



T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HEMATOLOJİK MALİGNİTESİ OLAN HASTALARDA
***VARİSELLA ZOSTER* ENFEKSİYONUNUN SIKLIĞI**
VE RİSK FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Bio. GÜLSÜM KAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ayşen BAYRAM

Gaziantep
2012



T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HEMATOLOJİK MALİGNİTESİ OLAN HASTALARDA
***VARİSELLA ZOSTER* ENFEKSİYONUNUN SIKLIĞI**
VE RİSK FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Bio. GÜLSÜM KAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ayşen BAYRAM

TEMMUZ
2012

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

HEMATOLOJİK MALİGNİTESİ OLAN HASTALARDA *VARİSELLA*
***ZOSTER* ENFEKSİYONUNUN SIKLIĞI VE RİSK FAKTÖRLERİNİN**
ARAŞTIRILMASI

Bio. GÜLSÜM KAYA

Tez Savunma Tarihi:05.07.2012

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof.Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmasının bir “Yüksek Lisans” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof.Dr. Ayşen BAYRAM

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı
(Vekaleten)

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ayşen BAYRAM

Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Ayşen Bayram

Doç Dr. Mustafa Pehlivan

Doç. Dr. Fahriye Ekşi

İmzası

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

05.07.2012

Gölsüm KAYA

TEŞEKKÜR

Sevgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, akademik deneyimiyle huzurlu ve motive edici bir ortam hazırlayarak çalışabilmeme büyük katkı sağlayan tez danışmanım Prof. Dr. Ayşen BAYRAM ‘a;

Yüksek lisans eğitimim boyunca akademik bilgisiyle, güler yüzüyle, yardımlarını, ilgisini ve sevgisini hissettiğim Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL’e;

Yüksek lisans başvuruya geldiğim ilk gününde sıcak bir gülümsemeyle karşılayıp son gününe kadar bilgisi, sevgisi ve tecrübesiyle yanımda olan Doç. Dr. Fahriye EKŞİ’ ye; Bilgi birikimlerini bizimle paylaşan, yardımlarını ve ilgisini hissettiğim Doç. Dr. Yasemin ZER’e ;

Yüksek lisans eğitimine başladığımda değerli akademik bilgilerini bizlere aktaran ve şuan emekliye ayrılan hocamız Prof. Dr. İclal BALCI’ ya;

Tez çalışmamdaki istatistik verilerin hesaplanmasında bana yardımcı olan Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç.Dr. Seval KUL’a;

İyi ve kötü günümde her daim yanımda olan ve varlığıyla bana ışık tutan sevgili annem ve babama; benim bugünlere gelmemde yardımcı olan ağabeylerim ve ablalarım özellikle Mehmet KAYA ve Süleyman KAYA ‘ya;

Ayrıca yüksek lisans eğitimim boyunca sabır göstererek beni bekleyen ve benden manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Cem ÖZEN’e;

SONSUZ TEŞEKKÜRLER.....

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
RESİMLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Viral Replikasyon	4
2.2. Sınıflandırma	7
2.3. Varicella-Zoster Virüs	8
2.3.1. Taksonomi	8
2.3.2. Virüsün Morfolojisi ve Genel Özellikleri	8
2.3.3. Patogenez	10
2.3.4. Epidemiyoloji	13
2.3.5. Klinik	14
2.3.5.1. Suçiçeği(varicella)	14
2.3.5.2. Zona (Herpes Zoster)	15
2.3.6. Tanı	17
2.3.6.1. VZV’de Çalışılacak Örneklerin Toplanması ve Örneklerin Tipleri	17
2.3.6.1.A. Örneklerin Toplanması Taşınması ve Saklanması	17
2.3.6.1.B. Veziküler Sıvı	17
2.3.6.1.C. Lezyonlardan Alınan Hücresel Materyalin Yaymaları	17
2.3.6.1.D. Doku	18
2.3.6.1.E. Kan ve BOS Örneklerin Alınması, Taşınması ve Saklanması	18

2.3.6.2. VZV İnfeksiyon Tanı Yöntemleri	19
2.3.6.2.A. Sitolojik Yöntemler	19
2.3.6.2.B. Virolojik Yöntemler	19
2.3.6.2.C. Serolojik Yöntemler	20
2.3.6.3. Direk Tespit (Mikroskopi)	20
2.3.6.4. Floresanlı Antikor Deneyleri (İmmuno-Flouresans)	21
2.3.6.4.A. IF Boyama ile Antijen Tespiti	22
2.3.6.5. Enzimli İmmün Deney	23
2.3.6.5.A. ELISA	23
2.3.6.5.B. Enzyme Immüno Assay (EIA)	25
2.3.6.6. Flurescent Antibody to Membrane Antijen (FAMA) Testi	26
2.3.6.7. Antikomplemet Immunofluresans (ACIF) Testi	26
2.3.6.8. Lateks Aglütinasyon (LA) Testi	27
2.3.6.9. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	28
2.3.6.10. Nükleik Asit Amplifikasyonu	29
2.3.7. Tedavi	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Hastalığın Tanımlanması ve Örneklerin Toplanması	31
3.2. Enzyme Llinked Flurescent Assay (ELFA) ile Varicella- Zoster IgG Testi	31
3.3. ELFA Varicella-Zoster IgG (VZG) Testinin Kit İçeriği	32
3.3.1. ELFA Varicella-Zoster IgG Testinin Uygulanması	34
3.3.2. ELFA Varicella-Zoster IgG Testinin Sonuçları	34
3.4. İstatistiksel Yöntemler	35
4. BULGULAR	36
5. TARTIŞMA	45
6. KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	59

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

ACIF	Anticomplement Immunofluorescence Test
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
CDC	Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
CMV	Cytomegalovirüs
CPE	Sitopatolojik Etki
DFA	Direk Floresan Antikor
EIA	Enzyme Immune Assay
ELFA	Enzyme Linked Fluorescent Assay
EM	Elektron Mikroskopi
FAMA	Fluorescent Antibody to Membrane Antigen
Gp	glikoprotein
gpC	glikoprotein C
gpD	glikoprotein D
gpE	glikoprotein E
gpH	glikoprotein H
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HSV	Herpes Simplex Virüs
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
IF	İmmünofloresan
IFA	Immun Floresan Antikor
IgA	Immunoglobulin A
IgG	Immuoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
LA	Lateks Aglütinasyon
MHC	Major Histokompatibilite Kompleks
Nm	nanometre
PBS	Phosphate-Buffered Saline
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFV	Rölatif Floresans Değeri
SPR	Katı Faz Sağlayıcı
VTM	Viral Transport Medium
VZV	Varicella Zoster Virüs

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Herpes Simplex Virus 1'in elektron mikroskopik fotoğrafı	2
Şekil 2.2.	Herpes Simplex virüs (HSV), Varicella-Zoster Virüs (VZV), Cytomegalovirus (CMV) ve Epstein-Barr virüs genomların karşılaştırmalı şematik görünümü	4
Şekil 2.3a.	Herpes Simplex virüsün plazma membranına adsorbsiyonu	5
Şekil 2.3b.	Herpes virüslerin plasma membranına füzyonu	6
Şekil 2.4.	Herpes virüslerin en erken, erken ve geç genlerinin ekspresyonu	6
Şekil 2.5.	VZV virüs partikülü ile enfekte hücrenin elektron mikroskopunda görünümü	10
Şekil 2.6.	Primer varisella enfeksiyonunun patogenezi	12
Şekil 2.7.	Akut suciçeği enfeksiyonunda klinik seyri	13
Şekil 2.8a.	Doğrudan (direkt) immuno fluoresans deneyi	22
Şekil 2.8b.	Dolaylı (indirekt) immuno fluoresans deneyi	22
Şekil 2.9.	ELISA ile antikor arama	25
Şekil 2.10.	EIA ile antikor ölçümü	26

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1	Zona zosterda cilt döküntüsü	16
Resim 2	Veziküler lezyonun tabanından alınan materyalin Giemsa ile boyalı preparatı	21
Resim 3	VZV IF ile görünümü	23
Resim 4	Lateks aglütinasyon testinin görünümü	28
Resim 5	ELFA yöntemi ile çalışan Biomeriux Vidas PC Cihazı	32
Resim 6	VZV IgG kit içeriği	33
Resim 7	ELFA yöntemi ile VZV IgG çalışılması	34

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1.	Herpes virüs ailesinin genel özellikleri	7
Tablo 2.2.	İnsanda infeksiyon yapan Herpes virüslerin sınıflandırılması	8
Tablo 3.1.	ELFA Varicella-Zoster IgG kit içeriği	33
Tablo 3.2.	ELFA Varicella-Zoster IgG testi eşik değerleri ve sonuçların yorumlanması	35
Tablo 4.1.	Çalışma gruplarına göre cinsiyet dağılımı	36
Tablo 4.2.	Hasta ve kontrol gruplarında pozitifliğin cinsiyete göre dağılımı	36
Tablo 4.3.	Hasta ve kontrol gruplarında pozitifliğin yaşa göre dağılımı	37
Tablo 4.4.	Çalışma gruplarındaki olguların yaş dağılımı	37
Tablo 4.5.	Hasta ve kontrol gruplarında Varicella-Zoster IgG antikorunun dağılımı	38
Tablo 4.6.	Pozitiflik için risk faktörlerinin dağılımı	38
Tablo 4.7.	Hasta grubunda bulunan hematoloji hastalarının tanıları	39
Tablo 4.8.	VZV Ig G antikorunun hematoloji hasta gruplarına göre dağılımı	40
Tablo 4.9.	Hasta grubunda bulunan bireylere ait sonuçlar	41
Tablo 4.10.	Kontrol grubunda bulunan bireylere ait sonuçlar	43

ÖZET

HEMATOLOJİK MALİGNİTESİ OLAN HASTALARDA VARİSELLA ZOSTER ENFEKSİYONUNUN SIKLIĞI VE RİSK FAKTÖRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gülsüm KAYA

Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Ayşen BAYRAM

Temmuz 2012, 59 sayfa

Herpes virüs ailesinin bir üyesi olan Varisella zoster virüsü (VZV), suçiçeği ve zona zoster olmak üzere iki farklı klinik tabloya neden olur. Suçiçeği, sıklıkla virüse karşı duyarlı çocuklarda etkenle karşılaşma sonucu ortaya çıkan primer bir enfeksiyondur. VZV primer enfeksiyonundan sonra arka sinir kök hücrelerinde latent olarak yerleşir. Zona ise VZV primer enfeksiyonunun tekrarlaması sonucu sıklıkla yaşlılarda görülen, duyu sinirlerinin dağıldığı bölgede lokalize veziküler döküntü ile ortaya çıkan şiddetli ağrılı bir hastalıktır. Her iki enfeksiyon da immün sistemi sağlam olan kişilerde ve genç insanlarda ılımlı seyrederken, immün yetmezliği olan kişilerde ağır klinik tabloya sebep olurlar. Günümüzde organ nakli ve kortikosteroid kullanımı gibi immün baskılanmaya neden olan klinik uygulamaların artmasıyla birlikte, VZV enfeksiyonları da klinikte önemli hale gelmiştir. Bu çalışma, Temmuz-Aralık 2011 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde yapıldı. Hematoloji kliniğinde yatarak tedavi gören, çeşitli hematolojik maligniteleri olan ve immünsüpresif tedavi alan 56 erişkin hasta VZV enfeksiyonu yönünden incelendi. Kontrol grubu olarak hastanedeki kan bankasına başvuran gönüllü donörlerden 56 erişkin seçildi. VZV IgG antikorun tespitinde ELFA yöntemi kullanıldı. VZV IgG hematoloji malignitesi olan hastaların %92.9'unda (52/56), kontrol grubundakilerin ise %71.4 (40/56) pozitif olarak bulundu. Hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında, VZV IgG'nin hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek olduğu görüldü ($p=0.003$). Bu sonuçlara göre, hematolojik malignitesi olan hastaların VZV enfeksiyonu yönünden araştırılarak, gerekli durumlarda tedavi almaları olası komplikasyonlardan korunmaları açısından önem taşımaktadır.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE PREVALENCE AND RISK FACTORS OF VARICELLA ZOSTER INFECTION IN PATIENTS WITH HEMATOLOGIC MALIGNANCIES

Gülsüm KAYA

University of Gaziantep, Graduate School of Health Sciences

Department of Microbiology

M.S. Thesis

Supervisor: Prof. Ayşen BAYRAM, M.D, PhD.

July 2012, 59 pages

Varicella zoster virus (VZV) is a member of the *Herpesviridae* family, which causes two different clinical pictures such as chicken pox and herpes zoster. Chicken pox often occurs as a primary infection in susceptible children after exposure to the viral agent. After the primary infection, VZV remains latent in dorsal root ganglia. Herpes zoster is a severely painful disease with vesicular rash localized along sensory nerves which usually occurs in elderly as the recurrence of the primary VZV infection. Both of these infections present moderately in those with intact immune system and in young people, but they cause severe clinical disease in immunodeficient patients. Due to the increase in immunosuppressive clinical applications such as organ transplantation and corticosteroid use, VZV infections became more important in clinical practice. This study was performed between July and December 2011 at Gaziantep University Şahinbey Research Hospital. Fifty-six adult patients who were hospitalized and receiving immunosuppressive therapy due to various hematologic malignancies at the Hematology clinic were investigated for VZV infection. Fifty-six volunteer donors admitted to the same hospital's Blood Bank were selected as the control group. VZV IgG antibody was investigated by ELFA method. VZV IgG was detected in 92.9% (52/56) of patients with hematologic malignancies and in 71.4% (40/56) of individuals within the control group. When patient and control groups were compared, VZV IgG antibody was found statistically significantly higher in the patient group than the control group ($p=0.003$). According to these results, it is important that patients with hematologic malignancies should be investigated for VZV infection and in necessary conditions they should be given therapy for the prevention of possible complications.

1.GİRİŞ

Herpes zoster, çok eski zamanlardan beri bilinen ve “zona” olarak adlandırılan bir infeksiyon hastalığıdır. Von Barendsprung 1862’de ilk defa bu hastalığın döküntülerinin bulunduğu deri bölgesinin, kranial sinir gangliyonları ve ekstramedüller sinirlerin arka kökleri ile ilişkisi olduğuna dair gözlemlerini bildirmiştir. Landouzy 1884’te hastalığın infeksiyöz olduğunu, Von Bokay ise 1888’de herpes zoster ve varisella arasındaki ilişkiyi belirtmişlerdir. Lipschuz 1921’de kutanöz veziküllerin histopatolojisini tarif etmiş, etkenin bir virüs olduğunu ortaya koymuştur (1, 2).

Varicella Zoster virüsü (VZV) suçiçeği hastalığı etkeni olup, kış ve ilkbahar aylarında epidemilerle seyreden bir viral hastalıktır. Suçiçeği, sıklıkla virüse karşı duyarlı çocuklarda etkenle karşılaşma sonucu ortaya çıkan primer bir infeksiyondur. Varisella, ateş ve jeneralize veziküller döküntü ile karakterize edilmektedir. Bunun yanı sıra çok bulaşıcı ancak hafif seyirli bir hastalıktır. VZV primer infeksiyonundan sonra arka sinir kök hücrelerinde latent olarak yerleşir.

Zona, VZV primer infeksiyonunun rekürrensi sonucu sıklıkla yaşlılarda görülen, duyu sinirlerinin dağıldığı bölgede lokalize veziküler döküntü ile ortaya çıkan şiddetli ağrılı bir hastalıktır (3, 5). Yaş ile birlikte, hastalığın insidansındaki artma, VZV’ye karşı kazanılan immünite ile uyum sağlar. Varicella zoster virüsü antikorun yaş dağılımı, latent virüsün sadece antikor azaldığında aktif hale geleceği teorisi ile uygunluk gösterir (1).

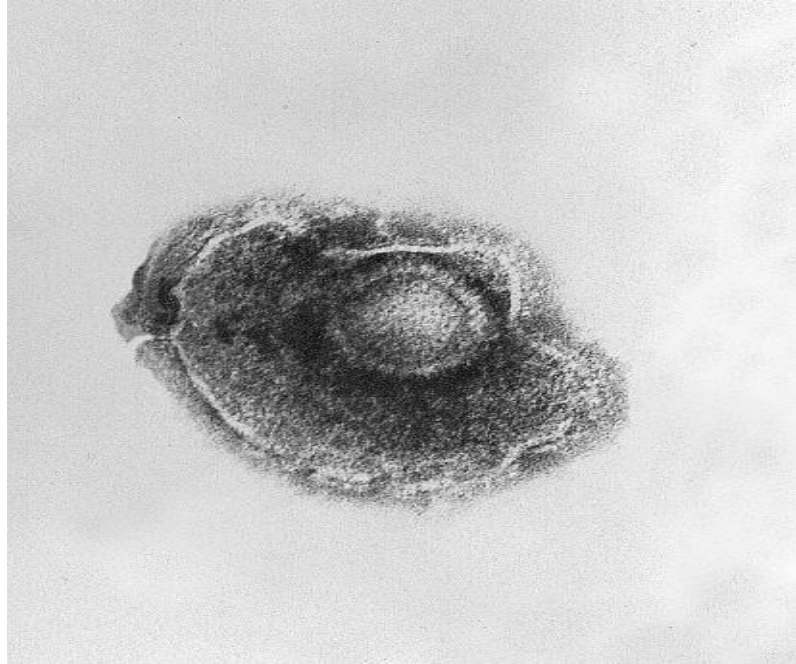
Özellikle immün sistem bozukluğu olan hastalarda ağır klinik seyir gösterirken, immün sistemi normal olan bireylerde de %5.5 oranında komplikasyonlara yol açtığı bildirilmiştir (6, 7). İmmün yetmezliği olan lösemi, organ transplantasyon ve AIDS hastalarında insidansı ve şiddeti artmaktadır. Hodgkin hastalığında %25’e varan insidans bildirilmiştir (8).

Bu çalışmanın amacı, immünsüprese hastalarda VZV infeksiyonunun sıklığını araştırmak ve VZV infeksiyonu saptanan hastalarda olası komplikasyonların önlenmesi amacıyla gerekli tedavinin yapılabilmesi sağlamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Varicella Zoster virüsü, herpes virüs ailesinin bir üyesidir ve bu ailenin genel özelliklerini taşır (9). Herpes virüslerin yapısal özellikleri ve genomik organizasyonları birbirine çok benzemektedir. Büyüklükleri 120-260 nm arasında değişen herpes virüsler dört yapısal birimden oluşurlar: zarf, tegüment, nükleokapsid ve kor (10, 12).

Zarf: Konak hücre membranlarından (nükleus membranı ve sitoplazmik membran) orijin alır. Tipik olarak trilaminer yapıdadır ve lipid içerir. Zarf üzerinde virüse ait glikoproteinler (gp) yer alır. Yüzeyden dışarı doğru uzanan bu glikoprotein çıkıntılardan bazıları virüsün konak hücreye tutunmasında rol oynar (10, 11, 13) (Şekil 1).



Şekil 2. 1. Herpes Simplex Virus 1'in elektron mikroskopik fotoğrafı. İkozahedral nükleokapsid, viral zarf ve zarf üzerinde belirli bölgelerde yoğunlaşmış glikoprotein çıkıntıları görülmektedir (<http://www.vaccineinformation.org>).

