ön-klinik çalışmalarda iyi etkinlik göstermiştir. 'Coxsackie' virüs-B3 viral miyokardit ve ensefalitin ana etkenlerinden biri olduğu için, EV-B grubuna karşı geliştirilen aşı çalışmaları da mevcuttur. 'Coxsackie' virüs-B1, CV-B6 ve CV-B3 aşısıyla ilgili çalışmalar bildirilmiştir. Epidemiyolojik sürveyans çalışmalarının gösterdiğine göre, EV'lerin epidemik özellikleri sürekli olarak değişmektedir. Bu nedenle, yenidoğan ve çocukları ağır EV hastalıkları ile enfekte olmaktan korumak için, multivalan EV aşısı araştırılmalı ve geliştirilmelidir. Aşıların yanında, Asya-Pasifik Bölgesi'nde sıkça salgınlara yol açan EV-A71 enfeksiyonunu inhibe etmek için; virüsün konak hücreye girişini, viral proteaz enzimini, viral replikasyon ve transkripsiyon mekanizmalarını hedefleyen çeşitli ilaç çalışmaları da yapılmaktadır (Mao ve diğerleri, 2016; Yi, Shin, J-H Kim, T-G Kim ve Chang, 2017).

Arbovirüs kaynaklı nörolojik enfeksiyonların tedavisi için onaylanmış bir antiviral ilaç bulunmamaktadır. Bu nedenle, enfekte hastalarda antipiretikler, şiddetli kusma durumunda sıvı rekonstrüksiyonu gibi semptomatik rahatlatma yöntemleri ile solunum ve dolaşım sistemleri ve organ yetmezliği için yaşam destek ünitesi kullanılarak destek tedavileri yapılmaktadır. Bunun yanında, flavivirüslerden ensefalite neden olan BNV'ye karşı interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) kullanımının MSS'de olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir, ancak etkisinin olmadığı olgular da bulunmaktadır. Bu nedenle BNV ensefalitli hastalarda IFN- $\alpha$ 'nın etkinliğinin

değerlendirildiği klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Salimi ve diğerleri, 2016). İnsanlar için, BNV'ye karşı geliştirilmiş lisanslı bir aşı henüz yoktur. Ancak, canlı atenüe ve hidrojen peroksit temelli inaktive BNV ile yapılan çeşitli klinik aşı çalışmaları devam etmektedir (Amanna, Raué ve Slifka, 2012; Pierce ve diğerleri, 2017; Yamshchikov, Manuvakhova, Rodriguez ve Hébert, 2017). Bunların dışında arboviral ensefalit etkenlerine karşı geliştirilmiş lisanslı bir aşı henüz yoktur. Arboviral ensefalitlerden korunmak için; evlere ve çevreye insektisid uygulaması ve vektörlerin üreme bölgelerinin kontrol edilmesiyle vektör prevalansının azaltılması, vektörlerden korunarak vektör-konak temasının azaltılması, immünizasyon veya vektör kovucu ilaçların kullanımıyla insan duyarlılığının azaltılması gibi önlemler alınmalıdır. Ancak, insektisidlere olan direncin artması ve enfeksiyöz artropodların yeni alanlara yayılması yeni kontrol stratejileri gerektirmektedir. Bu nedenle, geleneksel aşılardan farklı olarak bulaşı engelleyen aşılarda çalışmalar yapılmaktadır (Rust, 2012; Londono-Renteria, Troupin ve Colpitts, 2016).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Beyin-Omurilik Sıvısı (BOS) Örneklerinin Toplanması

Çalışmaya, Sağlık Bakanlığı Yıldırım Beyazıt Dışkapı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Hastalıkları, Enfeksiyon Bölümü'ne Ekim 2011 ile Aralık 2015 tarihleri arasında nörolojik şikayetlerle başvuran ve aseptik menenjit/ensefalit ön tanısı verilen 0-18 yaş aralığında 100 hasta dahil edilmiştir. Bu hastaların BOS örnekleri toplanarak çalışma zamanına kadar -86°C derin dondurucuda (Sanyo, Japonya) saklanmıştır. Her hastanın demografik ve klinik bilgilerini içeren hasta formları hazırlanmıştır.

#### 3.2. BOS Örneklerinden Nükleik Asit Ekstraksiyonu

BOS örneklerinden nükleik asit ekstraksiyonu QIAamp® Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak spin-kolon yöntemi ile üreticinin talimatları doğrultusunda yapılmıştır.

QIAamp® Viral RNA Kit (250) (QIAGEN, Almanya) içeriği:

- QIAamp Mini Spin Kolonlar, 250 adet
- Tüpler (2 ml'lik), 1000 adet
- Buffer AVL, 5 x 31 ml
- Buffer AW1 (konsantre), 98 ml
- Buffer AW2 (konsantre), 66 ml
- Buffer AVE, 10 x 2 ml
- Carrier RNA (poly A), 5 x 310 µg

QIAamp® Viral RNA Kit (250) (QIAGEN, Almanya) Çalışma Protokolü:

1. Liyofilize Carrier RNA (310 µg) içeren tüpe 310 µl Buffer AVE eklenir.
2. Buffer AW1'in içerisine 130 ml %96-100 etanol eklenir.
3. Buffer AW2'in içerisine 160 ml %96-100 etanol eklenir.

$$4. \quad n \times 0.56 \text{ ml} = y \text{ ml}$$

$$y \text{ ml} \times 10 \mu\text{l/ml} = z \text{ ml}$$

n= Örnek sayısı     y= Hesaplanan Buffer AVL miktarı

z= Carrier RNA-Buffer AVE karışımı miktarı

Yukarıdaki formüllere göre; gerekli miktardaki Buffer AVL içerisine, gerekli miktarda Carrier RNA-Buffer AVE karışımı eklenir ve ters-düz edilerek karıştırılır.

5. Hazırlanan Carrier RNA içeren Buffer AVL karışımı 1,5 ml'lik tüplerin her birine 560  $\mu\text{l}$  olacak şekilde dağıtılır.

6. Hasta örnekleri tüplere 140  $\mu\text{l}$  hacimde eklenir ve 15 saniye vortekslenir.

7. Oda sıcaklığında (15-25°C) 10 dakika inkübe edilir ve spin santrifüj yapılır.

8. Her bir tüpe 560  $\mu\text{l}$  etanol (%96-100) eklenir ve 15 saniye vortekslenildikten sonra, spin santrifüj yapılır.

9. Spin-kolon filtreli tüpler hazırlanır ve 8. adımda hazırlanan solüsyondan her bir spin-kolon tüpüne 630  $\mu\text{l}$  olacak şekilde aktarılır. 8000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenir ve filtreli tüpler temiz tüplere aktarılır. Kirli tüpler atılır.

10. 9. adım tekrarlanır.

11. Üzerine 500  $\mu\text{l}$  Buffer AW1 eklenir ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenir, filtreli tüpler temiz tüplere aktarılır. Kirli tüpler atılır.

12. Üzerine 500  $\mu\text{l}$  Buffer AW2 eklenir ve 14000 rpm'de 3 dakika santrifüjlenir, filtreli tüpler temiz tüplere aktarılır. Kirli tüpler atılır.

13. Filtrede Buffer AW2 kalıntısı kalmaması için, maksimum hızda 1 dakika santrifüjlenir ve filtreli tüpler temiz 1,5 ml'lik tüplere aktarılır, kirli tüpler atılır.

14. Filtreli tüplere 60  $\mu\text{l}$  Buffer AVE eklenir ve 1 dakika inkübasyondan sonra 8000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenir. Filtreli tüpler atılır, alta geçen sıvı ekstrakte edilen nükleik asidi içermektedir. Bir sonraki çalışma aşamasına kadar -86°C derin dondurucuda saklanır.

### 3.3. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

Ekstrakte edilen RNA'nın cDNA'ya çevrilmesi için, random hekzamer primerleri ile ticari bir sistem olan 'RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoFisher SCIENTIFIC, ABD)' kullanılmıştır.

#### 1 Örnek için cDNA Sentezi Protokolü:

Distile su.....6 µl

Random primer.....1 µl

RNA.....6 µl

- Yukarıdaki içerikler, 'verilen miktarlar X örnek sayısı' kadar karıştırılarak hazırlanır ve 0.2 ml'lik tüplere 7'şer µl dağıtılır.
- Üzerine 6 µl hedef RNA eklenir ve karışım 70°C'de 5 dakika inkübe edilir.
- Ayrı bir tüpte aşağıdaki karışım hazırlanır ve inkübe edilen karışımın üzerine 7'şer µl dağıtılır.

Reaksiyon Tamponu (5X).....4 µl

10 mM dNTP.....2 µl

Ters transkriptaz enzimi.....1 µl

- Hazırlanan karışımlar termal döngü cihazına yerleştirilir ve 42°C'de 1 saat, 70°C'de 5 dakika inkübe edilir.
- Reaksiyon sonunda cDNA'lar elde edilmiş olur. Bir sonraki çalışma aşamasına kadar -86°C derin dondurucuda saklanır.

### 3.4. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Gerçek Zamanlı PZR) Yöntemi ile HSV1/2'nin Saptanması

Herpes simpleks virüs 1 ve 2'nin saptanması için gerçek zamanlı PZR yöntemi ile çalışan ticari bir kit (LightCycler® HSV1/2 Qual Kit, Roche, Almanya) kullanılarak LightCycler 2.0 (Roche, Almanya) cihazında çalışılmıştır.

12 örnek için HSV1/2 Gerçek Zamanlı PZR Protokolü (LightCycler® HSV1/2 Qual Kit, Roche, Almanya):

Master Miks (Taq Polimeraz,dNTP,primer/probe ve reaksiyon tamponu).....80 µl

Mg<sup>+2</sup> 18 .....80 µl

Çizelge 3.1. HSV1/2 Gerçek Zamanlı PZR programı

Program	Derece (°C)	Süre	Döngü
UDG*	37°C	5 dk	1
Taq Aktivasyonu	95°C	10 dk	1
Amplifikasyon	95°C	10 dk	45
	60°C	30 sn	
	72°C	5 sn	
Soğutma	40°C	40 sn	1

\*Urasil-DNA-glikozilaz (Hedef nükleik asidin selektif amplifikasyonu amacıyla dUTP içeren DNA zincirlerini tanır ve tahrip eder.)

- Hazırlanan reaksiyon karışımı kapiller tüplere 10'ar µl dağıtılır ve üzerine izole edilen DNA'lardan 10'ar µl eklenir.
- Pozitif ve negatif kontroller kullanılır.
- Light Cycler 2.0 (Roche, Almanya) cihazına kapiller tüpler yerleştirilir ve PZR programı çalıştırılır. Sonuçlar kalitatif olarak değerlendirilir.
- Cihazın 530 kanalında HSV1 pozitifliği, 560 kanalında HSV2 pozitifliği ve 610 kanalında internal kontroller değerlendirilir.

### 3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Yöntemi ile Enterovirüs, Flavivirüs ve Flebovirüslerin Saptanması

#### 3.5.1. Enterovirüs PZR

Örneklere enterovirüs RNA'sının araştırılması amacıyla, hastalık etkeni olan enterovirüs dizileri hizalanarak yeni bir pan-enterovirüs primer seti tasarlanmıştır.

Bu amaçla 'CLC Main Workbench v7.7' (CLCBio, Aarhus, Danimarka) yazılımı kullanılmıştır. Tasarlanan primerler enterovirüslerin 5'-kodlamayan bölgesinde (5'-UTR) 193 baz çiftlik bir bölümü çoğaltmaktadır. Testin optimizasyonu amacıyla hücre kültüründen izole edilmiş 'Coxsackie' virüs B6 (Schmitt izolatı) kullanılmıştır.

### Çizelge 3.2. Enterovirüs PZR primerleri

**PENV.F 5'-CCGGCCCCTGAATGC-3'** (452-466)\*

**PENV.R 5'-CACCGGATGGCCAATCCA-3'** (628-645)\*

\*Primer yerleşimleri Coxsackievirus B5 genomuna göre (GenBank erişim numarası X67706) verilmektedir

#### 1 Örnek için PZR Protokolü:

Distile su.....18,7 µl

10x Buffer.....3 µl

MgCl<sub>2</sub> (25mM).....2,4 µl

dNTP (10 mM).....1 µl

Primer (PENV-F) (10pm).....0,8 µl

Primer (PENV-R) (10pm).....0,8 µl

Taq Polimeraz.....0,3 µl

Miks.....27 µl

cDNA.....3 µl

Toplam.....30 µl

Amplifikasyon Ürünü: 193 baz çifti

Yukarıdaki protokol doğrultusunda reaksiyon karışımı (10X Buffer, 25mM Mg<sup>2+</sup>, Taq polimeraz 5U/µl, Biomatik, Wilmington, Delaware, ABD) (10 mM dNTP, Fermentas, ABD) hazırlanır ve tüpler termal döngü cihazına yerleştirilerek 'Çizelge 3.3'teki program çalıştırılır.

