



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



**HERPETİK STROMAL KERATİT TANISI DÜŞÜNÜLEN
HASTALARIN GÖZYAŞINDA PCR YÖNTEMİ İLE HERPES
SİMPEKS VİRÜS TİP 1 TESPİTİNDE GÖZYAŞI TOPLAMA
YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Mehmet MAĞIN
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Yasemin BAYRAM

İKİNCİ DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi. Ayşe ÖZKAÇMAZ

VAN-2025

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**HERPETİK STROMAL KERATİT TANISI DÜŞÜNÜLEN
HASTALARIN GÖZYAŞINDA PCR YÖNTEMİ İLE HERPES
SİMPEKS VİRÜS TIP 1 TESPİTİNDE GÖZYAŞI TOPLAMA
YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Mehmet MAĞİN
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Yasemin BAYRAM

İKİNCİ DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi. Ayşe ÖZKAÇMAZ

VAN-2025

Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2024-11223 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

KABUL VE ONAY

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Araş. Gör. Dr. Mehmet MAĞİN tarafından hazırlanan " Herpetik stromal keratit tanısı düşünülen hastaların gözyaşında PCR yöntemi ile Herpes simleks virüs tip 1 tespitinde gözyaşı toplama yöntemlerinin karşılaştırılması" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 11/08/2025

Prof. Dr. Yasemin BAYRAM Van YYÜ Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD Jüri Başkanı	
Prof. Dr. Mehmet PARLAK Van YYÜ Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üy. Ayşe ÖZKAÇMAZ Van YYÜ Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD Jüri Üyesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı tarafından onaylanmıştır.

ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI' NA

Uzmanlık tezi olarak hazırlayıp sunduğum " Herpetik stromal keratit tanısı düşünülen hastaların gözyaşında PCR yöntemi ile Herpes simleks virüs tip 1 tespitinde gözyaşı toplama yöntemlerinin karşılaştırılması" başlıklı tezimin; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Adı Soyadı: Araş. Gör. Dr. Mehmet MAĞİN

Tarih: 11/08/2025

İmza:

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübeleriyle bana rehberlik eden, her zaman destek ve güvenini hissettiren çok kıymetli tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Yasemin BAYRAM'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık sürecimde güler yüzü, yardımseverliği ve pozitif yaklaşımıyla huzurlu bir çalışma ortamı sağlayan, şu an birlikte çalışmıyor olsak da üzerimde emeği büyük olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU'na şükranlarımı sunarım.

Tüm asistanlık sürecim boyunca hem mesleki bilgisi hem de örnek kişiliğiyle bana yol gösteren, her daim desteğini hissettiren, ağabeyliğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Mehmet PARLAK'a gönülden teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında yanımda olan, özverisi, çalışkanlığı ve güzel ahlakıyla hepimize örnek teşkil eden değerli hocam ikinci tez danışmanım Dr. Öğr. Gör. Ayşe ÖZKAÇMAZ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın desteklenmesini sağlayan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Yıllarca birlikte çalıştığım Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Kliniği'nin değerli uzman hekimleri, hemşireleri ve doktora öğretim üyesi arkadaşlarıma; asistanlık sürecim boyunca iş birliği, destek ve samimi yaklaşımlarıyla çalışma ortamını daha huzurlu ve verimli kılan tüm asistan arkadaşlarıma içtenlikle teşekkür ederim. Ayrıca PCR çalışmalarında değerli desteğini esirgemeyen Emel Keskin Emiş'e ve özverili çalışmalarıyla katkı sağlayan Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nın tüm teknisyen ve personeline de şükranlarımı sunarım.

Hayatım boyunca dualarıyla yanımda olan, varlıklarıyla bana güç veren sevgili anneme ve babama; her koşulda sabır ve anlayışla destek veren, huzur kaynağım kıymetli eşime ve sevgili çocuklarıma kalpten teşekkür ederim.

ÖZET

Mağın M. Herpetik stromal keratit tanısı düşünülen hastaların gözyaşında PCR yöntemi ile Herpes simleks virüs tip 1 tespitinde gözyaşı toplama yöntemlerinin karşılaştırılması. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Van, 2025.

Herpes simpleks keratiti, gelişmiş olan ülkelerde korneal körlüklerin en sık nedenidir. Rekürren oküler HSV'nun %20-61'ini oluşturan Herpetik stromal keratit, HSV tip 1'in korneanın stromasında enfeksiyona neden olduğu bir durumdur. Bu çalışmada, herpetik stromal keratit (HSK) tanısı düşünülen hastalarda HSV-1 DNA'sının polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile tespiti amacıyla kullanılan üç farklı gözyaşı örnekleme yönteminin (kapiller tüp, Schirmer kağıdı, sürüntü çubuğu) tanısal doğruluklarının karşılaştırılması amaçlandı.

Mart 2024 – Mart 2025 tarihleri arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaşı Tıp Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Göz Hastalıkları Kliniği tarafından yönlendirilen, herpetik stromal keratit (HSK) ön tanısı konulan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Toplam 46 hastadan, üç farklı gözyaşı örnekleme yöntemi ile eş zamanlı örnekler alınmış ve tüm örneklerde HSV-1 varlığı, Bioeksen firması tarafından geliştirilen Bio-Speedy® Göz Enfeksiyonları qPCR Paneli kullanılarak değerlendirilmiştir. Klinik tanı, referans (altın standart) olarak kabul edilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda örnekleme yöntemlerinin tanısal performansları; duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPV) ile analiz edilmiş; yöntemler arası tanısal uyum ise Cochran's Q testi, McNemar testi ve Cohen's Kappa istatistiği ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

HSV-1 PCR pozitiflik oranları sürüntü çubuğu (%26.1), kapiller tüp (%23.9) ve Schirmer kağıdı (%21.7) yöntemlerinde benzer düzeyde bulundu. Tedavi alan hastalarda pozitiflik oranlarının azaldığı gözlemlendi. Nüks geçiren olgularda, özellikle sürüntü çubuğu yönteminde, daha yüksek pozitiflik oranı ve daha düşük Cq değerleri izlendi. Tüm yöntemler arasında yüksek düzeyde tanısal uyum ($Kappa > 0.8$) sağlandı.

Non-invaziv gözyaşı örnekleme yöntemleri, HSK tanısında kabul edilebilir tanısal performans sunmaktadır. Sürüntü çubuğu yöntemi, özellikle nüks geçiren hastalarda daha yüksek tanı başarısı sağlayabilir. Tedavi geçmişi ve nüks öyküsü, PCR testlerinin pozitiflik oranlarını etkileyebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Herpetik Stromal Keratit; PCR; Gözyaşı Örnekleme Yöntemi; Kapiller Tüp; Schirmer Kağıdı; Sürüntü Çubuğu



ABSTRACT

Mağın M. Comparison of Tear Collection Methods for Herpes Simplex Virus Type 1 Detection via PCR in Patients Suspected of Herpetic Stromal Keratitis. Van Yüzüncü Yıl University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Medical Specialization Thesis, Van, 2025.

Herpes simplex keratitis is the leading cause of corneal blindness in developed countries. Herpetic stromal keratitis (HSK), which accounts for 20–61% of recurrent ocular HSV infections, is characterized by HSV type 1 infection of the corneal stroma. This study aimed to compare the diagnostic accuracy of three different tear collection methods—capillary tube, Schirmer strip, and swab—for the detection of HSV-1 DNA via polymerase chain reaction (PCR) in patients clinically suspected of having HSK.

Between March 2024 and March 2025, patients with a preliminary diagnosis of HSK referred to the Microbiology Laboratory of Van Yüzüncü Yıl University Dursun Odabaşı Medical Center by the Department of Ophthalmology were enrolled. Simultaneous tear samples were collected using all three methods from a total of 46 patients. HSV-1 presence in all samples was evaluated using a real-time PCR assay. Clinical diagnosis was considered the reference standard. Diagnostic performance—including sensitivity, specificity, and positive predictive value (PPV)—was calculated for each method. Comparative analysis among the sampling techniques was performed using Cochran’s Q test, McNemar’s test, and Cohen’s Kappa statistic.

HSV-1 PCR positivity rates were similar across methods: 26.1% for swabs, 23.9% for capillary tubes, and 21.7% for Schirmer strips. Lower positivity rates were observed in patients with prior antiviral treatment. In recurrent cases, especially those sampled with the swab method, higher positivity rates and lower Cq values were noted. Substantial agreement was found between all three methods (Kappa > 0.8).

Non-invasive tear collection techniques demonstrated acceptable diagnostic performance in detecting HSV-1 in suspected HSK cases. The swab method may offer superior diagnostic yield in patients with recurrent disease. Prior treatment history and recurrence status may influence PCR test positivity.

Keywords: Herpetic Stromal Keratitis; PCR; Tear Sampling; Capillary Tube; Schirmer Strip; Swab Method



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	II
ETİK BEYAN.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
İÇİNDEKİLER.....	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XIII
TABLolar DİZİNİ.....	XIV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Tarihçe.....	4
2.2. Sınıflandırma.....	4
2.3. Genel Özellikler.....	6
2.4. Viral Replikasyon.....	9
2.5. Epidemiyoloji ve Bulaş.....	12
2.6. Patogenez ve İmmünite.....	15
2.7. Klinik Özellikleri.....	18
2.8. Laboratuvar Tanı.....	23
2.9. Tedavi.....	27
2.10. Korunma ve Kontrol.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Hasta Seçimi ve Verilerin Toplanması.....	29
3.2. Etik Kurul Onayı.....	29
3.3. Gözyaşı Örnekleme Yöntemleri.....	29
3.4. Multipleks PCR Yöntemi.....	30
3.5. İstatistiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR.....	39
4.1. HSV-1 Pozitiflik Oranları ve Alt Grup Karşılaştırmaları.....	46
4.2. Genel Performans Değerlendirmesi.....	48

4.3. Cochran's Q Testi – Alt Gruplara Göre Sonuçlar.....	50
4.4. Cohen's Kappa Uyum Analizi.....	51
4.5. McNemar Testi – Testler Arası İkili Karşılaştırmalar (Alt Gruplar).....	53
4.6. PCR Cq Değeri Analizi.....	55
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇLAR.....	62
7. KAYNAKLAR.....	63
8. ÖZGEÇMİŞ.....	67
9. EKLER.....	68
9.1. Etik Kurul Onayı.....	68
9.2. Orijinallik Raporu.....	70

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	:	Amerika Birleşik Devletleri
AHLA	:	Antigen Human Leukocyte Antigen
BOS	:	Beyin Omurilik Sıvısı
BS-EI-25	:	Bio-Speedy Eye Infections Panel Kit, Catalogue Number 25
C3b	:	Complement component 3b
CD4⁺T	:	Cluster of Differentiation 4 Positive T Lymphocyte
CD8⁺T	:	Cluster of Differentiation 8 Positive T Lymphocyte
CMV	:	Cytomegalovirus
CNS	:	Central Nervous System
Cq	:	Quantification Cycle
Cy5	:	Cyanine 5
DNA	:	Deoxyribonucleic Acid
dUMP	:	Deoxyuridine monophosphate
dUTPase	:	Deoxyuridine Triphosphatase
EBV	:	Epstein–Barr Virus
ELISA	:	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FAM	:	6-Carboxyfluorescein
Fc	:	Fragment crystallizable
Feulgen(+)	:	Feulgen Positive
gC	:	Glycoprotein C
gD	:	Glycoprotein D
gE	:	Glycoprotein E
gG	:	Glycoprotein G
gG-1	:	Glycoprotein G type 1
gG-2	:	Glycoprotein G type 2
HEX	:	Hexachloro-fluorescein
HHV	:	Human Herpesvirus
HHV-1	:	Human Herpesvirus 1
HHV-2	:	Human Herpesvirus 2
HHV-3	:	Human Herpesvirus 3
HHV-4	:	Human Herpesvirus 4
HHV-5	:	Human Herpesvirus 5
HHV-6	:	Human Herpesvirus 6
HHV-7	:	Human Herpesvirus 7
HHV-8	:	Human Herpesvirus 8
HSE	:	Herpes Simplex Encephalit
HSK	:	Herpetic Stromal Keratit
HSV	:	Herpes Simplex Virus
HSV-1	:	Herpes Simplex Virus Type 1

HSV-2	:	Herpes Simplex Virus Type 2
IC	:	Internal Control
ICTV	:	International Committee on Taxonomy of Viruses
IL-2	:	Interleukin-2
IgG	:	Immunoglobulin G
IgM	:	Immunoglobulin M
KSRV	:	Kaposi's Sarcoma-Related Virus
LAT	:	Latency-Associated Transcript
MSS	:	Merkezi Sinir Sistemi
mRNA	:	Messenger Ribonucleic Acid
NK	:	Natural Killer
NTC	:	No Template Control
PC	:	Positive Control
PCR	:	Polymerase Chain Reaction
PPV	:	Positive Predictive Value
qPCR	:	Quantitative Polymerase Chain Reaction
RIA	:	Radioimmunoassay
RNA	:	Ribonucleic Acid
ROX	:	Carboxy-X-rhodamine
RT-PCR	:	Real-Time Polymerase Chain Reaction
T-helper	:	T Helper Cell
TBKI	:	TANK-binding Kinase I
TICAMI	:	Toll/IL-1 Receptor Domain-Containing Adaptor Molecule I
TLR2	:	Toll-like Receptor 2
TLR3	:	Toll-like Receptor 3
TRAF3	:	TNF Receptor-Associated Factor 3
UL	:	Unique Long
UNC93BI	:	Unc-93 Homolog B1
US	:	Unique Short
VZV	:	Varicella-Zoster Virus
Vmw 65	:	Viral transinducing factor 65

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Herpes simpleks virüsün virion yapısı (Zhu ve VB, 2021).....	8
Şekil 2. HSV enfeksiyonlu bir hastada Tzanck yayması (çok sayıda normal hücreyle çevrili büyük çok çekirdekli dev hücreleri oklarla gösterilmiştir). Hücreler, optik parlak alan mikroskobu kullanılarak alınan metilen mavisi ile boyanmıştır (Nath ve ark., 2021).....	24
Şekil 3. Toplam HSV-1 pozitiflik oranları.....	47
Şekil 4. Grup içi HSV-1 pozitiflik oranları.....	48
Şekil 5. Klinik tanıya göre test yöntemlerinin duyarlılık, özgüllük, PPV değerleri.....	50
Şekil 6. Cochran's Q Testi sonuçları (HSV-1 PCR pozitiflik oranlarının testler arasında istatistiksel farklılık gösterip göstermediğini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır).....	51
Şekil 7. Cohen's Kappa Uyum Analizi sonuçları (Test çiftleri arasında tanısal uyumu değerlendirmek için yapılmıştır).....	53
Şekil 8. McNemar Testi Sonuçları (Eşleşmiş gruplarda HSV-1 pozitiflik oranları arasındaki farkları değerlendirmek amacıyla yapılmıştır).....	54
Şekil 9. Mann–Whitney U Testi sonuçları (Cq değerlerinin klinik gruplar arasında anlamlı farklılık gösterip göstermediği test edilmiştir.).....	56

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Herpes virusların sınıflandırmadaki yeri ve önemli karakteristikleri (Cohen, 2015; Hasdemir, 2017).....	6
Tablo 2. Kit ile saptanan patojen tipleri.....	31
Tablo 3. Bir örneğe ait hazır liyofilize striplerin genel görünümü ve içeriği.....	33
Tablo 4. qPCR Program.....	34
Tablo 5. Kit Kontrollerinin Beklenen Performansı.....	35
Tablo 6. Çalışma grubundaki hastaların klinik durumları.....	40
Tablo 7. Çalışma grubundaki hastalarda test sonuçları.....	45
Tablo 8. HSV-1 Toplam Pozitiflik Oranları.....	46
Tablo 9. Grup İçi Pozitiflik Oranları.....	47
Tablo 10. Gruplar Arası İstatistiksel Karşılaştırmalar.....	47
Tablo 11. Gruplara Göre Test Performansı.....	49
Tablo 12. Gruplara Göre Cochran’s Q Testi Sonuçları.....	51
Tablo 13. Cohen’s Kappa Uyum Analizi Sonuçları.....	52
Tablo 14. McNemar Testi Sonuçları (Alt Gruplar).....	54
Tablo 15. Cq Değeri Karşılaştırmaları (Mann–Whitney U Testi).....	56

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Herpes simpleks keratiti, gelişmiş olan ülkelerde korneal körlüklerin en sık nedenidir. Herpes simpleks virusu (HSV) asemptomatik veya aktif hastalığa neden olabilen patojen bir ajandır. Virüs spesifik antijenin farklılığına göre 2 tipe ayrılmaktadır; HSV tip 1 ve HSV tip 2. Göz tutulumu genellikle tip 1 HSV'ne bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Herpes virusları latent enfeksiyona neden olabilme kapasitesine sahiptir, korneal hastalık sıklıkla latent enfeksiyonu takiben ortaya çıkmaktadır. HSV, en yaygın olanı herpetik stromal keratit (HSK) olan çok sayıda oküler hastalıktan sorumludur. HSK, şu anda potansiyel olarak kör edici bir hastalık olarak kabul edilmektedir (Wang ve ark., 2020).

Rekürren oküler HSV enfeksiyonunun %20-61'ini oluşturan Herpetik stromal keratit, HSV tip 1'in korneanın stromasında enfeksiyona neden olduğu bir durumdur (Li ve ark., 2024). HSV-1'in stromaya ulaşması sonucunda tetiklenen immün yanıt, tekrarlayan inflamasyon ataklarıyla korneal skarlaşma ve kalıcı opasiteler oluşturabilir. Bu da görme keskinliğinde ciddi azalmaya ve monoküler körlük gibi kalıcı sonuçlara yol açabilir (Bagga ve ark., 2020; McCormick ve ark., 2022). Bu nedenle HSV'nin oftalmik formları, yalnızca enfeksiyon düzeyinde değil, halk sağlığı bağlamında da önemli bir tehdit oluşturmaktadır.

HSV-1'e bağlı oftalmik enfeksiyonlar, klinik seyir bakımından genellikle iki ayrı evrede değerlendirilmektedir: ilk atak ve nüks eden enfeksiyon. İlk atak genellikle primer enfeksiyona işaret ederken, nüksler virüsün reaktivasyonu sonucu ortaya çıkar ve daha ağır seyir gösterebilir. Nükslerde korneal doku, daha önceki inflamasyon ataklarından etkilenmiş olduğundan, klinik bulgular daha belirgin ve tahrip edici olabilir. Nükslerin her biriyle birlikte görme kaybı riski artmakta, bu nedenle bu formun izlenmesi ve tanısal doğruluğunun artırılması büyük önem taşımaktadır (Büke, 2017).

HSV-1'in seroprevalansı ABD'de %50'nin üzerinde, Almanya'da ise %75'in üzerindedir. Dünya çapında yaklaşık 10 milyon insanda herpetik göz hastalığı olabilir. Herpes keratitinin küresel insidansı (yeni hastalık oranı), her yıl 40.000 yeni ciddi

monoküler görme bozukluğu veya körlük vakası dahil olmak üzere yaklaşık 1,5 milyondur. Gelişmekte olan ülkelerdeki kornea ülserlerinin %60 kadarı HSV'den kaynaklanmaktadır (Ahmad ve ark., 2024). Tüm bu veriler, hastalığın hem bireysel hem de toplumsal sağlık açısından dikkate değer bir sorun oluşturduğunu göstermektedir

Tanıda en sık başvuru yöntem klinik değerlendirmedir (Hoarau ve ark., 2023). Ancak özellikle atipik olgularda veya ilk atak ile nüks ayrımının net yapılamadığı durumlarda laboratuvar destekli tanı testlerine ihtiyaç duyulmaktadır. HSV tanısında kullanılan testler arasında viral kültür, antijen tespiti, serolojik yöntemler ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yer almaktadır. PCR, doğrudan viral DNA'yı hedef alması ve yüksek özgüllük ile duyarlılık sunması nedeniyle öne çıkmaktadır. Ayrıca, örnek miktarının az olması ve sonuçların hızlı elde edilmesi gibi avantajlar, PCR'yi klinik uygulamada son derece pratik kılmaktadır. Bu nedenlerle, PCR günümüzde HSV-1 enfeksiyonlarının tanısında en güvenilir yöntemlerden biri olarak değerlendirilmektedir (Lee ve ark., 2013; Erdem ve ark., 2020).

PCR tabanlı testlerin başarısı, büyük ölçüde örnekleme tekniğine ve materyal kalitesine bağlıdır. Korneal kazıntı örneği tanısal açıdan avantajlı olsa da, invazivliği nedeniyle hem hasta konforu hem de klinisyen pratiği açısından bazı sınırlamalara sahiptir. Uygulama esnasında steril çalışma koşullarının sağlanması, teknik beceri düzeyi, hastanın iş birliği ve potansiyel komplikasyonlar, yöntemin etkinliğini sınırlayan faktörler arasındadır. Ayrıca bazı olgularda, epitel tabakasında meydana gelen hasar, testin doğruluğunu etkileyebilecek travmatik etkilere yol açabilir (Satpathy ve ark., 2011).

Bu sınırlamalar doğrultusunda, son dönemlerde gözyaşı temelli örnekleme yöntemleri daha fazla dikkat çekmeye başlamıştır. Gözyaşı, invaziv olmayan bir biyolojik sıvı olması nedeniyle, hasta açısından daha konforlu ve kolay bir şekilde toplanabilir. Ancak bu örnekleme yönteminin tanısal başarı düzeyi, kullanılan toplama tekniğine göre değişiklik gösterebilir. Yapılan çalışmalarda, HSV-1 virüsünün gözyaşı örneklerinden PCR yoluyla tespit oranlarının %20 ila %37 arasında değiştiği belirtilmiştir (Hoarau ve ark., 2023). Bu oranlardaki değişkenlik, çoğunlukla farklı örnekleme yaklaşımlarından kaynaklanmaktadır. En yaygın üç gözyaşı toplama

yöntemi: Kapiller tüp ile doğrudan sıvı çekilmesi, Schirmer test kağıdı ile sıvının emdirilmesi, Steril sürüntü çubuğu ile konjonktival yüzeyden örnek alınmasıdır. Ancak, bu tekniklerin birbirlerine göre tanısal avantajlarını doğrudan karşılaştıran çalışma sayısı sınırlıdır.

HSK tanısında kullanılan tanı yöntemlerinin doğruluğu, hasta yönetimi ve epidemiyolojik değerlendirmeler açısından kritik önem taşımaktadır. Bu çalışmada, HSK ön tanısı konmuş olgularda, HSV-1'in PCR yöntemiyle tespiti için üç farklı non-invaziv gözyaşı örnekleme yöntemi (kapiller tüp, Schirmer kağıdı ve sürüntü çubuğu) sistematik olarak karşılaştırılmıştır. Klinik değerlendirme ile doğrulanmış vakalar altın standart olarak kabul edilerek, her yöntemin tanısal doğruluğu duyarlılık, özgüllük ve uyum katsayısı gibi parametreler üzerinden analiz edilmiştir (Hoarau ve ark., 2023).