Viral glikoproteinlere karşı konakta oluşturulan humoral ve hücrel immün yanıtın, virüs nötralizasyonunda ve enfeksiyonun sınırlandırılmasında etkin rolleri vardır. Viral glikoproteinlerden bazıları da, herpes virüslerin immün sistem hücrelerinden kaçışında

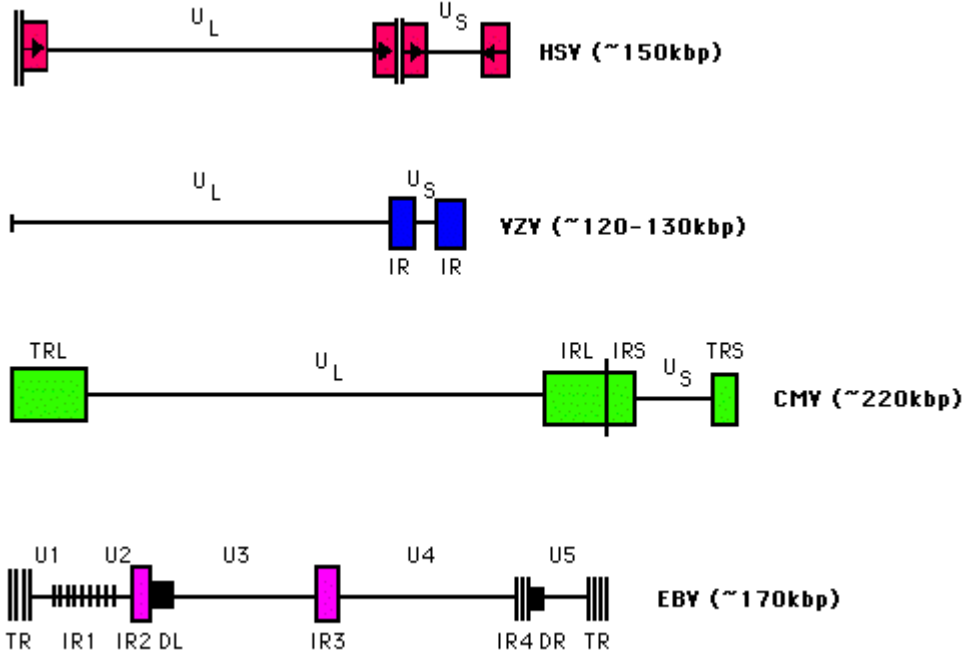
etkin rol alırlar. Bunlara örnek olarak Herpes Simplex virüslerdeki gpE, gpC ve gpH verilebilir. Glikoprotein C bir Fc reseptörü olarak, gpE bir kompleman (C3b) reseptörü olarak davranırken, gpH da virüsün hücreden hücreye yayılmasında ve böylece immün yanıtta kaçışında etkin rol alır (11, 14).

Tegüment: Kapsidle zarf arasında yer alan tegüment, amorf yapıdaki viral proteinlerden oluşmaktadır. Tegüment proteinlerinden bazıları infekte hücrede replikasyonun başlamasında rol alırken, bazıları da zarfla kapsid arasında bağlantı sağlamaktadırlar. Genellikle asimetrik olan tegümentin kalınlığı virüsün infekte hücredeki lokalizasyonuna göre değişmekte olup, sitoplazmik vakuollerde biriken viryonlarda daha kalındır.

Kapsid: Bütün herpes virüslerde kapsid, 162 heksagonal kapsomerden (150 hekszon ve 12 penton) oluşmuştur. Kapsid büyüklükleri 95-110 nm arasında değişmektedir. Dört majör kapsid proteini sırasıyla, majör kapsid proteini, tripleks monomer ve dimer kapsid proteinleri ve küçük kapsomer proteinidir.

Kor: Olgun viryonun kor kısmı halka biçiminde yerleşmiş DNA içerir. Bazı herpes virüslerde genom, kapside ilişkili protein fibrilleri ile çevrelenmiştir.

Genom: Lineer, çift zincirli tek bir DNA molekülünden oluşan herpes virüs genomu, sayıları virüs tipine bağlı olarak değişen çok sayıda (70-200) gen içermektedir. (10, 11, 15). Genomik organizasyonları bakımından herpes virüsler arasında benzerlikler varsa da, genom büyüklükleri (105-235 kbp), dizileri ve G+C içerikleri (%35-75) belirgin farklılıklar göstermektedir (Şekil 2). Herpes virüs genomu, yapısal (zarf, tegüment, kapsid proteinleri) ve yapısal olmayan (timidin kinaz, timidilat sentetaz, ribonükleotid redüktaz, dUTPaz, DNA polimeraz, helikaz, primaz, protein kinazlar) çok sayıda (70-150) proteini kodlamaktadır.

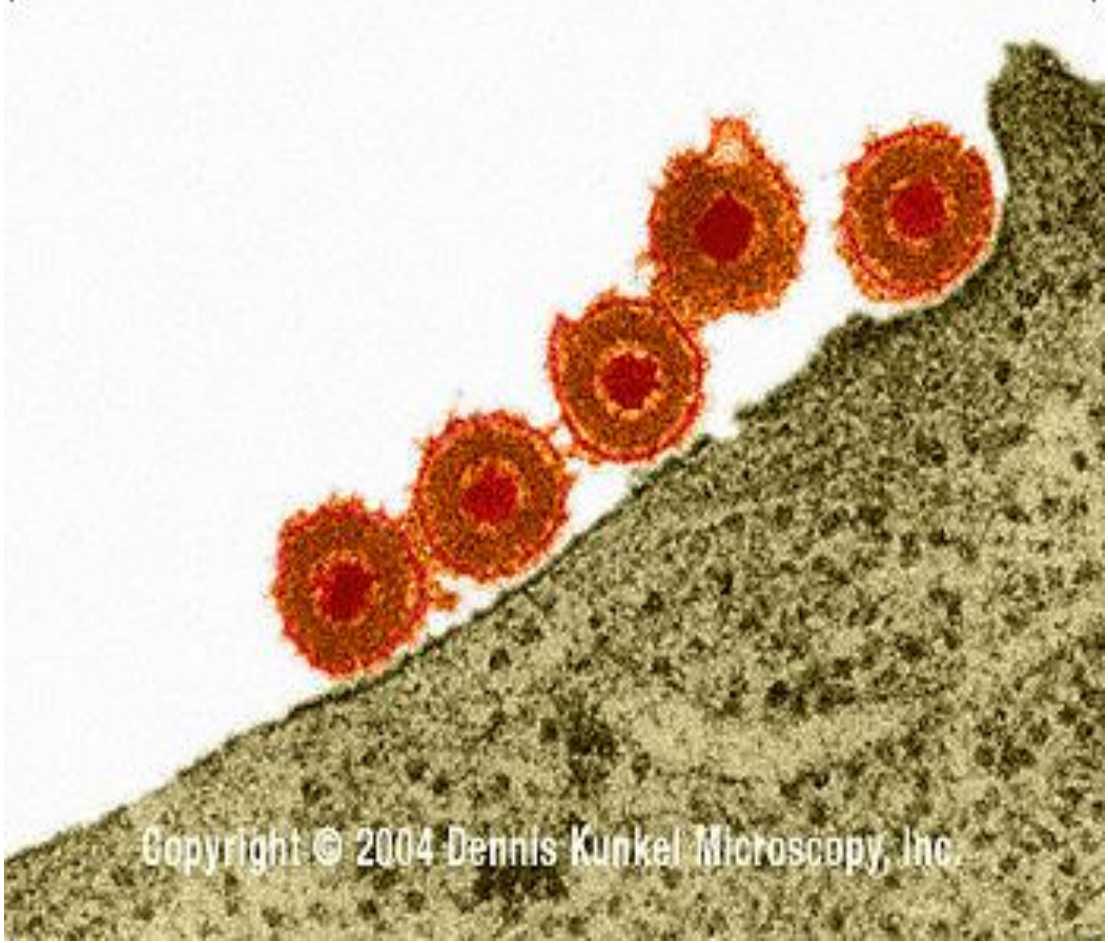


Şekil 2.2. Herpes Simplex Virüs (HSV), Varicella-Zoster Virüs (VZV), Cytomegalovirus (CMV) ve Epstein-Barr Virüs (EBV) genomlarının karşılaştırmalı şematik görünümü. Bütün herpes virüslerde genom, ‘unique long’ (uL) ve ‘unique short’ (uS) bölgeler içermektedir. Ayrıca değişen sayılarda tekrarlayan diziler de (TR) genomda yer almaktadır (<http://www.microbiologybytes.com>).

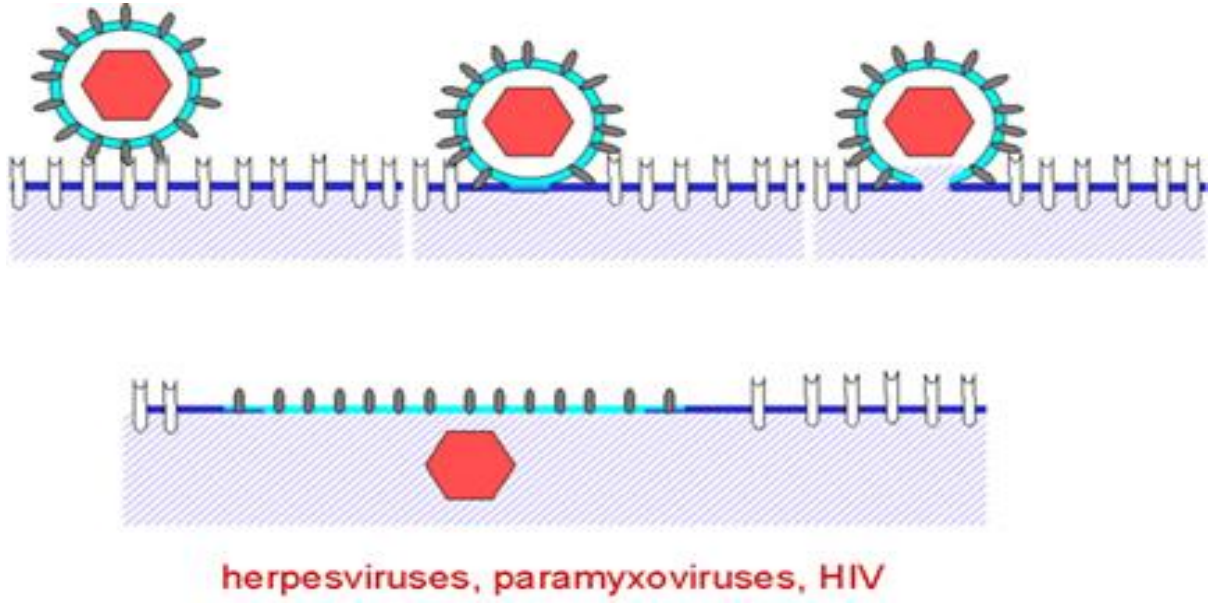
2.1 Viral Replikasyon

Virüsün çoğalması, hücre tipine özel konak reseptörleri aracılığı ile hedef hücreye bağlanarak başlar (16). Konak hücrenin infeksiyonunu takip eden birkaç saat içinde nükleusta kapsitten salınan lineer genom sirkülerize olur. Tegüment proteinlerinin sinyalizasyonu ile az sayıda ‘çok erken’ (immediate early) ya da ‘alfa’ olarak adlandırılan genler transkribe edilirler. Bu genlerin ürünleri hem kendi sentezlerini regüle ederler hem de ‘erken gen’ (beta gen) ürünü çok sayıda proteinin sentezini stimüle ederler. Erken genlerin ürünleri olan erken proteinlerden timidin kinaz ve DNA polimeraz, viral genomun replikasyonunu yöneten başlıca enzimlerdir. Yeni viral DNA molekülleri bir taraftan sirküler parenteral DNA’dan sürekli olarak sentezlenmeye devam ederken, bir taraftan da yeni sentezlenen kapsidler içinde paketlenirler. DNA replikasyonundan sonra transkribe edilen çok sayıdaki ‘geç gen’ (beta gen) ürünü

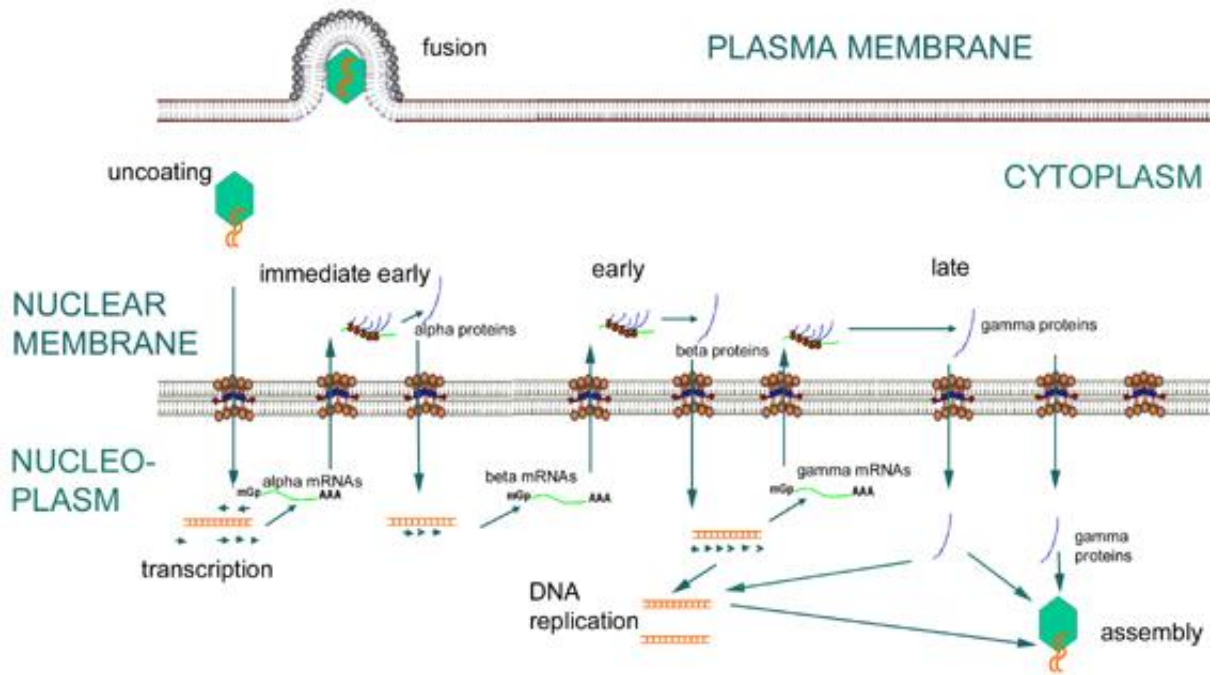
proteinlerde paketlenmiş progen viryonların yapısına eklenir. Olgun viryonlar, hücre nükleusundan ve sonra da sitoplazmik membrandan tomurcuklanarak ayrılırlar ve duyarlı diğer hücreleri enfekte ederler. Herpes virüsler genellikle hücreden hücreye geçerek vücutta yayılırlar (17). Herpes virüslerin doğal konaklarında hayat boyu latent infeksiyon oluşturmaları karakteristik bir özellikleridir (10, 12, 18, 19) (Şekil 2.3a, b ve Şekil 2.4).



Şekil 2.3a. Herpes simplex virüsün plazma membranına adsorbsiyonu (<http://pathmicro.med.sc.edu>).



Şekil 2.3b. Herpes virüslerin plasma membranına füzyonu (<http://pathmicro.med.sc.edu>).



Şekil 2.4. Herpesvirüslerin en erken, erken ve geç genlerinin ekspresyonu (<http://pathmicro.med.sc.edu>).

2.2 Sınıflandırma

Herpes virüsler, Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi (International Committee on Taxonomy of Viruses-ICTV) tarafından sınıflandırılmıştır. Herpesvirales takımı altında *Herpesviridae* ailesi içinde sınıflandırılmaktadır. *Herpesviridae* ailesi üyeleri başta hücre tropizimleri olmak üzere çeşitli biyolojik özellikleri dikkate alınarak üç alt ailede sınıflandırılırlar: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* ve *Gammaherpesvirinae* (Tablo 2.1) (10, 11, 21).

Tablo 2.1. Herpes virus ailesinin genel özellikleri (20).

Virus	Primer Enfeksiyon	Rekürren Enfeksiyon	İmmün kompromize kişide inf.	Latens yeri	Malignite ile ilişki	Bulaş Yolu
Herpes simplex virus 1	Gingivostomatit Keratokonjonktivit Kutanöz herpes Genital herpes Ensefalit	Herpes labialis Keratokonjonktivit Kutanöz herpes Ensefalit	Gingivostomatit Kerato konjonktivit Kutanöz herpes Özefajit, Pnömoni, hepatit vb	Duysal nöronlar	YOK	Perinatal Temas
Herpes simplex virus 2	Genital herpes Kutanöz herpes Gingivostomatit Meningoensefalit Neonatal herpes	Genital herpes Kutanöz herpes Aseptik menenjit	Genital herpes Kutanöz herpes Yaygın enfeksiyon	Duysal nöronlar	Serviks karsinomu?	Perinatal, Temas
Varicella-zoster Virus	Suçiçeği (varisella)	Zona	Yaygın enfeksiyon	Duysal nöron ganglionu	YOK	Perinatal, temas, aerosol
Cytomegalovirus	Mononükleoz Hepatit Konjenital hastalık	?	Hepatit Retinit Pnömoni, Ensefalit, Kolit vb	Monositler? Nötrofil?	YOK	Perinatal Temas Kan ürünleri
Epstein-Barr Virus	Mononükleoz, Hepatit, Ensefalit	?	Poliklonal monoklonal lenfoproliferatif sendromlar, Oral tüylü lökoplaki	B lenfositler	Afrika Burkitt lenfoması, Nazofarengeal karsinom, Diğer lenfomalar	Perinatal Temas Kan ürünleri
İnsan Herpes Virus 6	Roseola infantum Ateş, Otit, Ensefalit	?	Pnömoni? Ensefalit?	CD4 Lenfositler?	B hücre lenfoması ?	?
İnsan Herpes Virus 7	Roseola infantum	?	?	CD4 lenfositler ?	YOK	?
İnsan Herpes Virus 8	?	?	Kaposi sarkomu	?	Kaposi Castleman hastalığı	?
Simian Herpes B virus	Mukokutanöz lezyon, Ensefalit	?	?	Duysal nöronlar	YOK	Temas

Tablo 2.2. İnsanda infeksiyon yapan herpes virusların sınıflandırılması (17).

Aile: <i>Herpesviridae</i>	Cins	Virus tipi
Alt aile: <i>Alphaherpesvirinae</i>	Simplexvirüs	Human Herpesvirüs 1, 2 (Herpes simplex virüs 1 ve 2) Herpesvirus simiae (B virüs / Cercopithecine herpes virüs 1a)
	Varicellovirüs	Human herpesvirüs 3 (Varicella Zoster virüs -VZV)
Alt aile: <i>Betaherpesvirinae</i>	Cytomegalovirüs	Human herpesvirüs 5 (Human Cytomegalovirüs -CMV)
	Roseolovirüs	Human herpesvirüs 6, 7 (HHV-6, HHV-7)
Alt aile: <i>Gammaherpesvirinae</i>	Lymphocryptovirüs	Human herpesvirüs 4 (Epstein-Barr virus -EBV)
	Rhadinovirüs	Human herpes virüs 8 (Kaposi's sarcoma Related virüs / KSRV)

2.3. Varicella Zoster Virüs

2.3.1. Taksonomi

Varicella zoster virüs (VZV) *Herpesviridae*'nin bir üyesidir. Herpes Simplex virüsler (HSV 1, 2) ile birlikte bir alfa herpesvirüs olarak sınıflandırılır. Virüsleri sınıflandıran uluslararası komite (ICTV) tarafından Human Herpesvirüs 3 (HHV 3) olarak adlandırılmaktadır.