Çizelge 3.3. Enterovirüs PZR döngüleri

Derece (°C)	Süre	Döngü
95°C	5 dk	1
95°C	30 sn	} 40
44°C	1 dk	
72°C	1 dk	
72°C	10 dk	1

### 3.5.3. Flavivirüs PZR

Flavivirüs NS5 gen bölgesini hedefleyen genel flavivirüs primerleri kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak 'African green monkey (Vero) cells (ATCC-CCL81)'de üretilen 'WNV NY99-4132' izolatu kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. Pan-Flavivirüs primer dizileri ve viral genomdaki yerleşimleri

1.Tur	5' - GCATCTAYAWCAYNATGGG - 3'	(9035-9053 nt)
	5' - CCANACNYNRTTCCANAC - 3'	(10146-10129 nt)
2.Tur	5' - GCNATNTGGTWTYATGTGG - 3'	(9103-9120 nt)
	5' - CATRTCTTCNGTNGTCATCC - 3'	(10122-10103 nt)

#### 1 Örnek için 1. Tur PZR Protokolü:

Distile su.....19,5 µl

10x Buffer.....3 µl

MgCl<sub>2</sub> (25mM).....2,4 µl

dNTP (10mM).....0,6 µl

NS1.....0,6 µl

NS2.....0,6 µl

TaqPol.....0,3 µl

Miks.....27 µl

cDNA.....3 µl

Toplam.....30 µl

2. Tur: NS3 ve NS4 primerleri ile 1. tur protokolü kullanılır.

Amplifikasyon Ürünü: 960 baz çifti

- Yukarıdaki protokol doğrultusunda reaksiyon karışımı (10X Buffer, 25mM Mg<sup>2+</sup>, Taq polimeraz 5U/µl, Biomatik, Wilmington, Delaware, ABD)(10 mM dNTP, Fermentas, hazırlanır ve tüpler termal döngü cihazına yerleştirilerek 'Çizelge 3.5'teki program çalıştırılır.

Çizelge 3.5. Flavivirüs PZR döngüleri

Derece (°C)	Süre	Döngü
94°C	5 dk	1
94°C	1 dk	40
50°C	3 dk	
72°C	1 dk	
72°C	10 dk	1

### 3.5.4. Flebovirüs PZR

Flebovirüslerin L genomik segmentinde yer alan RNA polimeraz gen bölgesini hedefleyen genel flebovirüs primerleri kullanılmıştır (Sanchez-Seco 2003). Pozitif kontrol olarak 'standart toscana virüs (TOSV) izolatı ISS.Phl.3 suşu ile inoküle edilmiş Vero hücre kültürü süpernatantları' kullanılmıştır.

Çizelge 3.6. Pan-Flebovirüs primer dizileri ve viral genomdaki yerleşimleri

1.Tur	5' - ATGGARGGITTTGTIWSICIICC - 3'	(2047-2069 nt)
	5' - AARTTRCTIGWIGCYTTIARIGTIGC - 3'	(2600-2575 nt)
2.Tur	5' - WTICCIAAICCIYMSAARATG - 3'	(2074-2094 nt)
	5' - TCYTCYTRTTYTTTRARRARCC - 3'	(2318-2296 nt)

I: İnozin, Y: C/T, R: A/G, W: G/C, M: A/C

1 Örnek için 1. Tur PZR Protokolü:

Distile su.....18,3 µl

10x Buffer.....3 µl

MgCl<sub>2</sub> (25mM)..... 2,4 µl

dNTP.....1 µl

N1 (10pm)..... 1 µl

N2 (10pm)..... 1 µl

TaqPol.....0,3 µl

Miks.....27 µl

cDNA.....3 µl

**Toplam.....30 µl**

2.Tur: 2. tur primerleri ile 1. tur protokolü kullanılır.

İlk turdan 1-3 µl amplifikasyon ürünü 2. tura alınır.

Amplifikasyon Ürünü: ~ 250 baz çifti

- Yukarıdaki protokol doğrultusunda reaksiyon karışımı (10X Buffer, 25mM Mg<sup>2+</sup>, Taq polimeraz 5U/µl, Biomatik, Wilmington, Delaware, ABD)(10 mM dNTP, Fermentas, Waltham, Massachusetts, ABD) hazırlanır ve tüpler termal döngü cihazına yerleştirilerek 'Çizelge 3.7'deki program çalıştırılır.

Çizelge 3.7. Flebovirüs PZR döngüleri

Derece (°C)	Süre	Döngü
95°C	5 dk	1
95°C	30 sn	} 40
44°C	1 dk	
72°C	1 dk	
72°C	3 dk	1

### 3.5.5. Amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi

#### Agaroz Jelin Hazırlanması

#### Stok 5X TBE (Tris-Borat-EDTA) solüsyonunun hazırlanması:

- Tris -Base 54 g (Amresco, ABD)
- Borik Asit 27,5 g (Merck, Almanya)
- EDTA 20 ml 0,5 M (pH 8.0) (Sigma, Almanya)

Tris ve borik asit 500 ml distile suda çözülerek üzerine 20 ml 0,5 M EDTA eklenmiş ve toplam hacim distile su ile 1 litreye tamamlanmış ve hazırlanan 5X TBE otoklavlanmıştır. Agaroz jelin hazırlanmasında ve yürütme tamponu olarak kullanılması sırasında 5X TBE stok solüsyonu, 1X'e çevrilerek kullanılmıştır.

1. Stok solüsyonu, 1X TBE'ye çevrilirken; 200 ml 5X TBE, 800 ml distile su içinde dilüe edilmiştir.
2. Jel için 2 gr agaroz (AppliChem, Almanya) tartılarak üzerine 100 ml 1X TBE eklenmiş, mikrodalga fırında agaroz çözününceye kadar ısıtılmıştır.
3. Agaroz çözünürken kaynamamasına dikkat edilmiş, ısıdıktan sonra 55°C'ye kadar soğutulmuş ve içerisine 0,2 µl etidyum bromür (5µl/10ml AppliChem, Almanya) eklenmiştir.
4. Hazırlanan jel, elektroforez tankının içindeki kalıba dökülmüş ve oda sıcaklığında jelin donması için 20 dk bekletilmiştir.

5. Jel donduktan sonra kalıp içindeki taraklar çıkartılmış ve elektroforez tankına (CSCleaver Scientific Inc. Warwickshire, İngiltere) yerleştirilerek jel yüzeyi kaplanana kadar 1X TBE tamponu ile doldurulmuştur.
6. Örneklerden 9 µl alınarak 3 µl yükleme tamponu (Orange G, DNA loading dye, Promega, Medison, ABD) ile pipetaj yapılarak karıştırılmış ve ilk kuyucuk boş bırakılarak kuyucuklara 9'ar µl dağıtılmıştır.
7. İlk kuyucuğa ölçek olarak kullanmak amacıyla 100-1500 baz çifti aralığına sahip 'DNA ladder' (HyperLadderIV 100 bp, BIOLINE, Birleşik Krallık) yüklenmiştir.
8. Güç kaynağı çalıştırılarak (LABNET International Power Station 300, Edison, İngiltere) 90 Voltta 30-40 dakika yürütülmüştür.
9. Yürütme işlemi bittikten sonra jel UV ışığında görüntülenmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

### **3.6. Multipleks PZR Yöntemi ile MSS Enfeksiyonu Etkenlerinin Belirlenmesi**

Merkezi sinir sistemi enfeksiyonuna yol açan 12 viral, 8 bakteriyel ve 2 fungal (Çizelge 3.8) etkeni saptayabilen, gerçek zamanlı PZR yöntemi ile çalışılan ticari bir kit (MeningoFinder® 2SMART, PathoFinder®, Hollanda) kullanılarak, üreticinin talimatları doğrultusunda LightCycler®480 (Roche, Almanya) cihazında çalışılmıştır.

Çizelge 3.8. MeningoFinder® 2SMART kapsamındaki etkenler

**Virüsler**

Herpes simpleks virüs tip 1	Human herpesvirüs 7
Herpes simpleks virus tip 2	Human herpesvirüs 8
Varicella zoster virüs (VZV)	Human enterovirüs
Epstein-Barr virüs (EBV)	Parechovirüs
Sitomegalovirus (CMV)	Kabakulak virüsü
Human herpesvirüs 6	Kızamık virüsü

**Bakteriler**

<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Borrelia miyamotoi</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Escherichia coli</i> K1

**Mantarlar**

<i>Cryptococcus gattii</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
----------------------------	--------------------------------

1 Örnek için Multipleks Ön-Amplifikasyon Protokolü:

Ön-amplifikasyon karışımı.....6,25 µl

MF ön-amplifikasyon primer karışımı.....8,75 µl

DNA/RNA.....10 µl

Toplam.....25 µl

- Buz üzerinde çalışılarak hazırlanan reaksiyon karışımı 0,2 ml'lik kuyucukları olan mikroplağa 15'er µl dağıtılır ve üzerine izole edilen DNA/RNA'lardan 10'ar µl eklenir.
- Pozitif ve negatif kontroller kullanılır.
- Çizelge 3.9'daki gerçek zamanlı PZR programı çalıştırılır ve 50 °C sıcaklığa ulaşılan kadar mikroplak buz üzerinde tutulur, daha sonra cihaza yerleştirilir.

Çizelge 3.9. Multipleks PZR ön amplifikasyon döngüleri

Derece (°C)	Süre	Döngü	Program
50 °C	10 dk	1	Ters Transkripsiyon
95 °C	2 dk	1	Enzim Aktivasyonu
94 °C	20 sn	40	Amplifikasyon
55 °C	20 sn		
72 °C	35 sn		
20 °C	Bekleme	-	

1 Örnek için 1 No'lu Multipleks Gerçek Zamanlı PZR Protokolü:

MF 2SMART Buffer 1 .....	19 µl
Enzim.....	1 µl
<u>Ön amplifikasyon ürünü.....</u>	<u>5 µl</u>
Toplam.....	25 µl

1 Örnek için 2 No'lu Multipleks Gerçek Zamanlı PZR Protokolü:

MF 2SMART Buffer 2 .....	19 µl
Enzim.....	1 µl
<u>Ön amplifikasyon ürünü.....</u>	<u>5 µl</u>
Toplam.....	25 µl

- Hazırlanan reaksiyon karışımları her örnek için iki karışım şeklinde 0,2 ml'lik kuyucukları olan mikroplağa 20'şer µl dağıtılır ve üzerine ön amplifikasyon ürünlerinden 5'er µl eklenir.
- Pozitif ve negatif kontroller kullanılır.
- Light Cyler 480 (Roche, Almanya) cihazına mikroplak yerleştirilir ve Çizelge 3.10'daki PZR programı çalıştırılır.

Çizelge 3.10. Multipleks Gerçek Zamanlı PZR programı

Derece (°C)	Süre	Döngü	Program
95°C	2 dk	1	Denatürasyon
94°C	15 sn	10	Amplifikasyon 1
55°C	15 sn		
72°C	15 sn		
94°C	15 sn	23	Amplifikasyon 2
50°C	15 sn		
72°C	15 sn		
95°C	2 dk	1	Denatürasyon
40°C	90 sn	1	İnkübasyon
40-90°C	-----		Erime, Belirleme
37°C	1 sn		Soğutma

- Çalışmanın sonuçları kalitatif olarak erime eğrisi analizi ile değerlendirilir.

HHV6'nın erime derecesi 78,5°C (77-80°C), HHV7'nin erime derecesi 52,5°C (51-54°C), EV'ün erime derecesi 55°C (53,5-56,5°C), *S. pneumoniae*'nin erime derecesi 69°C (67,5-70,5°C), *S. aureus*'un erime derecesi 63,5°C (62-65°C), *L. monocytogenes*'in erime derecesi 58,5°C (51-54°C) ve internal kontrolün erime derecesi ise 73°C (71,5-74,5°C)'dir.