Literatürde, HSV-1 enfeksiyonunun tanısında kullanılan gözyaşı örnekleme tekniklerini doğrudan karşılaştıran çalışmaların sınırlı olması nedeniyle, bu araştırma klinik pratikte optimal tanı yönteminin belirlenmesine katkı sağlamayı amaçlamaktadır. Elde edilen bulguların, klinisyenlerin hasta konforunu en üst düzeye çıkarırken güvenilir tanısal sonuçlar sağlayan yöntemleri seçmesine yardımcı olması beklenmektedir. Ayrıca, tanı süreçlerinde standardizasyonun sağlanması ve test performanslarının optimize edilmesine yönelik ileride yapılacak araştırmalara temel oluşturması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Herpes Simpleks Virüs (HSV) hastalıkları çok uzun zamandır bilinmektedir. "Herpes" terimi, Yunanca'da "sürünmek" anlamına gelen "herpein" kelimesinden türetilmiştir ve virüsün sebep olduğu döküntülerin karakteristik yayılımını ifade eder (Holland ve ark., 2005). Herodotus, ağızda ateşle birlikte görülen lezyonlar ve dudaklarda oluşan veziküller arasındaki bağlantıyı "herpes febralis" olarak adlandırmış ve herpes enfeksiyonlarının belirtileri 18. ve 19. yüzyıllarda detaylı bir şekilde tanımlanmıştır. Vidal, 1893 yılında insanlar üzerinde yaptığı deneyler ile HSV'nin bulaşıcı olduğunu ve insandan insana geçişin olabileceğini ortaya koymuş olup Gruter ise 1922'de herpes keratitis ve labialis lezyonlarından aldığı örnekleri tavşan korneasına inoküle ederek virüsü izole etmeyi başarmıştır (Roizman ve ark., 2005). Andrew's ve Carmichael 1930'da HSV'ye karşı nötralizan antikorların varlığını daha önce enfekte olmuş erişkinlerin kanında göstermişler ve sadece böyle kişilerde tekrarlayan herpetik hastalığın meydana geldiğini bulmuşlardır. Lipschütz 1948 yılında HSV tipleri arasında antijenik farkların olduğunu öne sürmüştür. 1968 yılında Nahmias ve Dowdle tarafından iki farklı antijenik tipin varlığı kesin olarak bulunmuştur. Birkaç yıl sonra bu iki araştırmacı, virüsün izole edildiği anatomik bölgenin genellikle antijenik tipte uygunluk gösterebileceğini gözlemişler ve HSV-1'in sıklıkla genital olmayan bölgelerde, HSV-2'nin genital enfeksiyonla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Jerome ve Ashley, 2003; Pellet ve Roizman, 2007).

2.2. Sınıflandırma

Herpesvirüsler, Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi (International Committee on Taxonomy of Viruses - ICTV) tarafından, Herpesvirales takımında yer alan Herpesviridae, Alloherpesviridae ve Malacoherpesviridae ailelerinde sınıflandırılmaktadır (Szpara ve ark., 2014). Alloherpesviridae ve Malacoherpesviridae ailelerinde balık, amfibya ve çeşitli deniz kabuklularını enfekte eden herpes virüsleri bulunurken, Herpesviridae ailesinde memeli, kuş ve sürüngenleri enfekte eden 100'ün üzerinde herpes virüsü tanımlanmıştır. Bu virüsler arasında insanların primer konak

olarak yer aldığı Herpes simplex virüs (HSV), Varicella Zoster virüs (VZV), Sitomegalovirüs (CMV), Human herpes virus 6 (HHV-6), Human herpes virus 7 (HHV-7), Epstein Barr virüsü (EBV), Human herpes virus 8 (HHV-8) ve nadiren insanları enfekte eden maymun herpes B virüsü yer almaktadır. Herpesviridae ailesi üyeleri, başta hücre tropizmleri olmak üzere, çeşitli biyolojik özelliklerine göre üç alt ailede sınıflandırılır: Alfaherpesvirinae, Betaherpesvirinae ve Gammaherpesvirinae (Tablo 1) (Cohen, 2015; Hasdemir, 2017).

Alfaherpesvirinae: Bu alt aileye üye viruslar, geniş konak hücre spektrumları ve kısa replikasyon döngülerine sahiptirler. Ayrıca hücre kültürlerinde hızla üreyip belirgin sitopatik etkiler oluşturan ve latent enfeksiyonlarının duyu gangliyonlarında görüldüğü virüsler olarak tanımlanır. İnsan, maymun, tavşan, fare ve birçok hayvan türünün epitel hücreleri ve fibroblastlarını enfekte ederler. Herpes simplex virus 1 (HSV-1), HSV-2 ve VZV insanları enfekte eden alfa herpes viruslardır. Bu virüsler, sırasıyla insan herpes virüsü 1, 2 ve 3 (HHV-1, HHV-2 ve HHV-3) olarak da adlandırılmaktadır (Cohen, 2015; Hasdemir, 2017).

Betaherpesvirinae: Bu alt aile, tükürük bezlerinin inklüzyon virüslerini içerir. Konak spektrumları oldukça sınırlıdır ve replikasyon döngülerinin uzunluğu, bu virüslerin karakteristik bir özelliğidir. Hücre kültürlerinde yavaş üretilirler ve alfa herpes virüslerine kıyasla daha az belirgin sitopatik etki gösterirler, ancak enfekte ettikleri hücrelerde genişleme (sitomegali) meydana gelir. Latent enfeksiyonları genellikle salgı bezlerinde, lenforetiküler hücrelerde ve böbreklerde görülür. Bu gruptaki insan herpesvirüsleri arasında Sitomegalovirüs (Human herpes virus-5), Human herpes virus-6A (HHV-6A), Human herpes virus-6B (HHV-6B) ve Human herpes virus-7 (HHV-7) yer almaktadır (Cohen, 2015; Hasdemir, 2017).

Gammaherpesvirinae: Bu alt aile, T veya B lenfositlerine özgü olan virüsleri içerir ve tüm üyeleri in vitro ortamda lenfoblastoid hücrelerde replike olabilirler. Bazı virüsler, epiteloid ve fibroblastik hücrelerin belirli tiplerinde in vitro ortamda litik enfeksiyon oluşturabilir. Enfekte ettikleri hücreleri dönüştürme yetenekleri bu virüslerin karakteristik özelliklerindendir. Gammaherpesvirinae'nin biyolojik özellikleri farklılık

gösteren iki alt grubu vardır: Lymphocryptovirus ve Rhadinovirus. Lymphocryptovirus grubunun insanda enfeksiyon yapan üyesi Epstein Barr virüsü (EBV) olup, human herpes virus-4 (HHV-4) olarak da bilinir. Rhadinovirus grubunun insanda enfeksiyon yapan üyesi ise insan herpes virus-8 (HHV-8) olup, Kaposi sarcoma ilişkili virüs (KSRV) olarak da adlandırılır (Cohen, 2015; Hasdemir, 2017).

Tablo 1. Herpes virusların sınıflandırmadaki yeri ve önemli karakteristikleri (Cohen, 2015; Hasdemir, 2017).

Aile	Alt-Aile	İsim	Kısaltma	Latent Enfeksiyon Yeri	Bulaş
Herpesviridae	Alphaherpesvirinae	Human HV-1	HSV-1	Duyu ve kraniyal sinir ganglionları	Direkt temas, cinsel temas, perinatal
Herpesviridae	Alphaherpesvirinae	Human HV-2	HSV-2	Duyu ve kraniyal sinir ganglionları	Direkt temas, cinsel temas, perinatal
Herpesviridae	Alphaherpesvirinae	Human HV-3	VZV	Duyu ve kraniyal sinir ganglionları	Aerosol, direkt temas, perinatal
Herpesviridae	Alphaherpesvirinae	Herpes B virüsü	-	Duyu ve kraniyal sinir ganglionları	Direkt temas (maymun ısırması, tırmalaması)
Herpesviridae	Gammaherpesvirinae	Human HV-4	EBV	Hafıza B hücreleri	Tükürük (öpüşme), kan ürünleri, perinatal
Herpesviridae	Gammaherpesvirinae	Human HV-8	HHV-8	B hücreleri	Tükürük, perinatal
Herpesviridae	Betaherpesvirinae	Human HV-5	CMV	Monosit, makrofaj, CD34+ hücreleri	Perinatal, kan ürünleri, cinsel temas
Herpesviridae	Betaherpesvirinae	Human HV-6A/B	HHV-6A/B	Monosit, makrofaj, CD34+ hücreleri	Tükürük, perinatal
Herpesviridae	Betaherpesvirinae	Human HV-7	HHV-7	?	Tükürük, perinatal

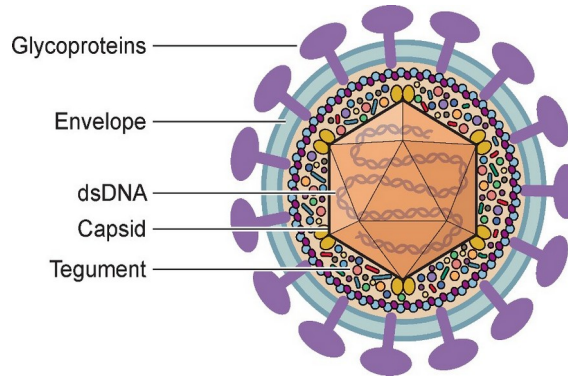
2.3. Genel Özellikler

Herpesvirüsler, çift zincirli lineer DNA'ya sahip, zarflı ve ikozahedral kapsidli

virüslerdir. Doğada, farklı taksonomik gruplardan çok çeşitli canlı türlerini enfekte etme kapasitesine sahiptirler. Herpesvirüslerin dört temel biyolojik özelliği bulunmaktadır: (1) Nükleik asit metabolizmasında (örneğin, timidin kinaz, timidilat sentetaz, ribonükleotid redüktaz, dUTPaz), DNA sentezinde (örneğin, DNA polimeraz, helikaz, primaz) ve protein işlenmesinde (örneğin, protein kinazlar) rol alan çeşitli enzimlere sahiptirler. (2) Viral DNA sentezi ve bu DNA'nın kapsidle çevrelenmesi, yani viral partikülün oluşumu, konak hücre nükleusunda gerçekleşir. (3) Konak hücrede enfeksiyöz virüs üretimi, genellikle hücre hasarı ile sonuçlanır. (4) Doğal konaklarında, enfeksiyöz virüs üretimi olmaksızın latent fazda kalabilme yetenekleri vardır. Latent fazda, sirküler formda bulunan latent genom, çok az sayıda gen ekspresyonu gösterir ve latent genomun reaktivasyonu, enfeksiyöz virüs partiküllerinin üretimiyle sonuçlanır (Pellet ve Roizman, 2007).

HSV, 120-200 nm (ortalama 160 nm) çapında bir DNA virüsü olup, herpesvirüs ailesinin alfa herpesvirinae alt ailesinde yer alır. HSV-1 ve HSV-2, birbirinden farklı iki tipe sahiptir ve sıklıkla bu virüsler kısaltmalarla ifade edilir. Viral genomları yaklaşık 10×10^7 moleküler ağırlığa sahip, çift sarmallı ve çizgisel bir DNA molekülüdür. Bu DNA, 152 Kbp'den oluşur ve 100'den fazla proteini kodlar. HSV-1 ve HSV-2'nin DNA'ları arasında %50'lik bir homoloji bulunur (Schiffer ve Corey, 2017).

HSV-1 ve HSV-2, morfolojik olarak ait oldukları aileye özgü özellikleri taşır. Elektron mikroskopuyla incelendiklerinde, dört yapısal elemandan oluştuğu gözlemlenir: zarf, tegument, nükleokapsid ve kor (Şekil 1). Herpesvirüslerin çoğu, pleomorfik bir morfoloji gösterir ve büyüklüklerindeki değişkenlik, esas olarak tegumentlerinin kalınlığıyla ilişkilidir (Zhu ve VB, 2021).



Şekil 1. Herpes simpleks virüsün virion yapısı (Zhu ve VB, 2021).

Zarf: Konak hücre membranlarından (nükleus membranı ve sitoplazmik membran) orijin alır. Tipik olarak trilaminer yapıdadır. Dış zarf, lipid, karbonhidrat ve proteinlerden oluşur ve etere karşı duyarlılık gösterir. Zarfın üzerinde, virüs tarafından kodlanan glikoproteinlerden oluşan, yaklaşık 8 nm uzunluğunda dikensi çıkıntılar yer alır. Bu glikoprotein çıkıntılarının bazıları, virüsün konak hücreye tutunmasını sağlar. Konakta bu yapılara karşı oluşan humoral ve hücrel bağışıklık yanıtı, virüsün nötralizasyonunda ve enfeksiyonun kontrol altına alınmasında önemli bir rol oynar. Viral glikoproteinlerin bir kısmı da, herpes virüslerinin bağışıklık sisteminden kaçmasına yardımcı olur. Örneğin, herpes simpleks virüslerinde gpC, gpD, gpE ve gpG bu işlevi üstlenir. Bu proteinlerden "gD", özellikle nötralizan antikorların oluşumunda kritik bir rol oynar. Glikoprotein C (gC), komplemana (C3b) bağlanırken, gE ise IgG'nin Fc parçasına bağlanabilen bir Fc reseptörü görevi görür. Glikoprotein G (gG) ise tipe özgüdür ve HSV-1 (gG-1) ile HSV-2 (gG-2) arasındaki antijenik farklılıkların belirlenmesinde önem taşır (Cohen, 2015).

Tegüment: Kapsid ile zarf arasında yer alan tegüment, amorf yapıdaki viral proteinlerden oluşur ve kapsidi çevreler. Tegüment proteinleri, enfekte hücrede replikasyonun başlatılmasında veya kapsid ile zarf arasında bağlantı kurulmasında rol oynar. Bu proteinlerden biri olan "transinducing factor = Vmw 65", enfeksiyonun litik veya latent formda seyretmesiyle ilişkilidir. Genellikle asimetric bir yapı gösteren tegümentin kalınlığı, virüsün hücre içindeki lokalizasyonuna bağlı olarak değişir ve sitoplazmik vakuollerde biriken viryonlarda daha kalın bir yapı gösterir (Brooks, 2013).

Kapsid: Tüm herpes virüslerinde kapsid, 162 hekzagonal kapsomerden (150 hekzon ve 12 penton) oluşur. Kapsidlerin boyutları 95-110 nm arasında değişkenlik gösterir. Bu yapıda, dört ana kapsid proteini yer alır: majör kapsid proteini, tripleks monomer ve dimer kapsid proteinleri ile küçük kapsomer proteini (Brooks, 2013; Cohen, 2015).

Kor: Olgun viryonun kor kısmı, doğrusal çift sarmallı DNA ve bazı yapısal proteinlerden oluşur. Bu DNA çekirdeği, ikozahedral simetriye sahip bir kapsid tarafından sarılmıştır (Brooks, 2013; Cohen, 2015).

Genom: Herpes virüs genomu, doğrusal çift zincirli tek bir DNA molekülünden oluşur ve sayıları virüs tipine bağlı olarak değişen çok sayıda (70-200 arası) gen içerir. Herpes virüsler arasında genom organizasyonu açısından büyük benzerlikler bulunmasına rağmen, genom büyüklükleri (105-235 kbp), gen dizilimleri ve G+C içerikleri (%35-75) farklılıklar gösterir. Bu genom, yapısal (zarf, tegument ve kapsid proteinleri) ve yapısal olmayan (timidin kinaz, timidilat sentetaz, ribonükleotid redüktaz, dUTPaz, DNA polimeraz, helikaz, primaz ve protein kinazlar) çok sayıda (70-150) proteini kodlar (Brooks, 2013; Cohen, 2015).

HSV ısıya duyarlıdır. Virüsün yarılanma ömrü 37°C 'de 1.5-3 saattir. HSV pH 5.5-9.5 arasında yaşayabilir. Ayrıca -70°C'de de aktif kalabilir. Ancak kuru ortamlarda hızla inaktive olur. Nemli ortamda 52°C'de 30 dakika, kuru ortamda ise 90°C'de aynı süre içinde etkisiz hale gelir. Eter, %1'lik fenol, %0.5'lik formalin ve ultraviyole altında aktivite gösteren boyalar (proflavin, nötral kırmızısı) virüsü hızlı bir şekilde tahrip eder (Pellet ve Roizman, 2007). HSV, deri yüzeyinde 2 saat, kumaş üzerinde 3 saat ve plastik yüzeyde 4 saat boyunca canlı kalabilir (Çollak ve Mutlu, 2004).

2.4. Viral Replikasyon

Herpes virüslerinin replikasyonu, konak hücre nükleusunda gerçekleşen çok aşamalı ve karmaşık mekanizmalarla düzenlenen bir süreçtir. Genellikle bu virüslerin konak hücre ile etkileşimi, virüsün hücre yüzeyindeki glikozaminoglikanlara (GAG) düşük afinite ile bağlanmasıyla başlar (Cohen, 2015). Bu ilk etkileşimi, hücresel reseptörlerle viral glikoproteinler arasında gerçekleşen daha güçlü bir bağlanma takip eder. Bu spesifik etkileşimler, hücrenin enfeksiyona duyarlılığını, dolayısıyla viral tropizmi ve konak çeşitliliğini belirlemede kritik bir öneme sahiptir (Eisenberg ve ark., 2012).

HSV-1 ve HSV-2, hücre yüzeyine bağlanırken Nectin-1, Nectin-2 ve TNFRSF14 (Tumor necrosis factor receptor superfamily 14) reseptörlerini kullanır. Virüsler, hücreye girişte iki temel mekanizma kullanır: a) Viryon zarfının hücre membranı ile füzyon yapması sonucu tegument ve nükleokapsit proteinleri hücre sitoplazmasına salınması. b) Virüs endositoz yoluyla hücre içine alınarak viryon zarfının endozomal membranla füzyon gerçekleştirilmesi. Bu süreç sonunda viral

nükleokapsid sitoplazmaya ulaşır. Füzyon mekanizması, Herpesviridae ailesinin tüm üyelerinde korunan glikoproteinler (gB, gH ve gL) tarafından yönetilir ve özellikle gB proteininin bu süreçteki belirleyici rolü net bir şekilde ortaya konulmuştur (Eisenberg ve ark., 2012).

Füzyon sürecinin tamamlanmasının ardından sitoplazmada serbest hale gelen nükleokapsid, tubulin mikrotübül ağı boyunca hareket ederek nükleer pora taşınır. Bu süreç, ökaryotik hücre sitoplazmasında bulunan 'dynein' taşıyıcı proteinleri tarafından gerçekleştirilir. Nükleokapsid nükleusa ulaştığında, nükleik asitlerini nükleer pora boşaltır. Nükleusa girdikten hemen sonra lineer formdaki viral genom sirküler hale gelir ve herpes virüs genomunun transkripsiyonu başlar (Cohen, 2015)

Bu transkripsiyon süreci üç ana fazda gerçekleşir:

- 1. En-erken (alfa) genlerin transkripsiyonu:** Bu aşama, düzenleyici teg ment proteinleri tarafından başlatılır ve hücresel RNA polimeraz II tarafından gerçekleştirilir. Bu fazda sentezlenen proteinler, öncelikli olarak transkripsiyon aktivatörleri olarak işlev görür. Sitoplazmada sentezlenen bu proteinler, nükleusa taşınarak hem ‘erken’ ve ‘geç’ genlerin transkripsiyonunu uyarır hem de ‘en-erken’ genlerin transkripsiyonunu baskılar (Hasdemir, 2017).
- 2. Erken (beta) genlerin transkripsiyonu:** Bu fazda, genellikle viral DNA replikasyonu ve protein fosforilasyonu için gerekli enzimleri ( rneğin DNA polimeraz) kodlayan genler transkripsiyona uğrar (Hasdemir, 2017).
- 3. Geç (gamma) genlerin transkripsiyonu:** Son aşamada, çoğunluğu viryonun yapısal proteinlerini ( rneğin zarf glikoproteinleri ve nükleokapsid proteinleri) kodlayan genlerin transkripsiyonu gerçekleştirilir (Hasdemir, 2017).

Erken genlerin ekspresyonu, hücrenin enfeksiyonundan sonraki 4-9 saat içerisinde maksimum seviyeye ulaşır. Geç genlerin ekspresyonu ise viral DNA sentezinin başlamasının ardından zirveye çıkar. Geç genler iki alt gruba ayrılır: 'kısmi geç' (gamma 1) genler ve 'gerçek geç' (gamma 2) genler. 'Gerçek geç' genlerin ekspresyonu tamamen viral DNA sentezine bağımlıyken, 'kısmi geç' genlerin ekspresyonu bu koşula bağlı değildir; ancak viral DNA sentezi, bu genlerin ekspresyonunu artırır (Cohen, 2015).

Viral DNA replikasyonu, herpes virüs replikasyon döngüsünün kritik bir aşamasıdır ve bu süreç erken fazda sentezlenen DNA polimeraz tarafından kontrol edilir. Viral genomlar, "yuvarlanan daire" (rolling circle) mekanizması ile sentezlenir ve bu mekanizmanın bir sonucu olarak konkatemerik DNA yapıları oluşur. Bu DNA yapılarını işlemek ve her bir kapsidin içine yalnızca bir viral genomun girmesini sağlamak için belirli enzimler hedef dizilere bağlanarak DNA'yı uygun yerlerden bölerler. Kapsid proteinleri sitoplazmada sentezlenir ve otokatalitik bir süreçle birleşerek nükleusa taşınır. Nükleusta, kapsidler viral genom ile bir araya gelir ve nükleokapsidlerin oluşumu tamamlanır (Cohen, 2015).

Herpes virüslerinin replikasyonu, konak hücrenin RNA ve protein sentezini inhibe ederek hücresel fonksiyonları bozar. Nükleokapsidlerin nükleustan sitoplazmaya geçiş mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olsa da üç olası model öne sürülmüştür: (Cohen, 2015).

- 1. Nükleer por çıkış modeli:** Bu modele göre, nükleokapsidler genişlemiş nükleer porları kullanarak sitoplazmaya geçer. Sitoplazmada, Golgi aygıtından kaynaklanan veziküllere girerek zarflanır ve zarflı viryonlar hücre yüzeyinden salınır.
- 2. Lüminal model:** Bu modele göre, virüsler iç nükleer membranda zarflanarak bir zarf kazanır. Zarflı viryonlar, sekresyon yolu aracılığıyla sitoplazmaya taşınır ve buradan hücre dışına salınır.
- 3. Zarflanma/Zarfsızlanma modeli (envelopment/deenvelopment):** En yaygın kabul gören bu modelde nükleustaki viral kapsidler, iç nükleer membranda tomurcuklanarak zarflanır. Ardından nükleer iç ve dış membran arasındaki bölgeye geçer. Dış nükleer membranla füzyon sırasında zarflarını kaybeden viral kapsidler çıplak nükleokapsid olarak sitoplazmaya salınır. Sitoplazmaya ulaştıklarında Golgi aygıtı veziküllerinde tomurcuklanarak tegument proteinlerini, zarf ve zarf glikoproteinlerini kazanırlar. Olgun viryonlar, ekzositoz yoluyla hücrenin yüzeyinden dış ortama salınır (Cohen, 2015).