2.3.2. Virüsün Morfolojisi ve Genel Özellikleri

Varicella zoster virüs, *Herpesviridae*'nin tipik morfolojisine sahiptir (22). İkozaedral simetrik ve 162 kapsomerlidir. Kapsidinin ortasında çift iplikli DNA bulunur. DNA, 125.000 baz çifti (yaklaşık 80 megadalton) içermekte ve 75 protein kodlamaktadır. Ortalama 150-200 nm çapında olan bu virüsün, lipid yapısında kılıfı ve glikoprotein çıkıntıları vardır. Çıplak virüs 90-95 nm çapındadır (3). Zarf başlıca lipid içerir, bu sebeple virüs infektivitesi lipid çözücülerle inaktif olur. VZV ısıya duyarlıdır, 56-60 °C'de inaktif olur. Virüsün zarf yapısı deterjanlara ve eter duyarlıdır. Zarf yapısı bozulursa infektif özelliğini kaybeder. VZV liyofilize edilirse optimal korunma sağlanmış olur ve canlı atenué varisella aşısının üretiminde kullanılır (4, 5).

Viral genom yapısal olmayan ve E, B, H, I, C, K ve L olarak adlandırılan en az yedi glikoprotein (gp) olan yapısal proteinleri kodlar (24, 25). Glikoproteinler konak hücrelere virüsün bağlanması ve penetrasyonu için gereklidir. Glikoproteinlerin ve diğer virion komponentlerin immün tanısı VZV'ye karşı hümmoral ve hücrenel cevaplarla sonuçlanır. Yapısal olmayan proteinlere karşı gelişen immünite de konak savunmasında kesinlikle rol oynar. İmmün sistem virüsle infekte hücreleri ortadan kaldırmak için pek çok yöntemle sahip olmasına rağmen, VZV, geliştirdiği mekanizmalarla viral proteinlerin ekspresyonunu önleyerek immün sistemden korunabilmekte ve bu şekilde primer infeksiyonun ardından duyusal nöron gangliyonlarında ömür boyu latent kalabilmektedir (28).

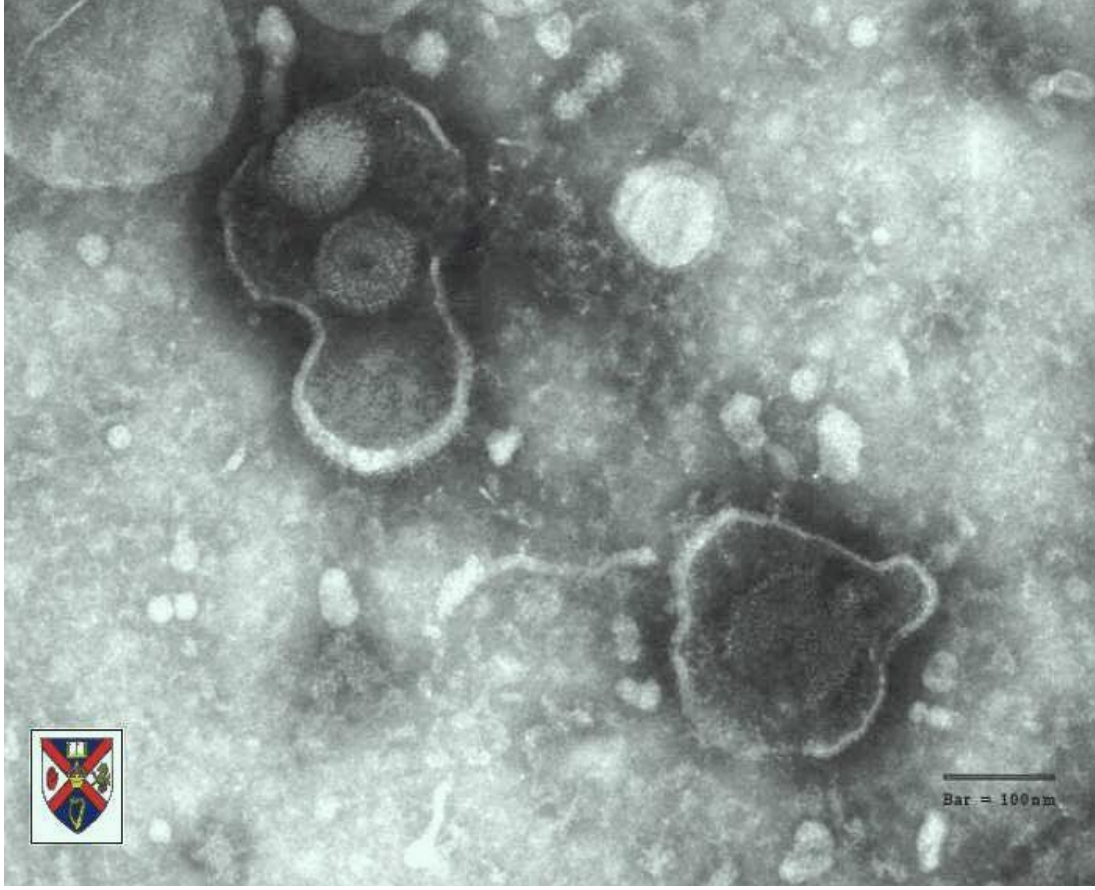
Varicella zoster virüs birçok özellikleriyle Herpes simplex virüse benzer. Her ikisi de insan fibroblast hücre kültüründe sitopatik etki gösterir. Ancak VZV, Herpes simplex virüsün aksine deney hayvanlarında hastalık oluşturmaz (4, 26).

Varisella ve herpes zoster, aynı virüs tarafından meydana getirildikleri halde, bu iki hastalık arasında klinik olarak pek çok fark bulunur. Zona zoster ekseriya lokalize olduğu halde, varisella jeneralizedir. Zona adult (genç) hastalığı, varisella ise çocuk hastalığıdır. Zona bazen nüksedebilir, varisella ise kesin bağışıklık bırakır (27).

Latens Mekanizmaları: Tüm herpes virüsleri gibi VZV de, doğal konağı olan insanda ömür boyu latent kalabilmektedir. Yapılan çalışmalar, dorsal kök ganglionlarında, hem satelit hücreler hem de nöronlarda VZV nükleik asitlerini göstermiştir (39, 40). VZV proteinlerini tanıyan antikorlarla yapılan çalışmalarda ise infekte nöronlarda çok sınırlı sayıda (yaklaşık 5 adet) proteinin eksprese olduğu saptanmıştır (41, 42). Bir başka ifadeyle 75 kadar protein sentezleyebilen virüs, latent kaldığı dönemde çok sınırlı sayıda protein sentezlemektedir.

Bir diğer mekanizma ise infekte hücrelerin yüzeyinde MHC class I molekül ekspresyonunun down-regülasyonudur. İnfeksiyon seyrinde virüs hücre içine girdikten sonra viral proteinler açığa çıkar. Virüsle infekte olan hücreler bu proteinleri işlemiden geçirdikten sonra, hücre yüzeyinde MHC class I molekülleri ile sitotoksik T hücrelerine sunarlar. Sitotoksik T hücreleri, virüsle birlikte infekte hücreyi de ortadan kaldırır. VZV, bu proteinlerin ekspresyonunu azaltarak ve viral peptidlerin sitotoksik T-hücrelerine sunumunu engelleyerek immün sistemden korunmaktadır (43).

VZV'nin, immün sistem yanıtlarının diğ r dokulara göre daha zayıf olduğu sinir dokusunda yerleşmesi latent kalabilmesinde önemli bir başka faktör olarak karşımıza çıkmaktadır.



şekil 2.5. VZV partikülünün enfekte hücrenin elektron mikroskobunda görünümü (<http://pathmicro.med.sc.edu>).

2.3.3. Patogenez

Varicella zoster virüsün vücuda girişi, solunum yolu veya veziküler lezyondan direkt temas ile mukozal yüzeyle inokülasyonu ile gerçekleşir (29, 31). Bölgesel lenf nodlarında ilk replikasyonu sonrasında VZV, primer viremiyi yaparak karaciğ r, dalak gibi retiküloendotelial dokulara ulaşır (32). Bu dokularda replikasyonuna devam eden virüs sonrasında dolaşımda yer alan monositlerin içerisinde sekonder viremiyi yapar ve kütanöz epitel hücrelerine ulaşarak veziküllere neden olur (şekil 6).

Sekonder viremi, inkübasyon süresinin son birkaç gününde ve klinik bulguların ortaya çıktığı ilk 24-72 saat içerisinde gerçekleşir. Vezikülerin ortaya çıkışını takip eden 24-72 saat sonra sekonder viremi ile deri epitel hücrelerinin etkilenmesi devam ettiğinden deri lezyonlarındaki artış yoğun olarak bu dönemde görülür (29). Benzer şekilde solunum yollarına sekonder viremi sırasında oluşan VZV nedeni ile bulaştırmıcılık veziküllerin gelişiminden 1-2 gün önce başlar ve veziküllerin ortaya çıkışı ile en üst düzeye çıkar. VZV'nin solunum yollarına ulaşarak bulaştırmıcılığının olması, diğer herpes virüslerinden farklı olan özelliklerinden birisidir (Şekil 7).

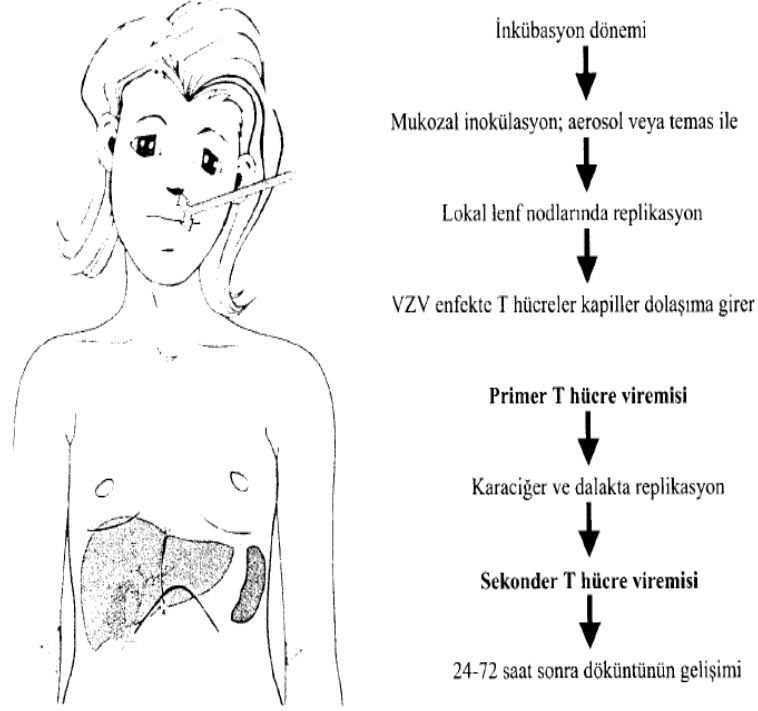
Varisella zoster virüsünün, primer infeksiyon olarak isimlendirilen suçiçeğinden sonra dorsal kök ganglion hücrelerinde latent kalması virüsün klasik seyridir ve tüm suçiçeği geçirenlerde gerçekleşir (33). Latent kalma özelliği olan herpes simplex virüsü (HSV) dorsal ganglion nöronlarına yerleşirken, VZV nöronlardan çok satelit hücrelere yerleşir (34). Çeşitli nedenlerle sellüler immünitenin baskılandığı durumlarda VZV reaktif olarak inervasyonun gerçekleştiği deri alanında (dermatomda) ağrı ve vezikülle karakterize zoster gelişimine neden olur.

Zoster sırasında viremi gerçekleşmediği için solunum yolu ile virüsün yayılımı söz konusu değildir. Ancak deri lezyonlarında virüs bulunduğu için, veziküllerle temas eden öncesinde hastalığı geçirmemiş veya aşılanmamış duyarlı kişilerde suçiçeğine neden olur. Varisella zoster virüsü ile reinfeksiyon literatürde tanımlanmış olmakla birlikte oldukça seyrektir (35).

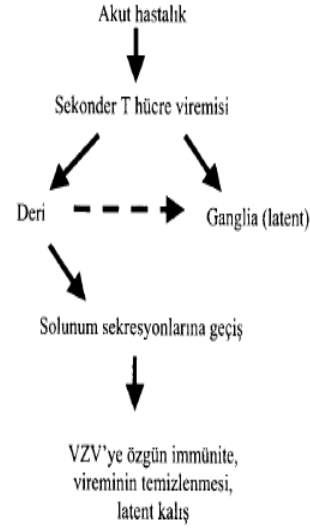
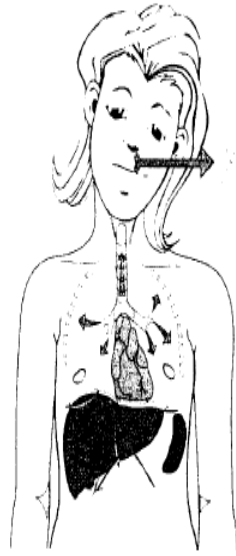
Suçiçeği sonrasında humoral immün cevap, viral proteinlere karşı oluşturulan IgG, IgM ve IgA ile gerçekleşir (32, 36). Gelişen bu antikorlar nötralizan aktiviteye sahiptir ve virüs ile enfekte olan hücrelerin yıkımında esas rolü oynayan hücresel immüniteye destek olur. Bir diğer ifade şekli ile vireminin sonlandırılmasında ve deri lezyonlarının sınırlanmasında esas rolü hücresel immünite oynar (36). Örneğin agamaglobinemisi olan çocuklarda suçiçeği normal çocuklara göre daha ağır bir klinik ile seyir göstermezken, hücresel immünitenin etkilendiği konjenital immün yetmezliklerde mortalitesi oldukça yüksek ağır klinik ile seyretmektedir (31). Varisella infeksiyonları sonrasında immün hafıza (memory) helper (yardımcı) ve sitotoksik aktivite gösteren T hücreleri ile oluşur. Bu nedenle VZV immünitesi olan kişilerde VZV deri testi allerjenlerine gecikmiş tip hipersensitivite cevabı görülür (36).

VZV immünitesinin uzun süreli oluşumunda suçiçeği veya zoster ile temasta bulunmanın rol oynayıp oynamadığı tam olarak bilinmemektedir. Ancak temas sonrasında immün cevapta artış olduğu bilinmektedir (29, 36).

T hücre fonksiyonlarında veya VZV tanınmasında herhangi bir nedenle azalma sonrasında zoster gelişimine neden olmaktadır (37). Gerek HIV pozitif kişilerin suçiçeği geçirdikten kısa süre sonra zoster geçirmeleri ve T hücre fonksiyonlarının tam olarak gelişmediği intrauterin veya hayatın ilk zamanlarında suçiçeği geçirildiğinde erken dönemde zoster geliştirmeleri T hücre fonksiyonunun önemini göstermektedir (37, 38).



Şekil 2.6. Primer varisella infeksiyonunun patogenezi (73).



Şekil 2.7. Akut suçiçeği infeksiyonunda klinik seyir (73).

2.3.4. Epidemiyoloji

Varicella zoster virüs, hücreden hücreye temas ile vücutta yayılan son derece hücre-ilişkili bir virüsdür. Buna karşılık akut infeksiyon sırasında deri veziküllerinde hücre dışında son derece bulaşıcı VZV üretilmesi, varicella zoster'in yüksek derecede bulaşıcılığını kısmen açıklar (44). VZV hava yolu ile yayılır ve respiratuvar mukozayı infekte eder. Havadaki virüsün kaynağının çoğu veziküler deri lezyonlardır. İnsanlar VZV için tek konaktır, bu sebeple bu virüs için ara konak yoktur. VZV son derece bulaşıcıdır. Yapılan çeşitli çalışmalarda suçiçeği veya zona geçiren hastaların kaldıkları odalarda virüs DNA'sını içeren aerosoller tespit edilmiştir (45).

Suçiçeği tüm dünyada yaygındır, ancak tropikal bölgelerde erişkin popülasyondaki görülme sıklığı diğer coğrafik bölgelerden daha seyrek. Suçiçeği yılın her mevsiminde görülebilir. Ancak yıllık epidemiler daha çok kış sonu ve bahar aylarındadır. İnsandan insana veziküllere direkt temas, damlacık infeksiyonu hava yolu ile bulaşarak epidemilere neden olur. Duyarlı kişiler arasında aile içi temasta bulaş olasılığı yaklaşık %90 olup, okulda çocuklar arasındaki yakın ilişkide geçiş ise yaklaşık %10-35'tir. Suçiçeği geçiren bir kişinin ikinci kez geçirmesi nadirdir (3, 5, 26, 47).

VZV infeksiyonu geçiren kişi ile aynı odada bir saat kalmanın infeksiyon kapmak için yeterli olduğu bilinmektedir. İnkübasyon süresi 10-20 gün (ortalama 14 gündür).

Bulaşıcılık döküntüler çıkmadan 48 saat önce başlar. Bu dönemde virüsün bulaşması solunum yolu ile gerçekleşir. Bulaştırıcılık tüm döküntüler kabuklanana kadar (4-5 gün) devam eder. Zonali hastalar suçiçeği geçiren hastalara göre daha az bulaştırıcıdır (46). Suçiçeği bir çocukluk çağı hastalığıdır. Vakaların %90'ı 13 yaşın altındaki çocuklarda görülmektedir. Onbeş yaşın üzerindeki kişilerin %10'unun VZV'e duyarlı olduğu kabul edilir. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC)'nin rakamlarına göre ABD'de her yıl 4 milyon suçiçeği vakası görülmekte, bunların 5 ile 9 bin kadarı hastanede takip edilmekte ve her yıl hemen hemen 100 insan suçiçeği nedeniyle ölmektedir. Suçiçeğinden ölüm oranı çocuklarda 100.000'de 2 iken, erişkinde bunun 15 katı kadardır (20).

Zona veya Herpes zoster'in epidemiyolojisi daha farklıdır. Zona, primer hastalığı geçirmiş kişilerde, dorsal kök gangliyonlarında latent kalan virüs ile organizmanın direnci arasındaki dengenin organizma aleyhine bozulduğu durumlarda sporadik olarak görülen bir hastalıktır. Suçiçeğinin aksine daha çok yaşlılarda görülür; 50 yaşın üzerinde insidans binde 5-10'dur, 80 yaşın üzerindeki kişilerin ise yaklaşık yarısının zona geçirmesi muhtemel olarak görülmektedir. Bu rakam immün yetmezlikli kişilerde, organ nakli yapılanlarda daha yüksektir. Kısacası bir toplumdaki bireylerin %10-20'sinin hayatlarının bir döneminde zona geçireceği söylenmektedir. Bir kez zona geçirenlerin de %4'ü ikinci bir zona atağı geçirebilir (20).

2.3.5. Klinik

2.3.5.1. Suçiçeği (Varisella)

Normal çocuklarda suçiçeğine bağlı mortalite 100.000 vakada 2'den daha azdır. Sağlıklı çocuklarda virüs ile karşılaşma sonucu yaklaşık 15 gün sonra klinik belirtiler ortaya çıkmaktadır. İlk belirtiler halsizlik, iştahsızlık, kaşıntı, boğaz ağrısı ve burun tıkanıklığı şeklinde genel şikâyetlerdir. Ateş 3-5 gün süre ile düşük seviyede (37.7-39.4°C) seyreder.