## 4. BULGULAR

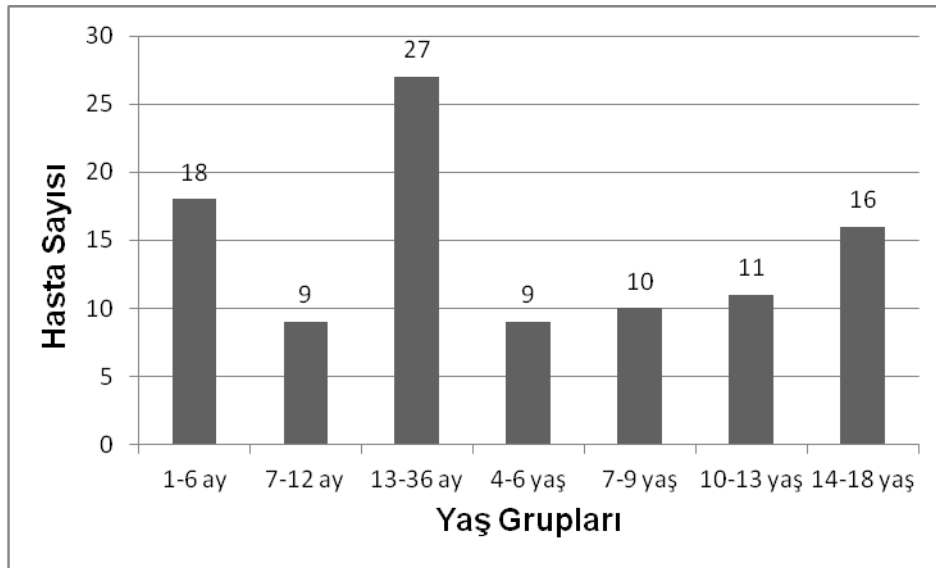
Çalışmamıza alınan toplam 100 hastanın, %61'i (61/100) erkek, %39'u (39/100) kız hastalardan oluşmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Hastaların cinsiyetlerine göre dağılımı (n=100)

Cinsiyet	Sayı	Yüzde (%)
<b>Kız</b>	39	39
<b>Erkek</b>	61	61
<b>Toplam</b>	100	100

Çalışmaya alınan hastalar, yaş dağılımlarına göre 7 farklı gruba ayrılmıştır. Buna göre; hastaların %18'i (18/100) 1-6 aylık yaş grubunda, %9'u (9/100) 7-12 aylık yaş grubunda, %27'si (27/100) 13-36 aylık yaş grubunda, %9'u (9/100) 4-6 yaş grubunda, %10'u (10/100) 7-9 yaş grubunda, %11'i (11/100) 10-13 yaş grubunda ve %16'sı (16/100) 14-18 yaş grubunda bulunmuştur (Şekil 4.1).

Şekil 4.1. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı (n=100)



Hastaların %63'ü (63/100) menenjit öntanısı almış, %28'i (28/100) viral ensefalit öntanısı almış, kalan %9'u ise meningoensefalit, şant enfeksiyonu, suçiçeği, akut flask paralizi gibi ön tanılar almıştır. İki hasta hariç tüm hastalar tam iyileşme göstermiş, ancak menenjit ön tanısı almış ve etiyolojisi belirlenememiş bir hasta ex

olmuş ve viral ensefalit ön tanısı almış ve etiyolojisi belirlenememiş bir hastada ise ensefalit sekeli kalmıştır. Hastaların BOS biyokimyaları Çizelge 4.2'deki gibidir.

Çizelge 4.2. Hastaların BOS biyokimyalarına göre dağılımı

<b>BOS Biyokimyası</b>	<b>Hasta Sayısı (%)</b>
<b>Protein</b>	
Normal (15-45 mg/dl)	12/100 (%12)
Artmış (>45 mg/dl)	80/100 (%80)
Bilinmeyen	8/100 (%8)
<b>Glukoz</b>	
Azalmış (<45 mg/dl ya da eş zamanlı kan şekerinin 1/2'sinden düşük)	35/100 (%35)
Normal (45-80 mg/dl)	53/100 (%53)
Artmış (>80 mg/dl ya da eş zamanlı kan şekerinin 2/3'ünden yüksek )	3/100 (%3)
Bilinmeyen	9/100 (%9)
<b>Hücre</b>	
Normal (0-5/mm <sup>3</sup> )	3/100 (%3)
Artmış (>5/mm <sup>3</sup> )	82/100 (%82)
Bilinmeyen	15/100 (%15)

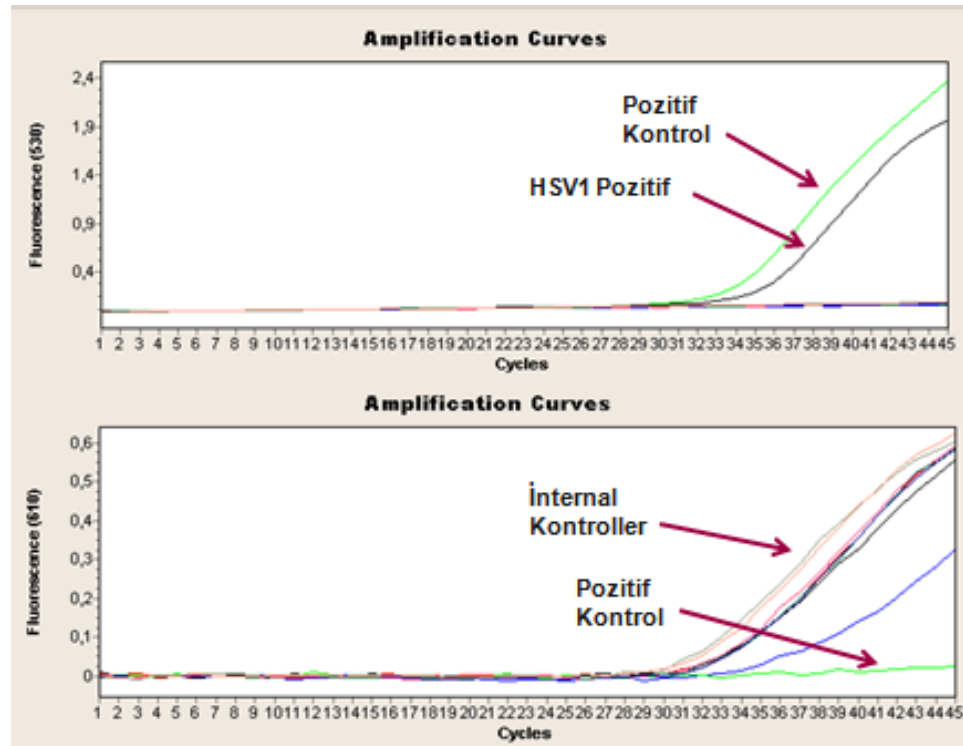
Çalışılan 100 örneğin 7'si (%7) viral etkenler açısından pozitif bulunmuştur. Pozitif örneklerin 2'sinde (%2) HSV1/2'ye özgü gerçek zamanlı PZR yöntemi ile HSV1, 4'ünde (%4) multipleks gerçek zamanlı PZR yöntemi ile HHV6 ve 1'inde (%1) multipleks gerçek zamanlı PZR yöntemi ile EV saptanmıştır (Çizelge 4.3). Enterovirüs, multipleks PZR yöntemi ile pozitif bulunurken, geleneksel PZR yöntemi ile aynı örnek negatif bulunmuştur. HSV1/2'ye özgü gerçek zamanlı PZR yöntemi ile HSV1 pozitif bulunan örneklerde ise, multipleks PZR yöntemi ile HSV1 pozitifliği saptanamamıştır. Çalışılan diğer viral etkenlerde (HSV2, HHV7, flavivirüsler, flebovirüsler) herhangi bir pozitiflik saptanamamıştır. Bakteriyel etkenler açısından ise, 3 (%3) örnek multipleks PZR yöntemi ile pozitif bulunmuştur, bunlar *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes* ve

*Staphylococcus aureus*'tur. Hastaların geriye dönük olarak rutin BOS kültürü sonuçlarına bakıldığında ise, multipleks PZR yöntemi ile pozitif bulunan bakteriyel etkenlerin kültürde de ürediği görülmüştür. Diğer hastaların BOS kültürlerinde bakteri üremesi olmamıştır. Multipleks PZR yöntemi kapsamındaki diğer etkenlerde ise, herhangi bir pozitiflik saptanamamıştır.

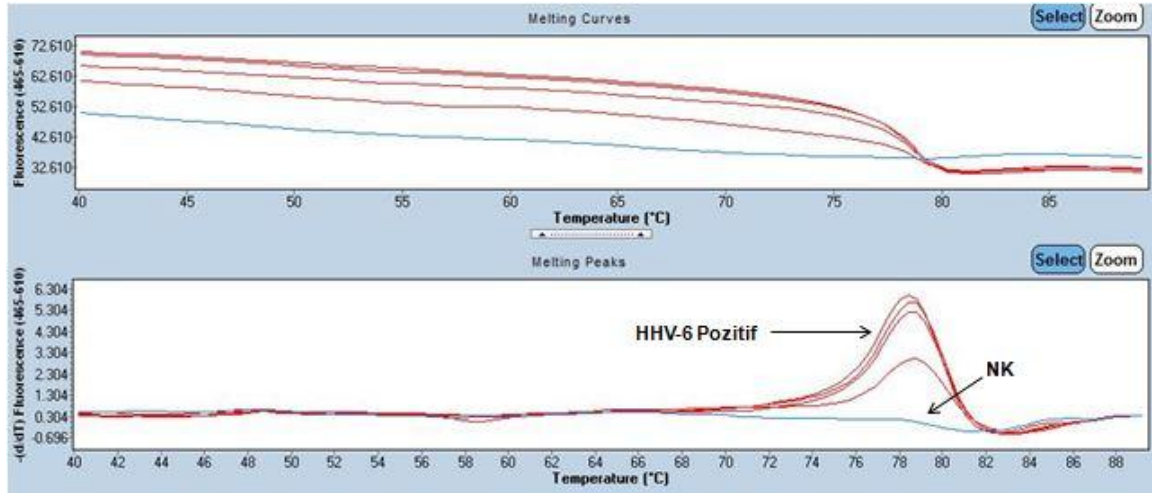
Çizelge 4.3. Pozitif bulunan viral etkenler

Pozitif Viral Etkenler	Yöntem	Pozitif Hasta Sayısı (%)
HSV1	Gerçek Zamanlı PZR	2 (%2)
HHV6	Multipleks Gerçek Zamanlı PZR	4 (%4)
EV	Multipleks Gerçek Zamanlı PZR	1 (%1)
<b>Toplam</b>		<b>7 (%7)</b>

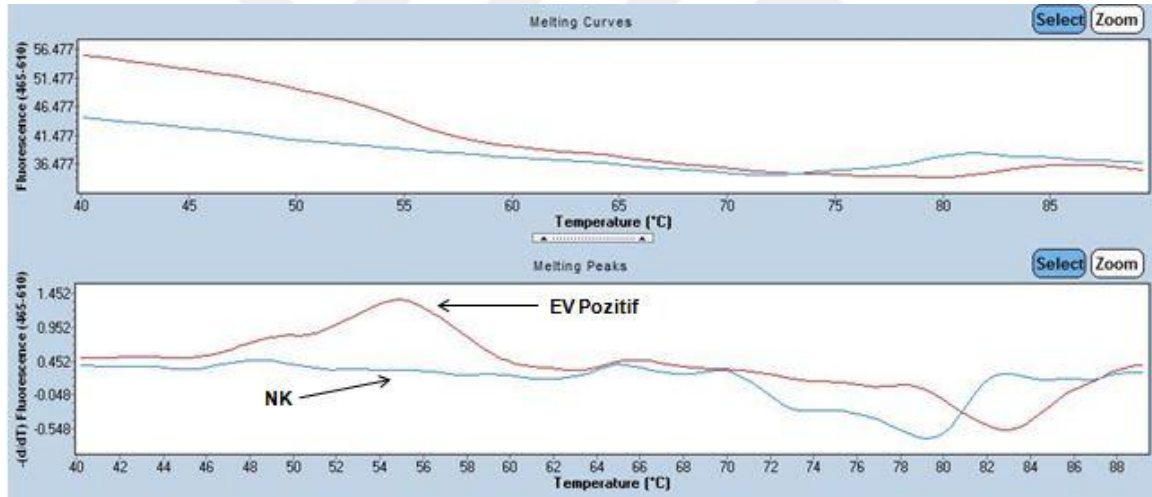
Resim 4.1. HSV1 Gerçek Zamanlı PZR sonuç analizi