Ek olarak, herpes simpleks virüsünün (HSV) sinsityal suşları, enfekte hücrelerin birbirleriyle füzyonuna neden olarak hücreden hücreye yayılım sağlar. Virüs, konak

hücrede uzun süre latent kalabilir veya litik faza geçerek aktif enfeksiyona neden olabilir (Cohen, 2015).

Bazı nöronal hücrelerde herpes simpleks virüsü (HSV) enfeksiyonu hücre ölümüne yol açmaz. Viral genom hücrede varlığını sürdürürken, hücre yaşamını ve normal işlevlerini devam ettirir. Bu durum "latent enfeksiyon" olarak tanımlanır. Latent enfeksiyon sırasında yalnızca virüsün sınırlı sayıda kodladığı RNA molekülleri sentezlenir. Zamanla viral genom yeniden aktif hale gelebilir ve düzenleyici genlerin yapımıyla birlikte virüs, enfekte olmuş nöronlarda belirgin bir hasar oluşturmadan çoğalır ve serbest bırakılır. HSV'nin nörondan epitel hücrelere geçişiyle viral replikasyon başlar ve bu süreç "reaktivasyon" olarak adlandırılır. Reaktivasyon sırasında virüsün ilk olarak nöronlarda çoğalmasının tespit edilmesi, bu hücrelerin latent virüsler için uygun bir barınak sağladığını göstermektedir. RNA Latency Associated Transcripts (LATs) olarak adlandırılan moleküllerin, latent enfeksiyonun devamlılığını desteklediği ve reaktivasyonu önlemede rol oynadığı düşünülmektedir (Schiffer ve Corey, 2010; Rowe ve ark., 2013).

HSV'lerin hızlı bir replikasyon döngüsüne sahip olduğu ve yeni bir viryonun 8-16 saat içinde oluştuğu belirtilmektedir. Bununla birlikte üretilen 100-1000 virüs partikülünden yalnızca bir tanesi enfeksiyöz özellik taşır (Davison ve ark., 2005).

HSV-1 ve HSV-2'nin replikasyonu sırasında yapısal veya yapısal olmayan birçok antijen oluşur. Bu antijenlerin bir kısmı her iki virüs tipi için ortak iken, bir kısmı tipe özgüdür. Bu durum HSV-1 ve HSV-2 arasında serolojik olarak çapraz reaksiyonlara yol açabilir. Dolayısıyla, günümüzde HSV tiplerini ve alt tiplerini ayırt etmede viral DNA restriksiyon endonükleaz analizi veya sekans analizi yöntemleri daha yüksek duyarlılığa sahiptir (Brooks, 2013; Schiffer ve Corey, 2010).

2.5. Epidemiyoloji ve Bulaş

Herpes virüsler, zarflı yapıları nedeniyle çevrede uzun süre enfektivitesini sürdüremez. Dünya genelinde yaygın olan HSV-1 ve HSV-2, latent enfeksiyonlarla dünya nüfusunun üçte birinde tekrarlayan enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bu virüslerin bulaşması için hayvan vektörleri veya rezervuarlarına ihtiyaç yoktur;

enfeksiyon kaynağı yalnızca insandır. Genellikle enfekte bireylerden gelen taze vücut sıvılarındaki virüs, yakın temas yoluyla duyarlı kişilere bulaşır. Virüs, oral, oküler, genital ve anal mukozalar ya da doğrudan kan yoluyla vücuda girer. Oda sıcaklığında ve kuru ortamda hızla inaktive hale geldiği için hava yoluyla bulaşma gerçekleşmez (Cohen, 2015).

HSV-1 genellikle oral, HSV-2 ise genital temas yoluyla bulaşmakla birlikte, orogenital ilişki nedeniyle bu durum tersine dönebilir. Canlı organizma dışında viral persistans bulaş açısından önemli değildir. HSV-1, ağız ve çevresindeki deri ile mukoza enfeksiyonlarında %70-90, HSV-2 ise genital herpes olgularında aynı oranda etken olarak görülmektedir (Schiffer ve Corey, 2010).

HSV-1, insan vücudunda uzun süre kalabilen virüslerden biridir. Yenidoğanlar, anneden geçen IgG antikorlarını ilk 6 ay boyunca taşır, ancak bu antikorlar yalnızca kısmi koruma sağlar ve olası enfeksiyonların hafif seyretmesine yardımcı olur. Maternal antikorların kaybolduğu 6 ay-2 yaş arası dönem, bebeklerin HSV'ye en duyarlı olduğu süreçtir. Bu dönemde geçirilen primer enfeksiyonlar iyileşse bile virüs, vücuttan tamamen uzaklaştırılmaz ve latent enfeksiyon yaşam boyu devam eder. Çocukluk çağında primer enfeksiyon geçirmeyen bireylerde ilerleyen yaşlarda duyarlılık azalır; bu durumun, erişkinlerin daha kalın bir epitel dokusuna sahip olmaları ve tükürük yoluyla gelebilecek bulaşmalara daha az maruz kalmalarıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ancak, bu bireylerde bağışıklık sisteminin herhangi bir nedenle zayıflaması ya da sağlık çalışanlarında olduğu gibi HSV ile sık ve yoğun karşılaşma durumlarında, erişkinlik döneminde de primer enfeksiyonların gelişebileceği gözlemlenmiştir (Schiffer ve Corey, 2010).

Sağlıklı bireylerde ağız boşluğunda HSV-1 taşıyıcılığı en sık 6 ay ile 3 yaş arasındaki çocuklarda gözlenirken, 4-14 yaş grubunda daha az, 15 yaş üstü bireylerde ve 6 aydan küçük bebeklerde nadir görülmektedir. Buna rağmen, erişkinlerin %70-90'ında HSV-1'e karşı antikorların bulunduğu tespit edilmiştir. Herpes enfeksiyonları, sosyoekonomik düzeyi düşük toplumlarda daha sık görülür ve bulaş genellikle yaşamın ilk iki yılında gerçekleşir; enfeksiyonların %80-90'ı belirtisiz seyreder. Bu durumun nedeni olarak, bir evde çok sayıda bireyin yaşaması ve yetersiz hijyen koşulları

gösterilmektedir. Çocuklar için enfeksiyon kaynağı genellikle herpetik lezyonu olan aile üyeleridir. Yetişkinlerin %1-5'inin herhangi bir klinik belirti olmaksızın virüs salgıladığı belirtilmektedir (Büke, 2017).

HSV-2 ise genellikle cinsel yolla bulaşır ve bu nedenle bulaşma puberte sonrası dönemde görülür. Bir toplumdaki yaygınlığı, sosyoekonomik düzey ve diğer cinsel yolla bulaşan hastalıklarla ilişkilidir. HSV-1 ve HSV-2'nin birlikte enfeksiyon oluşturması nadir de olsa mümkündür. HSV-1 enfeksiyonunun geçirilmesi sonucu oluşan antikörlerin, HSV-2 enfeksiyonuna karşı kısmi bir koruma sağladığı ve bu nedenle HSV-1 varlığında HSV-2 enfeksiyonlarının çoğunlukla subklinik seyrettiği gözlemlenmiştir. Ancak, HSV-2 enfeksiyonunun HSV-1'e karşı bir koruma sağlayıp sağlamadığı henüz tam olarak bilinmemektedir (Büke, 2017).

Maternal genital HSV enfeksiyonları, hem anne hem de fetus için ciddi bir risk faktörüdür ve özellikle yenidoğanlarda yüksek morbidite ve mortaliteye yol açabilir. Gebeliğin 20. haftasından önce gelişen primer enfeksiyonlar spontan abortus ile sonuçlanabilirken, yenidoğanlara bulaş genellikle doğum sırasında gerçekleşir; transplasental veya postnatal bulaş ise daha nadir görülür. Annedeki enfeksiyon belirtilerinin varlığı ya da yokluğu bulaş açısından fark oluşturmaz; çünkü neonatal HSV enfeksiyonu saptanan bebeklerin %60'ında, annelerinde HSV'ye ilişkin herhangi bir belirti bulunmamaktadır. Yenidoğanlarda enfeksiyon %0.003-%0.05 oranında görülmekle birlikte, %50'ye varan mortalite oranı ve hayatta kalanların yarısında ciddi sekellerin gelişmesi, bu durumu önemli bir sağlık sorunu haline getirmektedir (Schiffer ve Corey, 2010; Brooks, 2013).

HSV-2 prevalansının yüksek olduğu toplumlarda, HIV enfeksiyonu riski de artmaktadır. Genital ülserlerle seyreden hastalıklar, HIV bulaşma riskini iki şekilde artırır: birincisi, HIV-negatif hastalardaki genital ülserlere bağlı epitel bütünlüğünün bozulmasıyla virusun kolayca transfer olması; ikincisi ise HIV-pozitif hastaların, ülserlerde lokal bağışık yanıtın mononükleer hücrelerden kaynaklanması nedeniyle daha fazla HIV ile enfekte lenfosit transfer etmeleridir (Serter, 2008).

Türkiye'de yapılan çalışmalarda, sosyoekonomik düzeyi düşük olan 15-49 yaş grubundaki kadınlarda HSV pozitifliği %7.7 olarak saptanmıştır (Serter, 2008). Diğer

bir çalışmada, 25-40 yaş arasındaki asemptomatik infertil kadınlardan alınan servikal sürüntülerin %1.26'sında HSV-1, %4.62'sinde HSV-2 ve %0.42'sinde ise HSV-1 ve HSV-2 antijenlerinin birlikte bulunduğu belirlenmiştir (Toplam %6.3) (Büke, 2017).

2.6. Patogenez ve İmmünite

İnsan enfeksiyonlarıyla ilişkili herpes virüslerinin neden olduğu klinik hastalıklar, oldukça geniş bir çeşitlilik gösterir. Genel olarak, bu hastalıklar mukokutanöz, visseral, merkezi sinir sistemi, malign ve reaktif hastalıklar olarak sınıflandırılabilir. Herpes virüslerinin büyük bir kısmı, doğrudan doku harabiyetine yol açarak ya da konakta immünopatolojik yanıtları tetikleyerek hastalık oluştururlar. Herpes simpleks virüslerinin mukokutanöz enfeksiyonları, tipik olarak litik (prodüktif) enfeksiyon sonrası doku harabiyeti ile sonuçlanan herpes virüs enfeksiyonlarının örneklerinden biridir (Hasdemir, 2017).

Ensefalit, pnömoni ve hepatit gibi visseral herpes virüs enfeksiyonları, virüsün doğrudan sitopatik etkisi ile ilişkili olarak ortaya çıkan diğer hastalıklar arasında yer alır. Ayrıca, eritema multiforme, trombositopeni ve hemolitik anemi gibi herpes virüs enfeksiyonlarına bağlı komplikasyonlar, konağın enfeksiyona karşı gösterdiği immün yanıtın patolojik sonuçlarıdır (Cohen, 2015).

Patolojik olarak herpes simpleks lezyonları, epidermis ve mukozanın derin tabakalarındaki hücrelerde oluşur. Hücreler balonlaşma ve dejenerasyon gösterirler. Etkilenen hücrelerin nükleusları, amitotik bölünme ile çoğalırlar ve çok çekirdekli dev hücreler oluşur. Ayrıca içlerinde A tipi Cowdry intranükleer inklüzyon cisimcikleri görülür. Bu inklüzyon cisimcikleri yeni sentezlenen viral DNA kitleleridir; bazofilik ve Feulgen(+) özelliktedirler. Altaki koryum tabakasında kapillerlerde dilatasyon ve yangı hücrelerinin birikimi vardır. Hücreler arası ödem lezyonu yukarıya, yani deri ve mukoza yüzeyine doğru iter ve tipik veziküller oluşur. Ancak bunlar kolayca patlar ve ülser şeklinde lezyonlar ortaya çıkar (Pellet ve Roizman, 2007; Cohen, 2015).

Herpes virüsleri, enfekte ettikleri konak hücrelerini kendi ihtiyaçlarına göre yönlendirme konusunda son derece ustadır. Konak hücresinin makromolekül sentezini durdurabilir veya teşvik edebilirler, ayrıca DNA replikasyonunu da engelleyebilirler.

Konak immün sistemini baskılayarak virüsün vücutta yayılmasını kolaylaştırırken, aynı zamanda fırsatçı enfeksiyonların gelişmesine de neden olabilirler. Viral genomun konak hücre genleriyle etkileşime girmesi, latent herpes virüs enfeksiyonunun oluşumunda, konak hücresinin apoptozunu engellemede ve enfekte hücrenin immün sistem tarafından tanınmasını önlemede önemli bir rol oynar (Hasdemir, 2017).

Birincil HSV enfeksiyonları, duyarlı bireylerin mukozal yüzeylerine veya bütünlüğü bozulmuş derilerine temas sonrasında epidermis ve dermis hücrelerine girerek gelişir. Virüs, zarfında bulunan glikoproteinler aracılığıyla konağın epidermis ve dermis hücre membranındaki özgül reseptörlere bağlanır ve hücre içine giriş yapar. İlk viral çoğalma burada gerçekleşir. Bu çoğalma yeterli düzeye ulaştığında, bölgede bulunan duyuşal veya otonom sinir sonlarında enfeksiyon meydana gelir (Schiffer ve Corey, 2010).

Viral nükleokapsid, nöron hücresine ulaştıktan sonra akson içi yol aracılığıyla arka kök ganglionlarındaki sinir hücre cisimciklerine ulaşır. HSV-1 enfeksiyonunda en sık trigeminal gangliyonlar enfekte olur. Trigeminal gangliyondan, alt ve üst servikal gangliyonlara da yayılım görülebilir. Genital enfeksiyonlarda ise en sık sakral sinir kök gangliyonları (S2-S5) enfekte olur. Arka kök gangliyonlarında ikinci bir viral çoğalma gerçekleşir ve burada latent enfeksiyon gelişir. Nöral gangliyonlar ve komşu sinir dokularda virüs çoğalması yalnızca primer enfeksiyon sırasında meydana gelir (Brooks, 2013).

Latent (nonprodüktif) enfeksiyon, bazı durumlarda sitolitik (prodüktif) enfeksiyona dönüşebilir. Latent enfeksiyon yaşam boyu devam eder ve mevcut antiviral ilaçlarla tam olarak ortadan kaldırılamaz. Bu enfeksiyonlar, konağın bağışıklık yanıtıyla da elimine edilmez. Latent enfeksiyon sırasında HSV genomunun tamamı veya bir kısmı hücre çekirdeğinde, ekstrasözomal veya epizom formunda latent olarak kalır ve hücre yaşamını sürdürür. Latent HSV-1 enfeksiyonları genellikle trigeminal gangliyonlarda, latent HSV-2 enfeksiyonları ise genellikle sakral gangliyonlarda görülür. Bu bölgelerdeki latent enfeksiyonlar, ancak enfekte gangliyon hücrelerinin HSV'ye duyarlı hücrelerle kokültivasyonu yapılarak tespit edilebilir (Büke, 2017).

Primer HSV enfeksiyonu iyileştikten sonra reaktivasyonun gelişme

mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır. Sinir hücrelerinin mekanik uyarılar, radyasyon, güneş ışığı, enfeksiyon, hormonal değişiklikler, beslenme faktörleri, epinefrin ve kortikosteroidler gibi uyarılar, immün yanıtın değişimi ve sinir büyüme faktörlerinin azalması gibi iç ve dış etmenler, hücrenin kontrolünü kaybetmesine ve virüs çoğalmasını tetikleyerek litik döngüyü başlatmasına yol açabilir. Fakat bu döngünün sonunda klinik hastalığın ortaya çıkıp çıkmayacağı, konağın bağışıklık durumu ile ilişkilidir. Nöral gangliyonlarda latent halde bulunan virüs, reaktivasyon sırasında periferik duyu sinirleri aracılığıyla periferik doğru hareket eder ve mukozal deri bölgelerine ulaşır. Primer genital ya da orolabial HSV enfeksiyonuna kıyasla daha geniş alanda veziküllerin oluşumuna neden olabilir (Schiffer ve Corey, 2010).

Neonatal HSV enfeksiyonu, vajinal doğum sırasında annedeki primer HSV enfeksiyonunun bebeğe bulaşması ile gelişir. Organ nakli yapılmış ya da HIV ile enfekte olgularda olduğu gibi infantlarda da hastalığın kliniği yaygın ve ağırdır. Visseral organlara yayılım ve hayati tehlike söz konusudur. Normal bir konakta gelişen primer HSV enfeksiyonları spesifik olmayan bağışıklık mekanizmaları ile sınırlanır. Bu ilk savunmada granülositler, mononükleer fagositler, NK hücreleri, interferon ve interlekin-2 rol oynar. Bu engelleri aşabilen virüs, duysal sinir gangliyonlarında ikinci bir engellemeyle karşılaşır ve beyine ulaşması engellenir. Ayrıca B hücreleri, T-helper hücreleri ve sitotoksik T hücreleri de santral sinir sisteminde virüsün çoğalmasını sınırlar (Büke, 2017).

HSV enfeksiyonlarına karşı hücresel yanıt büyük bir öneme sahiptir. CD8⁺T lenfositleri ve lenfositlerden kaynaklanan sitokinler, reaktivasyonu engellemede etkilidirler. CD8⁺T lenfositleri, interferon gama ve granzim B salgılayarak etkilerini gangliyonlarda gösterirler. CD8⁺T lenfosit yanıtının olmadığı ya da göreceli olarak CD4⁺T lenfosit sayısından daha az olduğu durumlarda HSV-2 reaktivasyonu sık görülür ve hastalık daha ağır seyreder (Hoshino Y ve ark., 2007).

TLR3, UNC93BI, TRAF3, TICAMI ve TBKI gibi doğal bağışıklıkta interferon sinyalizasyonun yolağında önemi olan bazı genlerde mutasyonu olan kişilerin HSV ensefaliti geliştirme riskinin yüksek olduğu gösterilmiştir. AHLA ve TLR2 genlerindeki polimorfizmler de HSV enfeksiyonunun şiddeti ile ilişkilendirilmişlerdir (Cohen, 2015).

HSV enfeksiyonu sırasında, virüsün tegument, kapsid ve yüzeyindeki glikoproteinlere karşı oluşan nötralizan antikorlar, HSV reaktivasyonlarına karşı korunmada sınırlı bir rol oynar. Ancak yüksek antikor titreleri mevcut olsa bile enfeksiyon ataklarının tekrarlaması, bu antikorların enfeksiyonun kontrolünde çok rolü olmadığını göstermektedir. HSV'nin yayılımı, antikorların varlığında bile etkili bir yol olan hücreden hücreye geçiş şeklinde gerçekleşir. Antikor aracılı hücrel toksisite, HSV ile enfekte hücrelerin yok edilmesinde güçlü bir mekanizma olmasına rağmen, bu mekanizma yenidoğanlarda tam olarak gelişmemiştir. Bu nedenle, yenidoğanlarda HSV enfeksiyonları genellikle daha ağır seyreder (Schiffer ve Corey, 2010).

Herpes simpleks virüsleri ile maligniteler arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Özellikle HSV-2'nin servikal kanser gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği şüphesi vardır. Sero-epidemiyolojik çalışmalar, servikal displazi ve karsinoma in situ tanısı alan kadınlarda HSV-2'ye karşı yüksek antikor düzeylerinin saptandığını göstermiştir (Büke, 2017).

2.7. Klinik Özellikleri

HSV enfeksiyonları semptomatik ve asemptomatik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Virüsün en çok etkilediği bölgeler deri, dudak, ağız boşluğu, göz, genital mukozalar ve santral sinir sistemidir. Yenidoğanlarda ve bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde ise HSV enfeksiyonları genellikle sistemik enfeksiyonlar şeklindedir (Büke, 2017).

HSV-1 ve HSV-2 enfeksiyonları birincil (primer) ve yineleyen (rekürren) olmak üzere iki şekilde sınıflandırılabilir:

2.7.1. Birincil HSV Enfeksiyonları

Bu enfeksiyonlar, virüsle ilk kez karşılaşan (seronegatif) bireylerde görülür. Çoğu olgu asemptomatiktir. Enfeksiyon sonrasında antikor gelişir ve virüs duyu gangliyonlarında latent hale geçer. Birincil herpetik enfeksiyonların klinik tabloları şu şekilde özetlenebilir:

a. Orofaringeal Hastalık: Daha çok 1-5 yaş arasındaki çocuklarda görülür. Genellikle 2-12 gün (ortalama 3-5 gün) süren bir kuluçka döneminden sonra semptomlar başlar. Hastalık; ağız ve boğaz ağrısı, diş etleri ve damakta kanamalar, ülserasyon, ağrı nedeniyle yemek yeme ve içme zorluğu, ağızdan salya akması gibi belirtilerle kendini gösterir. Bunun yanında submandibüler veya servikal lenf bezlerinde şişlik, halsizlik, iştahsızlık ve ateş gibi sistemik semptomlar da görülebilir (Nadelman ve Newcomer., 2000; Fatahzadeh ve Schwartz., 2007).

Küçük, yuvarlak veziküller ağız mukozası, dil, dudak, damak ve farinkste ortaya çıkar. Bu lezyonlar başlangıçta izole iken birleşerek yüzeysel ülserler oluşturabilir. Erişkinlerde farenjit ve tonsillit belirtileri daha belirgin olabilir. Hastalık genellikle 2-3 hafta içinde sekel bırakmadan iyileşir. Ancak bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde enfeksiyon, özofagus veya akciğerlere yayılabilir ve yaşamı tehdit eden bir hal alabilir (Büke, 2017).

b. Deri enfeksiyonları: HSV enfeksiyonları sağlam deride genellikle gelişmez, ancak derin çizik veya yırtılma sonrası HSV-1 ve HSV-2 kaynaklı yerel lezyonlar oluşabilir. Bu lezyonlar travmatik herpes olarak adlandırılır ve diş hekimleri veya hastane personeline görülen herpetik dolama bunun tipik bir örneğidir. Genellikle terminal falanksta yer alan bu lezyonlar, bal peteği görünümünde birleşen veziküller şeklindedir, cilt altına yayılmaz, cerahat içermez ve ağrılıdır. Güreşçi ve futbolcularda sık görülen herpes gladyatorum ise el, omuz, yüz ve gövde derisinde lezyonlarla birlikte sistemik reaksiyonlar da gösterir (Serter, 2008).

Herpesviruslara bağlı deri enfeksiyonları, özellikle ekzema veya yanıklı hastalarda, virusun aşırı üremesi nedeniyle oldukça ağır seyretmektedir. Kronik ekzemalılarda genellikle HSV-1 kaynaklı olarak görülen ekzema herpetikum, ekzemalı deri üzerinde yaygın veziküllerle kendini gösterir ve yüksek ateş ile genel durum bozukluğuna yol açarak bazen ölümle sonuçlanabilir. Ayrıca T hücreli lenfoma, pemfigus ve ağır akne gibi hastalıklarda da HSV enfeksiyonlarının atipik ve ciddi bir seyir izlediği bilinmektedir (Büke, 2017).

c. Göz enfeksiyonları: Herpesvirus kaynaklı oküler enfeksiyonlar, birincil enfeksiyon olarak ya da vücudun başka bir bölgesindeki bir lezyondan yayılım yoluyla

gelişebilir ve bazen yenidoğanlarda olduğu gibi yaygın bir herpetik enfeksiyon sırasında ortaya çıkabilir. Yenidoğanlar hariç, olguların çoğunda HSV-1 etkindir. HSV-2 kaynaklı göz enfeksiyonları daha ağır bir seyir göstermektedir (Büke, 2017).