Makulo papüler döküntüler, birinci gün önce gövdede daha sonra baş, yüz ve daha az sıklıkla kol ve bacaklarda görülür. Papüller veziküle dönüşür. Veziküller eritemli bir zemin üzerinde olup içindeki sıvı berraktır, daha sonra sıvı bulanıklaşır ve kabuklanır. Kabuklar 1-2 haftada düşer ve genellikle nedbe bırakmadan iyileşirler. Bu sırada 3-4 gün süre ile yeni lezyonlar çıkabilir. Aynı anda makül, papül, vezikül, püstül ve kabukların hastada görülmesi karakteristiktir, buna polimorfizm denir. Genellikle bir

döküntünün başlayıp bitmesi, ortalama 48 saat sürer. Suçiçeği döküntüleri kaşıntılıdır. Döküntüler ağız mukozasında, kornea, vulva ve konjunktivada da görülebilir (3, 26). Deri lezyonları sekonder olarak stafilokoklar veya impetigo etkeni streptokoklar tarafından infekte olsa da, suçiçeği çocuklarda hafif seyirli bir hastalık olarak seyrederek. Erişkinlerde ise hastalık jeneralize olur ve komplikasyonlar daha sık görülür (26). Varisella ensefaliti ve serebellar ataksi suçiçeğinin en sık görülen nörolojik komplikasyonlarıdır. VZV enfeksiyonunun diğer patolojik komplikasyonları içinde trombositopeni yer alır. Eğer ciddi bir hepatitle birlikte ise koagülopati ve hemorajilere neden olur. Primer VZV enfeksiyonun da nadiren görülen komplikasyonlar ise glomerülonefrit, viral artritis, üveit, retinal nekroz, miyokardit, pankreatit ve orşittir (47). Gebeliğin erken döneminde annenin suçiçeğine yakalanması sonunda, VZV'nin transplasental geçişiyle konjenital varisella sendromu ortaya çıkar. Böyle çocuklarda, intrauterin ensefalite bağlı kalsifikasyonlar ve ekstremitelerde skatrisyel görünüm, düşük doğum ağırlığı, kortikal atrofi, mental retardasyon, koriyoretinit şeklinde sekeller ortaya çıkar (5, 26).

İmmünkompromize çocuklarda özellikle lösemililerde çok sayıda deri lezyonu vardır ve sıklıkla da hemorajik yapılıdır. Genellikle bu popülasyonda iyileşme 3 kat daha uzun sürer. Böyle çocukların %30-50'si visceral komplikasyonlar açısından daha yüksek risk altındadır ve bunlar tedavi edilmezse %15'i hayatını kaybeder. Kütanöz lezyonların diğer bir etkeni ise ikinci komplikasyonu bakteriyel enfeksiyonlardır. Bu enfeksiyonlar genellikle Gram pozitif organizmalarla ilgili olmasına rağmen streptokoklara bağlı toksik şok, az rastlanan ama potansiyel olarak ölümcül komplikasyona neden olur. Nötropenik hastalarda enfeksiyon sistemik seyredebilir (3).

2.3.5.2. Zona (Herpes zoster)

Zona, VZV'nin arka sinir köklerinde ve gangliyonlarda oluşturduğu iltihap, bu sinirlerin dallandığı bölgelerde veziküler döküntü ve duyu sinirleri boyunca yayılan yanma, kaşıntı ve şiddetli nevraljik ağrılarla karakterize bir hastalıktır (4). Genellikle ilk belirti tutulan dermatomda şiddetli ağrı olup tek taraflıdır. Sağlıklı konaklarda primer dermatom dışında yayılmış kütanöz lezyonlar nadir görülür. Döküntüler bir bölgede lokalizedir ve görünüm bakımından suçiçeğinin döküntüsüne benzer (Resim 1).



Resim 1. Zona zosterda cilt döküntüsü (<http://www.webanne.com>).

Zonali kişilerin beyin omurilik sıvısında (BOS) protein düzeyi artmaksızın lökosit artmıştır. Bu hastalarda BOS'ta VZV DNA'sı gösterilebilir. Primer dermatomdaki lezyonlar birkaç gün içinde durur, fakat yaşlılarda özellikle 60 yaşın üzerindeki kişilerde %40-50 oranında postherpetik nevralji sık görülen bir komplikasyondur. Hastalığın başlangıcında görülen ciddi ağrı, lezyonlar geçtikten sonra da aylarca devam edebilir.

Görme fonksiyonunu tehdit eden diğer bir komplikasyon ise herpes zoster oftalmikusdur ve genellikle infeksiyondan 7-28 gün sonra gelişir. Kranial gangliyon zonalarında yüz ve larinks paralizelerine rastlanır. Kulak herpes zosterin yol açtığı motor komplikasyonu sonucu Ramsey Hunt sendromuna bağlı belirgin yüz felci görülür (4).

Zonada, immun süpresyon morbidite ve mortaliteyi artırır. İmmun yetmezlikli hastalarda zona genellikle ağır seyirli ilerleyici bir hastalıktır. Böyle hastalarda viremi ve viseral yayılım riski artar. Özellikle AIDS'li hastalarda komplikasyon riski yüksektir. İmmun yetmezlikli hastalarda VZV reaktivasyonunu takiben pnömoni, hepatit, ensefalit ve yaygın intravasküler koagulopati görülebilir (3, 5, 48).

2.3.6. Tanı

Genellikle hastadan alınan iyi bir anamnez ve fizik muayene ile suçiçeği ve zona tanısı kolaylıkla konur. Lökosit sayısı normal ya da düşüktür. Son yıllarda suçiçeği ve zonanın ayırıcı tanısında kullanılan birçok test geliştirilmiştir. Eğer suçiçeği ve zosterde antiviral tedaviye başlanacak ise hızlı tanı testlerine gerek vardır. Virüsün izolasyonu zor olup laboratuarlarda rutin olarak çalışılmamaktadır (4, 26, 49).

2.3.6.1. VZV' de çalışılacak örneklerin toplanması ve örnek tipleri

2.3.6.1.A Örneklerin toplanması taşınması ve saklanması

VZV tanımlaması için genellikle tercih edilen örnekler veziküler sıvı ve lezyonlardan yapılan yaymalar, deri kazıntıları ve otopside elde edilen dokulardır. Enfekte dokular veya sıvıda VZV tespiti tanı koydurucudur, çünkü asemptomatik hastalar virüsü yaymazlar (51). Kişisel şartlara bağlı olarak immünfloresan (IF) boyama, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve/veya kültür için örnek elde etmek optimaldir.

2.3.6.1.B. Veziküler sıvı

Veziküler sıvı hücresiz virüs içerir, bu sebeple birçok diyagnostik test için uygundur. Fakat hücre olmamasından dolayı IF ile boyama için uygun değildir. Veziküler sıvı kapiller pipet, enjektör veya eküvyon ile toplanabilir. Kültür için eküvyonların kullanılması pek tercih edilmemektedir. Bunun sebebi eküvyonlarla toplanan virüsün, vezikül sıvısındakine göre daha az stabil olmasıdır. Buna ek olarak örnek transportu için kullanılan besiyeri veya sürüntü işlemi sırasında virüs elüsyonu, dilüsyon ve virüs infektivitesinin kaybına bağlı olarak virüs elde edilmesinde azalma gözlenebilmektedir (51).

2.3.6.1.C. Lezyonlardan alınan hücresel materyalin yaymaları

Lezyonlardan örnek alırken vezikülün üstünü kaldırmak için steril iğne kullanılır. Daha sonra steril transport besiyerinde ıslatılmış bir eküvyon ile, epitel hücrelerini toplamak için kanamaya sebep olmadan yeterli basınç uygulanarak ve lezyonun tabanına

kuvvetlice sürölerek örnek alınır. Eküvyonlar viral taşıma besiyerine yerleştirilir ve hücresel materyali konsantre etmek için vortekslendikten sonra lamaların hazırlanacağı laboratuara gönderilir.

Alternatif olarak antijenlerin direk tespiti için lezyon materyali yatak yanında direk lamlara uygulanabilir. Sonra lamalar tespit ve boyama için laboratuara taşınır. Lezyona ait örneklerin fazla sayıda infekte epitel hücresi içermesi başarılı antijen tespiti için esastır. Örnek toplama ve test arasındaki süre başarılı VZV izolasyonu için özellikle önemlidir, çünkü virüs çok labildir ve infektivite geçicidir. Deride dört gün veya daha fazla bulunan lezyonlardan nadiren infeksiyöz virüs elde edilir, fakat kazıntılar IF ve/veya PCR ile pozitif sonuç verebilir (52, 60).

2.3.6.1.D. Doku

İmmünfloresan boyama için örnek dokudan yaklaşık 10-15 mm büyüklüğünde üç veya dört parça kesilerek alınır. Daha sonra lamın temiz alanına kesilmiş doku parçası hafifçe bastırılarak her örnekten üç veya dört adet lam hazırlanır. Lamalar oda ısısında 15-20 dakika kurutulur, 10 dakika soğuk asetonda tespit edilir ve VZV antijenlerinin gösterilmesi için anti-VZV antikorları ile boyanır. Doku örnekleri PCR analizi için de kullanılabilir.

2.3.6.1.E. Kan ve BOS örneklerin alınması, taşınması ve saklanması

Virüs, kan örneklerinden ve nadir olarak BOS'tan izole edilir (62, 64). Polimeraz zincir reaksiyonu VZV'nin gösterilmesinde kültüre göre daha duyarlı ve daha hızlıdır (65, 69). Tam kan, heparin dışında, örneğin EDTA gibi steril antikoagülan içinde, BOS ise steril bir tüp içinde laboratuara gönderilmelidir.

Virüs izolasyonu için örnekler toplandıktan sonra mümkün olan en kısa sürede uygun hücre kültürlerine inoküle edilmelidir. İnokülasyon işlemi 12 saatten fazla gecikecekse örnekler ıslak buz ya da 2-8°C dondurucuda taşınmalı veya saklanmalıdır (tercihen transport besiyerinde). Daha uzun sürede yapılacak çalışmalarda virüs izole edildikten sonra -70°C'de dondurularak saklanır. Veziküler lezyonlardan alınan örnekler infeksiyöz olabilir, bu nedenle laboratuarda çalışan personelin ve laboratuara örneği taşıyan kişinin sağlığını korumak amacıyla paketleme ve saklamada uygun önlemler alınmalıdır.

2.3.6.2. VZV infeksiyon tanı yöntemleri

VZV infeksiyonunda tanı yöntemleri başlıca üç şekilde olmaktadır:

2.3.6.2.A. Sitolojik yöntemler

Vezikül sıvısından yapılan sitolojik incelemede intranükleer inklüzyon cisimcikleri aranır. Bu görünüm Herpes simplex virüsün infekte ettiği hücrelere çok benzediğinden ayırt edilmesi güçtür. Bu amaç için yapılabilecek en basit test deri lezyonlarından alınan kazıntılardan hazırlanan preparatları Giemsa (Tzanck yayması) veya Wright boyası ile boyayarak incelemektir. Preparatlarda çok çekirdekli dev hücrelerin varlığı infeksiyonun HSV veya VZV ile ilgili olduğunu gösterir (3).

2.3.6.2.B. Virolojik yöntemler

VZV'nin laboratuvar tanısı için kullanılan virolojik yöntemler, klinik örneklerde viral DNA veya viral protein gibi infeksiyöz virüsün varlığını gösterir. Hücre kültüründe VZV izolasyonu güçtür, çünkü virüs dış koşullara duyarlıdır ve in-vitro koşullarda çok yavaş replike olur (5). Klinik örneklerde infektif virüsün laboratuara taşınması sırasında aktivitesi düşeceğinden, örnekler 2-8° C'de 12 saatten daha fazla tutulmamalıdır. Daha uzun süreler için kuru buz veya -70° C'ye gereksinim vardır (3, 5).

Döküntülerin ortaya çıkışından beş ya da daha fazla gün sonra, deri lezyonları kabuklandığı zaman kültür negatif sonuç verir. Ancak antijen varlığı floresan antikor veya diğer immünolojik testlerle saptanabilir. VZV, insan diploid fibroblastlarında, özellikle insan embriyo akciğer hücre kültüründe replike olur ve HSV'ninkine benzer sitopatik etki (CPE) gözlenir. Bundan başka virüs primer maymun böbrek hücrelerinde, Vero hücrelerinde, kobay embriyo fibroblastlarında ve tavşan böbrek hücrelerinde üreyebilir. VZV antijenlerine karşı hazırlanan monoklonal ve poliklonal antikorlarla yapılan immünfloresan veya immünperoksidaz teknikleri, VZV lezyonlarından alınan epitel hücre örneklerinde VZV'nin çabuk tanımlanmasına yardımcı olur (5).

2.3.6.2.C. Serolojik yöntemler

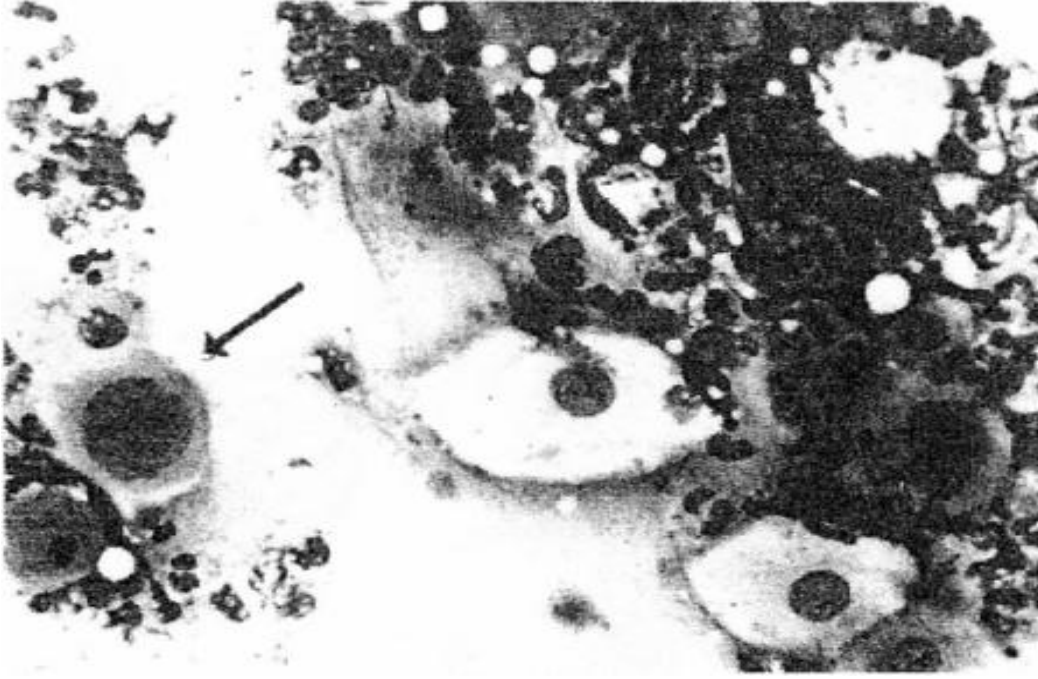
VZV'ye karşı oluşan antikorlar nötralizasyon, kompleman birleşmesi, pasif hemaglütinasyon, indirekt immüno floresans, radioimmuno assay (RIA), enzim-bağlı immunosorbant assay (ELISA), komplemana bağlı sitoliz ve antikora bağımlı hücresel sitoliz gibi çeşitli serolojik yöntemlerle araştırılabilir. Suçiçeğinin tanısında serum örneklerinde 4-7. günlerde VZV IgM ve IgG antikorları oluşmaya başlar. Antikorlar 2-4. haftalarda en üst düzeye erişir, daha sonra titreleri giderek düşmeye başlar. Dört-altı ay içinde IgM'ler kaybolur, IgG'ler düşük titrelerde de olsa yaşam boyu devam ederler ve yineleyen infeksiyonlar olursa küçük dalgalanmalar gösterirler (17).

Akut varisella veya herpes zosterin tanısında birçok serolojik test bulunmasına rağmen bu testlerin tanı değeri sınırlıdır. Serolojik testlerin tanı koydurucu olabilmesi için akut ve konvalesan serumların birlikte çalışılması ve 4 kat titre artışının gösterilmesi gereklidir. Primer ve tekrarlayan VZV infeksiyonunda, VZV IgA antikorlarının gösterilmesi de anlamlıdır (3).

VZV infeksiyonunda antikor varlığını göstermek amacı ile kullanılan floresan antikor, EIA, immunoblotting testler, yeni lateks aglütinasyon (LA) yöntemleri ve antikomplementer immünfloresan (ACIF) diğer alternatif yöntemlerdir. Son yıllarda santral sinir sistemi infeksiyonu tanısında BOS'ta VZV DNA varlığına PCR yöntemi ile araştırılmaktadır (3, 4, 26).

2.3.6.3. Direk tespit (Mikroskopi)

Veziküler lezyondan alınan örneklerin sitolojik incelenmesi için (Tzanck testi), veziküler lezyon tabanından alınan hücresel materyal toplanır ve lama yayılır. Hazırlanan lamalar metanol ile tespit edilir ve pH 7.0-7.2 olan Giemsa boyası ile boyanır. Mikroskobik inceleme kromatin paternleri değişmiş çok nükleuslu dev hücrelerin varlığını gösterir (Resim 2). İnfekte hücrelerin nükleusunda çok sayıda viral kapsid eozinofilik intranükleer inklüzyonlar olarak belirir. Bu görünüm VZV veya HSV infeksiyonu için karakteristiktir.



Resim 2. Veziküler lezyonun tabanından alınan materyalin Giemsa ile boyalı preparatı (Ok: VZV veya HSV'nin infekte ettiği karakteristik dev nükleuslu hücre).

Veziküler sıvılar elektron mikroskobu (EM) ile incelenebilir, fakat bu metot ile farklı herpesvirüsler arasında ayırım yapmak mümkün değildir.

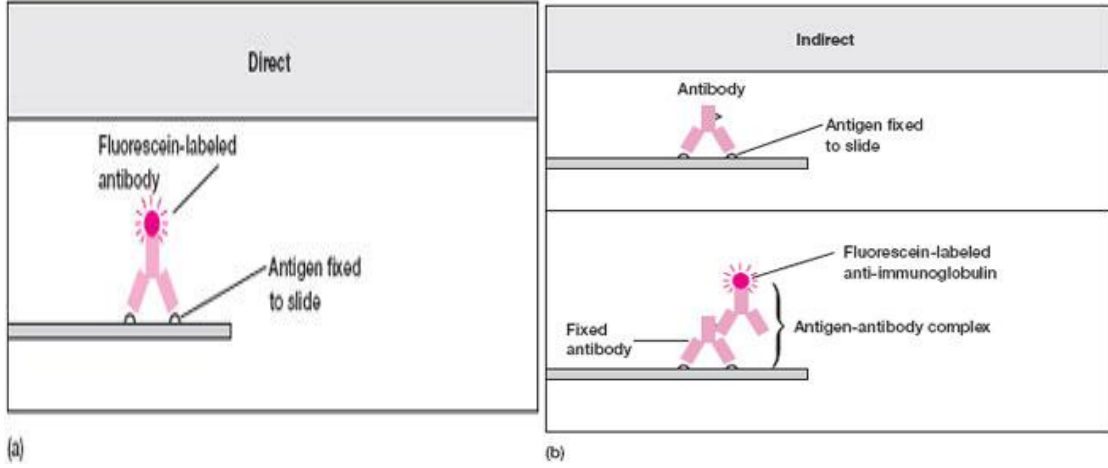
2.3.6.4. Floresanlı Antikor Deneyleri (İmmüno Floresan)

Floresan antikor deneylerinin temeli, fluorescein isothiocyanate, rhodamine B isothiocyanate ve lissamine rhodamine B gibi floresanlı boyaların, özel bir yöntemle globulinlere ve dolayısıyla immunoglobulinlere yani antikorlara bağlanabilmelerine dayanmaktadır. Bu bağlanma antikorun, özgül antijeni ile bağlanması özelliğini pek az etkiler. Bu şekilde floresan boyalarla işaretlenmiş antikorlar basitçe lamalar üzerindeki antijenleri ile birleştikten sonra ultraviyole ışınlarıyla aydınlatılan floresan mikroskop altında incelendiklerinde floresan verirler ve görünür hale gelirler.