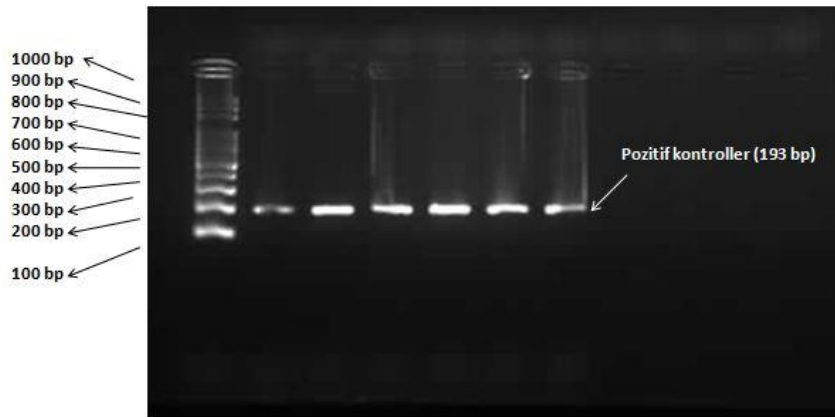
Resim 4.2. HHV6 Gerçek Zamanlı Multipleks PZR sonuç analizi



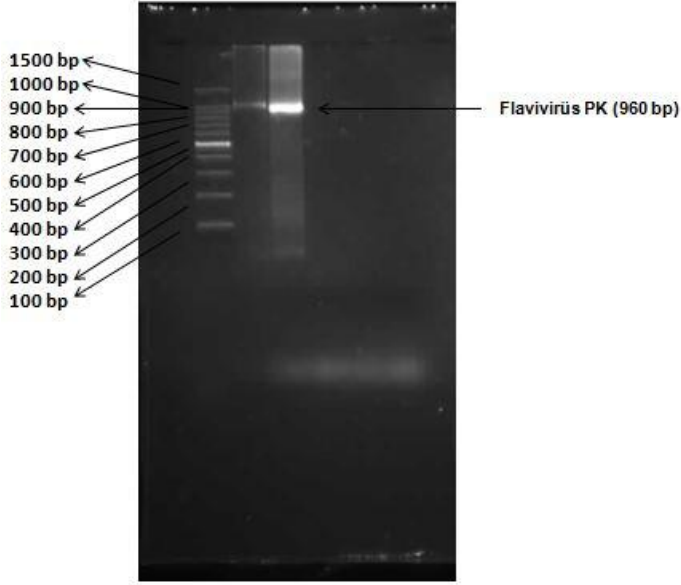
Resim 4.3. Enterovirüs Gerçek Zamanlı Multipleks PZR sonuç analizi



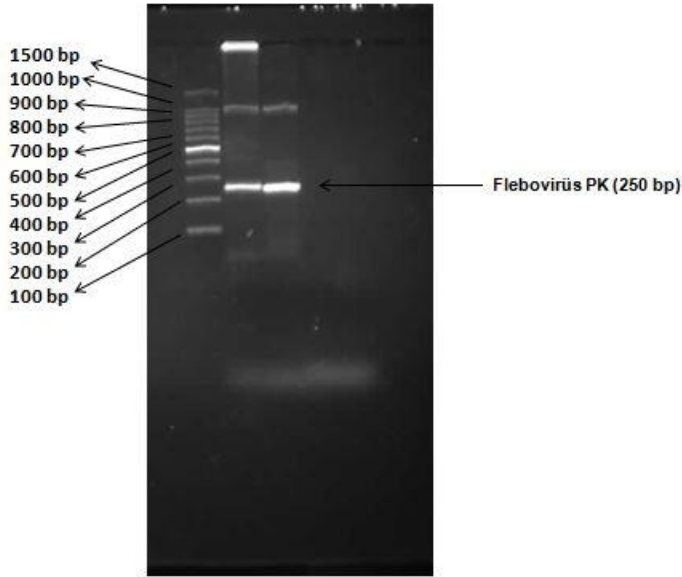
Resim 4.4. Enterovirüs PZR agaroz jel görüntüsü



Resim 4.5. Flavivirüs PZR agaroz jel görüntüsü



Resim 4.6. Flebovirüs PZR agaroz jel görüntüsü



Herpes simpleks virüs tip 1 pozitif bulunan iki hastanın da ateş ve nöbet semptomları mevcuttu ve ensefalit ön tanısı almışlardı. İki yaşında olan kız hastanın BOS biyokimyasında protein değeri artmış (46 mg/dl), glukoz değeri normal (56 mg/dl) aralıktaydı. Diğer HSV1 pozitif örnek ise 4 yaşında, kız hastaya aitti ve protein değeri (34 mg/dl) ile glukoz değeri normal (50 mg/dl) aralıktaydı

(Çizelge 4.4). Human herpes virüs tip 6 pozitif bulunan hastaların klinik bulguları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Enterovirüs pozitif hasta ise, aseptik menenjit ön tanısı almış, 1 aylık kız hastaydı. Ateş, bulantı-kusma ve bilinç bulanıklığı semptomları bulunan hastanın BOS proteini artmış (57 mg/dl), glukozu normal aralıkta (60 mg/dl) idi.

Çizelge 4.4. HSV1 pozitif hastaların demografik ve klinik bulguları

Cinsiyet	Yaş	Klinik Bulgular		BOS Biyokimyası
		Ön Tanı	Semptomlar	Protein/Glukoz (mg/dl)
Kız	2	Ensefalit	Ateş, nöbet	46↑/56
Kız	4	Ensefalit	Ateş, nöbet	34/50

Çizelge 4.5. HHV6 pozitif hastaların demografik ve klinik bulguları

Cinsiyet	Yaş	Klinik Bulgular		BOS Biyokimyası
		Ön Tanı	Semptomlar	Protein/Glukoz (mg/dl)
Kız	6 aylık	Menenjit	Ateş, bulantı-kusma, bilinç bulanıklığı	76↑/61
Kız	3	Ensefalit	Ateş, bulantı-kusma, ÜSYE, bilinç bulanıklığı, nöbet	182↑/75
Erkek	4 aylık	Menenjit	Ateş, diyare, ÜSYE, fontanel bombeliği	40↓/65
Erkek	4	Menenjit	Ateş, nöbet	220↑/30

## 5. TARTIŞMA

Menenjit ve ensefalit, klinisyenlere tanısal ve tedavisel zorluklar yaratarak, geniş çeşitlilikteki enfeksiyöz etiyolojiler nedeniyle meydana gelmektedir. Bunun yanında, hastaların büyük çoğunluğunun, hayatta kalmak ve iyileşmek için acil antimikrobiyal tedavi gerektiren bazı patojenlerle birlikte bilinmeyen etiyolojileri de bulunmaktadır (Hasbun ve diğerleri, 2017).

Bakteriyel BOS kültürleri negatif olan akut nörolojik sendromlar, genellikle meningeal belirtilerin ve bozulmuş beyin fonksiyonlarının varlığı veya yokluğuna göre; aseptik menenjit, ensefalit veya meningoensefalit olarak adlandırılmaktadır. Aseptik MSS enfeksiyonlarının en yaygın sebepleri virüslerdir (EV'ler, herpes virüsler, vb.). Aseptik menenjit ve ensefalitlerin epidemiyolojisi; bazı virüslerin (Japon ensefalit virüsü, KKEV, vb.) tipik coğrafik dağılımlarının olması, bazı virüslerin (Parechovirüs, BNV) yeni alanlarda veya yeni konaklarda (insanlarda BNV) veya immüno-kompromize hastalarda ortaya çıkması nedeniyle sürekli olarak değişmektedir. Ancak, aseptik menenjit veya meningoensefalitlerin önemli bir kısmında, etiyoloji bilinmezliğini korumaktadır (Calleri ve diğerleri, 2017).

Çalışmamızda MSS enfeksiyonu olup etiyolojisi belirlenemeyen çocuk hastaların BOS örneklerinde, dünyada ve ülkemizde en sık karşılaşılan aseptik menenjit ve ensefalit etkenlerinden herpesvirüsler (tip 1, 2, 6, 7) ile enterovirüsler ve son yıllarda önemi artan, yeni ve yeniden ortaya çıkan viral etkenlerin olduğu flavivirüs ve flebovirüs gruplarının araştırılması amaçlanmış ve ayrıca birçok menenjit etkenini saptayan multipleks PZR yöntemi kullanılmıştır. Çalışmaya alınan toplam 100 hastanın 7'sinde (%7); 2'si (%2) HSV1, 4'ü (%4) HHV6, 1'i (%1) EV olmak üzere, viral etkenler pozitif bulunmuştur. Enterovirüs, multipleks PZR yöntemi ile pozitif bulunurken, geleneksel PZR yöntemi ile aynı örnek negatif bulunmuştur. Bunun nedeni, multipleks PZR yönteminde çoğaltılan hedef bölgenin geleneksel PZR'de çoğaltılan hedef bölgeden çok daha kısa olması olabilir. Hastanın klinik durumu EV menenjitiyle uyumlu olsa da, geleneksel PZR ile konfirme edilemediği için EV pozitifliği şüphelidir. Diğer 90 hastanın (%90) etiyolojisi belirlenememiştir. Pozitif bulunan hastaların klinik ve laboratuvar bulguları, elde edilen sonuçlarla uyumlu bulunmuştur.

Herpes simpleks virüs ensefalitinin tipik BOS profilinde, orta miktarda artmış protein (50-100 mg/dl) ve normal glukoz düzeyleri ölçülmektedir (Bradshaw ve Venkatesan, 2016). Çalışmamızda HSV1 DNA saptanan olgularda klinik durum, 2 ve 4 yaşlarındaki kız hastalarda ensefalit şeklindedir ve HSV1 ensefaliti için tipik klinik (ateş, nöbet) ve laboratuvar (artmış/normal BOS proteini ve normal glukoz) bulguları ile seyretmiştir. Ancak HSV1 pozitifliğinin, aynı örneklerde çalışılan multipleks PZR yöntemi ile yakalanamamış olması düşündürücüdür.

Human herpes virüs 6 ise, çoğunlukla immün yetmezlikli transplant hastalarında, latent durumdan reaktif olarak ensefalite yol açabilmektedir. Primer enfeksiyonlarda ensefalit ile daha nadir karşılaşılmaktadır (Agut ve diğerleri, 2016). Bizim HHV6 pozitif saptanan olgularımız, 4 ve 6 aylık ile 3 ve 4 yaşlarında, ensefalit/menenjit öntanısı almış; ateş, bilinç bulanıklığı, nöbet gibi nörolojik semptomları olan immünkompetan hastalardır ve klinik durumları ile uyumlu olarak, BOS örneklerinde multipleks gerçek zamanlı PZR ile HHV6 DNA tespit edilmiştir. Ancak, BOS'ta HHV6 DNA saptanmasının, her zaman etiyojolojiyi veya patolojik reaktivasyonu gösterip göstermediği konusu tartışmalıdır. HHV6, MSS'de latent olarak bulunabildiği ve konak hücre genomuna entegre olabildiği için; sadece BOS'ta HHV6 DNA'nın saptanması, enfeksiyon etkeninin HHV6 olduğuna ait yeterli bir kanıt olmayabilmektedir ve latent virüsün DNA'sının saptanmış olma ihtimali de göz önünde bulundurulmalıdır. Çünkü sağlıklı beyin dokusunda da HHV6'nın tespit edilebildiği daha önce bildirilmiştir. Kesin tanının konabilmesinde, kromozomal entegrasyon ile akut nöroinvazif enfeksiyonu birbirinden ayırmak için, serum ve BOS örneklerinde kantitatif PZR ve/veya litik mRNA'yı saptamak için ters transkriptaz PZR yöntemlerinin kullanılması önerilmektedir (Fotheringham ve diğerleri, 2007; Ongradi ve diğerleri, 2017; Stahl ve diğerleri, 2011).

Dünya genelinde, viral ensefalit ve menenjitler ile ilgili günümüze kadar birçok çalışma ve etiyojoloji taramaları yapılmış ve çeşitli sonuçlar elde edilmiştir.