Herpes simplex virüsü (HSV) keratiti, oftalmologlar için önemli bir teşhis ve tedavi sorunudur ve ABD'de kornea ülseri ve körlüğün ana nedenidir (Mohammadpour ve ark., 2021).

Gözün HSV enfeksiyonu konjonktivit, blefarit, retinit, epitelyal keratit ve herpetik stromal keratite (HSK) neden olabilir Genellikle keratit, göz tutulumunun ilk belirtisidir. Epitelyal, stromal ve endoteliyal olmak üzere üç tipe ayrılır. Bu sınıflandırma, etkilenen kornea tabakasına ve keratitin yeniden aktive olmuş veya birincil enfeksiyondan kaynaklanıp kaynaklanmadığına bağlıdır. En yaygın alt tip, bazı çalışmalarda epitelyal keratitken bazı çalışmalarda da immun stromal keratit olarak bildirildi (Musa ve ark., 2024; Shah ve ark., 2019)

Epitelyal keratit, bireylerin yaklaşık %25'inde HSK'ya ilerler. Birincil enfeksiyon sırasında oluşan lezyonlar, bağışıklık sisteminin etkisiyle normalde yaklaşık 1-2 hafta içinde iyileşir. Bununla birlikte, HSV reaktivasyonu kornea stromasının tekrarlayan enfeksiyonuna neden olabilir. HSK, görme kaybına, neovaskülarizasyona, korneanın skarlaşmasına ve incelmesine neden olabilen kronik bir inflamatuvar yanıtla karakterizedir (Zhu ve VB, 2021).

d. Genital herpes: Genital herpes, cinsel yolla bulaşan hastalıklar arasında en sık görülenlerden biridir. Bu hastalık, genellikle 16-40 yaş aralığındaki bireylerde yaygın olup, cinsel partner sayısının artmasıyla ilişkili olarak daha sık ortaya çıkar. Genital herpesin başlıca nedeni HSV-2 virüsü olmakla birlikte, son yıllarda özellikle gelişmiş ülkelerde HSV-1 kaynaklı vakalarda da artış görülmektedir. 2016 yılında, 15-49 yaşları arasında yaklaşık 190 milyon kişi HSV-1 kaynaklı genital herpes geçirirken, 600 milyondan fazla kişi bu hastalığa HSV-2 nedeniyle yakalanmıştır. Ayrıca, bazı gelişmekte olan ülkelerde HSV-2 enfeksiyonu prevalansı %50'nin üzerinde tespit edilmiştir (Zhu ve VB, 2021)

Genital herpes, birincil enfeksiyon ve yeniden aktivasyon sırasında ortaya çıkabilir, ancak birincil enfeksiyonlar daha şiddetli olma eğilimindedir. Genital herpes, genital bölgede ve çevresinde iltihaplı lezyonlarla ortaya çıkar ve klinik semptomları arasında ateş, kas ağrısı, kaşıntı, baş ağrısı, miyalji vb. bulunur. Başlangıçta papüller belirir, ardından ülserlere dönüşecek kabarcıklar ve lezyonlar gelir. Serviks enfeksiyonu, yeniden aktivasyondan daha çok birincil enfeksiyon sırasında meydana gelir. Doğuştan ve adaptif bağışıklık tepkileri enfeksiyonu kontrol etmede rol oynar ancak aynı zamanda lezyonlara özgü kronik bir inflamatuvar durumun oluşmasına da katkıda bulunabilir. Ortalama olarak, lezyonlardan virüs salınımı yaklaşık 3 hafta sürer ve bu sürenin sonunda hastalık klinik olarak iyileşir. Ancak, virüs sakral gangliyonlarda latent enfeksiyon oluşturur (Zhu ve VB, 2021).

e. Sinir sistemi enfeksiyonları: Herpes Simpleks Ensefaliti (HSE), sporadik viral ensefalitin en yaygın biçimidir. Dünya çapında milyonda 2 ila 4 arasında HSE insidansı ile HSV-1, çeşitli ülkelerden alınan verilere göre çocuklarda ve yetişkinlerde en fazla sayıda viral ensefalit vakasına neden olan virüstür. HSV-2 ise HSE'ye çoğunlukla yenidoğanlarda ve bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde neden olur. Hastalık çocuklarda ve yaşlılarda daha yaygındır. Vakaların yaklaşık %30'u çocuklarda, çoğunlukla 3 ay ile 6 yaş arasındaki çocuklarda görülür. Çocuklar ve yenidoğanlar yetişkinlere göre daha yüksek morbidite ve mortalite oranlarına sahiptir. Davranışsal ve bilişsel bozukluklar da dahil olmak üzere uzun vadeli sonuçlar hayatta kalan bireylerin %70'ine kadarını etkiler (Piret ve Boivin, 2020).

HSE'nin en sık görülen semptomları, vakaların %50'sinden fazlasında görülen ateş, konfüzyon, davranış değişiklikleri, baş ağrısı, bozulmuş mental durum, bilinç değişikliği ve nöbetlerdir. Semptomların hiçbiri HSE'ye özgü değildir ve bu nedenle hızlı, etkili ve doğru bir tanı testi gereklidir (Zhu ve VB, 2021).

f. Neonatal herpes: Ortalama olarak her 5000 doğumda bir neonatal herpes enfeksiyonu görülmektedir. Vakaların yaklaşık %75'inde enfeksiyon, doğum sırasında bebeğin doğum kanalından geçişiyle bulaşırken, geri kalan olgularda enfeksiyonun in utero ya da doğum sonrası dönemde bulaştığı tespit edilmiştir. Doğum sırasında bulaşan enfeksiyonların büyük bir kısmından HSV-2 sorumlu olmasına rağmen, doğum sonrası

dönemde enfekte olan bebeklerde HSV-1 ve HSV-2 eşit sıklıkta görülür ve virüs genellikle aile üyelerinden veya hastane personelinin bulaşır. Hastalığın klinik seyri, bebeğin enfeksiyonu hangi yolla aldığına, erken doğmuş ya da zamanında doğmuş olmasına, bulaşma yoluna veya HSV tipine bağlı değildir (Serter, 2008).

Neonatal herpes enfeksiyonları her zaman semptomatiktir ve tedavi edilmediği takdirde ölüm oranı yaklaşık %50'dir. Transplental bulaş yoluyla gelişen fetal HSV enfeksiyonları, konjenital malformasyonlara yol açabilmektedir. Neonatal herpesli bebeklerde üç ana enfeksiyon tipi tanımlanmıştır:

1. Deri, göz ve ağızda lokalize lezyonlar
2. Ensefalit
3. Merkezi sinir sistemi (MSS) dahil olmak üzere birden fazla organı tutan dissemine hastalık.

Bu tablolardan en yüksek ölüm oranına sahip olan (yaklaşık %80), genellikle ensefalit ile birlikte görülen dissemine hastalıktır. Bu vakalarda ölüm nedeni genellikle viral pnömoni veya damar içi koagülopatidir. Hayatta kalanların büyük bir kısmında kalıcı nörolojik sekeller tespit edilmektedir (Serter, 2008).

2.7.2. Yineleyen HSV enfeksiyonları: Tekrarlayan genital veya orolabial herpes enfeksiyonları genellikle mukokutanöz bölgeyle sınırlıdır ve ilk enfeksiyona kıyasla daha hafif semptomlar gösterir, ayrıca daha kısa sürer. Orolabial herpesin tekrarlayan atakları, genital herpes ataklarına göre daha kısa sürelidir. Lezyonların oluşumundan tamamen iyileşmesine kadar geçen süre genellikle ortalama 5 gündür. Kadınlarda, orolabial herpesin neden olduğu ağrı ve lezyon süresi biraz daha uzun olabilir. Bu tür enfeksiyonların en yaygın örneği, herpes labialis (uçuk) olarak bilinir. Ağız ve burun çevresindeki deri ile mukozanın birleşim bölgelerinde, nadiren burun deliklerinde veya kulak kepçesinde, kızarıklık (eritem) zemininde çok sayıda vezikül oluşmasıyla kendini belli eder. (Büke, 2017).

Bu enfeksiyonlarda genellikle sistemik belirtiler görülmez, ancak veziküllerin patlamasıyla ikincil bakteriyel enfeksiyonlar veya ağrılı ülserler gelişebilir. Ateşli hastalıklar, stres, korku ve heyecan gibi çeşitli faktörler bu atakların ortaya çıkmasını

tetikleyebilir. Kesin tanı için lezyondan alınan örnekte viral nükleik asidin varlığının gösterilmesi veya virüsün izole edilmesi gereklidir. Ancak HSV'nin saptanması, diğer bakteriyel etkenlerin olmadığını göstermez. Primer semptomatik genital HSV-2 enfeksiyonu olan hastaların %90'ında reaktivasyon gözlenmektedir. HSV-2 kaynaklı tekrarlayan ataklar genellikle genital bölgede meydana gelir ve yıllık ortalama 4-5 kez tekrarlanır. Vakaların %20'sinde bu sayı 10'a kadar çıkabilir. Ancak yıllar içinde bu tekrarların sıklığı genellikle azalma eğilimi gösterir (Büke, 2017).

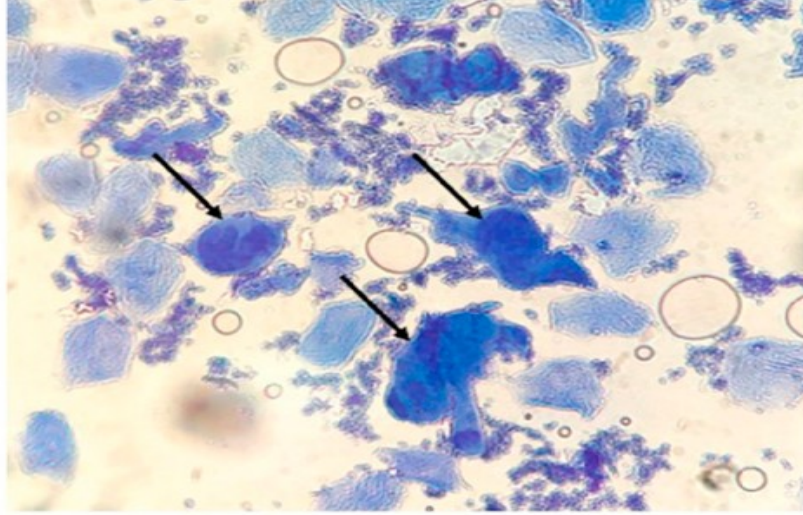
Yineleyen göz enfeksiyonu bulunan olguların %25-60'ında anamnezde bir göz enfeksiyonu veya travma öyküsü vardır. Yaklaşık %30 olguda ise alttaki stromanın da olaya katılması ile inflamasyon, ödem ve yeniden damarlanma sonucu görme kaybı ortaya çıkar. Yoğun tedaviye rağmen yineleyen ülserler ve kronik stromal keratitler genellikle korneada skar oluşumu ve körlükle sonuçlanırlar (Büke, 2017).

HSV'ye bağlı gerçek retinit bazen sistemik enfeksiyona bağlı olarak ortaya çıkar. Bu durum yenidoğanlarda dissemine HSV-2 enfeksiyonları ve nadiren de erişkinlerde HSV ensefalitlerinde saptanır. HSV enfeksiyonu sonucunda oluşan skarlara uygulanan kornea transplantasyonları, eğer aktif inflamasyon ve neovaskülarizasyon yoksa, genellikle başarılı olur. Alıcıların %15'inde greftte yineleyen HSV enfeksiyonu gelişir. Aynı şekilde, kornea transplantları da, alıcıda reaktif olan HSV'ye bağlı olarak enfekte olabilir. Bu tür yineleyen enfeksiyonlarda, genellikle birincil hastalıkta olduğu gibi korneada lezyonlar gelişir. Yineleyen HSV enfeksiyonları, çok nadir olarak iridosiklit, iriste atrofi, sineşi ve katarakta da yol açabilir (Serter, 2008).

2.8. Laboratuvar Tanı

2.8.1. Sitolojik inceleme:

Bu amaç için yapılabilecek en basit test, deri veya mukoza lezyonlarından alınan kazıntılardan hazırlanan preparatları, Giemsa (Tzanck preparatı) veya Metilen boyası ile boyayarak incelemektir. Preparatlarda çok çekirdekli dev hücrelerin varlığı enfeksiyonun HSV ile enfekte olduğunu gösterir (Şekil 2). Papanicolau servikovajinal boyası gibi sitolojik yöntemlerle de hücre içi inklüzyonların görülebilmesi mümkündür (Murray ve ark., 2016).



Şekil 2. HSV enfeksiyonlu bir hastada Tzanck yayması (çok sayıda normal hücreyle çevrili büyük çok çekirdekli dev hücreleri oklarla gösterilmiştir). Hücreler, optik parlak alan mikroskobu kullanılarak alınan metilen mavisi ile boyanmıştır (Nath ve ark., 2021).

2.8.2. Antijen arama yöntemleri:

Lezyonlardan alınan kazıntı örneklerinin, immünofloresans veya elektron mikroskopi yöntemleriyle incelenerek, herpes antijenleri içerip içermedikleri araştırılabilir. Direkt incelemede kullanılan en yaygın yöntem mukokütanöz lezyonlarda HSV antijeninin immunfloresan yöntem ile boyanarak gösterilmesidir. Örnekler lezyon tabanından eküvyonla alınır, lama sürülür ve kurutulur. Asetonla tespit edildikten sonra HSV antijenlerine özgül ‘fluorescein isothiocyanate (FITC)’ ile işaretli monoklonal antikorlar ile boyanır. Duyarlılık ve özgüllüğünü artırmak için viral kültür ile birlikte yapılması önerilir. HSV proteinlerini bağlayabilen monoklonal antikorlar kullanılarak ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay), immunperoksidaz yöntemleri ile de klinik örneklerde HSV antijenleri araştırılmaktadır (Ustaçelebi, 2001; Jerome ve Ashley, 2003).

2.8.3. Virüs izolasyonu:

Yöntemin duyarlılığı (1) lezyonların dönemi (veziküler lezyonlardan izolasyon şansı, ülseratif lezyonlara göre daha fazla), (2) hastalığın birincil veya yineleyen epizot olması (birincil enfeksiyonda izolasyon şansı daha yüksek) ve (3) hastanın bağışık durumu (bağışık yetmezlikli olanlarda daha fazla virus/antijen salınımı) olarak

özetleyebileceğimiz faktörlerle çok yakından ilgilidir. İzolasyon için materyal, herpetik lezyonların bulunduğu deri ve konjunktivadan veya ölümlerde beyinden alınır. Virüs boğaz çalkantı suyu, tükürük ve dışkıda da vardır. Primer enfeksiyonlarda virüs, 2-3 hafta boyunca boğaz ve dışkıda bulunur. Lezyonlar dışında, özellikle asemptomatik dönemlerde de boğaz veya dışkıdan virus izolasyonu mümkün olduğundan, her zaman aynı etiyolojik değeri taşımaz, bir rastlantı sonucu üretilmiş olabilir (Serter, 2008).

Herpesviruslarla tavşan, kobay, fare ve hamster gibi çeşitli hayvanları enfekte etmek olanaklıdır. Ayrıca embriyonlu tavuk yumurtası bunlar için iyi bir üreme yeridir. Embriyonlu yumurta koryoallantoik membranı HSV enfeksiyonuna çok duyarlıdır. Bu zar üzerinde lezyonlar 1-2 günde ortaya çıkar ve 3-4 günde tam olarak gelişirler. Bunlar ufak, biraz belirgin beyaz plaklar olup, sayıları ekilen virus yoğunluğu ile ilgilidir. Ancak bunlar arasında hücre kültürü yöntemi en çok tercih edilendir. Hücre kültürlerinde tipik inklüzyonlar yapar ve sonraları hücreleri nekroze ederler. HSV, 18-72 saat içinde, hücre kültürlerinde sitopatik etki yaparak çoğalır. Üreyen virusun tanımlanması, özgül antiserumlarla yapılan nötralizasyon testi veya immüno Floresans yöntemiyledir. HSV izolatlarının tiplendirilmesi ise monoklonal antikorlar aracılığıyla veya epidemiyolojik çalışmalarda yararlı bir yöntem olan, viral DNA'nın sınırlayıcı endonükleaz analizi ile gerçekleştirilir (Serter, 2008).

2.8.4. Serolojik yöntemler:

HSV'ye karşı oluşan antikorlar; nötralizasyon, kompleman birleşmesi, pasif hemaglutinasyon, indirekt immüno Floresans, RIA, ELISA, komplemana bağlı sitoliz ve antikora bağımlı hücresel sitoliz gibi çeşitli serolojik yöntemlerle tespit edilebilir (Büke, 2017).

Primer enfeksiyonun 4-7. günlerinde antikor (IgM ve IgG) üretimi başlar. Bu antikorlar 2-4 hafta içinde en yüksek seviyeye ulaşır, ardından titreleri azalmaya başlar. IgM antikorları 4-6 ay içinde kaybolurken, IgG antikorları düşük titrelerde yaşam boyu devam eder ve yineleyen enfeksiyonlar sırasında hafif dalgalanmalar gösterir. Bu nedenle, primer enfeksiyon tanısında, akut ve konvalesan dönem serumları arasında 4 kat titre artışı saptanması önemli bir tanı kriteridir. Ancak, erişkinlerden alınan tek bir serum örneğindeki antikor düzeyinin genellikle tanı açısından değeri yoktur. Çünkü

erişkinlerin çoğunda ölçülebilir düzeyde antikor bulunmakta ve yineleyen enfeksiyonlar sırasında antikor titresinde anlamlı bir değişiklik olmamaktadır (Büke, 2017).

Ayrıca, HSV ve VZV arasındaki antijenik benzerlik de dikkate alınmalıdır. Yenidoğanlarda HSV-IgM antikorlarının tespiti tanıda yardımcı olabilir, ancak ileri yaşlardaki primer ve tekrarlayan herpes enfeksiyonlarını ayırt etmede bu yöntemin katkısı sınırlıdır (Büke, 2017).

Klinik ve epidemiyolojik açıdan önemli bir diğer konu, hastanın hangi tip HSV ile enfekte olduğunun belirlenmesidir. Daha önce HSV-1 ve HSV-2'yi ayırt etmek için kullanılan nötralizasyon testleri, günümüzde yerini immüno blotting yöntemlerine bırakmıştır. Özellikle Western blot, HSV-1 ve HSV-2'ye karşı oluşan antikorları ayırt etmede %98'in üzerinde duyarlılık ve özgüllük sunmaktadır. (Büke, 2017).

2.8.5. Moleküler biyolojik yöntemler:

Klinik örneklerde viral genomun niteliksel (kalitatif) ve niceliksel (kantitatif) olarak tespit edilmesinde, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) gibi moleküler biyolojik yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. PCR yöntemi sayesinde, farklı herpetik lezyonlarda erken tanı yüksek bir özgüllükle konulabilmektedir. Genelde HSV DNA araştırılmasına yönelik testler, hücre kültürüne göre 3-4 kez daha fazla duyarlıdır. Erken tanıda kullanılan DNA hibridizasyonu tekniğiyle dokulardaki veya hücre içindeki DNA'yı, radyoaktif madde ile işaretli HSV nükleik asit problemleri ile saptama olanağı vardır (Schiffer ve Corey, 2010).

Günümüzde, HSV enfeksiyonlarının tanısında en hassas yöntem, lezyondan alınan örneklerde HSV DNA'nın, PCR ile tespit edilmesi olarak kabul edilmektedir. Özellikle herpetik ensefalitlerde klinik ve virolojik tanıdaki zorluklar nedeniyle, PCR bu durumlarda altın standart ve en duyarlı yöntem haline gelmiştir. Bu sayede, PCR yöntemi herpetik meningoensefalit tanısında, beyin biyopsisinin yerini almıştır (Büke, 2017).

PCR, hücre kültürüne göre çok daha hızlı ve hassas sonuçlar vermektedir. HSV DNA, genellikle in-house PCR ile araştırılabilir de, daha az kontaminasyon riski

taşıyan ve daha hızlı sonuç veren gerçek zamanlı PCR (RT-PCR) yöntemi tercih edilmektedir (Erdem ve ark., 2020).

Gerçek zamanlı PCR, konvansiyonel PCR'a göre daha kolay ve hızlıdır. Ayrıca, atipik, kronik ve tekrarlayan keratit teşhisinde avantajlı bir yöntemdir (Mohammadpour ve ark., 2021).

Sendromik PCR testleri, enfeksiyon etkenlerinin tanısında hız ve duyarlılığı artıran, modern moleküler tanı yöntemlerindendir. Bu testler, belirli bir klinik sendromla ilişkili çok sayıda patojeni, tek bir örnek üzerinden eşzamanlı olarak saptayabilme imkânı sunar. Özellikle solunum yolu enfeksiyonları, menenjit/ensefalit, gastroenterit ve sepsis gibi ciddi tabloların tanısında tercih edilmektedir. Multipleks PCR teknolojisine dayanan bu test sistemleri, kültür gibi klasik yöntemlere göre daha kısa sürede (genellikle 1 saat içinde) sonuç vererek klinik karar alma sürecini hızlandırır (Acıbadem Labmed, 2021). Ayrıca direnç genlerini de tespit edebilen paneller sayesinde, ampirik antibiyotik tedavileri daha hedefe yönelik planlanabilmekte ve gereksiz antibiyotik kullanımı azaltılabilmektedir (Kapmaz, 2019).

2.9. Tedavi

Herpetik enfeksiyonların tedavisinde çeşitli yöntemler denenmiş olmasına rağmen, mevcut ilaçların hiçbiri HSV eradikasyonunu sağlayamamakta ve latent enfeksiyonu ortadan kaldıramamaktadır. HSV enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmak üzere onaylanmış antiviral ilaçlar şunlardır: **(1) Asiklovir**, (Aklovir) bir asiklik guanozin analogu olup, antiviral etkisini gösterebilmesi için viral timidin kinaz tarafından fosforilize edilmesi gerekmektedir. Güvenilir ve özgül bir ilaç olan asiklovir, oral uygulamada biyoyararlanımının oldukça düşük olması (%10-20) nedeniyle sık doz aralıklarıyla kullanılması gerekir **(2) Valasiklovir**, (Valtrex) asiklovirin L-valil esteri olup, benzer bir etki mekanizmasına sahip olmakla birlikte biyoyararlanımı 3-5 kat daha fazladır. **(3) Pensiklovir** de benzer bir etki mekanizmasına sahiptir, ancak asiklovire göre hücre içinde daha uzun yarı ömre sahiptir. **(4) Famsiklovir**, pensiklovirin diasetat esteridir; ağızdan alınan pensiklovirin diasetat esteri olarak geliştirilmiştir ve oral alım sonrası hızla pensiklovire dönüşerek etkinlik sağlar. **(5) Foskarnet ve sidofovir**, timidin kinazdan bağımsız viral DNA sentezini inhibe eden ilaçlardır ve özellikle asiklovire

dirençli şiddetli HSV enfeksiyonlarında tercih edilir. **(6) Gansiklovir**, (Virgan pomad) HSV-1 ve HSV-2'ye karşı etkili olmakla birlikte toksisite riski nedeniyle genellikle göz enfeksiyonlarında topikal olarak kullanılır. **(7) Vidarabin**, HSV enfeksiyonlarında kullanılan bir diğer ilaçtır. Tedavinin etkili olabilmesi için mümkün olduğunca erken başlanması gerekmekte olup, 3 günden eski lezyonlarda antiviral ilaçlar genellikle etkisizdir. Tedavi süresi, rejimin maliyeti, hasta uyumu ve bağışıklık durumu gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Lohr ve ark., 2016; Schiffer ve Corey, 2017).