Bu deneyin temelinde iki yöntem kullanılmaktadır:

a. Doğrudan (direkt) immüno floresan deneylerinde antijen temiz lamalar üzerine yayılır ve aseton ile tutturulur. Üzerine floresanlanmış bağışık serum eklenir, yıkanır, kurutulur ve UV ışıklı mikroskopla karanlık alanda incelenir. Bu yöntem daha çok eldeki belli bir bağışık seruma uyan antijenlerin aranmasında kullanılır (Şekil 2.8a).

b. Dolaylı (indirekt) immünofloresan deneyi daha çok hasta serumlarında eldeki bazı antijenlere karşı antikor bulunup bulunmadığının aranmasında kullanılır. Lama bilinen antijenden damlatılır ve üzerine şüphelenilen hasta serumu eklenir ve bir süre sonra yıkanır. Eğer antijen antikor birleşmesi varsa yıkama işleminde ayrılmaz. Üzerine floresanlanmış insan globulini anti-serumundan damlatılır ve karanlık ortamda floresan mikroskobu ile incelenir (Şekil 2.8b).



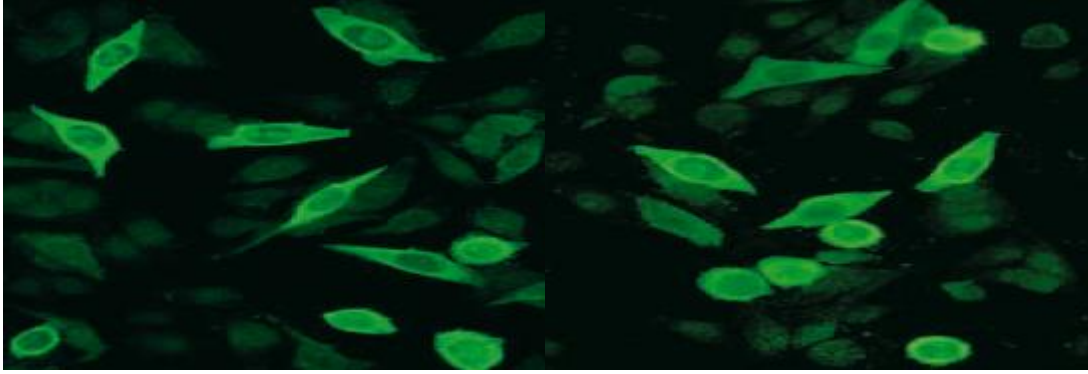
Şekil 2.8a ve b. Doğrudan (direkt) ve dolaylı (indirekt) immuno floresan deneyi (<http://www.eplantscience.com>).

2.3.6.4.A. Immünofloresan (IF) boyama ile antijen tespiti

Lezyonlardan sürüntü ile hazırlanan eküvyonlar viral transport besiyeri içine konur. Toplanan hücrelerin açığa çıkması için taşıma tüpündeki eküvyonlar vortekslenir. Eküvyon atılır ve hücreleri konsantre etmek için tüpler santrifüj edilir. Süpernatant atılır ve hücreler küçük bir hacimde fosfat tamponlu tuzlu suda (PBS) tekrar süspanse edilir. Hücre süspanسیونları direkt olarak veya sitospin kullanarak lamlara sürülür. Pek çok laboratuar bu amaç için teflon kaplı lamlar kullanır. Eğer VZV ve HSV'nin her biri için direkt IF boyaması yapılacaksa en azından üç lam hazırlanmalıdır. Lamlar soğuk asetonda 15 dakika tespit edilir ve havada kurutulur. Daha sonra lamlar, konjuge antikorlar veya indirekt metotlar ile boyanabilir (70, 71).

Direkt floresan antikor (DFA) boyama, IF'de bir antikordan daha fazla antikor kullanıldığında nonspesifite olasılığına bağlı olarak indirekt boyamadan daha spesifiktir. Boyama için, lezyondan yapılan yaymayı kaplamak üzere konjuge antikor yeterli

miktarda (yaklaşık 0,05 ml) lama uygulanır. VZV için pozitif ve negatif kontrol lamları da konjugat reaktivitesi ve spesifitesi için her konjugat ile boyanmalıdır. Antikor ilavesinden sonra lamlar nemli ortamda 18-25°C’de 30 dakika inkübe edilir, PBS ile iki kez yıkanır ve sonra havada kurutulur. Floresan mikroskop ile X100’den X400’e kadar büyütmede inceleme yuvarlak epitelyal hücrelerin sitoplazması ile ilişkili spesifik boyamayı ortaya çıkarır (72) (Resim 3).



Resim 3. VZV IF ile görünümü (<http://www.euroimmun.com>).

2.3.6.5. Enzimli İmmün Deney

Antijen-antikor ilişkisini antikorlara bağlanmış bir enzimin aktivitesini izlemekle araştırma temeline dayanır. En çok kullanılan şekli Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ya da Enzyme Immune Assay (EIA) adı ile anılan deneylerdir.

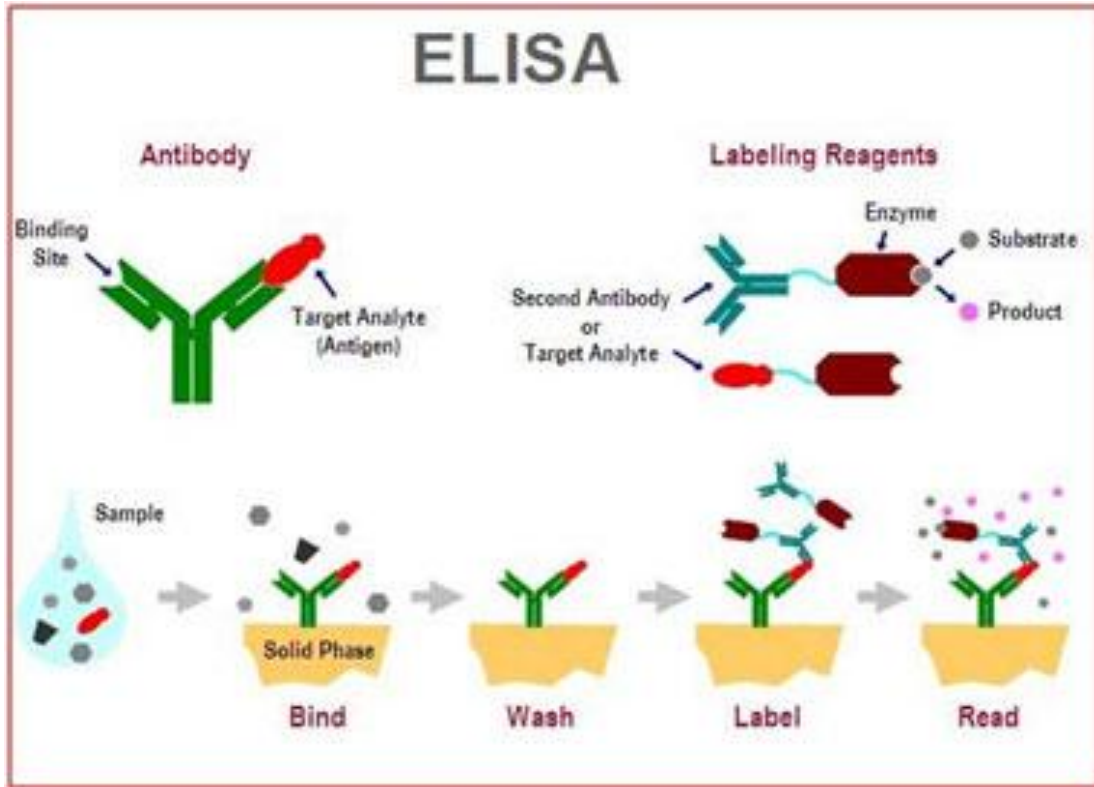
2.3.6.5.A. ELISA

Özgül antijen-antikor bağlanmasının, antikorlara alkalen fosfataz veya horseradish peroksidaz gibi bir enzim bağlanması ve bu enzim substratının renkli ürünlere dönüştürülmesiyle suretiyle gösterilmesi esasına dayalı immünokimyasal ölçüm tekniğidir. ELISA yönteminde özgül antikor kullanılarak örnekteki antijenin miktarını, özgül antijen kullanılarak ise örnekteki antikorun miktarını ölçebiliriz. ELISA çeşitli şekillerde uygulanabilir (Şekil 2.9).

a. Kompetitif ELISA: Ölçüm tüpünde bir katı destek üzerine bir antijen veya antikor adsorbe edilmiştir. Ölçüm tüpüne serum (ışaretsiz ligand içerir) ve reaktif (enzim işaretli ligand içerir) pipetlenir. Kısa inkübasyon süresince immobilize antijen

veya antikora bağlanmak için işaretli ligand ile enzim işaretli ligand yarışır; antijen (veya antikor)-işaretsiz ligand ve antijen (veya antikor)-enzim işaretli ligand kompleksleri oluşur. Yıkama ile bu kompleks dışındaki ürünler ortamdan uzaklaştırılır. Enzimin substratı ortama eklenir. Renkli ürün oluşumu kinetik ölçümle izlenerek ölçülür. Renkli ürün oluşumu işaretli ligandın (serumdaki antijen veya antikor) konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Kompetitif ELISA yöntemi sıklıkla antikor ölçümünde kullanılmaktadır.

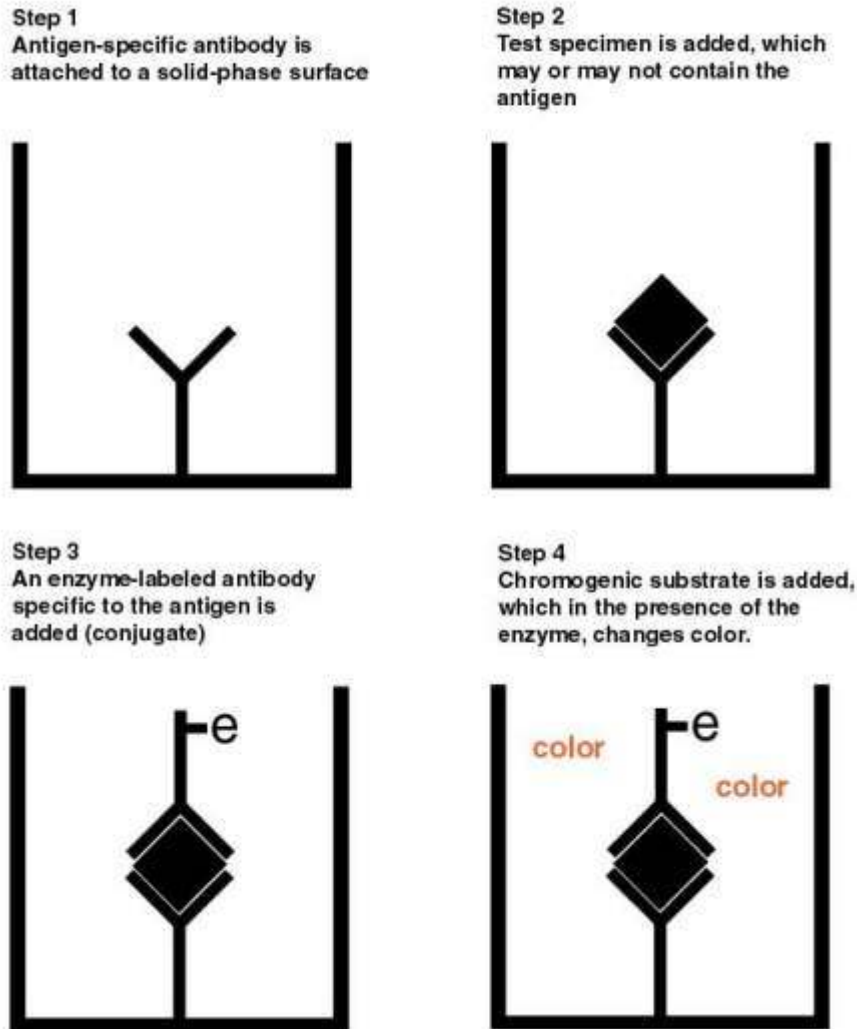
b. Nonkompetitif ELISA (Sandwich yöntemi): Polistren ölçüm tüplerinin iç duvarına antijen için spesifik antikorlar fazla miktarda adsorbe edilmiştir. Ölçüm tüpüne örnek pipetlenir. İnkübasyon süresince örnekteki antijenlerin hepsi immobilize antikorlar tarafında bağlanırlar ve antikor-antijen kompleksleri oluşur. Yıkama ile bu kompleksler dışındaki maddeler ortamdan uzaklaştırılır. Ölçüm tüpüne reaktif (enzim işaretli antikor) pipetlenir. İkinci inkübasyon süresince primer antikor-antijen-enzim işaretli antikor kompleksi oluşur. Yıkama ile bu kompleks dışındaki maddeler ortamdan uzaklaştırılır. Enzim substratı ortama eklenir ve takiben renkli ürün oluşumu kinetik ölçümle izlenerek ölçülür. Renkli ürün miktarı, işaretli ligandın konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Standart grafikten konsantrasyon belirlenir (74) .



Şekil 2.9. ELISA ile antikor arama

2.3.6.5.B. Enzyme immüno assay (EIA) testi

Varicella Zoster virüsünün tanısında kullanılmak üzere birçok EIA kiti ticari olarak üretilmiştir (92, 94). Genelde bu testler oldukça spesifiktir, ancak varisellaya karşı bağışık olan bazı erişkinler suçiçeğine duyarlı olarak yanlış tanınabilir. Yalancı-pozitif testler de bildirilmiştir (94). EIA'lar önceden doğal varisella geçiren kişileri (özellikle erişkinler) taramada, bağışıklamaya cevap veren kişilerin tanısına göre daha etkilidir. Aşıllılarda negatif EIA nadir değildir, ancak VZV'ye karşı antikorlar daha sensitif bir test ile tespit edilebilir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. EIA ile antikor ölçümü (<http://www.dshs.state.tx.us>).

2.3.6.6. Fluorescent Antibody to Membrane Antigen (FAMA) Testi

FAMA testi için 96 kuyucuklu yuvarlak tabanlı mikrotitre plağında PBS ile 1/2'den başlayarak serumun seri iki kat dilüsyonları yapılır. Serumun ısı ile inaktivasyonu gerekmez ve nonspesifik sonuçlara sebep olacağından yapılmamalıdır. VZV ile infekte hücreler %50-75 oranında CPE gösterdiklerinde toplanır. Besiyeri kültürlerden dışarı dökülür ve hücreler kalan besiyeri içinde süspanse edilerek 700X g'de 2 dakika santrifüj edilir. Hücreler PBS içine konur ve serum dilüsyonlarını içeren mikrotitre plaklarına 0.025 ml miktarlarda dağıtılır. Sonra hücreler nemli ortamda oda ısısında 30 dakika inkübe edilir, PBS ilave edilerek kuyular doldurulur ve plak 1000X g'de 4°C'de 10 dakika santrifüj edilir. PBS plak alt üst yapıp hızla çevrilerek dışarı dökülür. Floresan işaretli anti-human immünglobulinin (0.025 ml) çalışma dilüsyonu her kuyuya ilave edilir ve plaklar oda ısısında 30 dakika inkübe edilir.

Bu test aynı zamanda uygun floresan-işaretli anti-human konjugatlar kullanarak spesifik VZV IgG, IgM veya IgA antikorunu ölçmek için de kullanılabilir. İki yıkama adımından sonra, bir damla tamponlanmış gliserol (9 kısım gliserol ve 1 kısım PBS) her kuyuya ilave edilir ve hücreler aspiratörle alınır ve mikroskop lamalarına yerleştirilir. Hücreler cam lamel ile kaplanır ve lamaların çevresine tırnak cılası sürülerek kapatılır. Daha sonra lamalar floresan mikroskopta incelenir; antikor titresini membran floresan veren en yüksek serum dilüsyonudur.

Bu deneyin sensitivitesi muhtemelen infekte hücrelerin yüzeyindeki VZV glikoprotein antijenlerinin yapısının korunmasına bağlıdır. Bu yapılar büyük bir ihtimalle tespit sırasında değişir ve diğer metotların sensitivitesinde azalmaya yol açar. Buna karşılık hücrelerin dilüe glutaraldehitde (0°C'de 60 saniye) kısaca tespit edildiği ve 70°C'de tutulduğu modifiye FAMA testi tarif edilmiştir (79). Bu özel metodun avantajı virüs ile infekte hücrelerin saklanabilmesi ve laboratuarda VZV için devamlı kültür bulunmasını gerektirmemesidir.

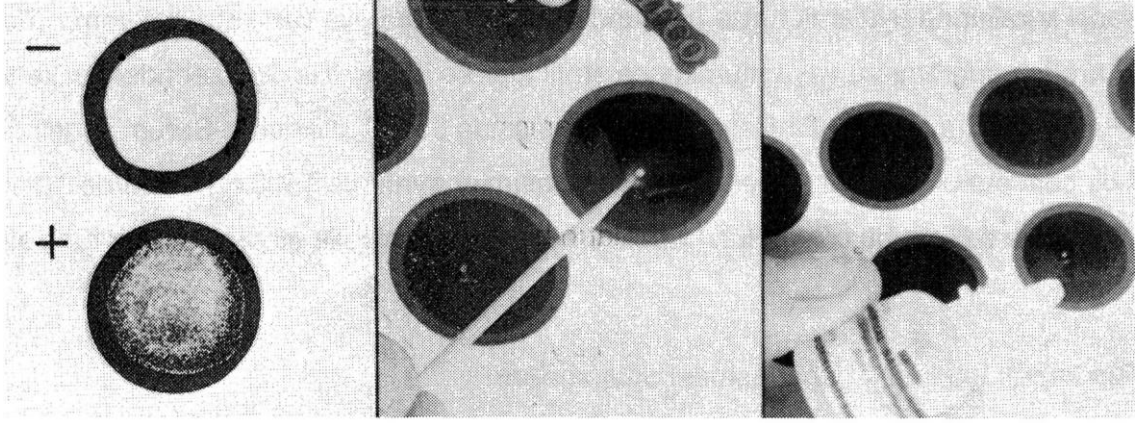
2.3.6.7. Antikomplemet Immunofluoresans (ACIF) Testi

ACIF metodu 1/2 veya 1/4 kadar düşük serum dilüsyonların incelenmesini sağlayan FAMA ve LA ile benzer sensitiviteye sahiptir ve indirekt IF boyamasında nonspesifik reaktiviteyi önler (98). ACIF testinin avantajı spesifitesi, dezavantajları ise otomatize

olmaması, testi yapmak için iyi derecede yetişmiş eleman gerektirmesi ve VZV'ye karşı IgG ve IgM'i ayırt edememesidir.