Erdem ve diğerlerinin (2017), toplumdan kazanılmış MSS enfeksiyonlu hastalarda yaptıkları, ülkemizin de dahil olduğu geniş ve çok uluslu çalışmada 20 ülkeden 37 farklı merkez çalışmaya katılmış ve 2012-2014 yılları arasındaki toplam 2583 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. En sık saptanan patojenler bakteriyel (*S. pneumoniae*, *M. tuberculosis*) olsa da, HSV1 en yüksek oranda nörolojik sekel

bırakan etken olmuş ve HSV1'i EV'ler ile KKEV'ü takip etmiştir. HSV1 çalışılan 811 örneğin %5,6'sında, HSV2 çalışılan 791 örneğin %4,3'ünde ve HHV-6 çalışılan 92 örneğin %3,3'ünde pozitiflikler saptanmıştır. BNV çalışılan 78 örneğin %10'u, KKEV çalışılan 508 örneğin %18'i, EV çalışılan 347 örneğin %25'i ve TOSV çalışılan 4 örneğin %25'i pozitif bulunmuştur. Çağ ve diğerlerinin (2016), herpetik meningoensefalitli hastalardaki çok uluslu çalışmasında ise, 10 ülkeden 35 farklı merkez katılmış ve retrospektif olarak 496 hasta çalışmaya alınmıştır. Hastaların %70,8'i HSV1 DNA, %16,2'si HSV2 DNA ve %12,5'i tiplendirilemeyen HSV DNA pozitif bulunmuştur.

Amerika Birleşik Devletleri'nde 2011-2014 yılları arasında Hasbun ve diğerlerinin (2017), 50 eyaleti kapsayan hastane veri tabanını kullanarak yaptıkları çalışmalarında toplam 26 429 menenjit veya ensefalitli erişkin hasta, MSS enfeksiyonu etkenleri açısından taranmıştır. En yaygın olarak EV'ler (%50,9) saptanmış ve onu, etiyojisi belirlenemeyenler (%18,7), bakteriyel menenjitler (%13,9), HSV (%8,3) ve arbovirüsler (%1,1) takip etmiştir. En yüksek mortalite oranı ise %8,9 ile arbovirüs enfeksiyonu olan hastalarda görülmüştür.

Boucher ve diğerleri (2017), PubMed'de Ocak 2000-Temmuz 2015 tarihleri arasındaki 19 yaş üstü erişkin enfeksiyöz ensefalit literatürlerini taramışlar ve tahmini enfeksiyöz ensefalit insidansını, epidemiler hariç yılda 1,5-7 olgu/100 000 olarak saptamışlardır. Taranan literatürlerin %65'inde, en sık saptanan patojen HSV olmuştur. Enterovirüsler ise, 2 çalışmada en sık saptanan; 5 çalışmada da ikinci ve üçüncü sırada saptanan etkenler olmuştur. Vektör kaynaklı bulaşan ensefalitlerde ise önemli bölgesel farklılıklar olduğu gözlenmiştir.

Calleri ve diğerleri (2017), Turin, Kuzey İtalya'da retrospektif olarak viral menenjit ve meningoensefalitli 138 olguda viral MSS enfeksiyonlarını ve klinik özelliklerini incelemiştir. Enterovirüsler, çoğunluğunun menenjit belirtileri gösterdiği genç hastalarda daha kısa hastane yatışı ve komplikasyon yokluğu ile en yaygın saptanan etkenler olmuştur. Herpesvirüsler ise daha çok ensefalit belirtileri gösteren yaşlı hastalarda, daha uzun hastane yatışı ile komplikasyonlar ve sekellerle saptanmıştır. Hastaların %25,3'ünde Herpesviridae ailesine ait virüsler (16 HSV1, 3 HSV2, 12 VZV, 4 HHV6), %18,8'inde EV'ler ve %5,7'sinde ise TOSV/Dengue virüsü/HIV saptanmıştır.

Çin'de Zhang ve diğerleri (2013), 2002-2012 yılları arasındaki EV ile ilişkili ensefalit olgularını taramışlar; hepsinin EV-B grubuna ait olduğunu ve 2002-2004 ile 2010-2012 yılları arasında E30'un en sık saptandığını görmüşlerdir. Başka bir çalışmada Zheng ve diğerleri (2016) ise, Çin'de E30 ile ilişkili 2014 yazında bir ailede meydana gelen aseptik menenjit salgınına bildirmişlerdir. BOS bulguları menenjit ile uyumlu bulunan ve ateş, baş ağrısı, kusma şikayetleri olan 6 kişilik ailenin tüm üyelerinden alınan dışkı örneklerinden E30 izole edilmiştir.

Cordey ve diğerleri (2017), İsviçre'de 2013-2015 yılları arasında çocuk ve erişkinlerdeki MSS-ilişkili EV enfeksiyonlarını incelemişlerdir. Ateş ve baş ağrısı, en çok görülen şikayetler olmuştur. Toplam 32 pediatrik hastanın 20'sinin (%62,5) hem kan hem de dışkı örnekleri EV pozitifken, 9'unun BOS ve dışkı örnekleri pozitif, 2'sinin BOS ve kan örnekleri pozitifdir. Sadece BOS'ta EV pozitifliği yalnızca 1 olguda saptanmıştır. Toplam 12 erişkin hastanın ise, 3'ünün dışkısı, 6'sının kanı pozitif bulunmuştur. Enterovirüs pozitifliği özellikle yenidoğanlar ve bebekler olmak üzere, 3 yaş altı çocuklar ve 40 yaş altı erişkinlerde daha sık saptanmıştır. En sık saptanan genotip ise, yine E30 olmuştur.

Enterovirüslerin BOS'ta gözlenen viral yükleri görece olarak düşüktür ve çeşitli çalışmaların gösterdiğine göre; bazı EV-ilişkili menenjit olguları, sadece BOS araştırılırsa kaçırılmaktadır ve eş zamanlı olarak kanda da EV'ün araştırılması önerilmektedir (Cordey ve diğerleri, 2017; Harvala, Griffiths, Solomon ve Simmonds, 2014). Bizim çalışmamızda da, sadece BOS örnekleri toplanabildiği için, hastaların diğer klinik örneklerinde EV araştırılmamıştır. Dolayısıyla bazı EV pozitiflikleri kaçırılmış olabilir diye düşünmekteyiz.

Ülkemizde de viral merkezi sinir sistemi enfeksiyonları ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Polat Semerci (2008)'nin Adana'daki çalışmasında HSV1 ve HSV2, PZR yöntemi ile araştırılmış ve 108 aseptik menenjitli, 80 ensefalitli hastadan BOS örnekleri toplanmıştır. Tüm hastaların içinde HSV1 DNA %2,1 (4/188) oranında bulunmuş, HSV2 pozitifliği saptanamamıştır. Sili ve diğerleri (2014), İstanbul'daki çalışmalarında son 10 yıldaki HSV ensefaliti tanısı almış 106 hastayı retrospektif olarak incelemişler ve en yaygın semptomların mental durum değişikliği, ateş, baş ağrısı ve nöbet olduğunu belirtmişlerdir. Hastaların %69'u gibi yüksek bir oranda

PZR yöntemi ile HSV pozitifliği gözlenmiş; mortalite oranı %8, sekelle iyileşme oranı ise %69 oranında saptanmıştır.

Güney ve diğerleri (2003)'nin enteroviral MSS enfeksiyonlu hastalarda yaptıkları çalışmalarında, RT-PZR ve hücre kültürü yöntemleri karşılaştırılmıştır. Çalışmada, 1999-2002 yılları arasında aseptik menenjitli 68 pediatrik hastadan BOS örnekleri toplanmış ve 36'sı hücre kültürü ile, 43'ü RT-PZR yöntemi ile EV pozitif bulunmuş ve E30 olarak tiplendirilmiştir. Hücre kültüründe negatif bulunan 11 örnek ise RT-PZR ile pozitif bulunmuştur. Kılıç ve diğerleri (2011) ise, 2007-2008 yıllarında MSS enfeksiyonu şüphesi olan ve rutin olarak bakteriyel, fungal ve viral etkenlerden HSV ile CMV'nin dışlandığı 66 hastanın BOS örneklerinde RT-PZR ve hücre kültürü yöntemleri ile EV'leri araştırmışlardır. Toplam 3 BOS örneğinde hücre kültürü ile pozitiflik görülürken, bunların 1'inde RT-PZR ile pozitiflik saptanmıştır.

Soylar ve diğerlerinin (2014), Ege Üniversitesi'ne başvuran MSS enfeksiyonlu hastalarda viral etkenleri araştırdıkları çalışmalarında 289 BOS örneği retrospektif olarak değerlendirilmiştir. HSV DNA 2/198 (%1) olguda, EV RNA ise 1/25 (%4) olguda saptanmıştır. Bu etkenlerin dışında %2 (1/46) oranında CMV DNA ve %15 (3/20) oranında ise EBV DNA pozitifliği tespit edilmiştir.

Feyzioğlu (2015)'nin Konya'daki çalışmasında, aseptik menenjit ve ensefalitli 200 hastanın BOS örneklerinde multipleks PZR yöntemi ile herpesvirüsler (HSV1, HSV2, VZV, CMV, EBV, HHV-6) araştırılmış ve aseptik menenjitli hastaların %4,4'ü ve %2,2'sinde, ensefalitli hastaların ise %4,6'sı ve %3,1'inde sırasıyla HSV1 ve VZV etken olarak tanımlanmıştır. Diğer herpesvirüsler etiyolojik etken olarak tespit edilememiştir.

Can Sarınoğlu ve diğerlerinin (2016), Antalya Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran MSS enfeksiyonlu hastaların 2849 BOS örneğinde viral etkenler değerlendirilmiş ve toplam 38 örnekte pozitif saptanmıştır. Bunların içinde EV, HSV1 ve HSV2 sırasıyla %1,8, %1,7 ve %1 oranlarında bulunmuştur.

Zeytinoğlu ve diğerlerinin (2017), İzmir'deki bir üniversitesi hastanesinde yapılan çalışmalarında ise, MSS enfeksiyonlarında viral etiyolojilerin 7 yıllık verileri retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Gerçek zamanlı PZR yöntemi ile toplam 3291 BOS örneğinde çalışılan HSV1, HSV2, CMV, EBV, VZV, HHV6 ve EV

sırasıyla %1,80 (24/1333), %0,08 (1/1333), %3,28 (19/580), %4,35 (22/506), %0,46 (1/216), %1,05 (5/478) ve %3,37 (6/178) oranlarında pozitif saptanmıştır.

Gülseren ve Karakoç (2016), Ankara'da bir hastanedeki menenjit ön tanısı almış hastaların BOS PZR sonuçlarını değerlendirmiş ve multipleks PZR yöntemi ile EV'lerin %4, HSV1'in %0,8 oranında olduğunu görmüşlerdir. Akkaya ve diğerlerinin (2016) Konya'daki çalışmalarında ise, MSS enfeksiyonu ön tanısı olan 470 hastanın BOS örneklerinde multipleks PZR yöntemi ile %25 oranıyla EV en sık saptanan etken olmuştur.

Turhan, Sertöz, Zeytinoğlu, Altuğlu ve Erensoy (2016)'un bir çalışmasında, viral menenjit ön tanısı almış hastaların 13 BOS ve 1 kan örneğinde gerçek zamanlı multipleks PZR yöntemi ile çalışılan bir kitin etkinliği değerlendirilmiştir. Çalışılan 14 örneğin 7'sinde (2 HHV6, 1 EBV+HHV6, 1 EBV+VZV, 1 VZV) sonuçların uyumlu olduğu görülmüştür. Ancak, farklı bir multipleks PZR kiti ile HSV ve EBV pozitif bulunan 2 örnek, yeni kit ile negatif bulunmuştur. Gerçek zamanlı PZR kiti ile EV pozitif bulunan bir örnek ise, yeni kit ile parvovirüs B19 pozitif bulunmuştur.

Şirin ve Göktaş (2016)'ın bildirisinde ise, 66 menenjitli hastanın BOS örnekleri, bizim çalışmamızda kullandığımız aynı multipleks PZR kiti (MeningoFinder 2SMART, Hollanda) ile çalışılmıştır. Buna göre, toplam 19/66 (%28,8) oranında pozitiflik bulunurken, bunların 13'ünü viral etkenler (1 HSV1, 2 parechovirüs, 3 EBV, 4 HHV6, 3 CMV) oluşturmuştur.