2.10. Korunma ve Kontrol

HSV enfeksiyonlarından korunmada alınacak önlemler şunlardır: Yaygın herpetik lezyonları olan hastalarla sağlıklı kişilerin yakın temastan kaçınması, aktif genital lezyonu veya geçmişte genital HSV enfeksiyonu öyküsü bulunan eşlerle cinsel ilişki sırasında kondom kullanılması, sağlık çalışanlarının enfekte bireylerle temas ederken gerekli enfeksiyon kontrol önlemlerini alması ve bebeklerin perinatal enfeksiyonlardan korunması (Büke, 2017).

Ayrıca virüsün yayılmasını azaltmak için el hijyeni ve genel hijyen kurallarına odaklanılmalıdır. Kirli ellerle gözlerin ovuşturulmasından kaçınılmalı ve düzenli el yıkama teşvik edilmelidir. Enfekte kişiler, bulaşmayı en aza indirmek için izole edilmelidir. Herpes simpleks keratiti tanısı konan hastalar, tekrarlamaları tanıma ve hızlı tıbbi yardım alma konusunda eğitilmelidir. Ayrıca, tekrarlamaları en aza indirmek için önleyici tedavi gerekebilir (Ahmad ve ark., 2024).

Son olarak, HSV enfeksiyonundan korunmak amacıyla aşı çalışmaları devam etmekte olup, şu an için lisans almış bir aşı bulunmamaktadır (Nath ve ark., 2021).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi ve Verilerin Toplanması

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaşı Tıp Merkezi'nde Mart 2024 – Mart 2025 tarihleri arasında Mikrobiyoloji laboratuvarımıza, göz kliniğinden gelen Herpetik stromal keratit tanısı düşünülen hastaların gözyaşı örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir. Hastanın iki gözünde de Herpetik stromal keratit düşünüldüğü takdirde lezyonun en fazla olduğu göz çalışmaya dahil edilmiş olup diğer göz çalışma dışı bırakılmıştır.

3.2. Etik Kurul Onayı

Çalışmamız Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 08.03.2024 tarih ve 2024/03-06 sayılı kararı ile onay almıştır.

3.3. Gözyaşı Örnekleme Yöntemleri

Her bir hastadan, aynı seansta üç farklı teknikle gözyaşı örneği alınmıştır. Tüm örnekleme prosedürleri, kontaminasyon riskini en aza indirmek amacıyla steril şartlarda ve temassız bir şekilde, bir göz hastalıkları uzmanı tarafından uygulanmıştır. Tüm örnekleme yöntemleri, topikal anestezi uygulanmadan aynı hastanın aynı gözünden, aynı seansta ve sıralama etkisini minimize etmek amacıyla rastgele belirlenen bir sırayla uygulanmıştır. Hastaların gözyaşları alındıktan sonra vNAT® Transfer Tüpü (Bio-Speedy, İstanbul, Türkiye) içerisine koyulup Mikrobiyoloji laboratuvarımıza ulaştırılmıştır. Çalışma zamanına kadar örnekler +4 °C buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.3.1. Kapiller Tüp Yöntemi

Bu yöntemde, gözyaşı doğrudan alt forniks bölgesinden, göz yüzeyine temas ettirilmeden ve pasif akış yoluyla kapiller Soda-kireç camı kapiller tüp (1,55 mm çap × 75 mm uzunluk) (Vitrex medikal A/S, Herlev, Danimarka) içerisine toplanmıştır. Her

hasta için steril mikro-hematokrit tüpler (75 mm uzunluğunda) kullanılmış olup yaklaşık 50 µL örnek hacmine ulaşılmıştır.

3.3.2. Schirmer kağıdı

Gözyaşı üretiminin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan bu yöntem, alt göz kapağının konjonktival yüzeyine yerleştirilen standart Schirmer kağıdının (Karboksi metil selüloz oftalmik steril şeritler, Optitech Eyecare, Allahabad, Hindistan) 5 dakika süreyle gözde bırakılması esasına dayanmaktadır. Ardından gözyaşı emdirilmiş kağıtlar steril koşullarda kesilerek örnekleme tüpüne aktarılmıştır.

3.3.3. Sürüntü Çubuğu Yöntemi

Steril pamuk uçlu bir çubuk, alt forniks bölgesine hafifçe temas ettirilerek, yaklaşık 5 saniye süreyle dairesel hareketlerle gözyaşı ve konjonktival sekresyonlardan örnek toplanmıştır.

3.4. Multipleks PCR Yöntemi

3.4.1. Kullanılan Kit ve Cihazın Özellikleri

Göz enfeksiyonlarına neden olan ana patojenlerin tanımlanması için, Bioeksen, Bio-Speedy Göz Enfeksiyonları qPCR Paneli (Bio-Speedy, İstanbul, Türkiye) kiti kullanılmıştır.

Bio-Speedy Göz Enfeksiyonları qPCR Paneli kiti; *Herpes Simplex Virus 1*, *Herpes Simplex Virus 2*, *Adenovirus*, *Varicella-zoster Virus*, *Sitomegalovirus*, *Epstein-Barr Virus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Candida spp.*, *Toxoplasma gondii*, *Acanthamoeba spp.* Olmak üzere 14 patojeni tespit ve ayırt etmektedir (Tablo 2).

Kitin çalışmasında kullanılan Mic qPCR Cyclers küçük boyutlu, hafif ve taşınabilir bir tasarıma sahiptir. 5 ile 30 µL arasında hacimlerle çalışmayı desteklemektedir. Dört tüpten oluşan 0,1 mL'lik stripler ve eşleşen kapaklar kullanılır. Çalışmanın başlangıcında yüksek hızlı santrifüjleme ile reaksiyon bileşenlerinin tüpün

dibinde olmasını garanti ederek harici santrifüje ihtiyaç duyulmamaktadır. Cihaz tak-çalıştır şeklindedir ve herhangi bir kalibrasyon gerektirmemektedir. Gerekğinde her patojene ve alt gruplarına ait sonuç eğrilerini ayrı ayrı gösterebilmektedir. Cihaz 4 kanala sahiptir ve bu kanallar; FAM, HEX, ROX ve Cy5 floresan absorbanlarına uygundur.

Tablo 2. Kit ile saptanan patojen tipleri

Patojen Türü	Alt Tipi
Virus	<i>Herpes Simplex Virus 1, Herpes simplex Virus 2, Adenovirus, Varicella-zoster Virus, Sitomegalovirus, Epstein-Barr Virus</i>
Bakteri	<i>Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus pneumoniae, Chlamydia trachomatis</i>
Mantar	<i>Fusarium spp., Aspergillus spp., Candida spp</i>
Protozoa	<i>Toxoplasma gondii, Acanthamoeba spp</i>

3.4.2. Yöntemin Esasları

Bioeksen, Bio-Speedy Göz Enfeksiyonları qPCR Panel kiti, multipleks gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Multiplex qPCR) ile çalışmak üzere geliştirilmiş bir moleküler tanı sistemidir. Bu kit, DNA ve RNA bazlı virüsleri, bakteriler, mantarlar ve protozoalar gibi farklı patojen gruplarının genetik materyallerini eşzamanlı olarak hedefleyen ve çoğaltan çoklu amplifikasyon reaksiyonları gerçekleştirebilir. Reaksiyon sırasında, hedef mikroorganizmalara özgü hidroliz problemleri kullanılarak spesifik floresan sinyalleri elde edilir. Bu floresan sinyaller, her bir hedefin amplifikasyon süreci boyunca artış gösterir ve böylece patojen varlığı eş zamanlı olarak tespit edilir.

Bu sistemin temel avantajı, çok sayıda patojeni aynı anda analiz edebilme kapasitesine sahip olmasıdır. Hidroliz problemlerinin yüksek özgüllüğü sayesinde, her bir patojenin varlığı güvenilir bir şekilde doğrulanabilir. Ayrıca, qPCR formatı, RNA bazlı patojenler için cDNA sentezi ve amplifikasyon süreçlerini tek bir reaksiyonda birleştirir, bu da analiz süresini kısaltır ve işlem basamaklarını azaltarak laboratuvar verimliliğini artırır. Bu yöntem, göz enfeksiyonlarına neden olan etkenlerin hızlı, doğru ve hassas bir şekilde tespit edilmesine olanak tanır ve özellikle karmaşık patojen profillerinin analiz edilmesi gereken klinik durumlarda önemli bir tanı aracıdır. Elde edilen sonuçlar

Sigmoida yazılımı ile otomatik olarak analiz edilmektedir.

3.4.3. Kit İçeriği

Bioeksen, Bio-Speedy Göz Enfeksiyonları qPCR Panel kiti, göz enfeksiyonlarına neden olabilecek çeşitli patojenlerin tanımlanmasını kolaylaştırmak amacıyla liyofilize strip formatında geliştirilmiş bir moleküler tanı kiti olarak tasarlanmıştır. Her bir örnek için 4 tüp içeren bir strip kullanılmakta ve bu tüpler içerisinde multipleks olarak reaksiyonlar gerçekleştirilmektedir. Liyofilize strip formatı, reaksiyon karışımını oluşturan oligonükleotid mix ve enzimlerin önceden hazırlanarak kullanıma hazır halde sunulmasını sağlar. Kullanıcı, sadece numuneye ait nükleik asidi ekleyerek cihazda analiz başlatabilir; bu, işlemlerin hızını artırmakta ve laboratuvar prosedürlerini kolaylaştırmaktadır.

Bu kit, göz enfeksiyonlarına yol açan çeşitli virüs, bakteri, mantar ve protozoa patojenlerini aynı anda tespit edebilme özelliğine sahiptir. Strip içerisindeki her bir tüp, farklı patojen gruplarını hedefleyen primer ve prob karışımları içerir. Nümunede bulunan hedef nükleik asitlerin amplifikasyonu, floresan işaretli spesifik prob setleri (FAM, HEX, ROX ve Cy5 gibi) ile izlenir. Bu prob sistemleri, her bir patojene özgü sinyaller üreterek çoklu patojenlerin eş zamanlı olarak saptanmasını sağlar.

Tablo 3'te, bir örneğe ait hazır halde bulunan dört liyofilize strip tüpünün genel görünümü ve her bir tüpün içerdiği patojenlerin spesifik nükleik asit hedefleri ile prob renkleri gösterilmiştir. Her bir tüp, göz enfeksiyonlarına neden olabilen spesifik patojenlerin amplifikasyonu ve tanımlanması için optimize edilmiştir.

Bu strip formatı, her bir tüpün farklı patojen gruplarını kapsayan spesifik prob ve primer setleri içermesi sayesinde çok sayıda patojeni aynı anda saptamaya olanak tanır. Özellikle göz enfeksiyonlarına yönelik olarak yaygın patojenlerin analiz edilmesi gereken durumlarda bu kit, yüksek hassasiyet ve özgüllük ile hızlı sonuç vermektedir. Ayrıca, multipleks formatı sayesinde laboratuvar iş akışını optimize eder ve çoklu patojen analizlerinde maliyet etkin bir çözüm sunar.

Tablo 3. Bir örneğe ait hazır liyofilize striplerin genel görünümü ve içeriği

Tüp No	Kanal / Floresan	Hedef Patojen / Kontrol
Tüp 1	FAM	Epstein-Barr Virus
	HEX	İnsan (IC - Harici Kontrol)
	ROX	Candida spp.
	CY5	Aspergillus spp.
Tüp 2	FAM	Human Cytomegalovirus
	HEX	Toxoplasma gondii
	ROX	Acanthamoeba spp.
	CY5	Streptococcus pneumoniae
Tüp 3	FAM	Chlamydia trachomatis
	HEX	Pseudomonas aeruginosa
	CY5	Human Adenovirus
Tüp 4	FAM	Herpes Simplex Virus 1
	HEX	Fusarium spp.
	ROX	Varicella-Zoster Virus
	CY5	Herpes Simplex Virus 2

3.4.4. qPCR Uygulama Protokolü

Bu protokol, Bioeksen, Bio-Speedy Göz Enfeksiyonları qPCR Panel kitinin uygulanmasında kullanılan qPCR cihazının programlanması ve işlem aşamalarını ayrıntılı olarak açıklamaktadır. Aşağıdaki adımlar, örneklerin işlenmesinde yüksek verimlilik ve doğruluk sağlamak amacıyla izlenmelidir:

- **Cihaz Programlama:** qPCR cihazını Tablo 4’de verilen program parametrelerine göre ayarlanılır.

- **Ön İşlem:** –20°C’de saklanan Mic stripleri soğutucu blok üzerine yerleştirilir ve örnek eklemekten önce oda sıcaklığına gelmeleri sağlanır.

- **Örnek Eklenmesi:** Her bir reaksiyon tüpüne 10 µL “Kalıp Nükleik Asit (Örnek)” eklenir. Ayrıca, olası kontaminasyonun tespiti için “El Rxn” stripine 10 µL “NTC” (Negatif Kontrol) eklenir.

- **Cihaz Yerleştirme ve Çalıştırma:** Hazırlanan stripleri qPCR cihazına yerleştirerek çalışma başlatılır.

Tablo 4'te, qPCR programının detayları ve döngü ayarları belirtilmiştir. Bu parametreler, optimal bağlanma ve uzama şartları sağlanarak amplifikasyonun doğruluğunu artırmayı amaçlamaktadır.

Tablo 4. qPCR Program

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
Enzim Aktivasyonu	1 Döngü	52 °C	3 dk
Bekleme	1 Döngü	95 °C	10 sn
Denatürasyon	12 Touchdown Döngüsü: Döngü başına bağlanma sıcaklığında 1 °C azalma	95 °C	1 sn
Bağlanma/Uzama	12 Touchdown Döngüsü: Döngü başına bağlanma sıcaklığında 1 °C azalma	67 °C – 56 °C	15 sn
Denatürasyon	30 Döngü	95 °C	1 sn
Bağlanma/Uzama	30 Döngü	55 °C	15 sn
Tespit (Okuma)	30 Döngü	FAM / HEX / ROX / CY5	-

Not: Touchdown bağlanma sıcaklığı, amplifikasyonun özgüllüğünü artırmak amacıyla her bir döngüde 1°C azalarak başlar. Bu sıcaklık değişiklikleri, özellikle çoklu patojen tespit edilen reaksiyonlarda arka plan sinyallerinin azaltılmasına yardımcı olur. Son okuma, her hedef için farklı floresan sinyalleri (FAM, HEX, ROX, Cy5) kullanılarak gerçekleştirilir.

3.4.5. Sonuçların Yorumlanması

3.4.5.1. Kontrol Türleri ve Beklenen Performans

Tablo 5'de qPCR deneyinde kullanılan kontrol türleri ve bu kontrollerden beklenen sonuçlar verilmiştir:

- **Negatif Kontrol (NTC):** qPCR reaksiyonuna herhangi bir şablon DNA eklenmeden yapılan kontroldür. Bu kontrol, kontaminasyon olup olmadığını kontrol etmek amacıyla kullanılır. Beklenen sonuç, herhangi bir Cq değeri elde edilmemesi (Cq Yok) şeklindedir.

- **Pozitif Kontrol (PC):** Reaksiyonun çalışıp çalışmadığını doğrulamak için

stabiliteyi kontrol eder. Burada beklenen sonuç, pozitif bir Cq değeri elde edilmesidir. Cq değeri belirlenen aralıklarda olmalıdır ($Cq \leq 26$).

• **Dahili/Ekstraksiyon Kontrolü (IC):** Örneklerdeki nükleik asit ekstraksiyonunun ve qPCR çalışmasının düzgün şekilde gerçekleştiğini doğrulamak amacıyla eklenir. Eğer IC $Cq \leq 26$ ise ve etken Cq kriterine uygun Cq değerine sahipse, IC geçerli kabul edilir.

Bu kontrollerin beklenen performansa uygun sonuçlar vermemesi durumunda aşağıdaki analizler yapılmalıdır.

Tablo 5. Kit Kontrollerinin Beklenen Performansı

Kontrol Türü	Amaç	Beklenen Sonuç	Yorum
NTC (Negatif Kontrol)	Kontaminasyonun olup olmadığını kontrol etmek	Cq görülmemeli (Cq yok)	Cq değeri çıkarsa kontaminasyon ihtimali vardır; test tekrarlanmalıdır.
PC (Pozitif Kontrol)	PCR sisteminin çalıştığını ve reaktiflerin stabil olduğunu doğrulamak	$Cq \leq 26$	Belirtilen aralıkta Cq çıkmalı; çıkmazsa reaktif sorunu olabilir.
IC (Dahili Kontrol)	Ekstraksiyon ve qPCR adımlarının düzgün çalıştığını göstermek	$Cq \leq 26$	IC başarısızsa sonuç geçersiz sayılır; yeni numune gerekebilir.

3.4.5.2. Problemler ve Önerilen İşlemler

Kontrollerin çalışmadığı durumlarda yapılması gereken işlemler şunlardır:

• **Kontaminasyon:** Eğer NTC kanalında $Cq \leq 26$ değeri elde edilirse, kontaminasyon olabilir. Bu durumda, çalışmanın tekrar edilmesi ve uyarı/sınırlamalar bölümündeki talimatlara göre analiz yapılması önerilir.

• **Reaktif Problemi:** Çalışma sırasında pozitif kontrol istenen sonuçları vermiyorsa veya örnekler için $Cq \leq 26$ olan sigmoid eğrisi elde edilemiyorsa, reaktiflerin

stabilitesi sorgulanmalıdır. Bu durumda, kit üreticisi ile iletişime geçilmesi ve PC reaksiyonuna ekstra pozitif kontrol eklenmesi önerilir.

- **Geçersiz Sonuç:** Test tüpünün HEX (IC) kanalında $Cq \leq 26$ değeri elde edilmezse, numuneden bağımsız bir sorun olabilir. Bu durumda, hastadan yeni bir numune alınması ve testin tekrarlanması gerekmektedir.

3.4.5.3. Hasta Sonuçlarının Yorumlanması

Eğer tüm kontroller geçerliyse, hasta sonuçlarının yorumlanması şu şekilde yapılır:

- **Etken Pozitif (+):**

IC pozitif (+) veya negatif (-) olabilir, ancak etkenin Cq değeri 26'dan küçük olmalıdır.

Cq değerleri aralığına göre, $Cq > 26$ ise “Negatif”, $16 < Cq \leq 26$ ise “Pozitif”, $Cq \leq 16$ ise “Yüksek Pozitif” olarak yorumlanır.

- **Etken Negatif (-):**

IC pozitif (+) ve etken tespit edilmemişse sonuç “Negatif” olarak değerlendirilir.

Ayrıca, qPCR cihazı ile elde edilen sonuçlar yukarıda gösterildiği gibi manuel yorumlanabilir ya da “Sigmoida” yazılımı kullanılarak otomatik olarak yapılabilir. Bu süreçler, qPCR deney sonuçlarının doğru yorumlanması ve hataların minimize edilmesi açısından oldukça önemlidir. Tüm bu aşamalar, laboratuvarında kontaminasyon, reaktif sorunları ve geçersiz sonuçların önlenmesi için titizlikle uygulanmalıdır.

3.5. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, HSV-1 PCR testlerinin tanısal performansını değerlendirmek amacıyla, üç farklı gözyaşı örnekleme yöntemi ile eş zamanlı olarak örnekler alınmış ve tüm numunelerde HSV-1 varlığı PCR yöntemiyle analiz edilmiştir. Elde edilen veriler çok yönlü istatistiksel yöntemler kullanılarak değerlendirilmiş ve örnek alma

tekniklerinin tanısal doğruluğa etkisi araştırılmıştır. Verilerin analizi sırasında tanımlayıcı istatistikler, tanısal doğruluk ölçümleri ve gruplar arası karşılaştırmaların yanı sıra, yöntemler arası uyum ve pozitiflik oranlarının kıyaslanması da yapıldı.

3.5.1. Tanımlayıcı İstatistikler

Yaş değişkeni için ortalama ve standart sapma hesaplandı, cinsiyet gibi kategorik değişkenler ise sayı (n) ve yüzde (%) değerleri ile sunulmuştur.

3.5.2. HSV-1 Pozitiflik Oranlarının Karşılaştırılması

Her bireyde üç farklı örnekleme yöntemi (Kapiller tüp, Schirmer kağıdı, sürüntü çubuğu) ile alınan örneklerden elde edilen **HSV-1 PCR pozitiflik oranları**, öncelikle tanımlayıcı olarak sunulmuş, ardından gruplar arası karşılaştırmalar yapılmıştır. Pozitiflik, PCR çıktısında “HSV-1” ifadesinin varlığı ile tanımlanmıştır. Tedavi durumu (alan/almayan) ve nüks durumu (ilk atak/nüks) gibi ikili kategorilere göre pozitiflik oranlarının karşılaştırılmasında **Fisher’in Kesinlik Testi (Fisher’s Exact Test)** kullanılmıştır.

3.5.3. Tanısal Doğruluk Analizleri

HSV-1 PCR testlerinin **duyarlılık (sensitivity)**, **özellik (specificity)** ve **pozitif prediktif değer (PPV)** hesaplamalarında, **altın standart olarak klinik değerlendirme (biyomikroskopik bulgular, nüks durumu)** esas alındı. (Hoarau ve ark., 2023) Klinik değerlendirme ile HSK tanısı konmuş hastalar, PCR testlerinin tanısal doğruluğunu belirlemek amacıyla referans olarak kabul edildi. Her üç test yöntemi için bu ölçütlere dayalı performans analizleri genel hasta grubunda ve tedavi durumu ile nüks durumuna göre alt gruplar içinde hesaplandı.

3.5.4. Yöntemler Arası Pozitiflik Farklarının Analizi

Testler arası pozitiflik oranlarının karşılaştırılmasında şu analizler uygulandı:

- **Cochran’s Q Testi:** Aynı bireyde uygulanan üç farklı testin pozitiflik oranları karşılaştırılarak, aralarında anlamlı fark olup olmadığı analiz edildi. Bu test

genel grup ve klinik alt gruplar (tedavi durumu, nüks durumu) için ayrı ayrı uygulandı.

- **Cohen's Kappa Uyum Analizi:** Testlerin tanısal uyumu değerlendirildi. Her bir test çifti için Cohen's Kappa katsayısı hesaplandı ve uyum düzeyi yorumlandı. Kappa değerleri genel hasta grubu ve klinik alt gruplar için ayrı ayrı raporlandı.
- **McNemar Testi:** Test çiftleri arasında pozitiflik oranlarında anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek amacıyla eşleşmiş ikili karşılaştırmalar yapıldı. Bu analiz de hem genel hasta grubunda hem de alt gruplarda yürütüldü.