2.3.6.8. Lateks Aglütinasyon (LA) Testi

LA metodu, emülsiyon içinde VZV gp'leri ile kaplı lateks partiküllerini kullanan ticari bir testtir. Testten önce +4°C'de tutulan bütün reaktiflerin oda ısısına gelmesi beklenir. Serumların seri iki kat dilüsyonları, üretici tarafından verilen 10X12 cm büyüklüğünde mum-kaplı kartların üzerinde 1 cm çapındaki düz dairelerin içinde yapılır. Lateks emülsiyonun 0,025 ml'lik damlası verilen reaktif şişesinden direkt olarak her daire içine ilave edilir. Kart kısa süre el ile döndürülür ve nemli ortamda 90-110 rpm'de 10 dakika mekanik rotatora yerleştirilir. Sonra daireler aglütinasyon (lateks partiküllerinin belirgin kümeleşmesi) yönünden yüksek güçlü masa lambası kullanarak incelenir. İmmün durumu araştırmak için serumların 1/4 ve 1/40 dilüsyonlarda test edilmesi tavsiye edilir. Bir veya iki kuyuda pozitif reaksiyon varisellaya karşı bağışıklık ile son derece ilişkilidir. Prezon etkisine bağlı yalancı negatif sonuçlardan kaçınmak için, tarama dilüsyonlarında negatif olan serumlar (özellikle erişkinlerden alınan) 1/4'den 1/64'e kadar dilüsyonlarda tekrar test edilmelidir. Yalancı- pozitif reaksiyonlar nadirdir (96). VZV enfeksiyonunun tanısı için akut ve konvelesan serumların seri iki kat dilüsyonları 1/4 dilüsyondan başlayarak test edilir. Konvelesan faz örneklerinde 1/4096'dan daha yüksek antikor titrelerinin prezon etkisine bağlı olarak atlanmayacağından emin olmak için dikkatli olunmalıdır. Bu sebeple konvelesan faz serum örneğinde negatif sonuç görülürse serum daha yüksek serum dilüsyonlarında tekrar test edilmelidir. LA testinin temel avantajları basitliği, düşük maliyeti ve yapıldığı sürenin kısa oluşudur (25-30 dakika). Dezavantajları otomasyon olmaması, IgM gösterilememesi, aglütine olan lateks görünümünü doğru yorumlamak için deneyimli olmanın gerekmesi ve serumların %1-5'inde prezon reaksiyonlarının ortaya çıkışıdır (Resim 4).



Resim 4. Lateks aglütinasyon testinin görünümü (<https://www.anadolu.edu.tr>).

2.3.6.9. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Primer ya da tekrarlayan VZV enfeksiyonu olan hastalardan alınan klinik örneklerde virüsün gösterilmesi için in-situ hibridizasyon ve PCR yöntemleri kullanılabilir (5, 26). PCR nükleik asitlerin in vitro şartlarda replikasyonu için geliştirilmiş bir test tüp sistemidir. Hedef DNA/RNA' nın selektif olarak amplifikasyonuna için geliştirilmiştir. İn vivo şartlarda bölünen bir hücrede DNA' nın replikasyonu çeşitli enzimler tarafından düzenlenen ve genomun kopyalanması ile sonuçlanan bir işlemdir. Bu yöntemin amacı, çok az sayıdaki nükleik asit miktarını çoğaltarak virüsün daha kolay saptanmasını sağlamaktır. PCR, DNA polimeraz enzimi kullanılarak özgül bir nükleik asit parçasının invitro koşullarda arka arkaya defalarca sentez edilmesine dayanan bir yöntemdir.

PCR yöntemi tekrarlayan üç aşamadan oluşur;

1. Denatürasyon: Çift iplikli DNA'nın birkaç saniyede 94-96 °C ısı ile tek iplikli DNA'ya ayrılmasıdır.
2. Bağlanma (annealing): Örnek, birkaç dakika 30-60 °C' de tutularak, primerin (spesifik sentetik oligonükleotidler) ssDNA' daki hedef bölgelere hibridizasyonu sağlanır. Bu hidrojen bağlarının yardımı ile olur. Eşleşmeden kaynaklanan primerlerin kullanılması durumunda optimal sıcaklığı 54°C olarak verilmektedir.
3. Uzama (extension): Polimeraz enzimi yardımı ile ssDNA kalıplarına bağlanan primerlerin 5' $\Rightarrow$ 3' yönde uzatılmasıdır. DNA zincirinin komplementlerini sentezlemesi için 65-72 °C' de birkaç dakika beklenir.

PCR'ın en önemli avantajı 25 bp (baz çifti) den 10.000 bp'ne kadar olan spesifik DNA dizilerine ampilifiye edebilme kabiliyetine sahip olmasıdır. PCR oldukça hızlı ve çabuk tanı koydurucu bir yöntemdir, ancak yanlış negatif ve pozitif sonuç verme olasılığı bulunmaktadır (23).

2.3.6.10. Nükleik asit ampifikasyonu

VZV enfeksiyonunun gösterilmesi için moleküler metodlar çok pratiktir ve tanı için standart hale gelmektedir. Nükleik asit ampifikasyonu virüs izolasyonundan daha duyarlı bir yöntemdir, çünkü enfeksiyöz virüs, viral DNA'ya göre daha labildir (60, 75, 76, 78).

PCR, deri kazıntıları ve veziküler sıvı (77, 79, 81), respiratuvar ve oküler sekresyonlar (66, 82, 83), kan (67, 83, 85) ve BOS'da (69, 84) VZV'nin tespiti için başarılı şekilde kullanılmaktadır. PCR sıklıkla aşı ve wild-type (WT) VZV enfeksiyonlarını ayırt etmek için kullanıldığından dolayı, open reading frame (ORF) 54, 38 ve 62 bölgeleri popüler ampifikasyon hedefleri olarak geliştirilmiştir.

Literatürde birçok konvansiyonel PCR metodları tarif edilmiştir (79, 87, 88, 90). Buna karşılık homojen (gerçek-zamanlı, real-time) PCR metodları daha hızlı işlem zamanı, daha az yorucu ve ucuz olması, ampikonlarla laboratuvar kontaminasyonunun riskinin daha az olması ve konvansiyonel PCR ile benzer sensitiviteye sahip olması ile hızla yeni standart haline gelmiştir (81, 84, 90). Real-time PCR ile ilişkili önemli bir gelişme, tek bir örnekte VZV ve diğer virüslerin anında tanısı için kullanılan multipleks testtir (82, 85, 86). İmmün sistemi zayıf hastaların takibinde faydalı olabilecek bir teknik olan real-time PCR testleri kanda VZV viral yükleri tespit için de kullanılır (83, 84).

Konvansiyonel VZV DNA ampifikasyonu için ticari testler mevcuttur. Örnekler arasına konulan internal kontroller DNA ekstraksiyonunun etkinliğini tespit için ve ekstraksiyonun termostabil polimerazların inhibitörlerini kaldırıp kaldırmadığını tespit için kullanılmıştır (77, 90). WT ve aşı (Oka) suşlarının direk olarak hasta örneklerinde ayırt etmek için moleküler metodlar geliştirilmiştir (75, 88, 91).

2.3.7. Tedavi

Hastalar, suçiçeğinin tipik belirtilerinden 24-48 saat önce de bulaştırıcı olduklarından, duyarlı kişiler VZV ile genellikle bu dönemde infekte olurlar. Hastalık daha çok okul çağı çocuklarında görülür. Hastalar, kuluçka döneminin sonundan itibaren vezikül kabuklarının düşmesine kadar geçen süre içinde çevresindeki kişileri infekte edebileceğinden çocuklar okula gönderilmemelidir. Suçiçeği afif seyirli bir hastalık olduğundan korunmaya yönelik bir çalışma yapılmamaktadır, ancak immün sistem yetmezliği olanlarda ağır ve ölümcül seyrettiği için böyle bireylerin varisella veya zonalı hastalarla teması engellenmelidir.

VZV Oka suşundan hazırlanan canlı atenüe virüs aşısı birçok ülkede kullanılmaya başlanmıştır. Aşının geçirilmiş suçiçeği hikâyesi ve serolojik testlerle antikor cevabı negatif olan adolesan ve genç erişkinlere uygulanmasının daha doğru olacağı düşünülmektedir, çünkü erişkinlerin çoğu klinik bulgu olmaksızın VZV'ye karşı bağışıklıdır. Canlı aşının remisyonadaki lösemili çocuklara uygulanabileceği söylenmekte olsa da, bu konu hala tartışılmaktadır. Varisella aşısı kızamık, kabakulak ve kızamıkçık aşılı ile birlikte uygulanabilir, ancak başka enjektör ile farklı bölgeye zerk edilmelidir (5, 26, 73).

Suçiçeği geçiren bir hasta ile teması olmuş çocuklara, hastalığı önlemek amacıyla ya da seyrini hafifletmek için tercihen temastan 72-120 saat sonrasına kadar suçiçeği aşısı yapılabilir. Temas hastalıkla sonuçlanmazsa, yapılmış olan aşı daha sonraki temaslara karşı koruyucu olacaktır (73). Çocuklarda tek doz aşı klinik olarak etkili bağışıklık sağlar. Erişkinlerde varisella aşısına karşı immün yanıt çocuklardan daha zayıf olup, en az 4 hafta ara ile 2 doz aşı uygulanmalıdır. Aşılı erişkinlerin %70'inde aşından 2-6 yıl sonra VZV IgG gösterilmiştir (5, 26).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastalığın Tanımlanması ve Örneklerin Toplanması

Bu çalışma Temmuz-Aralık 2011 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde yürütüldü. İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı'nda yatarak tedavi gören ve çeşitli hematolojik maligniteleri olan 56 erişkin hasta grubu olarak seçildi. Hematoloji bölümünde yatan hastaların tümü immünsüpresif tedavi almaktaydı. Kontrol grubu olarak, yukarıda belirtilen süre içinde aynı hastanede bulunan Kan Bankası'na başvuran gönüllü donörlerinden 56 erişkin seçildi. Çalışma Gaziantep Üniversitesi Etik Kurulunun 30.06.2011 tarihli ve 07/2011-24 sayılı onayı alındıktan sonra yürütüldü. Çalışmada yer alan tüm bireylerden gönüllü onam formları alındı.

Hasta ve kontrollerden alınan kan örnekleri, 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serum kısımları ayrıldı. Hemolizli olmayan, kontamine olmamış ve yeterli miktardaki serumlar çalışma yapılınca kadar -20°C'de dondurularak saklandı.

3.2. Enzyme Linked Flourescent Assay (ELFA) Varicella-zoster IgG testi

Bu test, iki adımlı EIA sandviç yöntemini floresans okuma (ELFA) ile kombine eden bir testtir. Katı faz sağlayıcı (SPR), katı faz olarak işlev görmek için pipetleme aygıtı olarak da kullanılmaktadır. Testin reaktifleri kullanıma hazırdır ve kaplanmış reaktif striplerine ön-dağıtımı yapılmıştır. Testin bütün işlemleri ELISA cihazı tarafından otomatik olarak gerçekleştirilir (Resim 5).

Testin başlangıcında reaksiyon karışımı, birkaç defa SPR içine alınıp bırakılır. Bir ön yıkama işleminden ve serum dilüsyon işleminden sonra, örnekte mevcut olan anti-varicella IgG antikorları, SPR'nin iç yüzeyini kaplayan varicella antijenine bağlanır. Bağlanmayan bileşenler yıkama işlemiyle uzaklaştırılır. Alkalın fosfatazla konjuge anti-insan IgG, SPR duvarına bağlanan herhangi bir insan IgG'sine bağlanır. Son yıkama işlemi ile bağlanmayan konjugat uzaklaştırılır. Okuma işlemi sırasında substrat (4-metil-umbelliferil fosfat) SPR içine alınıp bırakılır. Konjugat enzim, substratın floresansı 450 nm'de ölçülen floresanlı bir ürüne (4-metil-umbelliferon) hidrolizini

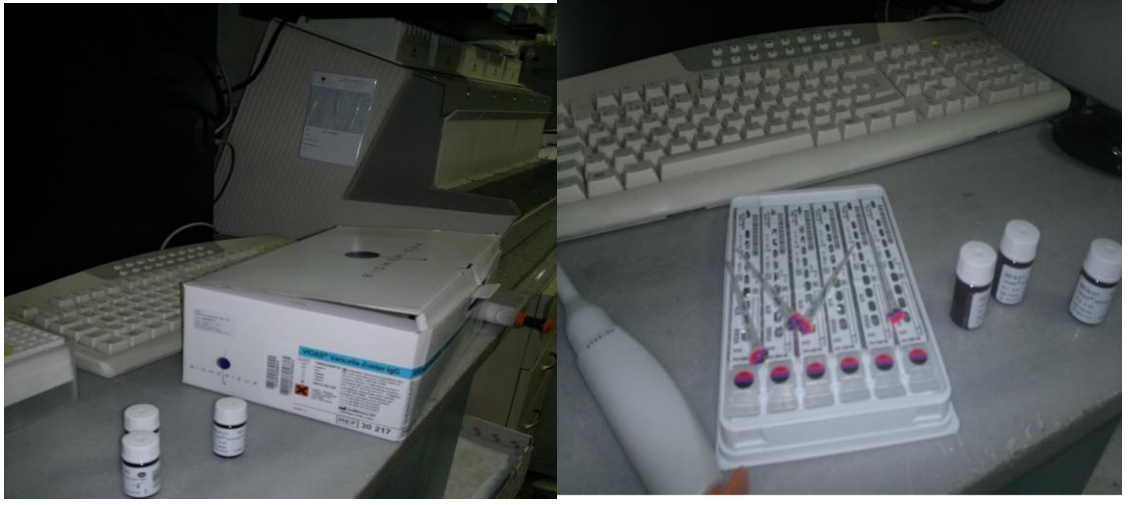
katalize eder. Floresansın yoğunluğu örnekte bulunan anti-varicella IgG antikorlarının konsantrasyonu ile orantılıdır. Testin sonunda, sonuçlar bellekte kayıtlı bulunan kalibrasyon eğrisine göre cihaz tarafından otomatik olarak hesaplanır ve raporlanır.



Resim 5. ELFA yöntemi ile çalışan Biomeriux Vidas PC Cihazı

3.3. ELFA Varicella-Zoster IgG (VZG) Testinin Kit İçeriği

Tüm reaksiyon aşamaları cihaz tarafından gerçekleştirildi. SPR, solid faz olarak kullanıldı ve test için pipet görevi gördü. Testin çalışma solüsyonları kullanıma hazırıldı ve kapalı stripler içinde hazırlanmıştı. (Resim 6).



Resim 6. VZV IgG kit içeriği

Tablo 3.1. ELFA Varicella-Zoster Ig G Kit İçeriği

VZG stripler	STR	Kullanıma hazır
VZG SPR'ler	SPR	Kullanıma hazır. İç yüzeyi inaktive edilmiş varicella-zoster viral antijenle kaplı.
VZG standart (1x2 ml)	S1	Kullanıma hazır. Varicella'ya yönelik antikorlar içeren insan serumu + protein sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid.
VZG pozitif kontrol (1x2 ml)	C1	Kullanıma hazır. Varicella'ya yönelik antikorlar içeren insan serumu+ protein sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid.
VZG negatif kontrol (1 x 2 ml)	C2	Kullanıma hazır. Varicella'ya yönelik hiçbir antikor içermeyen insan serumu + protein sabitleyiciler + 1 g/l sodyum azid.
1 MLE kartı		Testi kalibre etmek için gerekli ana kalibrasyon bilgilerini içeren spesifikasyon kartı.

3.3.1. ELFA Varicella-Zoster IgG testinin uygulanması

- 1- Hasta verileri çalışma listesi oluşturmak üzere cihaza girildi.
- 2- Örnekler, standart ve kontroller oda ısısına getirilerek vortekslendi.
- 3- İlk örnek hücresi içine örnek, standart ve kontroller pipetle 100 µl konuldu.
- 4- Varicella IgG SPR ve Varicella IgG sribi çalışma listesinde belirtilen pozisyonda cihaza yerleştirildi.
- 5- Test başlatıldı ve yaklaşık olarak 35-40 dakika içinde test tamamlandı.



Resim 7. ELFA yöntemi ile VZV IgG çalışılması

3.3.2. ELFA Varicella-Zoster IgG testinin sonuçları

Test tamamlandığında, sonuçlar otomatik olarak cihaza bağlı bilgisayar tarafından analiz edildi. Test edilen her örnek için reaktif sribinin okuma küvetindeki floresansı iki defa ölçüldü. İlk okuma, SPR substrata girmeden önce substrat küvetinin boş

okuması idi. İkinci okuma, substratın SPR'nin iç yüzeyinde kalan enzim ile inkübasyonundan sonra alındı. Rölatif Floresans Değeri (RFV) son sonuçtan boş okumanın çıkartılması ile hesaplandı. Örneğin RFV'sinin bir standardın RFV'sine oranını oluşturmak suretiyle her örnek için bir test değeri elde edildi. Hasta ve kontrol örneklerinden elde edilen test değerleri, bir düşük varisella antikor titresini ifade eden ve bilgisayarda kayıtlı bir dizi eşik değerle karşılaştırıldı.

Tablo 3.2. ELFA Varicella Zoster Eşik Değerleri ve Sonuçların Yorumlanması

Test değeri (TV)	Değerlendirme
$TV < 0.60$	Negatif
$0.60 \leq TV < 0.90$	Şüpheli
$TV \geq 0.90$	Pozitif

3.4. İstatistiksel Yöntemler

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluk kontrolünde Kolmogorov Smirnov testi kullanıldı. İki bağımsız grup karşılaştırılmasında Student t testi, kategorik değişkenler arasındaki ilişkilerin test edilmesinde ki-kare analizi kullanıldı. Risk faktörlerinin belirlenmesinde lojistik regresyon analizinden faydalanıldı. Tanıtıcı istatistik olarak frekans, yüzde ve ortalama±standart sapma (ss) değerleri verildi. İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 11.5 paket programı kullanıldı ve $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'nda yatarak tedavi gören ve çeşitli hematolojik maligniteleri olan 56 erişkin hasta ile Kan Bankasına başvuran 56 gönüllü donörden elde edilen serumlar VZV IgG yönünden araştırıldı.

Hasta grubunda bulunanların 32'si (%57.1) erkek, 24'ü (%42.9) kadın, kontrol grubunda bulunanların ise 36'sı (%64.3) erkek, 20'si (%35.7) kadın idi. Gruplar arasında cinsiyet dağılımı açısından anlamlı ilişki görülmedi ($p=0.439$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Çalışma gruplarına göre cinsiyet dağılımı

	Hasta grubu		Kontrol grubu		Toplam	
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)
Erkek	32	57.1	36	64.3	68	60.7
Kadın	24	42.9	20	35.7	44	39.3
Toplam	56	100	56	100	112	100
$p=0.439$						

Çalışmada elde edilen VZV IgG pozitifliğinin cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde, her iki cins arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.655$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Hasta ve kontrol gruplarında pozitifliğin cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	Pozitif (n)	Yüzde (%)	Negatif (n)	Yüzde (%)	Toplam (n)	Yüzde (%)
Erkek	55	59.8	13	65	68	60.7
Kadın	37	40.2	7	35	44	39.3
Toplam	92	100	20	100	112	100
	$p=0.655$					

Hasta ve kontrol grupları arasında pozitifliğin yaşa göre dağılımı Tablo 4.3'te verilmiştir. Buna göre, VZV IgG pozitifliği gözlenen 92 hastada ortalama yaş 38.51 ± 15.890 , VZV IgG negatif olan 20 kişide ortalama yaş 30.60 ± 9.093 idi. VZV IgG pozitifliğinin yaşa göre dağılımı incelendiğinde istatistiksel açıdan önemli fark olduğu görüldü ($p=0.034$).