Ülkemizde yapılan çalışmalara genel olarak bakıldığında, bizim çalışmamız ile uyumlu olarak düşük miktarda pozitiflik oranları olduğu görülmektedir. Dünya genelinde yapılan çalışmalarda olduğu gibi ülkemizde de en sık saptanan etkenlerin HSV1 ve EV'ler olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda, viral menenjit ve ensefalit etkenlerinin bölgemizdeki durumu değerlendirilmiş ve Ankara'daki iki hastaneden viral menenjit ve ensefalitler ile ilgili veriler elde edilmiştir.

## 6. SONUÇ

Sonuç olarak, çalışmamızda viral merkezi sinir sistemi enfeksiyonu olduğu düşünülen hastaların toplam %7'sinde gerçek zamanlı PZR yöntemi ile HSV1 (%2), HHV6 (%4) ve EV (%1) etkenleri saptanmış, araştırılan diğer viral ensefalit ve menenjit etkenlerinde (HSV2, HHV7, flavivirüsler, flebovirüsler) pozitifliğe rastlanmamıştır. Bölgemizdeki viral menenjit ve ensefalit etkenlerini saptamak amacıyla yapılan bu çalışmada, pozitiflik oranı düşük de olsa epidemiyolojik veriler elde edilmiştir.

Merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarında çok sayıda virüs etken olabilmektedir; ancak menenjit ve ensefalite yol açan viral ajanlar, hem dünya genelinde hem de ülkemizde çoğunlukla tespit edilememektedir. Bu durumda, viral etken yelpazesinin çok geniş olması ve nadir karşılaşılan etkenlerin rutin tanı laboratuvarlarının çoğunda araştırılmamasının da etkisi bulunmaktadır. Herpes simpleks virüs tip 1, başlıca viral ensefalit etkenleri arasında yer alsa da; HHV6 ile, primer enfeksiyon kaynaklı menenjit ve ensefalitlerde daha az karşılaşılmaktadır. Bunun yanında, HHV6'nın latent bir virüs olması ve konak hücre genomuna entegre olabilmesi nedeniyle, merkezi sinir sistemi enfeksiyonu olan her olguda etken olarak kabul edilmesi konusu tartışmalıdır. Enterovirüslerin etken olma durumları ise, hastanın dışkı veya kan gibi diğer klinik örneklerinde de doğrulanarak değerlendirilmelidir. Bizim çalışmamızda sadece BOS örneğinde ve multipleks PZR yöntemi ile pozitiflik saptandığı için enterovirüsün pozitifliği doğrulanamamıştır. Yine de, bu etkenlerin MSS enfeksiyonlarında rolü olma ihtimali olması sebebiyle, tanı algoritmalarında değerlendirilmesi gerekmektedir.

Viral menenjit ve ensefalit enfeksiyonlarının etiyolojilerinin belirlenerek hızlı bir şekilde tanı konması, enfeksiyonun hızlı ilerlemesi ve acil tedavi verilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle, bu tip enfeksiyonların etiyolojilerinin araştırılması gereklidir, ancak konuyla ilgili birçok virüsü içeren geniş kapsamlı çalışma sayısı halen sınırlıdır.



## KAYNAKLAR

- Agut, H., Bonnafous, P., and Gautheret-Dejean, A. (2016) (in press). Update on infections with human herpesviruses 6A, 6B, and 7. *Médecine et maladies infectieuses*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2016.09.004>.
- Akkaya, O., İren Güvenç, H., Yüksekaya, Ş., Opuş, A., Güzelant, A., Kaya, M., Kurtoğlu, M. G., ve Kaya, N. (2016, 16-20 Kasım). *Menenjitte en yaygın etken olan virus ve bakterilerin real-time PCR yöntemi ile saptanması*. 37. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde sunuldu, Antalya.
- Akya, A., Ahmadi, K., Zehtabian, S., Salimi, A., Elahi, A., and Madani, S. H. (2015). Study of the Frequency of Herpesvirus Infections Among Patients Suspected Aseptic Meningitis in the West of Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8(10), e22639.
- Alkan, C., Bichaud, L., Lamballerie, X., Alten, B., Gould, E. A., Charrel R. N. (2013). Sandfly-borne phleboviruses of Eurasia and Africa: Epidemiology, genetic diversity, geographic range, control measures. *Antiviral Research*, 100, 54-74.
- Amanna, I. J., Raué, H-P., and Slifka, M. K. (2012). Development of a new hydrogen peroxide-based vaccine platform. *Nature Medicine*, 18(6), 974-979.
- Arvin, A., Campadelli-Fiume, G., Mocarski, E., Moore, P. S., Roizman, B., Whitley, R., and Yamanishi, K. (Editors) (2007). *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*. Cambridge: Cambridge University Press, PMID: 21348071.
- Ashraf, U., Ye, J., Ruan, X., Wan, S., Zhu, B., and Cao, S. (2015). Usutu Virus: An Emerging Flavivirus in Europe. *Viruses*, 7, 219-238.
- Biller, J., and Ferro, J. (Editors) (2014). *Handbook of Clinical Neurology, Neurologic Aspects of Systemic Disease Part III*. Amsterdam: Elsevier, 1378.
- Boucher, A., Herrmann, J. L., Morand, P., Buzele, R., Crabol, Y., Stahl, J. P., and Mailles, A. (2017). Epidemiology of infectious encephalitis causes in 2016. *Médecine et maladies infectieuses*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2017.02.003>.
- Bradshaw, M. J., and Venkatesan, A. (2016). Herpes Simplex Virus-1 Encephalitis in Adults: Pathophysiology, Diagnosis, and Management. *Neurotherapeutics*, 13, 493–508.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., and Mietzner, T. A. (2010). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology* (Twenty-Fifth Edition). New York: McGraw-Hill, 492-493, 501.
- Cag, Y., Erdem, H., Leib, S., Defres, S., Kaya, S., Larsen, L., Poljak, M., Ozturk-Engin, D., Barsic, B., Argemi, X., Sørensen, S. M., Bohr, A. L., Tattevin, P., Gunst, J. D., Baštáková, L., Jereb, M., Johansen, I. S., Karabay, O., Pekok, A. U., Sipahi, O. R., Chehri, M., Beraud, G., Shehata,

- G., Fontana, R., Maresca, M., Karsen, H., Sengoz, G., Sunbul, M., Yilmaz, G., Yilmaz, H., Sharif-Yakan, A., Kanj, S., Parlak, E., Pehlivanoglu, F., Korkmaz, F., Komur, S., Kose, S., Ulug, M., Bolukcu, S., Coskuner, S. A., Stahl, J. P., Ince, N., Akkoyunlu, Y., Halac, G., Sahin-Horasan, E., Tireli, H., Kilicoglu, G., Al-Mahdawi, A., Nemli, S. A., Inan, A., Senbayrak, S., Vahaboglu, H., and Elaldi, N. (2016). Managing atypical and typical herpetic central nervous system infections: results of a multinational study. *Clinical Microbiology and Infections*, 22(6), 568, e9-568.e17.
- Calleri, G., Libanore, V., Corclone, S., De Rosa, F. G., and Caramello, P. (2017). A retrospective study of viral central nervous system infections: relationship amongst aetiology, clinical course and outcome. *Infection*, 45, 227–231.
- Campadelli-Fiume, G., Mirandola, P., and Menotti, L. (1999). Human Herpesvirus 6: An Emerging Pathogen. *Emerging Infectious Diseases*, 5(3), 353-366.
- Can Sarinoğlu, R., Sağlık, İ., Mutlu, D., Özhak Baysan, B., Ögünç, D., Çolak, D. (2016). Beyin Omurilik Sıvısı Örneklerinden Saptanan Viral Etkenler. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 46(4), 152-158.
- Casaroto, E., Marra, A. R., Coelho, F. M. S., Pinho, J. R. R., Sitnik, R., Colombari, F., Victor, E. S., Muto, N. H., Senne, C., Pavão dos Santos, O. F., and Edmond, M. B. (2013). Improving the diagnosis of meningitis due to enterovirus and herpes simplex virus I and II in a tertiary care hospital. *BMC Infectious Diseases*, 13, 487.
- Cordey, S., Schibler, M., L'Huillier, A. G., Wagner, N., Gonçalves, A. R., Ambrosioni, J., Asner, S., Turin, L., Posfay-Barbe, K. M., and Kaiser, L. (2017). Comparative analysis of viral shedding in pediatric and adult subjects with central nervous system-associated enterovirus infections from 2013 to 2015 in Switzerland. *Journal of Clinical Virology*, 89, 22–29.
- Di Giovine, P., Settembre, E. C., Bhargava, A. K., Luftig, M. A., Lou, H., Cohen, G. H., Eisenberg, R. J., Krummenacher, C., and Carfi, A. (2011). Structure of Herpes Simplex Virus Glycoprotein D Bound to the Human Receptor Nectin-1. *PLoS Pathogens*, 7(9): e1002277. doi:10.1371/journal.ppat.1002277.
- Durmaz Çetin, B., ve Hasman, H. (2004). Herpes ensefalitleri. *Klimik Dergisi*, 17(2), 68-71.
- Dutkiewicz, M., Stachowiak, A., Swiatkowska, A., and Ciesiolka, J. (2016). Structure and function of RNA elements present in enteroviral genomes. *Acta Biochimica Polonica*, 63(4), 623-630.
- Elliot, R., M., and Brennan, B. (2014). Emerging phleboviruses. *Current Opinion in Virology*, 5, 50–57.
- Elliot, R. M. (2014). Orthobunyaviruses: recent genetic and structural insights. *Nature Reviews Microbiology*, 12, 673-685.
- Erdem, H., Inan, A., Guven, E., Hargreaves, S., Larsen, L., Shehata, G., Pernicova, E., Khan, E., Bastakova, L., Namani, S., Harxhi,

- A., Roganovic, T., Lakatos, B., Uysal, S., Sipahi, O. R., Crisan, A., Miftode, E., Stebel, R., Jegorovic, B., Fehér, Z., Jekkel, C., Pandak, N., Moravveji, A., Yilmaz, H., Khalifa, A., Musabak, U., Yilmaz, S., Jouhar, A., Oztoprak, N., Argemi, X., Baldeyrou, M., Bellaud, G., Moroti, R. V., Hasbun, R., Salazar, L., Tekin, R., Canestri, A., Čalkić, L., Praticò, L., Yilmaz-Karadag, F., Santos, L., Pinto, A., Kaptan, F., Bossi, P., Aron, J., Duissenova, A., Shopayeva, G., Utaganov, B., Grgic, S., Ersoz, G., Wu, A. K., Lung, K. C., Bruzsa, A., Radic, L. B., Kahraman, H., Momen-Heravi, M., Kulzhanova, S., Rigo, F., Konkayeva, M., Smagulova, Z., Tang, T., Chan, P., Ahmetagic, S., Porobic-Jahic, H., Moradi, F., Kaya, S., Cag, Y., Bohr, A., Artuk, C., Celik, I., Amsilli, M., Gul, H. C., Cascio, A., Lanzafame, M., and Nassar, M. (2017) (Baskida). The burden and epidemiology of community-acquired central nervous system infections: a multinational study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, doi: 10.1007/s10096-017-2973-0. [Epub ahead of print].
- Ergünay, K., Ayhan, N., and Charrel, R. (2016). Novel and emergent sandfly - borne phleboviruses in Asia Minor: a systematic review. *Reviews of Medical Virology*, doi: 10.1002/rmv.1898, 1-12.
- Ergünay, K., Gunay, F., Oter, K., Erisoz Kasap, O., Orsten, S., Akkutay, A. Z., Erdem, H., Ozkul, A., and Alten, B. (2013). Arboviral Surveillance of Field-Collected Mosquitoes Reveals Circulation of West Nile Virus Lineage 1 Strains in Eastern Thrace, Turkey. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 13(10), 744-752.
- Ergünay, K., and Koçak Tufan, Z. (2014). Overview of West Nile Virus and Sandfly-borne Phlebovirus Infections in Anatolia. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, Special Issue 1, 22-31.
- Ergünay, K., Sayiner, A. A., Litzba, N., Lederer, S., Charrel, R., Kreher, P., Us, D., Niedrig, M., Özkul, A., and Haşçelik, G. (2012). Multicentre evaluation of central nervous system infections due to Flavi and Phleboviruses in Turkey. *Journal of Infection*, 65, 343-349.
- Feyzioğlu, B. (2015). *Aseptik Meningenit/Ensefalitli Hastalarda Herpes Viruslerinin Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve ELISA Yöntemleriyle Araştırılması*, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 48.
- Fotheringham, J., Akhyani, N., Vortmeyer, A., Donati, D., Williams, E., Oh, U., Bishop, M., Barrett, J., Gea-Banacloche, J., and Jacobson, S. (2007). Detection of Active Human Herpesvirus-6 Infection in the Brain: Correlation with Polymerase Chain Reaction Detection in Cerebrospinal Fluid. *The Journal of Infectious Diseases*, 195, 450-4.
- Gaeta, A., Verzaro, S., Cristina, L. M., Mancini, C., and Nazzari, C. (2009). Diagnosis of neurological herpesvirus infections: real time PCR in cerebral spinal fluid analysis. *NEW MICROBIOLOGICA*, 32, 333-340.
- Gaieski, D. F., Nathan, B. R., and O'Brien, N. F. (2015). Emergency Neurologic Life Support: Meningitis and Encephalitis. *Neurocrit Care*, 23, 110-118.