3.5.5. PCR Cq Değeri Karşılaştırmaları

Her test yöntemi için **PCR Cq değerlerinin**, hastaların **klinik durumlarına (tedavi alma ve nüks durumu)** göre farklılık gösterip göstermediği değerlendirildi. Cq değerleri parametrik dağılım göstermediğinden dolayı gruplar arası fark analizleri **Mann-Whitney U testi** ile gerçekleştirildi. Her testin Cq ortalamaları iki grupta karşılaştırıldı ve anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

3.5.6. İstatistiksel Güç

Çalışmada kullanılacak örneklem büyüklüğü, en az %80 istatistiksel güç sağlayacak şekilde ön-hoc hesaplamayla planlandı; yapılan post-hoc analizlerde, elde edilen örneklem %95'in üzerinde güç sağladığı belirlendi. Örneklem büyüklüğü hesaplaması, %30 beklenen duyarlılık, %10 hata payı, %80 güç ve %0.05 alfa hata düzeyi esas alınarak yapılmıştır.

3.5.7. Yazılım

Tüm istatistiksel analizler Python programlama dili kullanılarak gerçekleştirildi. Pandas, scipy, statsmodels, sklearn ve matplotlib gibi kütüphanelerden yararlanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya toplam 46 olgu dahil edildi. Katılımcıların yaş ortalaması 40.64 ± 17.78 yıl olup, %37'si (n=17) kadın, %63'si (n=29) erkekti.

Bu çalışmada herpetik stromal keratit (HSK) tanısı düşünülen 46 olgudan alınan gözyaşı örneklerinde üç farklı örnekleme yöntemi ile yapılan HSV-1 PCR testlerinin pozitiflik oranları değerlendirildi ve gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldı. Pozitiflik, PCR çıktısında "HSV-1" sonucu verilen olgular olarak tanımlandı.

Çalışma kapsamında değerlendirilen 46 hastanın 13'ünde, en az bir gözyaşı toplama yöntemiyle HSV-1 pozitifliği saptanmıştır. Benzer şekilde, 5 hastada ise CMV pozitifliği tespit edilmiştir.

Çalışmada 32 hasta, daha önce keratit atağı geçirmiş olup nüks keratit nedeniyle başvururken, 14 hasta ilk atakla başvurmuştur. 21 hasta başvuru sırasında antiviral tedavi alırken, 25 hasta herhangi bir göz hastalığı tedavisi görmüyordu. Tüm hastaların klinik özellikleri ve PCR sonuçları Tablo 6 ve 7'de verilmiştir.

Tablo 6. Çalışma grubundaki hastaların klinik durumları

Sıra No	Yaş	Cins	Şikayet	Sistemik hast. öyküsü	Tedavi Alma Durumu	Atak Durumu	Bulgular
1	36	K	Gözde ağrı,batma,Kızarıklık,sulanma,ışıkta rahatsız olma,	Hipotiroidi	Yok	İlk Atak	Korneada keratit odağı mevcut,korneda stromal infiltrasyon
2	32	E	Ağrı,batma,sulanma	-	Yok	Nüks	Korneda keratit odağı?,stromal infiltrasyon
3	37	K	Gözde beyazlık ,sulanma,ağrı,batma,ışıkta rahatsız	-	Var	Nüks	Korneada skar,stromal infiltrasyon,epitel defekti mevcut
4	10	K	Batma,ağrı,kızarıklık,yaşarma	-	Yok	İlk Atak	Korneada keratit skarı?,korneada stromal infiltrasyon
5	66	E	Batma,ağrı,kızarıklık,yaşarma	-	Yok	İlk Atak	kornea ödemli,keratit odağı, stromal infiltrasyon, ÖK'da hücre pozitif,stromal opasifite mevcut
6	85	E	Gözde kanlanma,bulanık görme	-	Yok	Nüks	Kornea ödemli,keratit odağı,stromal infiltrasyon,kornea hafif ödemli
7	46	E	Gözde kızarıklık,Görme azlığı,daha önce,ışıkta rahatsız	-	Var	Nüks	korneada herpetik stromal keratit?, stromal infiltrasyon, Ökda hafif rxn (1+ hücre pozitif)
8	11	K	Kızarıklık,sulanma,ağrı,batma,ışıkta rahatsız	-	Yok	İlk Atak	Korneada stromal keratit odağı?,korneada stromal infiltrasyon
9	5	E	Gözde sulanma,ağrı,batma,kızarıklık	-	Var	Nüks	korneada keratit skarı,stromal infiltrasyon
10	43	E	Gözde ağrı,batma hissi,bulanık görme,ışıkta rahatsız	-	Var	Nüks	Korneada skar,stromal keratit?,stromal infiltrasyon
11	37	E	Gözde beyazlık,batma hissi,ağrı	-	Var	Nüks	Korneada stromal keratit odağı?,korneada stromal infiltrasyon,epitel defekti mevcut
12	32	E	Gözde batma hissi,ağrı,kızarıklık,ışıkta rahatsız	-	Var	Nüks	Korneada opasifikasyon,stromal infiltrasyon
13	75	K	Gözde ağrı,batma,kızarıklık,görme azlığı,ışıkta rahatsız olma	-	Yok	Nüks	Korneada lokalize ödem,konj.enjeksiyon,stromal opasite, stromal infiltrasyon,korneada keratik presipitatlar mevcut,korneal vaskülarizasyon,Ökda hafif rxn (1+ hücre pozitif)
14	21	K	Gözde batma hissi,kızarıklık,ağrı,sulanma	-	Var	İlk Atak	Korneada keratit odağı,stromal infiltrasyon
15	36	K	Gözde kızarıklık,ağrı,batma,sulanma,görme azlığı	-	Yok	İlk Atak	Korneada keratit?,stromal infiltrasyon

Tablo 6 (devamı). Çalışma grubundaki hastaların klinik durumları

Sıra No	Yaş	Cins	Şikayet	Sistemik hast. öyküsü	Tedavi Alma Durumu	Atak Durumu	Bulgular
16	50	K	Gözde kızarıklık,ağrı,batma,görme bulanıklığı,fotofobi	Tiroid Nodülü	Yok	Nüks	Korneada opasifikasyon,konj.enjeksiyon,Stromal keratit?, stromal infiltrasyon,kornea hafif ödemli
17	43	K	Gözde kızarıklık,görme bulanıklığı	Hipotiroidi-DM-HT	Var	Nüks	Korneada stromal keratit?,stromal infiltrasyon
18	29	E	Gözde kızarıklık,bulanık görme	-	Var	İlk Atak	Korneada stromal keratit?,stromal infiltrasyon
19	33	E	Gözde kızarıklık,batma,ağrı,sulanma,bulanık görme	-	Yok	Nüks	Korneada stromal keratit,opasifikasyon,stromal infiltrasyon, korneal vaskülarizasyon
20	40	K	Gözde yaşarma,yanma,ağrı,fotofobi	-	Yok	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon,stromal keratit?,Lensi kesif,xt
21	13	E	Göz kapağında şişkinlik,gözde batma,ağrı,kızarıklık	-	Yok	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon,keratit odağı mevcut,korneada lokalize ödem
22	77	E	Görme azlığı,kızarıklık,batma,sulanma	Glokom	Var	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon,punktat boyanma epitel defekti,kornea ödemli,stromal keratit?,vaskülarizasyon,Ök da hücre pozitif
23	26	E	Gözde batma,ağrı,işıktan rahatsız	-	Yok	İlk Atak	Korneada stromal infiltrasyon,stromal keratit?
24	43	E	Gözde batma,ağrı,kızarıklık,bulanık görme	-	Yok	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon,stromal keratit?,stromal ödem
25	36	K	Gözde kızarıklık,işıktan rahatsız	-	Yok	İlk Atak	Korneada stromal infiltrasyon,stromal keratit?
26	40	E	Bulanık görme,yanma,fotofobi,	Hipogonadizm	Yok	İlk Atak	Korneada stromal infiltrasyon,stromal keratit?,kornea hafif ödemli,ÖK da hücre yok
27	40	E	Bulanık görme,batma,ağrı,fotofobi	-	Var	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon,stromal keratit?,kornea hafif ödemli,ÖK da hücre yok
28	69	K	Gözde yanma,sulanma,işıktan rahatsız,	Astım-DM-HT-KBY	Var	İlk Atak	Korneada stromal infiltrasyon,stromal keratit?
29	71	E	Gözde batma,ağrı,kızarıklık,bulanık görme,	KOAH	Yok	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon,stromal keratit?,kornea ödemli
30	68	E	Gözde batma,ağrı,sulanma,bulanık görme	-	Yok	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon,stromal keratit?,korneal opasite+



Tablo 6 (devamı). Çalışma grubundaki hastaların klinik durumları

Sıra No	Yaş	Cins	Şikayet	Sistemik hast. öyküsü	Tedavi Alma Durumu	Atak Durumu	Bulgular
31	37	E	Gözde batma, bulanık görme, ağrı, ışıktan rahatsız	-	Var	Nüks	Korneada opasifikasyon, stromal infiltrasyon, stromal keratit?
32	55	K	Gözde yanma, batma, ağrı, kızarıklık, fotofobi,	DM	Var	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon, stromal keratit?
33	37	K	Gözde bulanık görme, batma, ağrı, kızarıklık, ışıktan rahatsız	-	Yok	Nüks	Korneada skar, stromal infiltrasyon, stromal keratit?, epitel defekti
34	32	E	Gözde yanma, kızarıklık, sulanma, fotofobi	-	Var	İlk Atak	Korneada stromal infiltrasyon, stromal keratit?,
35	28	E	Gözde bulanık görme, yanma, kızarıklık, ışıktan rahatsız	-	Var	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon, stromal keratit?, korneal opasifikasyon
36	36	E	Gözde bulanık görme, beyaz leke, yanma	-	Yok	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon, stromal keratit?, korneal opasite, stromal vaskülarizasyon
37	41	E	Gözde batma, ağrı, perdeli görme, ışıktan rahatsız	-	Var	İlk Atak	Korneada stromal infiltrasyon, stromal keratit?, kornea hafif ödemli
38	52	K	Gözde ağrı, yanma, sulanma, batma	-	Yok	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon, stromal keratit?, korneal opasite, epitel defekti mevcut
39	24	K	Gözde kızarıklık, sulanma	-	Yok	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon, stromal keratit?, korneada yaygın opasiteler
40	49	K	Gözde batma, yanma, ağrı, kızarıklık, ışıktan rahatsız	-	Yok	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon, keratit odağı, kornea hafif ödemli, korneal opasite
41	15	E	Gözde bulanık görme, kızarıklık	-	Yok	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon, stromal keratit?
42	72	K	Gözde batma, yanma, ağrı, kızarıklık, ışıktan rahatsız	-	Var	Nüks	Kornea hafif ödemli, keratit odağı, stromal infiltrasyon, epitel defekti, OK da 1+ hücre
43	34	E	Görmede bulanıklık, kızarıklık, batma, ağrı, sulanma, ışıktan rahatsız	-	Var	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon, stromal keratit?, kornea hafif ödemli
44	45	E	Gözde batma, yanma, ağrı, kızarıklık, ışıktan rahatsız, sulanma	-	Var	Nüks	Korneada stromal infiltrasyon, stromal keratit?
45	37	E	Gözde batma, yanma, ağrı, kızarıklık	-	Yok	İlk Atak	Korneada stromal infiltrasyon, stromal keratit?, kornea hafif ödemli
46	60	E	Görmede bulanıklık, kızarıklık, batma, sulanma,	DM	Var	İlk Atak	Korneada stromal infiltrasyon, stromal keratit?, korneal opasite, stromal vaskülarizasyon

Tablo 7. Çalışma grubundaki hastalarda test sonuçları

Sıra	Kapiller Tüp		Schirmer Testi		Sürüntü çubuğu	
	Etken	Cq	Etken	Cq	Etken	Cq
1	HSV-1	29,81	HSV-1	27,09	Negatif	Negatif
2	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
3	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
4	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
5	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
6	HSV-1	22,14	Negatif	Negatif	HSV-1	24,82
7	HSV-1	26,55	HSV-1	20,93	HSV-1	25,22
8	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
9	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
10	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
11	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
12	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
13	CMV	22,52	CMV	19,88	CMV	19,56
14	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
15	CMV	20,00	CMV	21,10	CMV	19,29
16	CMV	21,28	CMV	22,38	CMV	25,79
17	CMV	28,75	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
18	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
19	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
20	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	CMV	19,35
21	HSV-1	19,04	HSV-1	17,33	HSV-1	13,66
22	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
23	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
24	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
25	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
26	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
27	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
28	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
29	HSV-1	18,86	HSV-1	21,93	HSV-1	20,00
30	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	HSV-1	22,52
31	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
32	HSV-1	22,00	HSV-1	18,96	HSV-1	17,57
33	HSV-1	29,27	Negatif	Negatif	HSV-1	22,20
34	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
35	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
36	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
37	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
38	HSV-1	21,00	HSV-1	18,57	HSV-1	16,96
39	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
40	HSV-1	25,99	HSV-1	24,85	HSV-1	20,74
41	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
42	HSV-1	25,00	HSV-1	23,73	HSV-1	24,38
43	HSV-1	21,75	HSV-1	22,70	HSV-1	20,87
44	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
45	Negatif	Negatif	HSV-1	29,15	HSV-1	28,54
46	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif

4.1. HSV-1 Pozitiflik Oranları ve Alt Grup Karşılaştırmaları

Toplam Pozitiflik Oranları

Kapiller tüp yönteminde pozitiflik oranı % 23.9; sürüntü çubuğu yöntemlerinde pozitiflik oranı %26.1 olarak hesaplandı. Schirmer kağıdında bu oran % 21.7 bulundu. Bu oranlar, örnekleme yöntemleri arasında genel olarak benzer pozitiflik performansı olduğunu ortaya koydu (Şekil 3).

Tedavi Durumuna Göre Pozitiflik Oranları

Tedavi alan (n=21) ve tedavi almayan (n=25) hastada pozitiflik oranları sırasıyla kapiller tüp için %19.0 ve %28.0; Schirmer kağıdı için %19 ve %24; sürüntü çubuğu için ise %19 ve %32.0 olarak hesaplandı. Tedavi durumuna göre pozitiflik oranlarının karşılaştırılması için 2x2 kontenjans tabloları oluşturuldu ve analizlerde uygun olarak Fisher'in Kesinlik Testi kullanıldı. Hiçbir test yöntemi için pozitiflik oranlarında tedavi alan ve almayan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Kapiller tüp: $p = 0.71$; Schirmer: $p = 0.96$; Sürüntü: $p = 0.51$) (Şekil 4).

Nüks Durumuna Göre Pozitiflik Oranları

İlk atak geçiren olgular (n=14) ile nükseden olgular (n=32) arasında HSV-1 pozitiflik oranları sırasıyla kapiller tüp için %7.1 ve %31.2; Schirmer kâğıdı için %14.3 ve %25.0; sürüntü çubuğu için %7.1 ve %34.4 olarak saptandı. Fisher'in Kesinlik Testi ile yapılan analizlerde, bu pozitiflik farkları istatistiksel anlamlılık eşiğine ulaşmadı (Kapiller tüp: $p = 0.16$; Schirmer: $p = 0.67$; Sürüntü: $p = 0.12$). Bununla birlikte, kapiller tüp ve sürüntü çubuğu yöntemlerinde elde edilen p-değerleri, anlamlılığa yakın düzeyde bulundu (Şekil 4).

Tablo 8. HSV-1 Toplam Pozitiflik Oranları

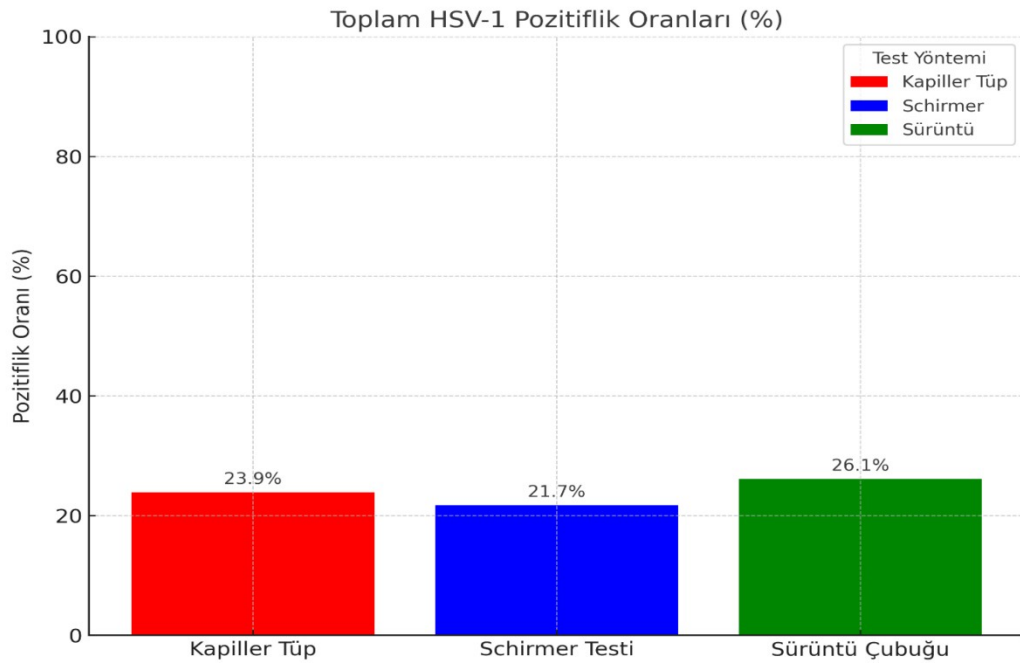
Test Yöntemi	Pozitiflik Oranı (%)
Kapiller Tüp	23.9
Schirmer Testi	21.7
Sürüntü Çubuğu	26.1

Tablo 9. Grup İçi Pozitiflik Oranları

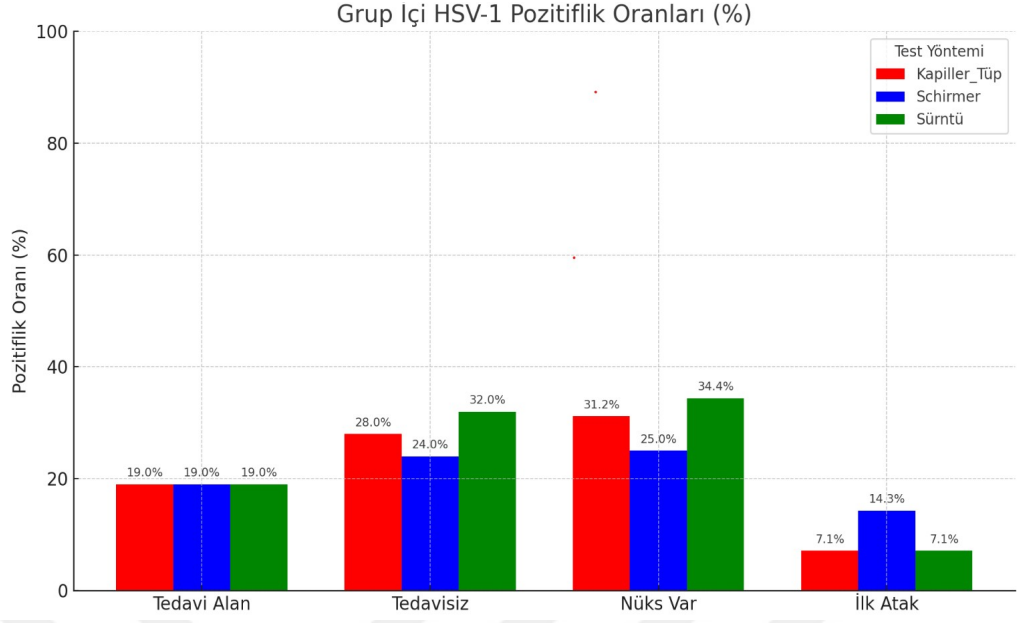
Grup	Alt Grup	Kapiller Tüp (%)	Schirmer Testi (%)	Sürüntü Çubuğu (%)
Tedavi	Tedavi Alan	19.0	19.0	19.0
Tedavi	Tedavisiz	28.0	24.0	32.0
Nüks	Nüks Var	31.2	25.0	34.4
Nüks	İlk Atak	7.1	14.3	7.1

Tablo 10. Gruplar Arası İstatistiksel Karşılaştırmalar

Test Yöntemi	Grup	p-değeri
Kapiller Tüp	Tedavi durumu	0.7173
Kapiller Tüp	Nüks durumu	0.1651
Schirmer Testi	Tedavi durumu	0.9627
Schirmer Testi	Nüks durumu	0.6729
Sürüntü Çubuğu	Tedavi durumu	0.5096
Sürüntü Çubuğu	Nüks durumu	0.116



Şekil 3. Toplam HSV-1 pozitiflik oranları



Şekil 4. Grup içi HSV-1 pozitiflik oranları

4.2. Genel Performans Değerlendirmesi:

Bu çalışmada, HSV-1 tanısında kullanılan üç farklı PCR yönteminin (Kapiller tüp, Schirmer kağıdı ve sürüntü çubuğu) tanısal doğruluğu, **klınık tanı altın standart** (biyomikroskopik bulgular, nüks durumu) referans alınarak değerlendirildi. Kesin tanı, hastalarda daha önce tanı almış ve nüks gelişmiş olgular üzerinden belirlendi. Dolayısıyla ilk atak geçiren hastalar negatif olarak değerlendirildi. Duyarlılık (sensitivity), özgüllük (specificity) ve pozitif prediktif değer (PPV) hesaplandı.

Klinik Tanıya göre Yapılan Genel Analizler

Sürüntü çubuğu yöntemi %34.4 ile en yüksek duyarlılığa sahipken, kapiller tüp %31.2, Schirmer kağıdı ise %25.0 duyarlılığa ulaştı. Her üç yöntemin de özgüllük değerleri yüksek bulundu (Kapiller tüp ve sürüntü çubuğu için %92.9, Schirmer kağıdı için %85.7). Pozitif prediktif değer ise sırasıyla %90.9, %91.7 ve %80.0 olarak belirlendi (Şekil 5).

Alt Gruplara Göre Analizler

Tedavi Durumuna Göre:

- **Tedavi alan** hastalarda her üç yöntemin duyarlılığı %26,7 iken, özgüllük ve pozitif prediktif değer (PPV) %100 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, tedavi gören hastalarda kullanılan testlerin yalancı pozitif sonuç vermediğini ve elde edilen pozitif test sonuçlarının gerçek enfeksiyon varlığını yüksek doğrulukla yansıttığını ortaya koymaktadır.