Tablo 4.3. Hasta ve kontrol gruplarında pozitifliğin yaşa göre dağılımı

VZV IgG	Sayı	Yaş Ortalaması	ss
Negatif	20	30.60	9.093
Pozitif	92	38.51	15.890
p=0.034			

Çalışmada hasta grubunda bulunanların yaş aralığı 16-79 (ortalama: 44.34 ± 17.567), kontrol grubunda bulunanların yaş aralığı 17-53 idi (ortalama: 29.86 ± 7.046). Yaş dağılımı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p=0.001$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Çalışma gruplarındaki olguların yaş dağılımı

	Hasta grubu		Kontrol grubu	
	Ortalama	Ss	Ortalama	Ss
Yaş	44.34	17.567	29.86	7.046
p=0.001				

Çalışmada incelenen hasta grubuna ait serumlarda Varicella Zoster IgG antikor ELFA yöntemi ile 56 hastadan 52'sinde (%92.9) pozitif, 4'ünde (%7.1) ise negatif olarak bulundu. Kontrol grubundaki bireylerde Varicella Zoster IgG antikor ELFA yöntemi ile 56 kişiden 40'ında (%71.4) pozitif, 16'sında (%28.6) ise negatif olarak bulundu. Hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında, Varicella Zoster IgG antikorunun hasta

grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek olduğu görüldü ($p=0.003$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Hasta ve kontrol gruplarında Varicella Zoster IgG antikorunun dağılımı

	Varicella Zoster IgG Antikoru				Toplam
	Pozitif		Negatif		
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	
Hasta	52	92.9	4	7.1	56
Kontrol	40	71.4	16	28.6	56
Toplam	92	82.1	20	17.9	112
p=0.003					

Pozitiflik açısından risk faktörlerinin yaşa, cinsiyete ve çalışma gruplara göre hesaplanan odss değerleri Tablo 4.6’da verilmiştir. Buna göre, yaş ve cinsiyetin güven aralığı içerisinde bulunduğu, buna karşın hasta ve kontrol grupları değerlerinin güven aralığı dışında bulunduğu görüldü. Hasta grubu, kontrol grubuna göre 3.822 kat daha fazla pozitif olma riski taşıyordu (Odds=3.822-%95 GA [1.093-13.360]).

Tablo 4.6. Pozitiflik için risk faktörlerinin dağılımı

	P	Odds	95% Güven Aralığı (GA)	
			Alt sınır	Üst sınır
Yaş	0.304	1.027	0.976	1.081
Cinsiyet(Erkek/Kadın)	0.845	0.900	0.313	2.590
Grup (Hasta/Kontrol)	0.036	3.822	1.093	13.360
Sabit	0.829	1.215		
Odds=3.822-%95 GA [1.093-13.360]				

Çalışmamızda hasta grubunda bulunan ve immünsupresif tedavi alan hastalardan 20'sine (%35.71) akut myeloid lösemi (AML), 9'una (%16.07) multipl myeloma (MM), 8'ine (%14.29) akut lenfoid lösemi (ALL), 6'sına (%10.71) Hodgkin lenfoma (HL), 6'sına (%10.71) non-Hodgkin lenfoma (NHL), 2'sine (%3.57) lenfoma, 1'ine (%1.79) akut lenfoid lösemi ve allojenik kemik iliği transplantasyonu (ALL+AKİT), 1'ine (%1.79) akut myeloid lösemi ve AKİT (AML+AKİT), 1'ine (%1.79) tüylü hücreli lösemi (HCL), 1'ine (%1.79) kronik myeloid lösemi (KML), 1'ine (%1.79) myelodisplastik sendrom (MDS) tanısı konmuştu (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Hasta grubunda bulunan hematoloji hastalarının tanıları

Hasta Tanısı	Sayı	Yüzde (%)
AML	20	35.7
MM	9	16.1
ALL	8	14.3
HL	6	10.7
NHL	6	10.7
LENFOMA	2	3.6
ALL+AKİT	1	1.8
AML+AKİT	1	1.8
HCL	1	1.8
KML	1	1.8
MDS	1	1.8
Toplam	56	100

AML: akut myeloid lösemi, MM: multipl myeloma, ALL: akut lenfoid lösemi, HL: Hodgkin lenfoma, NHL: non-Hodgkin lenfoma, ALL+AKİT: akut lenfoid lösemi ve AKİT, AML+AKİT: akut myeloid lösemi ve AKİT, HCL: tüylü hücreli lösemi, KML: kronik myeloid lösemi, MDS: myelodisplastik sendrom

Tablo 4.8. VZV Ig G antikorunun hematoloji hasta gruplarına göre dağılımı

	Pozitif (n)	Negatif (n)	Toplam (n)	Yüzde (%)
AML	17	3	20	85
MM	9	-	9	100
ALL	8	-	8	100
HL	6	-	6	100
NHL	6	-	6	100
LENFOMA	2	-	2	100
ALL+AKİT	-	1	1	0
AML+AKİT	1	-	1	100
HCL	1	-	1	100
KML	1	-	1	100
MDS	1	-	1	100

VZV hematoloji hasta gruplarında yüksek oranda pozitif olarak bulundu (%85- %100).

Tablo 4.9. Hasta grubunda bulunan bireylerin sonuçları

Hasta Grubu Sonuçları						
Sıra No	Ad Soyad	Cinsiyeti	Yaşı	Tanısı	Test Değeri	Sonuç
1	E. F.	E	37	AML	1.89	Pozitif
2	H. Ç.	E	55	MM	0.29	Pozitif
3	Z. Y.	K	36	HL	0.7	Pozitif
4	A.Y.	E	54	NHL	1.56	Pozitif
5	F. A.	K	53	MM	0.08	Pozitif
6	E. B.	E	34	ALL	2.12	Pozitif
7	S. A.	K	64	MM	0.18	Pozitif
8	Ö. Y.	E	23	AML	0.9	Pozitif
9	F. P.	E	16	ALL	0.66	Pozitif
10	M. B.	E	76	NHL	0.46	Pozitif
11	Y. K.	E	45	MM	0.15	Pozitif
12	S. Ş.	K	45	AML	0.26	Pozitif
13	M. D.	E	36	NHL	3.42	Pozitif
14	S. F.	E	52	NHL	1.19	Pozitif
15	D. T.	K	44	ALL	1.68	Pozitif
16	M. C.	K	44	ALL	1.99	Pozitif
17	Ö. Y.	K	26	ALL+AKİT	0.57	Negatif
18	K. K.	E	58	AML	3.17	Pozitif
19	S. D.	K	68	AML	1.89	Pozitif
20	M. B.	E	35	AML	2.68	Pozitif
21	M. E.	E	24	AML	1.65	Pozitif
22	M. M.	E	18	AML	4.51	Pozitif
23	F. O.	E	36	AML	0.44	Negatif
24	A.B.	K	49	HCL	2.7	Pozitif
25	N. A.	K	44	AML	0.38	Negatif
26	A.Z. E.	E	21	ALL	1.56	Pozitif
27	A.Y.	E	59	MDS	3.84	Pozitif
28	F. Ş.	E	24	AML	1.65	Pozitif

29	O. T.	E	71	LENFOMA	1.18	Pozitif
30	A.K.	E	47	AML	3.07	Pozitif
31	H. K.	E	74	AML	2.08	Pozitif
32	N. A.	E	39	NHL	1.47	Pozitif
33	G. K.	E	57	AML	0.48	Negatif
34	H. B.	E	21	ALL	1.07	Pozitif
35	M. B.	E	68	MM	2.65	Pozitif
36	F. A.	K	51	HL	2.54	Pozitif
37	A.S.	E	58	KML	3.31	Pozitif
38	G. B.	K	66	MM	3.4	Pozitif
39	İ. D.	E	20	AML+AKİT	2.31	Pozitif
40	E. E.	K	50	HL	2.88	Pozitif
41	Ü. K.	K	68	AML	4.23	Pozitif
42	H. O.	E	67	LENFOMA	3.27	Pozitif
43	R. İ.	E	18	ALL	0.84	Pozitif
44	H. D.	K	20	HL	3.32	Pozitif
45	A.Y.	K	79	AML	2.89	Pozitif
46	İ. Y.	K	27	HL	1.23	Pozitif
47	H. A.	K	21	ALL	2.41	Pozitif
48	T. S.	K	36	AML	2.48	Pozitif
49	Ü. K.	K	32	MM	0.38	Pozitif
50	A.T.	E	65	MM	0.72	Pozitif
51	Y. B.	K	55	AML	1.95	Pozitif
52	M. D.	E	20	AML	1.29	Pozitif
53	O. D.	E	36	HL	0.28	Pozitif
54	A.T.	K	43	AML	0.81	Pozitif
55	A.A.	K	44	NHL	1.06	Pozitif
56	V. K.	K	54	MM	0.79	Pozitif

E: Erkek

K:Kadın

Tablo 4.10. Kontrol grubunda bulunan bireylerin sonuçları

Kontrol Grubu Sonuçları					
Sıra No	Adı Soyadı	Cinsiyeti	Yaşı	Test Değeri	Sonuç
1	P. A.	K	26	0.78	Negatif
2	G. K.	E	28	2.88	Negatif
3	M. K.	K	29	1.87	Pozitif
4	S. A.	E	29	3.39	Pozitif
5	Z. Ö.	K	26	1.5	Pozitif
6	K. Y.	E	42	1.43	Pozitif
7	G. Ç.	E	25	0.93	Pozitif
8	B.K.	K	39	2.56	Negatif
9	İ. Ç.	E	28	1.62	Pozitif
10	A.E.	E	21	1.28	Negatif
11	A.D.	E	34	1.55	Pozitif
12	A.Y.	E	25	0.84	Negatif
13	M. K.	E	27	4.46	Pozitif
14	E. K.	E	26	1.59	Pozitif
15	R. Y.	E	28	2.23	Pozitif
16	A.K.	E	30	2.85	Negatif
17	A.C. K.	E	31	0.42	Pozitif
18	A.A.	E	33	2.46	Pozitif
19	D.Ö.	E	38	1.74	Pozitif
20	O. Y.	E	22	3.12	Pozitif
21	İ. A.	E	30	0.85	Negatif
22	İ. A.	E	37	1.36	Pozitif
23	B.E	E	31	3.33	Pozitif
24	A.S.	E	27	2.91	Pozitif
25	M. A.	E	25	2.09	Negatif
26	İ. Ş.	E	29	1.86	Pozitif

27	İ. K.	E	32	2.11	Pozitif
28	M. K	E	22	2.33	Pozitif
29	R. K.	E	42	2.49	Pozitif
30	Ç. Ö.	E	27	2.41	Pozitif
31	A.A.	E	25	1.5	Negatif
32	H.Y.	E	24	4.08	Pozitif
33	Y. Ç.	E	45	1.67	Pozitif
34	A.G.	E	30	3.4	Negatif
35	F. D.	K	26	0.57	Pozitif
36	B.T.	K	24	2.08	Pozitif
37	H.Y	E	37	1.73	Negatif
38	F. K.	K	26	1.49	Pozitif
39	S. T.	E	27	2.27	Pozitif
40	S. D.	K	22	0.67	Negatif
41	E. S.	K	25	3.42	Pozitif
42	E. A.	E	53	2.08	Pozitif
43	Z. K.	K	41	1.49	Pozitif
44	D.Ş.	K	25	1.1	Negatif
45	E. C.	K	19	1.88	Pozitif
46	F. G.	E	40	1.73	Negatif
47	A.Ç.	K	32	1.55	Pozitif
48	T. U.	E	21	2.54	Negatif
49	R. E.	K	30	1.47	Pozitif
50	M. G.	K	32	0.92	Pozitif
51	E. Y.	K	41	0.51	Pozitif
52	A.İ.	E	17	2.59	Pozitif
53	K. K.	K	36	1.46	Pozitif
54	D.K.	K	32	2.41	Pozitif
55	A.K.	K	25	1.85	Negatif
56	F. G.	K	28	4.15	Pozitif

E:Erkek

K:Kadın

5. TARTIŞMA

Herpes zoster, dorsal kök gangliyonunda latent olarak kalan VZV'nin reaktivasyonu sonucunda gelişen, bir veya birkaç dermatomu tutan veziküler döküntü ile karakterize bir hastalıktır. Spinal veya kraniyal sinirlerin duyusal gangliyon hücrelerinde latent bir şekilde bulunan virüs, aktive olduktan sonra tutulan sinir lifi boyunca ilerleyerek o sinire ait dermatomal bölgede ağrılı veziküler bir döküntüye neden olur (97, 98).

İleri yaşlarda immün sistemin zayıflamasına bağlı olarak VZV ve komplikasyonları daha sık görülür (99). Virüse spesifik hücrel immünitinin, viral aktivasyonun ve disseminasyonun kontrolünde çok önemli olduğu bilinmekte ve bu nedenle immünkompromize kişilerde VZV infeksiyonları daha ağır seyredebilmektedir (100).

Hematolojik malignitesi olan hastalarda, hem malignitenin kendisi, hem de kemoterapötiklerin etkileri nedeniyle iki yönlü olarak hücrel immünite zarar görmektedir. Bu nedenle, hematolojik malignitesi bulunan hastalar, viral infeksiyonların seyri açısından daha yüksek riske sahiptir. Ayrıca herpes zoster'in immünosüpresif hastalarda, normal hastalara göre daha fazla sayıda mukokutanöz lezyon ile seyrettiği, iyileşme zamanının uzadığı ve ciddi komplikasyonlar ile ölüme neden olduğu bildirilmiştir (101).

Bu çalışmada, hematolojik malignite nedeniyle hastanede yatarak tedavi gören 56 immünsüpresif hastada VZV infeksiyonu araştırılmış ve sonuçlar immünkompetan bireylerle karşılaştırıldığında, VZV infeksiyonu immünsüpresif grupta anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.003$).

Manley ve arkadaşlarının (102) yapmış olduğu bir çalışmada, VZV serolojisinin pozitif olduğu bilinen pediatrik ALL'li hastalarında suçiçeği geliştiği bildirilmiştir. İmmün yetmezlikli çocuklarda, özellikle primer VZV infeksiyonu tedavi edilmezse karaciğer, akciğer ve merkezi sinir sistemini tutarak yaklaşık %7 oranında mortaliteye yol açtığı, pnömonili hastalarda ölüm oranının %25'e çıktığı rapor edilmiştir (103, 104).

Literatüre bakıldığında malignite, transplant alıcıları, kortikosteroid kullanan hastalar, AIDS hastaları gibi bağışıklık sistemi farklı sebeplerle baskılanmış bireylerde primer varisella infeksiyonuna ikincil gelişen fulminan hepatik yetmezlik ve buna bağlı ölümler de rapor edilmiştir (105-107).

Rowland ve arkadaşları (108), 1984-1993 yılları arasında ALL tanısı almış 294 çocuk hastada 42 varisella infeksiyonu tespit etmişler, olguların %70'inin deriye sınırlı olduğunu, diğerlerinin ise ekstrakutanöz varisella olduğunu bildirmişlerdir. Literatürde

yer alan diğer bir çalışmada da, immünsüprese hastalarda primer VZV infeksiyonunun en sık görülen semptomu olarak kütanöz varisella lezyonları bildirilmiştir. Hastalarda tipik papuloveziküler döküntü öncesinde ya da döküntüyü takiben akut karın ağrısı, sırt ağrısı ve ateş izlenmiştir (109).

Hematolojik malignitesi olan hastalarda VZV infeksiyonunun en sık HL'lı hasta grubunda (%10-42) görüldüğü bildirilmektedir. Bu hastalarda hem primer hem de sekonder hücrel immün yanıt baskılanmakta, ayrıca uygulanan kemoterapi ve radyoterapi hastalardaki immün yetmezliği artırmaktadır. Benzer şekilde hücrel immünite bozukluğunun ön planda olduğu NHL ve KLL'de de VZV infeksiyonunun artmış sıklıkta olduğu bildirilmektedir (110).

Demirçay'ın (110) hematolojik malignitesi olan hastalarda deri ve mukoza lezyonlarının değerlendirilmesi amacıyla yapmış olduğu çalışmada, 20 hastada (%13.2) VZV infeksiyonu saptanmış, VZV'nin farklı hasta gruplarındaki dağılımı incelendiğinde, lenfoma hastalarında diğer gruplardan anlamlı olarak daha sık görüldüğü saptanmıştır ($p<0,05$). KLL grubu (%25) ve allojeneik kemik iliği transplantasyonu yapılmış hastalar (%25) VZV'nin sık olarak saptadıkları diğer hasta grupları olmuştur. Bizim çalışmamızda VZV tüm hasta gruplarında yüksek oranda pozitif bulundu (%85- %100) Varicella zoster infeksiyonu seyri sırasında nadir de olsa ağır trombositopeni görülebilmektedir (111). İnfeksiyon sırasında gelişen trombositopeninin muhtemel nedeni, virüs antijenlerine karşı gelişen antikorların trombosit yüzey antijenleri ile etkileşime girmesidir. Varicella zoster infeksiyonu sırasında trombositopeni gelişme riski kesin olarak bilinmemekle beraber hastaneye yatırılarak tedavi edilen suçiçeği olgularında hematolojik komplikasyon gelişme oranı değişik çalışmalarda %5-12 arasında rapor edilmiştir (112, 113).

Varicella zoster infeksiyonu yaşlı hastalarda, HL ve NHL hastaları veya AIDS gibi immün yetersizliği olanlarda çeşitli nörolojik komplikasyonlara neden olur. Bunların arasında Guillain-Barre sendromu, karotisin viral invazyonuna bağlı infarktlar, transvers miyelit, Ramsay-Hunt sendromu, aseptik menenjit, ensefalit, ensefalomyelit sayılabilir. Varisella zoster infeksiyonu ile birlikte görülen en sık santral sinir sistemi komplikasyonu ensefalittir. Bu komplikasyonun gelişmesindeki en büyük risk faktörleri ileri yaş, immünosupresyon ve dissemine kütanöz zosterdir (114).

Wiegering ve arkadaşlarının (115) 2011 yılında yapmış oldukları çalışmada, VZV infeksiyonu nedeni ile hastaneye yatışı yapılan pediatrik hastaların oranının %45 olduğu, bunların da %17'sinin maligniteli, %9'unun immünsupresif tedavi alan hastalar

olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada, malign hastalığı olan ya da immünsupresif tedavi alan hastalarda VZV infeksiyonlarının seyrinin farklılıklar göstermesine rağmen, bu hastaların hastaneye yatırılması ve en kısa sürede antiviral tedaviye başlanması önerilmektedir.

Gil ve arkadaşlarının (116) yapmış oldukları çalışmada, bağışıklık sistemi baskılanmış hastaların VZV infeksiyonları nedeni ile ciddi morbidite ve ölüm riski altında olduğunu açıklanmıştır. Herpes zoster infeksiyonu sıklıkla kemoterapi ve immünosupresyon sırasında tanımlanmıştır. Bu hastalarda ciddi komplikasyonların VZV infeksiyonlarının yaklaşık % 20'sinde ortaya çıktığını bildirmiştir. Bu komplikasyonlar akut karaciğer yetmezliği, kan pıhtılaşma bozuklukları ya da bakteriyel süperinfeksiyonlar, interstisyel veya nekrotizan pnömoni ve viral hepatit şeklinde görülebilmektedir (116).