- Goodpasture, E. W. (1993). Herpetic infection, with especial reference to involvement of the nervous system. 1929. *Medicine*, 72, 125-132.
- Gülseren, Y. D., Karakoç, A. E. (2016, 25-28 Şubat). *Menenjit ön tanılı hastaların BOS örneklerinde multipleks PCR ile dört yıllık etken analizi*. 1. Ulusal Viroloji Günleri'nde sunuldu, Ankara.
- Guney, C., Ozkaya, E., Yapar, M., Gumus, I., Kubar, A., Doganci, L. (2003). Laboratory diagnosis of enteroviral infections of the central nervous system by using a nested RT-polymerase chain reaction (PCR) assay. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 47, 557-562.
- Harvala, H., Griffiths, M., Solomon, T., Simmonds, P. (2014). Distinct systemic and central nervous system disease patterns in enterovirus and parechovirusinfected children. *The Journal of Infection*, 69, 69-74.
- Hasbun, R., Rosenthal, N., Balada-Llasat, J. M., Chung, J., Duff, S., Bozzette, S., Zimmer, L., and Ginocchio, C. C. (2017) (in press). Epidemiology of Meningitis and Encephalitis in the United States from 2011-2014. *Clin Infect Dis*, doi: 10.1093/cid/cix319. [Epub ahead of print].
- Hornak, K. E., Lanchy, J. M., and Lodmell, J. S. (2016). RNA Encapsidation and Packaging in the Phleboviruses. *Viruses*, 8, 194.
- Huang, W., Wang, G., Zhuge, J., Nolan, S. M., Dimitrova, N., and Fallon, J. T. (2015). Whole-Genome Sequence Analysis Reveals the Enterovirus D68 Isolates during the United States 2014 Outbreak Mainly Belong to a Novel Clade. *Nature Scientific Reports*, 5:15223 | DOI: 10.1038/srep15223.
- Jaijakul, S., Arias, C. A., Hossain, M., Arduino, R. C., Wootton, S. H., and Hasbun, R. (2012). Toscana meningoencephalitis: A comparison to other viral central nervous system infections. *Journal of Clinical Virology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2012.07.007>.
- Jain, S., Patel, B., and Bhatt, G. C. (2014). Enteroviral encephalitis in children: clinical features, pathophysiology, and treatment advances. *Pathogens and Global Health*, 108(5), 216-222.
- Jaques, D. A., Bagetakou, S., L'Huillier, A. G., Bartoli, A., Vargas, M. I., Fluss, J., and Kaiser, L. (2016). Herpes simplex encephalitis as a complication of neurosurgical procedures: report of 3 cases and review of the literature. *Virology Journal*, 13, 83.
- Jarrin, I., Sellier, P., Lopes, A., Morgand, M., Makovec, T., Delcey, V., Champion, K., Simoneau, G., Green, A., Mouly, S., Bergmann, J. F., and Lloret-Linares, C. (2016). Etiologies and Management of Aseptic Meningitis in Patients Admitted to an Internal Medicine Department. *Medicine*, 95(2), 1-9.
- Joshi, Y. V., Kim E.-H., Kim J.-H., Kim H., and Cheong, H.-K. (2016). Associations between Meteorological Factors and Aseptic Meningitis in Six Metropolitan Provinces of the Republic of Korea. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13, 1193.

- Kaewpoowat, Q., Salazar, L., Agullere, E., Wootton, S. H., and Hasbun, R. (2016). Herpes simplex and varicella zoster CNS infections: clinical presentations, treatments and outcomes. *Infection*, 44, 337–345.
- Kennedy, P. G. E. (2005). Viral encephalitis. *Journal of Neurology*, 252, 268-272.
- Kılıç, İ., Altuğlu, İ., Çiçek, C., Pullukçu, H., Bayram, N., Şirin, H., Erensoy, S. (2011). Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonu Etkeni Enterovirusların RT-PCR ve Hücre Kültür Yöntemleri ile Saptanması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 45(3), 468-477.
- Krow-Lucal, E., Lindsey, N. P., Lehman, J., Fischer, M., and Staples, J. E. (2017). West Nile Virus and Other Nationally Notifiable Arboviral Diseases — United States, 2015. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 66(2), 51-55.
- Kukhanova, M. K., Korovina, A. N., and Kochetkov, S. N. (2014). Human Herpes Simplex Virus: Life Cycle and Development of Inhibitors. *Biochemistry (Moscow)*, 79, 13, 1635-1652.
- Liu, N., Jia, L., Yin, J., Wu, Z., Wang, Z., Li, P., Hao, R., Wang, L., Wang, Y., Qiu, S., and Song, H. (2014). An outbreak of aseptic meningitis caused by a distinct lineage of coxsackievirus B5 in China. *International Journal of Infectious Diseases*, 23, 101–104.
- Londono-Renteria, B., Troupin, A., and Colpitts, T. M. (2016). Arbovirosis and potential transmission blocking vaccines. *Parasites & Vectors*, 9, 516.
- Lopez-Denman, A. J., and Mackenzie, J. M. (2017). The IMPORTance of the Nucleus during Flavivirus Replication. *Viruses*, 9, 14.
- Magurano, F., Baggieri, M., Gattuso, G., Fortuna, C., Remoli, M. E., Vaccari, G., Zaccaria, G., Marchi, A., Bucci, P., Benedetti, E., Fiorentini, C., and Nicoletti L. (2014). Toscana Virus Genome Stability: Data from a Meningoencephalitis Case in Mantua, Italy. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 14(12), 866-869.
- Mao, Q., Wang, Y., Bian, L., Xu, M., and Liang, Z. (2016). EV-A71 vaccine licensure: a first step for multivalent enterovirus vaccine to control HFMD and other severe diseases. *Emerging Microbes & Infections*, 5, e75; doi:10.1038/emi.2016.73.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., and Pfaller, M. A. (2010). *Medical Microbiology*. (Seventh edition). Philadelphia: Elsevier Saunders, 465, 466, 549, 550.
- Oliveira, D. B., Candiani, T. M., Franco-Luiz, A. P. M., Almeida, G. M. F., Abrahão, J. S., Rios, M., Coimbra, R. S., and Kroon, E. G. (2017). Etiological agents of viral meningitis in children from a dengue-endemic area, Southeast region of Brazil. *Journal of the Neurological Sciences*, 375, 390–394.
- Oliveira, E. R. A., Mohana-Borges, R., de Alencastro, R., B., and Horta, B. A. C. (2017). The flavivirus capsid protein: Structure, function and perspectives towards drug design. *Virus Research*, 227, 115-123.

- Ongradi, J., Ablashi, D. V., Yoshikawa, T., Sterez, B., and Ogata, M. (2017). Roseolovirus-associated encephalitis in immunocompetent and immunocompromised individuals. *Journal of Neurovirology*, 23, 1–19.
- Perlejewski, K., Popiel, M., Laskus, T., Nakamura, S., Motooka, D., Stokowy, T., Lipowski, D., Pollak, A., Lechowicz, U., Cortes, K. C., Stepień, A., Radkowski, M., and Bucowska-Osko, I. (2015). Next-generation sequencing (NGS) in the identification of encephalitis-causing viruses: Unexpected detection of human herpesvirus 1 while searching for RNA pathogens. *Journal of Virological Methods*, 226, 1–6.
- Perng, G.-C., and Chen, W.-J. (2013). Arboviral Encephalitis. In Tkachev, S. (Ed.), *Encephalitis*, InTech, 75, doi: 10.5772/52327.
- Pettersson, J. H. -O. (2013). *The Origin of the Genus Flavivirus and the Ecology of Tick-Borne Pathogens*. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology 1100, Uppsala: Acta Universitatis Upsaliensis, 60.
- Pierce, K. K., Whitehead, S. S., Kirkpatrick, B. D., Grier, P. L., Jarvis, A., Kenney, H., Carmolli, M. P., Reynolds, C., Tibery, C. M., Lovchik, J., Janiak, A., Luke, C. J., Durbin, A. P., and Pletnev, A. G. (2017). A Live Attenuated Chimeric West Nile Virus Vaccine, rWN/DEN4Δ30, Is Well Tolerated and Immunogenic in Flavivirus-Naive Older Adult Volunteers. *The Journal of Infectious Diseases*, 215, 52–5.
- Pick, A. (1886). Zur Pathologie und Therapie einer eigenthümlichen endemischen Krankheitsform. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 33, 1141-1145.
- Polat Semerci, F. Aseptik Menenjit/Ensefalitli Hastalarda Herpes Grubu Virusların Araştırılması, Uzmanlı Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 61.
- Rastogi, M., Sharma, N., and Singh, S. K. (2016). Flavivirus NS1: a multifaceted enigmatic viral protein. *Virology Journal*, 13, 131.
- Rechenchoski, D. Z., Faccin-Galhardi, L. C., Carvalho Linhares, R. E., and Nozawa, C. (2017). Herpesvirus: an underestimated virus. *Folia Microbiology*, 62, 151-156.
- Richman, D. D., Whitley, R. J., and Hayden, F. G. (Editors). (2002). *Clinical Virology*. Washington, DC: ASM Press, 27, 921, 922, 1097.
- Romero, J. R., and Newland, J. G. (2003). Viral Meningitis and Encephalitis: Traditional and Emerging Viral Agents. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, 14(2), 72-82.
- Rust, R. S. (2012). Human Arboviral Encephalitis. *Seminars in Pediatric Neurology*, 19, 130-151.
- Salimi, H., Cain, M. D., and Klein, R. S. (2016). Encephalitic Arboviruses: Emergence, Clinical Presentation, and Neuropathogenesis. *Neurotherapeutics*, 13, 514-534.