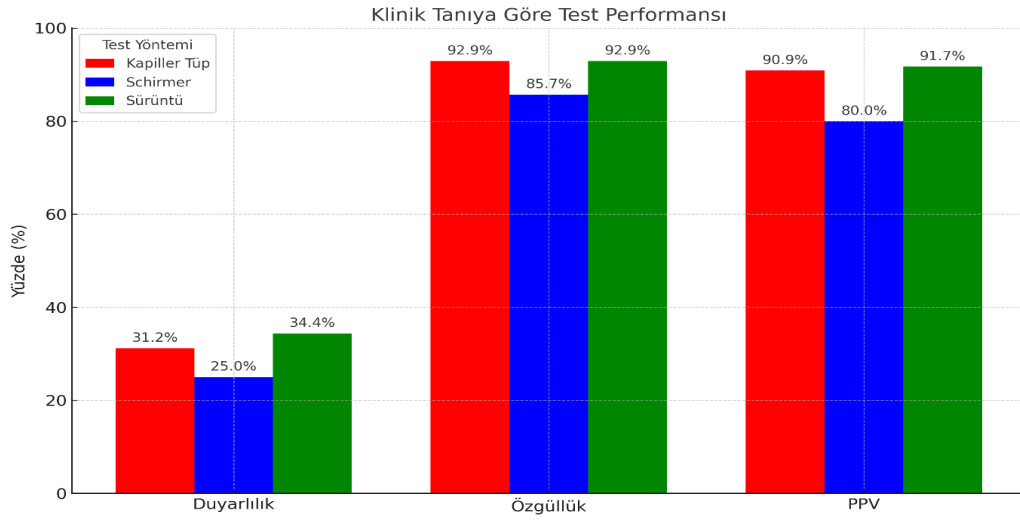
- **Tedavi almayan** hastalarda sürüntü çubuğunun duyarlılığı %41.2 iken kapiller tüpün duyarlılığı 35.3 idi. Her iki yöntemin özgüllük ve PPV'si %87.5 olarak hesaplandı. Schirmer testinde ise duyarlılık %23.5, özgüllük %75, PPV değeri %66.7 olarak bulundu.

Nüks Durumuna Göre:

- Nüks vakalarında sürüntü çubuğu testinin duyarlılığı %34.4, Schirmer kağıdının duyarlılığı %25.0, kapiller tüpün duyarlılığı ise %31.2 olarak hesaplandı.
- İlk atak olgularında bu oranlar önemli ölçüde daha düşüktü (örneğin sürüntü çubuğunda %7.1).

Tablo 11. Gruplara Göre Test Performansı

Grup	Alt Grup	Test Yöntemi	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PPV (%)
Tedavi	yok	Kapiller Tüp	35.3	87.5	85.7
Tedavi	yok	Schirmer Testi	23.5	75.0	66.7
Tedavi	yok	Sürüntü Çubuğu	41.2	87.5	87.5
Tedavi	var	Kapiller Tüp	26.7	100.0	100.0
Tedavi	var	Schirmer Testi	26.7	100.0	100.0
Tedavi	var	Sürüntü Çubuğu	26.7	100.0	100.0



Şekil 5. Klinik tanıya göre test yöntemlerinin duyarlılık, özgüllük, PPV değerleri

4.3. Cochran's Q Testi – Alt Gruplara Göre Sonuçlar

HSV-1 PCR testlerinin pozitiflik oranları, genel örneklem ve klinik alt gruplarda karşılaştırıldığında aşağıdaki bulgular elde edildi:

- **Tüm hasta grubunda**, Kapiller tüp, Schirmer kağıdı ve sürüntü çubuğu yöntemleri arasında **pozitiflik oranları açısından** anlamlı bir fark bulunmadı ($Q = 1.200$, $p = 0.5488$).

- **Tedavi almayan** bireylerde de benzer şekilde testler arası anlamlı fark gözlenmedi ($Q = 1.200$, $p = 0.5488$).

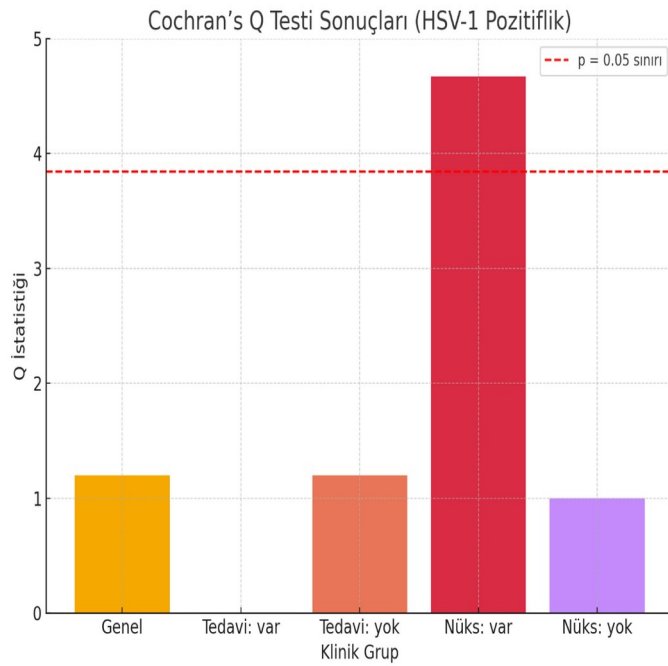
- **Tedavi alan** grupta ise örneklem yetersizliği nedeniyle test uygulanamadı, geçerli istatistiksel sonuç elde edilemedi.

- **Nüks ile gelen** bireylerde, pozitiflik oranları arasında fark sınırda anlamlılığa ulaştı ($Q = 4.667$, $p = 0.097$); bu bulgu sürüntü çubuğunun nüks olgularda daha yüksek pozitiflik oranına sahip olabileceğini düşündürmektedir.

- **İlk atağını geçiren** bireylerde testler arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($Q = 1.000$, $p = 0.6065$) (Şekil 6).

Tablo 12. Gruplara Göre Cochran's Q Testi Sonuçları

Grup	n	Q	p-değeri
Genel	46	1.2	0.5488
Tedavi: var	21	nan	nan
Tedavi: yok	25	1.2	0.5488
Nüks: var	32	4.667	0.097
Nüks: yok	14	1.0	0.6065



Şekil 6. Cochran's Q Testi sonuçları (HSV-1 PCR pozitiflik oranlarının testler arasında istatistiksel farklılık gösterip göstermediğini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır)

4.4. Cohen's Kappa Uyum Analizi

HSV-1 PCR test yöntemleri arasında tanısal uyumu değerlendirmek amacıyla **Cohen's Kappa katsayısı** hesaplandı. Genel hasta grubunda ve klinik alt gruplarda (tedavi alan/almayan, nüks var/yok) yapılan analizler sonucunda elde edilen kappa değerleri, testler arasında yüksek düzeyde uyum olduğunu gösterdi.

Genel hasta grubunda:

- Kapiller tüp ile Schirmer kağıdı arasındaki uyum **çok iyi düzeyde**

bulundu (Kappa = 0.815).

- Kapiller tüp ile sürüntü çubuğu testi arasındaki uyum da benzer şekilde **çok iyi düzeyde** olup Kappa = 0.826 olarak hesaplandı.

- Schirmer kağıdı ile sürüntü çubuğu testi arasındaki uyum da **iyi düzeyde** bulundu (Kappa = 0.762).

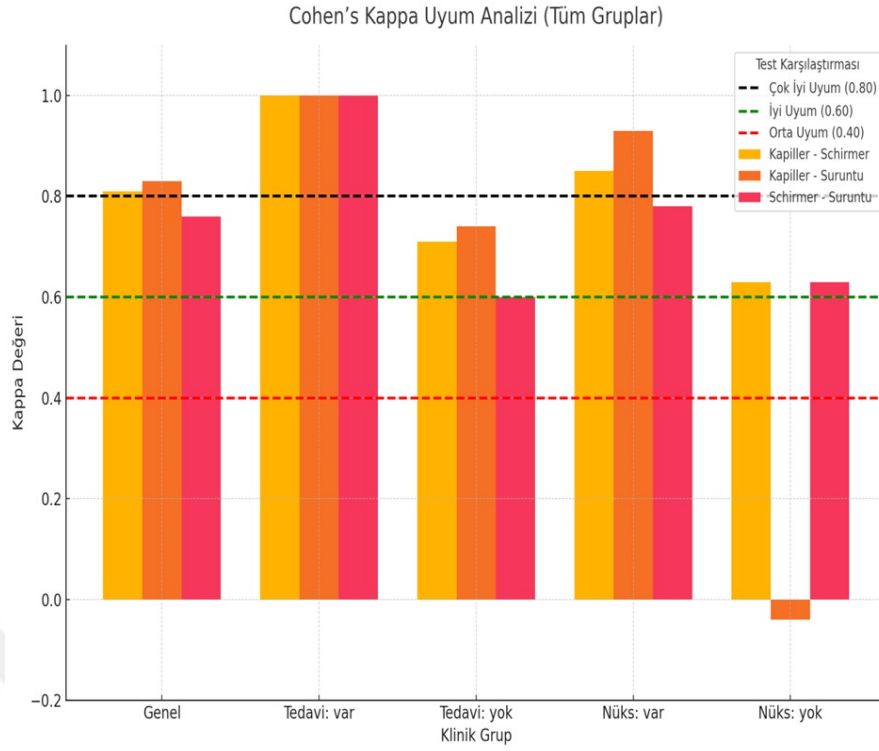
Tedavi alan hastalarda, tüm test çiftleri arasında **tam uyum (mükemmel)** sağlanmış olup Cohen's Kappa değeri 1.000 olarak bulundu. Bu durum, testlerin bu hasta grubunda birbirini tamamen doğruladığını gösterdi. Ayrıca **nüks geçiren hastalarda** da, testler arasında iyi düzeyde uyum izlenmiştir.

Tedavi almayan ve özellikle **nüks göstermeyen hastalarda** uyum düzeyinde azalma görülmüştür.

Bu bulgular, örnekleme yönteminin test duyarlılığı üzerinde hasta grubuna bağlı olarak değişebileceğini ve üç PCR yönteminin de HSV-1 tanısında **yüksek düzeyde birbiriyle tutarlı sonuçlar** verdiğini göstermektedir (**Şekil 7**).

Tablo 13. Cohen's Kappa Uyum Analizi Sonuçları

Grup	Test 1	Test 2	n	Kappa
Genel	Kapiller	Schirmer	46	0.815
Genel	Kapiller	Sürüntü	46	0.826
Genel	Schirmer	Sürüntü	46	0.762
Tedavi: var	Kapiller	Schirmer	21	1.0
Tedavi: var	Kapiller	Sürüntü	21	1.0
Tedavi: var	Schirmer	Sürüntü	21	1.0
Tedavi: yok	Kapiller	Schirmer	25	0.689
Tedavi: yok	Kapiller	Sürüntü	25	0.715
Tedavi: yok	Schirmer	Sürüntü	25	0.606
Nüks: var	Kapiller	Schirmer	32	0.846
Nüks: var	Kapiller	Sürüntü	32	0.929
Nüks: var	Schirmer	Sürüntü	32	0.778
Nüks: yok	Kapiller	Schirmer	14	0.632
Nüks: yok	Kapiller	Sürüntü	14	-0.077
Nüks: yok	Schirmer	Sürüntü	14	0.632



Şekil 7. Cohen's Kappa Uyum Analizi sonuçları (Test çiftleri arasında tanısal uyumu değerlendirmek için yapılmıştır)

4.5. McNemar Testi – Testler Arası İkili Karşılaştırmalar (Alt Gruplar)

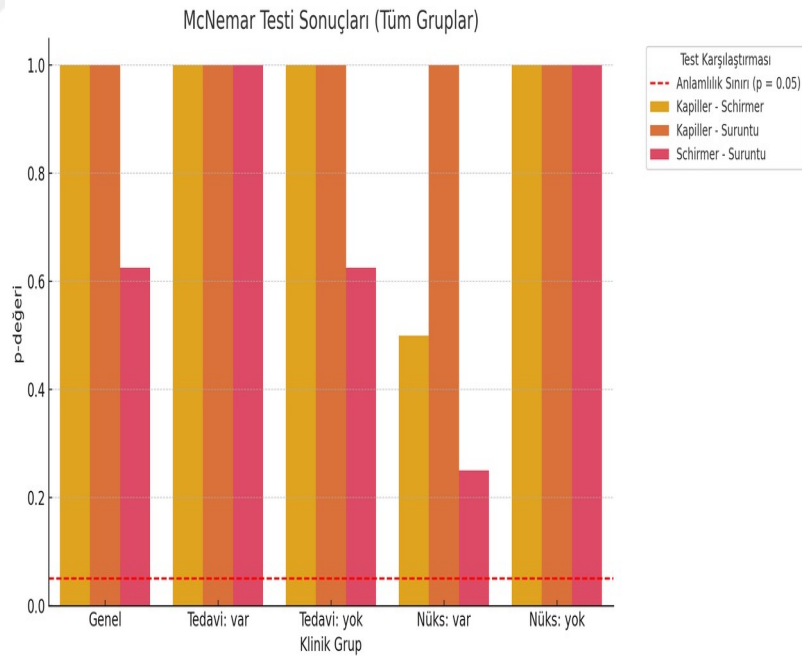
HSV-1 PCR testlerinin pozitiflik oranları arasındaki **çiftli karşılaştırmalar**, McNemar testi ile analiz edildi. Testler aynı bireyler üzerinde uygulandığı için eşleşmiş veri yapısına uygun analiz yöntemi olarak McNemar testi tercih edildi. Aşağıdaki bulgular elde edildi:

- **Genel hasta grubunda**, Kapiller tüp ile Schirmer ($p=1.000$), Kapiller tüp ile sürüntü ($p=1.000$), ve Schirmer ile sürüntü testleri ($p=0.625$) arasında anlamlı bir fark bulunmadı.
- **Tedavi alan bireylerde**, tüm test çiftleri arasında pozitiflik açısından fark gözlenmedi ($p=1.000$).
- **Diğer alt gruplara** yönelik karşılaştırmalı analizler şekil içerisinde sunulmuştur.

Bu sonuçlar, üç farklı PCR yönteminin HSV-1 pozitifliğini saptama açısından istatistiksel olarak benzer düzeyde sonuçlar verdiğini göstermektedir (Şekil 8).

Tablo 14. McNemar Testi Sonuçları (Alt Gruplar)

Grup	Test 1	Test 2	n	p-değeri
Genel	Kapiller	Schirmer	46	1.0
Genel	Kapiller	Sürüntü	46	1.0
Genel	Schirmer	Sürüntü	46	0.625
Tedavi: var	Kapiller	Schirmer	21	1.0
Tedavi: var	Kapiller	Sürüntü	21	1.0
Tedavi: var	Schirmer	Sürüntü	21	1.0
Tedavi: yok	Kapiller	Schirmer	25	1.0
Tedavi: yok	Kapiller	Sürüntü	25	1.0
Tedavi: yok	Schirmer	Sürüntü	25	0.625
Nüks: var	Kapiller	Schirmer	32	0.5
Nüks: var	Kapiller	Sürüntü	32	1.0
Nüks: var	Schirmer	Sürüntü	32	0.25
Nüks: yok	Kapiller	Schirmer	14	1.0
Nüks: yok	Kapiller	Sürüntü	14	1.0
Nüks: yok	Schirmer	Sürüntü	14	1.0



Şekil 8. McNemar Testi Sonuçları (Eşleşmiş gruplarda HSV-1 pozitiflik oranları arasındaki farkları değerlendirmek amacıyla yapılmıştır)

4.6. PCR Cq Değeri Analizi

Bu çalışmada, üç farklı örnekleme yöntemine ait PCR Cq değerlerinin, hastaların klinik özelliklerine göre farklılık gösterip göstermediği **Mann–Whitney U testi** ile değerlendirildi. Analizler, **tedavi durumu** (tedavi alan vs almayan) ve **nüks varlığı** (ilk atak vs nüks geçirmiş) grupları arasında gerçekleştirildi.

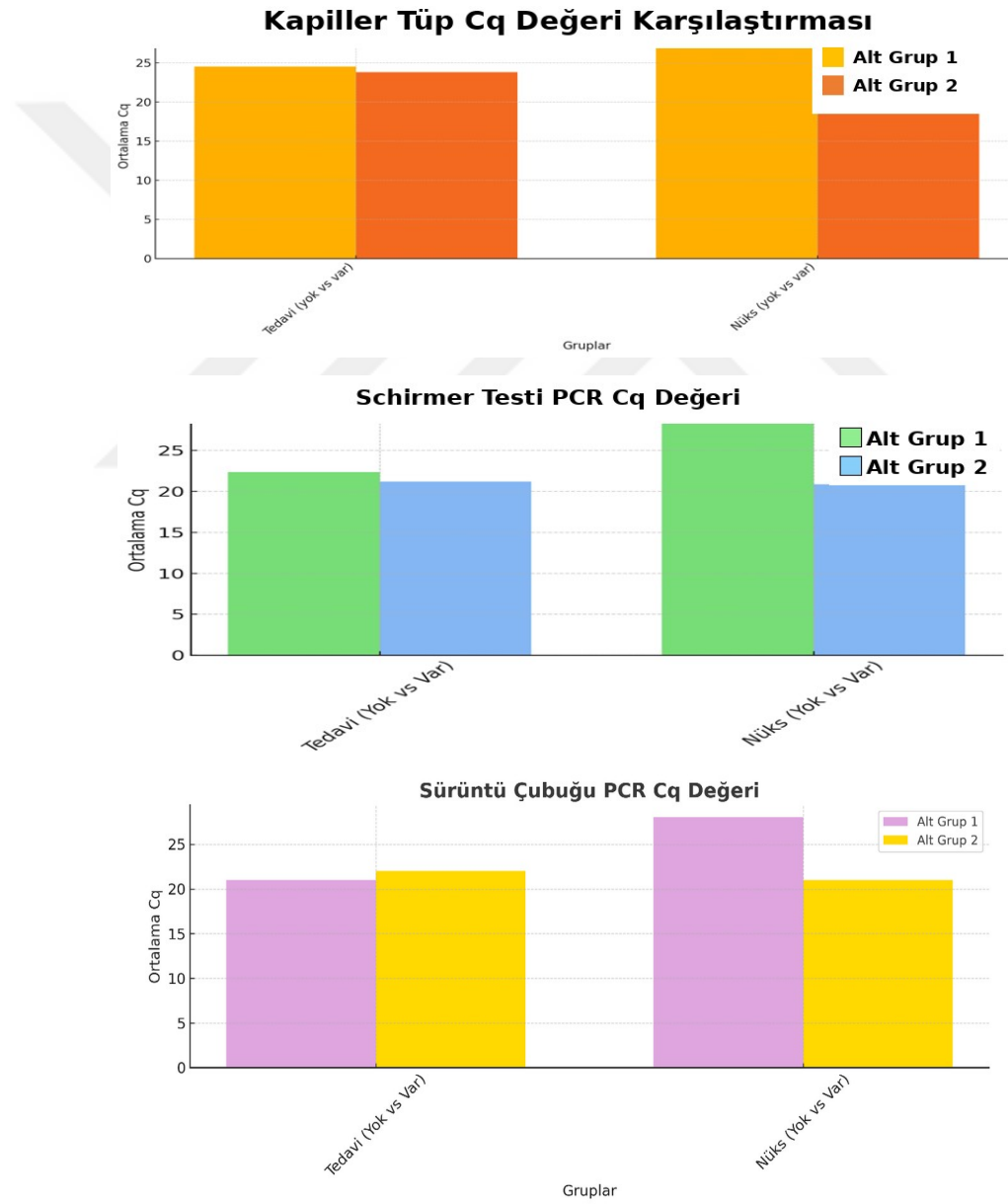
Kapiller tüp örneklerinde, nüks ile başvuran hastalarda ortalama Cq değeri 23.62 iken, ilk atak ile başvuran hastalarda bu değer 29.81 olarak saptandı. Bu farklılık klinik olarak dikkat çekici olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p = 0.2000$). Benzer şekilde, tedavi alan ve almayan gruplarda da anlamlı bir Cq farklılığı saptanmadı ($p = 0.9143$).

Schirmer kağıdı örneklerinde, nüks ile başvuran hastalarda ortalama Cq değeri 20.90, ilk atak ile başvuran hastalarda ise 29.15 olarak hesaplandı. Farklılık anlamlı olmamakla birlikte, nüks grubunda Cq değerlerinin daha düşük seyretmesi, bu hastalarda **viral yükün daha yüksek olabileceğini** düşündürdü ($p = 0.2500$). Tedavi durumuna göre ise anlamlı bir fark izlenmedi ($p = 1.0000$).

Sürüntü çubuğu örneklerinde, nüks ile başvuran hastalarda ortalama Cq değeri 20.67, ilk atak ile başvuran hastalarda ise 28.54 olarak hesaplandı. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, nüks grubunda Cq değerlerinin daha düşük seyretmesi, bu hastalarda da **viral yükün daha yüksek olabileceğini** düşündürdü ($p = 0.1818$). Tedavi durumuna göre ise anlamlı bir fark izlenmedi ($p = 0.6485$) (**Şekil 9**).

Tablo 15. Cq Değeri Karşılaştırmaları (Mann–Whitney U Testi)

Test Yöntemi	Grup	Alt Grup 1	Alt Grup 2	Ort. Cq 1	Ort. Cq 2	p-değeri
Kapiller Tüp	Tedavi	yok	var	24.51	23.82	0.9143
Kapiller Tüp	Nüks	yok	var	29.81	23.62	0.2
Schirmer Testi	Tedavi	yok	var	22.37	21.21	1.0
Schirmer Testi	Nüks	yok	var	29.15	20.9	0.25
Sürüntü Çubuğu	Tedavi	yok	var	21.03	22.01	0.6485
Sürüntü Çubuğu	Nüks	yok	var	28.54	20.67	0.1818



Şekil 9. Mann–Whitney U Testi sonuçları (Cq değerlerinin klinik gruplar arasında)

anlamlı farklılık gösterip göstermediği test edilmiştir.)

5. TARTIŞMA

Herpes simpleks virüsünün (HSV) neden olduğu ciddi bir kornea iltihabı olan herpes simpleks keratit, bulaşıcı körlüğün önde gelen nedenidir. Dünya genelinde her yıl 1,5 milyon yeni oküler HSV-1 enfeksiyonu vakası bildirilmekte ve bu vakaların 40.000'i şiddetli görme kaybı ve körlük ile sonuçlanmaktadır (Antony ve ark., 2023). HSV tip 1 aracılı keratit epitelyal, stromal ve endotelyal formları içeren üç ana klinik varyasyondan oluşur (Shoji ve ark., 2016).

HSV-1, trigeminal ganglionda ömür boyu süren latent enfeksiyon oluşturabilen bir patojendir. Kornea üzerindeki tekrarlayan HSV-1 enfeksiyonları, ciddi bir immünoinflamatuvar yanıtın tetiklenmesiyle herpetik stromal keratit (HSK) adı verilen bir duruma neden olur (Li ve ark., 2024).

Rekürren oküler HSV'nin %20-61'ini oluşturan HSK, ağırlı bir klinik tablo olup, Amerika Birleşik Devletleri'nde enfeksiyöz kaynaklı körlüğün başlıca nedenidir (Li ve ark., 2024). Tedavi edilmediği takdirde HSK, nekrotizan keratite ilerleyerek korneal incelme ve perforasyon riskini belirgin şekilde arttırabilir. İnsanlarda HSK lezyonları, kornea epitelinde virüs replikasyonunu takiben konağın doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık sisteminin aktive olması sonucu oluşan immünopatolojik bir süreç olarak değerlendirilmektedir (Antony ve ark., 2023).