- Sanchez-Seco, M. P., Echevarria, J. M., Hernandez, L., Estevez, D., Navarro-Mari, J. M., and Tenorio, A. (2003). Detection and identification of Toscana and other phleboviruses by RT-nested-PCR assays with degenerated primers. *Journal of Medical Virology*, 71(1), 140-9.
- Sili, U., Kaya, A., Mert, A., and HSV Encephalitis Study Group. (2014). Herpes simplex virus encephalitis: Clinical manifestations, diagnosis and outcome in 106 adult patients. *Journal of Clinical Virology*, 60, 112–118.
- Simmonds, P., Becher, P., Bukh, J., Gould, E. A., Meyers, G., Monath, T., Muerhoff, S., Pletnev, A., Rico-Hesse, R., Smith, D. B., Stapleton, J. T., and ICTV Report Consortium. (2017). ICTV Virus Taxonomy Profile: Flaviviridae. *Journal of General Virology*, 98, 2–3.
- Soylar, M., Altuğlu, İ., Sertöz, R., Aydın, D., Akkoyun, F., ve Zeytinoğlu, A. (2014). Ege Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran santral sinir sistemi enfeksiyonu olgularında saptanan viral etkenler. *Ege Tıp Dergisi / Ege Journal of Medicine*, 53(2), 65-70.
- Spiegel, M., Plegge, T., and Pöhlmann, S. (2016). The Role of Phlebovirus Glycoproteins in Viral Entry, Assembly and Release. *Viruses*, 8, 202.
- Stahl, J. P., Mailles, A., Dacheux, L., and Morand, P. (2011). Epidemiology of viral encephalitis in 2011. *Médecine et maladies infectieuses*, 41, 453–464.
- Studahl, M., Lindquist, L., Eriksson, B. M., Günther, G., Bengner, M., Franzen-Röhl, E., Fohlman, J., Bergström, T., and Aurelius, E. (2013). Acute Viral Infections of the Central Nervous System in Immunocompetent Adults: Diagnosis and Management. *Drugs*, 73, 131–158.
- Şirin, C. M., Göktaş, Ş. (2016, 16-20 Kasım). *Real-Time Multiplex PCR yöntemi kullanarak, 23 menenjit etkeni ile ilgili aldığımız sonuçlar*. 37. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde sunuldu, Antalya.
- Turhan, A., Sertöz, R., Zeytinoğlu, A., Altuğlu, İ., ve Erensoy, S. (2016, 25-28 Şubat). *FTD Neuro9 Multiplex Gerçek Zamanlı PCR Kiti Sonuçlarının Değerlendirilmesi – Ön Çalışma*. 1. Ulusal Viroloji Günleri'nde sunuldu, Ankara.
- Tyler, K. L. (2009). Emerging Viral Infections of the Central Nervous System. *Archives of Neurology*, 66(8), 939–948.
- van der Linden, L., Wolthers, K. C., and van Kuppeveld, F. J. M. (2015). Replication and Inhibitors of Enteroviruses and Parechoviruses. *Viruses*, 7, 4529-4562.
- Vollbach, S., Müller, A., Drexler, J. F., Simon, A., Drosten, C., Eis-Hübinger, A. M., and Panning, M. (2015). Prevalence, type and concentration of human enterovirus and parechovirus in cerebrospinal fluid samples of pediatric patients over a 10-year period: a retrospective study. *Virology Journal*, 12, 199.
- Us, A. D., ve Ergünay, K. (Editörler) (2012). *Moleküler, Klinik ve Tanısal VİROLOJİ*, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 273, 277, 400, 404.

- Whitley, R. J., and Gnann, J. W. (2002). Viral encephalitis: familiar infections and emerging pathogens. *Lancet*, 359, 507–14.
- Whitley, R. J. (2015). Herpes simplex infections of the central nervous system. *Continuum (Minneapolis, Minn)*, 21(6), 1704–1713.
- Xie, Y., Tan, Y., Chongsuvivatwong, V., Wu, X., Bi, F., Hadler, S. C., Jiraphongsa, C., Sornsrivichai, V., Lin, M., and Quan, Y. (2015). A Population-Based Acute Meningitis and Encephalitis Syndromes Surveillance in Guangxi, China, May 2007-June 2012. *PLoS ONE*, 10(12), e0144366, doi:10.1371/journal.pone.0144366.
- Yamshchikov, V., Manuvakhova, M., Rodriguez, E., and Hébert, C. (2017). Development of a human live attenuated West Nile infectious DNA vaccine: Identification of a minimal mutation set conferring the attenuation level acceptable for a human vaccine. *Virology*, 500, 122–129.
- Yavarian, J., Gavvami, N., and Mamishi, S. (2014). Detection of Human Herpesvirus 6 in Cerebrospinal Fluid of Children With Possible Encephalitis. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(9), e11821.
- Yi, E.-J., Shin, Y.-J., Kim, J.-H., Kim, T.-G., and Chang, S.-Y. (2017). Enterovirus 71 infection and vaccines. *Clinical and Experimental Vaccine Research*, 6, 4-14.
- Zarroouk, K., Piret, J., and Boivin, G. (2017) (in press). Herpesvirus DNA polymerases: Structures, functions and inhibitors. *Virus Research*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2017.01.019>.
- Zeytinoğlu, A., Erensoy, S., Sertöz, R., Altuğlu, İ., Çiçek, C., Kayın, M., Şirin, H., Taner, Ş. (2017). Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonlarında Viral Etiyolojinin İzmir’de Bir Üniversite Hastanesinin Yedi Yıllık Verileri Üzerinden Değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 51(2), 127-135.
- Zhang, L., Yan, J., Ojcius, D. M., Lv, H., Miao, Z., Chen, Y., Zhang, Y., and Yan, J. (2013). Novel and Predominant Pathogen Responsible for the Enterovirus-Associated Encephalitis in Eastern China. *PLoS ONE*, 8(12), e85023.
- Zheng, S., Ye, H., Yan, J., Xie, G., Cui, D., Yu, F., Wang, Y., Yang, X., Zhou, F., Zhang, Y., Tian, X., and Chen, Y. (2016). Laboratory diagnosis and genetic analysis of a family clustering outbreak of aseptic meningitis due to echovirus 30. *Pathogens and Global Health*, 110(6), 233-237.
- Zuckerman, A. J., Banatvala, J. E., Schoub, B. D., Griffiths, P., and Mortimer, P. (Editors). (2009). *Principles and Practice of Clinical Virology*, Chichester: Wiley-Blackwell, 602.



**EKLER**

## EK-1. Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Değerlendirme Formu

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU  
DEĞERLENDİRME FORMU

DEĞERLENDİRME KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara
TELEFON	0312 202 69 58
FAKS	0312 202 46 73
E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Türkiye'de santral sinir sistemi enfeksiyonlarının etiyolojisinin Ankara'da iki merkezde değerlendirilmesi		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Hasan TEZER		
	UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ <input type="checkbox"/>	AKADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>	
		DİĞER <input type="checkbox"/>	(Bireysel Araştırma Projesi)	
	İLAÇ DIŞI ARAŞTIRMA <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> İLAÇ DIŞI GİRİŞİMSSEL <input checked="" type="checkbox"/> İLAÇ DIŞI GİRİŞİMSSEL OLMAYAN 4-Rutin takip ve tedavi sırasında elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar		
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon No	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİL. GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>		
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>		

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 341	Toplantı tarihi: 16.11.2011
	Üniversitemiz Tıp Fakültesinde Doç.Dr.Hasan Tezer'in sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıdaki künyede kayıtlı başvuru bilgileri verilen, Bireysel Araştırma Projesi olan klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına G.Ü.T.F. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir	

ETİK KURUL BİLGİLERİ								
ÇALIŞMA ESASI	Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesinin son versiyonu, İy Klinik Uygulamaları (Uluslararası ICH-GCP) kılavuzu ve bununla ilgili 2001/20/EC ve 2005/28/EC sayılı Avrupa Birliği direktifleri, Biyoloji ve Tıbbın uygulanması bakımından İnsan Hakları ve İnsan haysiyetinin korunması sözleşmesi ve İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesinin onaylanmasının uygun bulunduğu dair kanun (9.12.2003 tarihli 25311 sayılı Resmi Gazete), 2547 sayılı Yükseköğretim Kanunu (06.11.1981 tarihli 17506 sayılı Resmi Gazete), Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İy Klinik Uygulamaları Kılavuzu							
	ETİK KURUL BAŞKANI ÜNVANI/ADI/SOYADI: Prof.Dr.Canan ULUOĞLU							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *		Katılım **		İmza
Prof.Dr.Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Canan Uluoğlu</i>
Doç.Dr.Arzu BAKIRTAŞ BAŞKAN YRD	Çocuk Sağ. ve Hast. Çocuk Allerji	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Arzu Bakırtaş</i>
Prof.Dr.Gonca AKBULUT RAPORTÖR	Fizyoloji	G.Ü.T.F Fizyoloji A.D.	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Gonca Akbulut</i>

EK-1.(devam) Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Değerlendirme Formu

Prof Dr Füsün BOZKIRLI UYE	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	G.Ü.T.F Anest.ve Rea. A.D	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Emin TÜRKÖZ UYE	Restoratif Diş Tedavisi ve Endodonti	G.Ü.D.F Restoratif Diş Ted ve Endodonti A.D	E	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Seyhan ERSAN UYE	Farmasötik Kimya	G.Ü.E.F (Ecz.Mes.Bil.) Farmasötik Kimya A.D.	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Sefer AYCAN UYE	Halk Sağlığı	G.Ü.T.F Halk Sağlığı A.D	E	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU UYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F Tıbbi Biyokimya A.D	E	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Öznur L. BOYUNAĞA UYE	Radyoloji	G.Ü.T.F Radyoloji A.D	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Galip GUZ UYE	İç Hastalıkları Erişkin Nefroloji	G.Ü.T.F İç Hastalıkları A.D.	E	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Aylar POYRAZ UYE	Tıbbi Patoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Patoloji A.D	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Prof.Dr.Metin YILMAZ UYE	Kulak-Burun-Boğaz Hast	Kulak-Burun-Boğaz Hast A.D	E	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU UYE	Tıp Etiği ve Tıp Tarihi	G.Ü.T.F Tıp Etiği ve Tıp Tarihi A.D	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Doç.Dr.Biröl DEMİREL UYE	Adli Tıp	G.Ü.T.F Adli Tıp A.D.	E	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Huk.Müş Adem GELİR UYE	Hukuk Müşavirliği	Rektörlük Hukuk Müşavirliği	E	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Emine ŞEKER UYE	Sivil Temsilci	Sivil Temsilci	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

- \* :Araştırma ile İlişki  
\*\* :Toplantıda Bulunma

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ALTAY KOÇAK, Aylin  
 Uyruğu : T.C  
 Doğum tarihi ve yeri : 19.06.1987, İstanbul  
 Medeni hali : Evli  
 Telefon : 0537 450 12 17  
 e-mail : aylnalty@hotmail.com



### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi, Mikrobiyoloji AD	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi, Mikrobiyoloji AD	2012
Lisans	Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü	2010
Lise	Bursa Cumhuriyet Lisesi	2004

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2014-2017	Gazi Üni. Tıp Fak. Hastanesi Moleküler Mikrobiyoloji Lab.	Biyolog

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

- Altay A**, Bozdayi G. Norovirüsün genomik yapısı, replikasyonu ve epidemiyolojisi [Genomic Structure, Replication and Epidemiology of Norovirus]. Flora 2012; 17(1): 1-10. (Review)
- Altay A**, Bozdayi G, Meral M, Dallar Bilge Y, Dalgic B, Özkan S, Ahmed K. [Investigation of Norovirus Infection Incidence Among 0-5 Years Old

Children with Acute Gastroenteritis Admitted to Two Different Hospitals in Ankara, Turkey]. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47(1): 98-108.

3. Yuksel E, Yalcin NG, Kilic G, Cubuk MO, Ozmen MC, **Altay A**, Çağlar K, Bilgihan K. Microbiologic Examination of Bandage Contact Lenses Used after Corneal Collagen Cross-linking Treatment. *Ocul Immunol Inflamm*. 2015 Mar 11:1-6. [Epub ahead of print]
4. Kalkancı A, Fouad AA, Erdoğan M, **Altay A**, Aliyeva Z, Bozdayı G, Çağlar K. [Using *Galleria mellonella* as an in vivo model to study the virulence of some bacterial and fungal agents]. *Mikrobiyol Bul*. 2015 Jul;49(3):366-76.
5. **Altay A**, Yahiro T, Bozdayi G, Matsumoto T, Sahin F, Ozkan S, Nishizono A, Söderlund-Venermo M, Ahmed K. Buvavirus genotype 3 in Turkish children with severe diarrhoea. *Clin Microbiol Infect*. 2015 Oct;21(10):965.e1-4. doi: 10.1016/j.cmi.2015.06.006. Epub 2015 Jun 15.
6. Çolak M, **Altay A**, Erten Y, Özkurt ZN, Özkan S, Pınar A, Bozdayı G. [Investigation of BK and JC Virus DNA Positivities by Real-Time Polymerase Chain Reaction in Immunosuppressive Patients]. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2015; 1(1):12-21.
7. Bozdayi G, **Altay A**, Yahiro T, Ahmed S, Meral M, Dogan B, Dinc B, Yeniaras A, Bilge YD, Ahmed K. Re-emergence of genotype G9 during a five-and-a-half-year period in Turkish children with rotavirus diarrhea. *Arch Virol*. 2016 Oct;161(10):2879-84. doi: 10.1007/s00705-016-2986-5. Epub 2016 Jul 21.
8. Tüney İ, **Altay A**, Ergünay K, Önder SÇ, Usubütün A, Salman MC, Bozdayi G, Karabulut E, Badur OS, Yüce K, Pınar A. HPV types and E6/E7 mRNA expression in cervical samples from Turkish women with abnormal cytology in Ankara, Turkey. *Turk J Med Sci*. 2017 Feb 27;47(1):194-200. doi: 10.3906/sag-1508-155.

## Hobiler

Kitaplar, müzik, spor



*GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..*