Bu çalışmada, herpetik stromal keratit (HSK) şüphesiyle değerlendirilen hastalarda HSV-1 DNA'sının PCR ile tespiti amacıyla kullanılan üç farklı gözyaşı örnekleme yönteminin (kapiller tüp, Schirmer kağıdı ve sürüntü çubuğu) tanısal doğruluğu karşılaştırıldı. Değerlendirme süreci, özellikle non-invaziv örnekleme tekniklerinin etkinliğini ortaya koymak ve antiviral tedavi kullanımı ile nüks öyküsünün tanı üzerindeki etkisini incelemek üzere yapılandırıldı.

PCR yöntemi, herpes simpleks keratiti tanısında diğer konvansiyonel yöntemlere kıyasla belirgin üstünlükler sunmaktadır. Virus kültürü ve immünofloresan antikor testlerine göre çok daha yüksek duyarlılık ve özgüllük sağlamakla birlikte hızlı sonuç

verme avantajı ile tedavi sürecinde kritik rol oynamaktadır (Satpathy ve ark., 2011; Hoarau ve ark., 2023). Satpathy ve arkadaşlarının (2011) çalışmasında korneal kazıntı örneklerinde PCR pozitifliği %36.6 olarak bulunmuş, bu oran gözyaşı örneklerine kıyasla (%18.3) anlamlı şekilde yüksek çıkmıştır. Hoarau ve arkadaşları (2023) ise PCR ile gözyaşı örneklerinde viral yükün kantitatif ölçümünün mümkün olduğunu ve epitel tutulumu olan olgularda viral yükün daha yüksek olduğunu göstermiştir. Böylece PCR'ın hem invaziv hem de non-invaziv örneklerle bile yüksek tanısal doğruluk sunabilmesi, onu klasik yöntemlere kıyasla daha değerli bir seçenek haline getirmiştir.

Çalışmamızda, gözyaşı örnekleriyle yani korneal kazıntı olmadan PCR kullanımının pratik ve güvenilir bir tanı yöntemi olduğu gösterilmiştir. McCormick ve arkadaşlarının (2022) derlemesinde, klinik uygulamalarda oftalmologların tanıda genellikle klinik bulgulara güvendikleri, moleküler tanı yöntemlerini ise nadiren kullandıkları belirtilmiştir. Bu durum, PCR'ın teorik tanısal avantajları ile gerçek dünya uygulamaları arasındaki farkı ortaya koymaktadır. Özellikle doğrudan lezyondan örnek almanın güçlüğü, PCR'ın yaygın kullanımını sınırlayan başlıca pratik engeller arasında yer almaktadır. Gözyaşı örnekleme yöntemlerinin non-invaziv yapısı, hasta konforunu artırmaları ve korneal dokunun bütünlüğünü bozmamaları, bu teknikleri özellikle stromal keratit olgularında daha güvenli bir tanısal alternatif haline getirmektedir (Hoarau ve ark., 2023).

Ayrıca korneal keratit etyolojisinde HSV-1'in yanı sıra HSV-2, sitomegalovirüs (CMV), varisella zoster virüsü (VZV), Epstein-Barr virüsü (EBV) ve adenovirüs gibi etkenler de önemli patojenler arasında yer aldıkları için ayırıcı tanıda mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır. Çalışmamızda, bu olası etkenleri de dışlayabilmek amacıyla Bioeksen, Bio-Speedy® Göz Enfeksiyonları Multiplex qPCR Paneli (Bio-Speedy, İstanbul, Türkiye) kullanılmıştır.

Elde edilen bulgulara göre, kullanılan üç farklı gözyaşı örnekleme yöntemi arasında HSV-1 PCR pozitiflik oranları açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Sürüntü çubuğu ile %26.1, kapiller tüp ile %23.9 ve Schirmer kağıdı ile %21.7 oranında pozitiflik elde edilmiştir. Bu oranlar, literatürde bildirilen geniş aralıkla (%8–59) uyumludur (Fukuda ve ark., 2008; Hoarau ve ark., 2023). Ayrıca gözyaşına dayalı

örnekleme tekniklerinin, düşük invazivliğe rağmen kabul edilebilir düzeyde tanısal katkı sağlayabildiğini göstermektedir. Bu oranlar, literatürde bildirilen geniş aralığın (%8–59) üst sınırına yakın olup, özellikle Satpathy ve arkadaşlarının (2011) ve Hoarau ve arkadaşlarının (2023) çalışmalarında gözyaşı örneklerinde PCR duyarlılığının daha düşük bildirildiği göz önünde bulundurulduğunda dikkat çekicidir. Söz konusu farkın, çalışmamızda uygulanan örnekleme yöntemlerinin standardizasyonu, hasta popülasyonundaki klinik alt gruplar (epitel/stromal/endotel tutulum-tedavili/tedavisiz vs.) ya da kullanılan PCR kitinin yüksek duyarlılığı gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tedavi alan hastalarda pozitiflik oranlarının tüm yöntemlerde düşüş göstermesi, antiviral tedavinin HSV-1 replikasyonunu baskılayarak PCR duyarlılığını etkileyebileceğini ortaya koymaktadır (Lee ve ark., 2013; Shoji ve ark., 2016; Hoarau ve ark., 2023). Lee ve arkadaşları (2013) ile Hoarau ve arkadaşlarının (2023) çalışmaları antiviral tedavinin PCR pozitifliğini anlamlı şekilde azalttığını ve bazı olgularda bu oranın sıfıra yaklaştığını göstermektedir. Ancak çalışmamızda tedavi alan ve almayan gruplar arasında Cq değerleri açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu durum, antiviral tedaviye rağmen bazı hastalarda subklinik viral varlığın devam ettiğini ya da virüsün gözyaşıyla dış ortama atılımının tamamen durdurulamadığını düşündürmektedir (Kaufman ve ark., 2005; Birkmann ve Zimmerman, 2016). Ayrıca bu farklılık, örnekleme zamanlaması ya da hastalar arasındaki antiviral yanıt heterojenitesi ile açıklanabilir.

Nüks geçirmiş olgularda, PCR pozitiflik oranlarının daha yüksek olduğunu gözlemlenmiştir (örneğin, sürüntü yöntemiyle %34.4). Kakimaru-Hasegawa ve arkadaşlarının (2008) yürüttüğü çalışmada da, stromal keratit nedeniyle nüks geçiren hastalarda, nüks geçirmeyenlere kıyasla daha yüksek PCR pozitiflik oranları bildirilmiştir. Bu bulgu, nüks geçiren bireylerde viral yükün daha yüksek olabileceğini ve bunun PCR ile tespit edilebilirliği artırabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, ilk atak ile başvuran hastalarda pozitiflik oranlarının belirgin şekilde daha düşük olması, enfeksiyonun erken evresinde viral yükün sınırlı olabileceğini ve bu durumun tanısal hassasiyeti azaltabileceğini göstermektedir. Bu durum, örnekleme yönteminin özellikle erken dönemde kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Ayrıca Sabage ve

arkadaşlarının (2023) derlemesinde sürüntü çubuğu yönteminin, viral keratokonjonktivit tanısında örnek toplama için en yaygın kullanılan ve tavsiye edilen yöntem olduğu bildirilmiştir; bu doğrultuda nüks eden HSK olgularında sürüntü çubuğu yöntemi, en iyi performansı göstermesi beklentilerle uyumludur.

Örnekleme yöntemleri arasında yapılan Cohen's Kappa analizleri, yöntemlerin birbiriyle yüksek düzeyde tanısal uyum içinde olduğunu göstermiştir. Özellikle kapiller tüp ile sürüntü çubuğu yöntemi arasında elde edilen uyum katsayısı ($\kappa = 0.826$), iki yöntemin birbirine benzer güvenilirlikte olduğunu göstermektedir. Tedavi alan grupta ise tüm yöntem çiftleri arasında **tam uyum ($\kappa = 1.000$)** saptanmış olması, bu örnekleme tekniklerinin antiviral tedavi gören olgularda birbiriyle tutarlı sonuçlar verdiğini desteklemektedir. Bu bulgular, pratikte hangi non-invaziv yöntemin tercih edileceğinin hasta konforu, klinik imkanlar ve örnekleme kolaylığına göre esnetilebileceğini desteklemektedir.

Her üç örnekleme yöntemi için Cq değerleri, tedavi ve nüks durumlarına göre anlamlı farklılık göstermemekle birlikte özellikle nüks grubunda Cq değerlerinin **görece daha düşük** olduğu izlendi. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte, nüks geçiren hastalarda Cq değerlerinin görece daha düşük olması, viral aktivitenin daha yüksek olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu farkın istatistiksel anlamlılığa ulaşmaması, daha büyük örneklemle çalışılması gerekliliği, immün yanıtın viral yükü baskılaması veya bireysel değişkenliklerin etkisiyle açıklanabilir.

Ayrıca gözyaşı örneklerinin alınmasından önce lokal anestezi kullanılması, elde edilen PCR sonucunu etkileyebileceği göz önünde bulundurularak, önemli olduğu belirtilmelidir. Goldschmidt ve arkadaşlarının (2006) bildirdiğine göre, topikal anestezi PCR testlerinin tespit kapasitesini ciddi düzeyde azaltmakta ve yanlış negatif sonuçlara yol açabilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda örnekleme sırasında lokal anestezi ilaç kullanılmamıştır.

Bu çalışmanın en önemli kısıtlılıklarından biri, nispeten küçük örneklem büyüklüğüne sahip olmasıdır. Ayrıca kullanılan PCR yöntemi yalnızca viral DNA varlığını saptamakta olup, virüsün canlılığı ya da enfeksiyonun aktif olup olmadığı hakkında doğrudan bilgi sağlamamaktadır. Bu durum, PCR pozitifliğinin her zaman

enfeksiyon aktivitesini yansıtmadığı ve klinik değerlendirmeye birlikte yorumlanması gerektiğini ortaya koyar.

Öte yandan, çalışmamızda yalnızca moleküler tanı yöntemleri kullanılmış olup immün yanıt değerlendirilmemiştir. Oysa immün yanıt analizi, özellikle stromal keratit gibi immün mekanizmaların baskın olduğu klinik formlarda tanısal değeri yüksek bir yaklaşımdır. Bu tür olgularda immün yanıtın incelenmesi, yalnızca viral partikül varlığını saptamakla kalmayıp, aynı zamanda konağın savunma yanıtını da değerlendirme olanağı sağlayarak tanısal doğruluğu artırabilir.

Gelecekte yapılacak çalışmalarda, daha geniş ve heterojen popülasyonlar üzerinden farklı klinik alt gruplarda örnekleme yapılması, tanısal performansın daha kapsamlı şekilde değerlendirilmesine katkı sağlayacaktır. Ayrıca viral yük düzeyleri ile hastalık şiddeti arasındaki ilişkinin korelasyon analizleriyle değerlendirilmesi, tanı ve tedavi sürecinin daha objektif verilere dayanmasını mümkün kılabilir. Bununla birlikte örnekleme zamanlamasının yani semptom başlangıcından itibaren geçen sürenin, PCR pozitifliği ve viral yük üzerine etkisinin sistematik olarak incelenmesi, tanısal doğruluğun artırılması açısından önem arz etmektedir. Bu tür veriler, HSV-1 enfeksiyonlarının tanısında kullanılan yöntemlerin duyarlılığını ve özgüllüğünü artırarak, klinik karar süreçlerinin daha güvenilir ve bireyselleştirilmiş hale gelmesine katkı sağlayacaktır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışma, herpetik stromal keratit tanısında non-invaziv gözyaşı örnekleme yöntemlerinin, PCR tabanlı tanısal doğruluk açısından klinik olarak kabul edilebilir bir performans sergilediğini ortaya koymuştur.

Kapiller tüp, Schirmer kağıdı ve sürüntü çubuğu yöntemleri arasında genel pozitiflik oranları ve tanısal uyum açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış olmakla birlikte, sürüntü çubuğu yöntemi özellikle nüks geçirmiş olgularda daha yüksek tanısal başarı göstermiştir.

Non-invaziv özellikleri, hasta konforunu artırmaları ve pratik uygulanabilirlikleri nedeniyle, bu örnekleme yöntemleri HSK vakalarının rutin izleminde tercih edilebilir seçenekler olarak öne çıkmaktadır.

Bununla birlikte, antiviral tedavi varlığı ve enfeksiyonun klinik evresi gibi değişkenlerin PCR test sonuçları üzerinde belirleyici etkiler oluşturabileceği göz önünde bulundurulmalı, tanısal değerlendirmeler bu bağlamda çok yönlü olarak ele alınmalıdır.

7. KAYNAKLAR

Acıbadem Labmed. (2021). Sendromik Tanı Testleri. <https://blog.acibademlab.com/tr/Sendromik-Tani-Testleri>

Ahmad B, Patel B.C, Gurnani B (2024). Herpes Simplex Keratitis. StatPearls Publishing; Treasure Island.

Bagga, B., Kate, A., Joseph, J., & Dave, V. P. (2020). Herpes simplex infection of the eye: An introduction.

Birkmann A, Zimmermann H. HSV antivirals – current and future treatment options. Current Opinion in Virology. 2016 Jun; 18:9-13.

Brooks GF, Butel JS, Morse SA (Editors). Herpes simplex viruses. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. 26th ed. McGraw Hill Comp.Inc, 2013. s.471.

Büke Ç. Herpes simplex virusları (HSV-1 ve 2). Topcu AW, Söyletir G, Doğanay M, ed. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 4. Baskı. 2017, Sf 1466. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.

Cohen JI. Introduction to Herpesviridae. in; Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 8th ed, 2015, Sf 1707. Elsevier Saunders, Philadelphia.

Çakmakçı Ş, Akova Y, Aydın P. (2000). T Klin Oftalmoloji, 9:6973.

Çolak D, Mutlu D. Herpesvirüsler. Kitabında: Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S. Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 2004: 119-27.

Davison AJ, Clements JB. Herpesviruses: general properties. In: Mahy BWJ, Ter Maaten V (eds). Topley and Wilson's Virology (10th ed) vol. 1. Washington: ASM Press, 2005: 488-505.

Eisenberg RJ, Atanasiu D, Cairns TM, Gallagher JR, et al. Herpes virus fusion and entry: A story with many characters. Viruses. 2012; 4:800-832.

Erdem E, Harbiyeli İİ, Öztürk G, Oruz O, Açıkalın A, Yağmur M, et al. Atipik herpes simpleks keratiti: sıklık, klinik bulgular ve tedavi sonuçları. Uluslararası Oftalmol. 2020 Mart;40(3):659-65.

Fatahzadeh M, Schwartz RA. Human herpes simplex virus infections: Epidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, and management. / Am Acad Dermatol 2007; 57: 737-63.

Fukuda M, Deai T, Higaki S, Hayashi K, Shimomura Y. 2008. Presence of a large amount of herpes simplex virus genome in tear fluid of herpetic stromal keratitis and persistent epithelial defect patients. *Semin Ophthalmol* 23:217–220.

Goldschmidt, P., Rostane, H., Saint-Jean, C., Batellier, L., Alouch, C., Zito, E., Bourcier, T., Laroche, L. and Chaumeil, C. (2006) Effects of Topical Anaesthetics and Fluorescein on the Real-Time PCR Used for the Diagnosis of Herpesviruses and Acanthamoeba Keratitis. *British Journal of Ophthalmology*, 90, 1354-1356.

Hasdemir MU. Herpes Virusların Genel Özellikleri. AW Topcu, G Söyletir, M Doğanay, ed. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 4. Baskı. 2017, Sf 1458. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.

Hoarau G, Haigh O, Fellous CV, Boucher R, Rouquette A, Faure P, Limam L, Labetoulle M, Rousseau A (2023). Diagnostic performance of real-time quantitative PCR in tear samples in various subtypes of herpes simplex keratitis. *J Clin Microbiol*.

Holland, EJ.; Brilakis, HS.; Schwartz, GS. Herpes simplex keratitis. In: Krachmer, JH.; Mannis, MJ.; Holland, EJ., editors. *Cornea*. 2nd. St Louis: Mosby; 2005. p. 1043-1074.

Hoshino Y, Pesnicak L, Cohen JI, et al: Rates of reactivation of latent herpes simplex virus from mouse trigeminal ganglia ex vivo correlate directly with viral load and inversely with number of infiltrating CD8+ T cells. *J Virol* 2007; 81:8157-8164.

Jerome KR, Ashley RL. Herpes simplex viruses and Herpes B virus. In: Murray PR (eds). *Manual of Clinical Microbiology* (8th ed) vol. 2. Washington: ASM Press, 2003: 1291-303.

Kapmaz, M. (2019). Sendromik Testler Nasıl Yorumlanmalı? KLİMİK Derneği. <https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2019/04/Sendromik-Testler-Nas%C4%B1l-Yorumlanmal%C4%B1.pdf>

Kakimaru-Hasegawa A, Kuo C, Komatsu N, Komatsu K, Miyazaki D, Inoue Y. Clinical application of real-time polymerase chain reaction for diagnosis of herpetic diseases of the anterior segment of the eye. *Jpn J Ophthalmol*. 2008 Feb;52(1):24-31.

Kaufman, H. E., Azcuy, A. M., Varnell, E. D., Sloop, G. D., Thompson, H. W., & Hill, J. M. (2005). HSV-1 DNA in tears and saliva of normal adults. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 46(1), 241–247.

Lee SY, Kim MJ, Kim MK, Wee WR. (2013). Comparative Analysis of Polymerase Chain Reaction Assay for Herpes Simplex Virus 1 Detection in Tear. *Korean Journal of Ophthalmolog*.

Lohr B, Hunfeld K, Meltendorf C. Okuläre Herpesviridae-Infektionen – Labordiagnostik und Therapeutika. *Augenheilkunde* up2date. 2016 Feb 15;6(01):51-68

McCormick, I., James, C., & Welton, N. J. (2022). Incidence of herpes simplex virus keratitis and other ocular disease: Global review and estimates. *The Lancet Global Health*, 10(11), e1592–e1601.

Musa M, Enaholo E, Aluyi-Osa G, et al. Herpes simpleks keratiti: Kısa bir klinik genel bakış. *World J Virol*. 2024 Mar 25;13(1).

Nadelman CM, Newcomer VD. Herpes simplex virus infections. *Postgrad Med* 2000;107:189-200.

Nath P, Kabir MA, Doust SK, Ray A. Diagnosis of Herpes Simplex Virus: Laboratory and Point-of-Care Techniques. *Infectious Disease Reports*. 2021 Jun 2;13(2):518-39.

Piret J, Boivin G. Immunomodulatory strategies in herpes simplex virus encephalitis. *Clin Microbiol Rev*. 2020;33(2). DOI: 10.1128/CMR.00105-19

Pellet P, Roizman B. The Family Herpesviridae: A Brief Introduction. In: Howley P., Ed., *Fields Virology*, 5th Edition, 2007, Lippincott, Philadelphia, 2480-2499.

Qiu J, Huang F, Wang Z, Xu J, Zhang C. The evaluation of diagnostic efficiency for stromal herpes simplex keratitis by the combination of tear HSV-sIgA and HSV-DNA. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2017 Jul;255(7):1409-15.

Rowe A, St Leger A, Jeon S et al. Herpes keratitis. *Prog Retin Eye Res* 2013; 32: 88–101

Sabage LE, Mazzo A, Sabage J, Olivo TET, Santos CF, Lourençone LFM. Use of Schirmer strips and conjunctival swabs for virus detection on the ocular surface of adults: a scoping review. *ABO*. 2022;86(3):

Satpathy G, Mishra AK, Tandon R, Sharma MK, Sharma A, Nayak N, Titiyal JS, Sharma N. (2011). Evaluation of tear samples for herpes simplex virus 1 (HSV) detection in suspected cases of viral keratitis using PCR assay and conventional laboratory diagnostic tools. *Br J Ophthalmol*, 95:415-418.

Schiffer JT, Corey L. Herpes Simpleks Virus. in; Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas and Bennett's Infectious Diseases*, 2017, Sf 179-182. Elsevier Saunders, Philadelphia.

Schiffer JT, Corey L. Herpes Simplex Virus. in: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases 7th Ed*. Philadelphia PA: Elsevier, Churchill Livingstone; 2010. S.1943.

Serter D. Herpes simplex virusları (HSV-1 ve 2). Topcu AW, Söyletir G, Doğanay M. (Editörler). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Kitabı*. 3. Baskı. Nobel tıp Kitabevi, İstanbul 2008; 1655-66.

Shah A, Joshi P, Bhusal B, Subedi P. Clinical Pattern And Visual Impairment Associated With Herpes Simplex Keratitis. Clin Ophthalmol 2019; 13: 2211-2215 [PMID: 31814705 DOI: 10.2147/OPTH.S219184]

Shoji J, Sakimoto T, Inada N, Kamei Y, Matsubara M, Takamura E, et al. A diagnostic method for herpes simplex keratitis by simultaneous measurement of viral DNA and virus-specific secretory IgA in tears: an evaluation. Jpn J Ophthalmol. 2016;60(4):294-301.

Szpara ML, Gatherer D, Ochoa A, Greenbaum B, et al. Evolution and diversity in human herpes simplex virus genomes. J Virol. 2014; 88: 1209-1227.

Ustaçelebi Ş. Diagnosis of herpes simplex virus infections. J Clin Virol 2001; 21(3): 255-9.

Wang L, Wang R, Xu C, Zhou H. (2020). Pathogenesis of Herpes Stromal Keratitis: Immune Inflammatory Response Mediated by Inflammatory Regulators.

Wilhelmus KR. 2015. Antiviral treatment and other therapeutic interventions for herpes simplex virus epithelial keratitis. Cochrane Database Syst Rev 1:CD002898. <https://doi.org/10.1002/14651858>.

Yoshikawa T, Hill JM, Stanberry LR, et al: The characteristic site-specific reactivation phenotypes of HSV-1 and HSV-2 depend upon latency-associated transcript region. J Exp Med 1996; 184:659.

Zhu S, Viejo-Borbolla A. Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus. Virulence. 2021 Dec 31;12(1):2670-702.

9.2. Orijinallik Raporu

Herpetik stromal keratit tanısı düşünölen hastaların gözyaşında PCR yöntemi ile Herpes simleks virüs tip 1 tespitinde gözyaşı toplama yöntemlerinin karşılaştırılması

Wit
Univ.

ORIGINALITY REPORT

14%	14%	1%	1%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	acikbilim.yok.gov.tr Internet Source	7%
2	acikerisim.mersin.edu.tr Internet Source	5%
3	docplayer.biz.tr Internet Source	1%
4	www.faqs.org Internet Source	<1%
5	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Student Paper	<1%
6	www.ekmud.org.tr Internet Source	<1%
7	Steven J. Drews. "The Taxonomy, Classification, and Characterization of Medically Important Viruses", American Society for Microbiology, 2016 Publication	<1%
8	Submitted to Yüzüncü Yıl Üniversitesi Student Paper	<1%
9	dspace.trakya.edu.tr:8080 Internet Source	<1%
10	Submitted to Bülent Ecevit Üniversitesi Student Paper	<1%