Cowl ve arkadaşlarının (117) yapmış olduğu çalışmada, 70 yaşındaki bir KLL hastasında VZV infeksiyonu sırasında gelişen pnömoni olgusu rapor edilmiş ve erişkinlerdeki VZV infeksiyonlarının yaklaşık yarısında pnömoni komplikasyonu oluşabileceği bildirilmiştir.

Alta yatan HIV infeksiyonu gibi durumlarda, lösemi ve diğer maligniteleri olan kişilerde VZV'nin reaktivasyonu ve ciddi komplikasyon riski daha fazladır. Herpes zoster nedeniyle hastaneye yatırılan hastaların %78'inin 50 yaş üstünde olduğu belirtilmiştir, ancak bu bulgunun nedeni yaşla ilgili olarak immünite azalması ve yaşla birlikte malignitenin artışı gibi faktörlere bağlanmıştır (116).

Bu çalışmada, VZV pozitif olgularda yaş ortalaması 38.5 iken, VZV negatif olgularda yaş ortalaması 30.6 idi. VZV pozitifliğinin yaşa göre dağılımında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğu görüldü ($p=0.034$). Bu anlamlı farkın, çalışmada VZV pozitifliğinin daha çok immünsüpresif hasta grubunda görülmesi ve bu gruptaki bireylerin yaş ortalamasının, kontrol grubunda bulunan bireylere göre daha yüksek olması ile meydana geldiği düşünülmüştür.

Herpes zoster infeksiyonu hücre-aracılı bağışıklık yetmezliği olan yatkın gruplarda, özellikle malign hastalığı olan bireylerde önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. Asiklovir gibi antiviral ilaçların bilinçli kullanımıyla bu hasta popülasyonunda ölümlerin azaltılabileceği savunulmasına rağmen, infeksiyonun erken tanınması hastanın sağkalımı açısından en önemli noktadır.

VZV infeksiyonunun tanısında çeşitli moleküler tarama testleri kullanılmakta ve yeterli duyarlılık göstermektedir. Ancak, moleküler yöntemler, serolojik yöntemlere göre daha uzun süre gerektiren ve pahalı testlerdir. Çeşitli klinik örnekler ile cilt lezyonlarından

alınan veziküler sıvıda virüsü tanımlamak amacıyla yapılan hücre kültür çalışmaları ise 3-10 günde sonuçlandığından erken tanı için uygun değildir.

Bu çalışmada, VZV enfeksiyonunun tanısında serolojik bir yöntem olan ELFA yöntemi kullanılmıştır. ELFA yöntemi kısa sürede sonuç alınması ve uygun maliyetli olması açısından klinikte kullanışlı bulunmuştur.

Sonuç olarak, bu çalışmada hematolojik maligniteli hasta grubunda VZV IgG antikorlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek olduğu görüldü ($p=0.003$). Pozitiflik risk faktörlerinin yaşa, cinsiyete ve gruplara göre odds değerleri hesaplandığında, yaş ve cinsiyetin güven aralığı içerisinde bulunduğu, buna karşın hasta/ kontrol değerlerinin güven aralığı dışında bulunduğu görüldü. Hasta grubu kontrol grubuna göre yaklaşık olarak 3.8 kat daha fazla pozitif olma riski taşıyordu (Odds=3.822-%95 GA [1.093-13.360]).

Bu sonuçlara göre çalışmada, hematolojik malignitesi olan hastaların herpes zoster enfeksiyonu açısından risk grubu içinde olduğu görüldü. Bu hastalarda saptanan deri lezyonlarının, VZV enfeksiyonu olabileceği yönünden değerlendirilmesi ve hasta örneklerinin VZV varlığı yönünden araştırılması, hastaların tedavi alarak, olası komplikasyonlardan korunması için önemlidir. Tedavi uygulanmayan olgularda VZV'nin ağır komplikasyonlara ve ölüme neden olabileceği önceki çalışmalarda bildirilmiştir.

Primer VZV enfeksiyonu genellikle çocukluk çağında görülen bir hastalık olduğundan, VZV enfeksiyonu bugüne kadar daha çok hematolojik malignitesi olan çocuk hastalarda araştırılmıştır. Literatürde birkaç olgu sunumu dışında erişkin hastalarda bildirilen bir seri çalışması yoktur. Bu çalışma, hematolojik maligniteli erişkin hastalarda yapılmış ilk araştırma olduğundan, çalışmadan elde edilen sonuçlar immünsüpresif hastalarda VZV enfeksiyonuna dikkat çekilmesi ve gerekli önlemlerin alınması açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Demis DJ, Dobson RL, McGuire J. Clinical Dermatology, Harper Row & Publishers, Philadelphia. 1982; Vol:3, Sect:7-14.
2. Unat EK. Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi yayınları, İstanbul,1980:120-24.
3. Whitley RJ. Varicella-Zoster Virus. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R(ed). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Sixth Ed. Vol.2 Elsevier Churchill Livingstone: 2005:1780-1786.
4. Özbal Y. Varicella-zoster Virusu. Ustaçelebi Ş (Editör), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara: Güneş Kitabevi, 1999:829-833.
5. Arvin AM. Varicella-Zoster Virus. Clinical Microbiology Reviews, July 1996:361-381.
6. Rentier B, Gershon AA, European Working Group on Varicella Consensus: Varicella vaccination of healthy children-a challenge for Europe. Pediatr Infect Dis J 2004;23:379-389.
7. Bay A, Öner AF, Doğan M, Kaya A, Açıkgöz M. Varicella infection with childhood hematological malignancy: A single institution experience of 27 cases. Pediatr Infect Dis J 2006;3:165-168.
8. Çolak D, Mutlu D, Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S (Editörler). Güneş Kitabevi, 2004:126.
9. Azap A, Kurt H. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2001;54:357-370.
10. Corey L. Herpes Simplex Virus, In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (ed). Principles and Practice of Infectious Diseases 6th Ed. New York: Elsevier, Churchill Livigstone 2005:1762.
11. Serter D. Virüs, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi,1997:124.
12. Mertz GJ. Herpes Simplex Virus İnfections. In: Galasso GJ, Whitley RJ, Merigan TC(eds). Antiviral Agents and Human Viral Dieases. 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997:305
13. Bergstrom T, Vahine A, Alestig K, Jeansson S, Forsgren M, Lycke E. Primary and recurrent Herpes Simplex virus type 2-induced meningitis. J Infect Dis. 1990;162:322.

14. Espy MJ, Wold AD, Jespersen DJ, Jones MF TF. Comparison of shell vials and conventional tubes seeded with rhabdomyosarcoma and MRC-5 cells for the rapid detection of Herpes simplex virus J Clin Microbiol. 1991;29:2701.
15. Nahmias AJ, Lee FK, Beckan-Nahmias S. Seroepidemiological and Sociological Patterns of Herpes Simplex Virus Infection in the World. Scand J Infect Dis. 1990;69:19.
16. Spear PG. Herpes Simplex Virus: Receptors and Ligands for Cell Entry. Cell. Microbiol. 2004;6:401-410.
17. Topcu Willke A, Söyletir G, Doğanay M (editörler) Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Cilt 2. İstanbul:Nobel Tıp Kitabevi 2002:1652-1663.
18. Gibson JJ, Hornung CA, Alexander GR, Lee FK, Potts WA, Nahmias AJ. A cross-sectional Study of Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 in College Students: Accurrence and Determinants of Infections. J Infect Dis. 1990;162:306.
19. Lycke E. The Pathogenesis of Genital Herpes simplex Virus Infection. Scand J Infect Dis. 1991;78:79.
20. Straus SE. Introduction to Herpesviridae. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. New York: Churchill Livingstone; 2000:1557-1164.
21. Brooks GF, Butel JS, Morse SA (Editors). Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 23th ed. McGraw Hill Comp. Inc, 2004:429.
22. Cohen J and Straus SE Varicella Zoster Virus and Its Replication, In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE (ed.), Fields Virology, 4th ed. Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa 2001:2707-2730.
23. Durmaz R, Temel İ. Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji 2001:21-22
24. Gershon A, Silverstein S. Varicella-zoster virus, In: Richman D, Whitley R, Hayden F (ed.), Clinical Virology, 2nd ed. American Society for Microbiology Press, Washington, DC. 2002:413-432
25. Gershon MA. Role of glycoproteins in Varicella-zoster virus infection, In: Wolf MH, Schunemann S, Schmidt A(ed.), Varicella-zoster Virus, Molecular Biology, Pathogenesis, and Clinical Aspect. Karger, Basel, Switzerland, 1999:43-60.
26. Baysal B, Tuncer İ. Varicella-Zoster Virus. Willke-Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (Ed.). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2. Baskı, Cilt 2, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2002:1186-1191.

27. Öztürk G. Zona Zosterli Hastalarda Protein Elektroforezi, 1985, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji A.D. Uzmanlık tezi,55 sayfa, İzmir, (Prof. Dr. Saffet Solak).
28. Mahalingam R, Wellish M, Wolf W, Ducland AN, Cohrs R, Vafai A. Latent varicella-zoster viral DNA in human trigeminal and thoracic ganglia. *N Engl J Med*,1990;323:627-631.
29. Gershon AA. Varicella zoster virus. In: Feigin RD, Cherry JD (eds). *Textbook of Pediatric Infectious Diseases* (4nd ed.). Philadelphia: WB Saunders,1998:1769-1777.
30. Goldman DA. Transmission of infectious diseases in children. *Pediatr Rev*,1992;13:283-293.
31. Drwal-Klein LA, O'Donovan CA. Varicella in pediatric patients. *Ann Pharmacother*,1993;27:938-949.
32. Arvin AM. Varicella-zoster virus: molecular virology and virus-host interactions. *Curr Opin Microbiol*, 2001;4: 442-449.
33. Kleinschmidt-DeMasters BK, Gilden DH. Varicella-Zoster virus infections of the nervous system: clinical and pathologic correlates. *Arch Pathol Lab Med* 2001;125:770-780.
34. Mahalingam R, Kennedy PG, Gilden DH. The problems of latent varicella zoster virus in human ganglia: precise cell location and viral content. *J Neurovirol* 1999;5:445-448.
35. Weller TH. Varicella and herpes zoster: a perspective and overview. *J Infect Dis* 1992;166:1992;166(Suppl 1: S1-6).
36. Arvin AM. Immune responses to varicella-zoster virus. *Infect Dis Clin North Am* 1996;10:529-570.
37. Morgan R, King D. Shingles: a review of diagnosis and management. *Hosp Med* 1998;59:770-776.
38. Sauerbrei A, Wutzler P. Neonatal varicella. *J Perinatol* 2001;21:545-549.
39. Hyman RW, Ecker JR, Tenser R. Varicella-zoster virus RNA in human trigeminal ganglia. *Lancet* 1983;2:814-816.
40. Gilden DH, Rozenman Y, Murray R. Detection of varicella-zoster virus nucleic acid in neurons of normal human thoracic ganglia. *Ann Neurol*. 1987;22:377-380.
41. Mahalingam R, Wellish M, Cohrs R. Expression of protein encoded by varicella-zoster virus open reading frame 63 in latently infected human ganglionic neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:2122-2124.

42. Meier JL, Holman RP, Croen KD. Varicella virus transcription in human trigeminal ganglia. *Virology*, 1993;193:193-200.
43. Cohen JL. Infection of cells with varicella-zoster virus down-regulates surface expression of class I major histocompatibility complex antigens. *J Infect Dis*. 1998;177:1390-1393.
44. Chen JJ, Zhu Z, Gershon AA, Gershon MD. Mannose 6-phosphate receptor dependence of varicella zoster virus infection in vitro and in the epidermis during varicella and zoster. *Cell*. 2004;119:915-926.
45. Sawyer MH, Chamberlin CJ, Wu YN, Aintablian N, Wallace MR. Detection of varicella-zoster virus DNA in air samples from hospital rooms. *J Infect Dis*. 1994; 169:91-94.
46. Brunell PA, Straus SE, Krause PR. Recent advances in VZV infection. *Ann Intern Med*. 1999;130:922-932.
47. Doymaz MZ. Medikal Viroloji (Çeviri: White DO, Fenner FJ). İstanbul; Nobel Tıp Kitabevi, 2000:330-334.
48. Yalçın I, Salman N, Somer A. Virus enfeksiyonları. Neyzi O, Ertuğrul T (Editörler). *Pediatrici*. 3.baskı, İstanbul, Nobel Kitabevi, 2002:551-552.
49. Levin MJ, Weinberg A. Infections: Viral and Rickettsial. In: Hay WW. *Current Pediatric Diagnosis & Treatment*. 16th ed . New York: Mc-Graw Hill; 2003.
50. Hambleton S, Gershon AA. Preventing varicella-zoster disease. *Clin. Microbiol. Rev*. 2005;18:70-80.
51. Yarkın F. Varisella-zoster virüs. Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M (Editörler). *Klinik Mikrobiyoloji Murray(Türkçe)* 9. Baskı. 2009;2:1537-1547.
52. Coffin SE, Hodinka RL. Utility of direct immunofluorescence and virus culture for detection of varicella-zoster virus in skin lesions. *J. Clin. Microbiol*. 1995;33:2792-2795.
53. Bezold GD, Lange ME, Gali H, Peter RU. Detection of cutaneous varicella zoster virus infections by immunofluorescence versus PCR. *Bur. J. Dermatol*. 2001;11:108-111.
54. Espy MJ, Teo R, Ross TK, Svien KA, Wold AD, Uhi JR and Smith TE. Diagnosis of varicella-zoster virus infections in the clinical laboratory by LightCycler PCR. *J. Clin. Microbiol*. 2000;38:3187-3189.
55. Feldman S, Lou L. Varicella in children with cancer: impact of antiviral therapy and prophylaxis. *Pediatrics* 1987;80:465-472.

56. Larussa P, Steinberg S, Arvin A, Dwyer D, Yamanishi K, Gershon A. PCR and RFLP analysis of VZV isolates from the USA and other parts of the world. *J Infect Dis* 1998;178:64-66.
57. Loparev VN, Argaw T, Krause P, Takayama M, Schmid S. Improved identification and differentiation of varicella-zoster virus (VZV) wild-type strains and an attenuated varicella vaccine strain using a VZV open reading frame 62-based PCR. *J Clin Microbiol* 2000;38:3156-3160.
58. Markoulatos P, Georgopoulou A, Siafakas N, Plakokefalos E, Tzanakaki G, Kourea-Kremastinou J. Laboratory diagnosis of common herpesvirus infections of the central nervous system by a multiplex PCR assay. *J Clin Microbiol* 2001;39:4426-4432.
59. Quereda C, Corral L, Laguna E, Vaiencia ME, Tenorio A, Echeverria JEE, Navas Martin-Davila P, Moreno A, Moreno V, Gonzaleiz-Lahoz JM, Arribas JR, Guerrero A. Diagnostic utility of a multiplex herpesvirus PCR assay performed with cerebrospinal fluid from human immunodeficiency virus-infected patients with neurological disorders. *J Clin Microbiol* 2000;38:3061-3067.
60. Vazquez M, Larussa E, Gershon A, Steinberg S, Freudigman K, Shapiro E. The effectiveness of the varicella vaccine in clinical practice. *N J Eng Med* 2001;344:955-960.
61. Asano Y, Itakura N, Hiroishi Y, Hirose S, Nagai T, Ozaki T, Yazaki T, Yamartishi Y, Takahashi M. Viremia is present in incubation period in nonimmunocompromised children with varicella. *J Pediatr* 1985;106:69-71.
62. Ozaki T, Ichikawa T, Matsui Y, Kondo T, Nagai T, Asano Y, Yamanishi K, Takahashi M. Lymphocyte Associated viremia in varicella. *J Med Virol* 1986;19:249-253.
63. Jemsek J, Greenberg SB, Taber L, Harvey D, Gershon A, Couch R. Herpes zoster-associated encephalitis: clinicopathologic report of 12 cases and review of the literature. *Medicine* 1983;62:81-97.
64. Iten A, Chatelard P, Vuadens P, Miklossy J, Meuli R, Sahil R, Meylan PR. Impact of CSF PCR on the management of HIV-infected patients with VZV infection of the CNS. *J Neurovirol* 1999;5:172-180.
65. Kleinschmidt-DeMasters BK, Gilden DH. Varicella-zoster virus infections of the nervous system: clinical and pathologic correlates. *Arch Pathol Lab Med* 2001;125:770-780.

66. Sauerbrei A, Eichhom U, Gawellek S, Egerer R, Schacke M, Wutzler P. Molecular characterisation of varicella-zoster virus strains in Germany and differentiation from the Oka vaccine strain. *J Med Virol* 2003;71:313-319.
67. Stocher M, Leb V, Bozic M, Kessler HH, Halwachs Baumann G, Landt O, Stekel H, Berg J. Parallel detection of five human herpes virus DNAs by a set of realtime polymerase chain reactions in a single run. *J Clin Virol* 2003; 26:85-93.
68. Yamamoto T, Nakamura Y. A single tube PCR assay for simultaneous amplification of HSV-1/-2, VZV, CMV, HHV-6A/-6B, and EBV DNAs in cerebrospinal fluid from patients with virus-related neurological diseases. *Neurovirol* 2000;6:410-417.
69. Zoguereh DD, Saadoun D, Zandotti C, Cawston P, Moreau. AIDS-related varicella zoster meningo encephalitis and radicular pain without cutaneous eruption. *AIDS* 1996;10:1604-1606.
70. Forghani B, Schmidt N, Myoraku CK, Gallo D. Serological reactivity of some monoclonal antibodies to varicella-zoster virus. *Arch Virol* 1982;73:311-317.
71. Weigle K, Grose C. Common expression of varicella-zoster viral glycoprotein antigens in vitro and in chickenpox and zoster vesicles. *J. Infect Dis* 1983;148:630-638.
72. Chan EL, Brandt K, Horsman GB. Comparison of Chemicon SimulFluor direct fluorescent antibody staining with cell culture and shell vital direct immunoperoxidase staining for detection of herpes simplex virus and with cytospin direct immunofluorescence staining for detection of varicella-zoster virus. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:909-912.
73. Kanra G, Kara A. Varicella zoster virüs infeksiyonları Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2002;45:260-274.
74. <http://www.scribd.com/doc/61301428/Immunolojik-teknikler>.
75. Larussa P, Steinberg S, Shapiro E, Vazquez M, Gershon A. Viral strain identification in varicella vaccines with disseminated rashes. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:1037-1039.
76. Schmutzhard J, Merete Riedel H, Zwegberg Wirgart B, Griliner L. Detection of herpes simplex virus type 1, herpes simplex virus type 2 and varicella-zoster virus in skin lesions. Comparison of real-time PCR, nested PCR and virus isolation. *J Clin Virol* 2004;29:120-126.

77. Stranska R, Schuurman R, de Vos M, van Loon AM. Routine use of a highly automated and internally controlled real-time PCR assay for the diagnosis of herpes simplex and varicella-zoster virus infections. *J Clin Virol* 2004;30:39-44.
78. Van Doormun GJ, Guldemeester J, Osterhaus AD, Niesters HG. Diagnosing herpesvirus infections by realtime amplification and rapid culture. *J Clin Microbiol* 2003;41:576-580.
79. Bezold G, Volkenandt M, Gottlober P, Peter RU. Detection of herpes simplex virus and varicella-zoster virus in clinical swabs: frequent inhibition of PCR as determined by internal controls. *Mol Diagn* 2000;5:279-284.
80. Larussa PS, Gershon AA. Biologic and geographic differences between vaccine and clinical varicella-zoster virus isolates. *Arch Virol Suppl* 2001;17:41-48.
81. Weidmann M, Meyer-König U, Hufert ET. Rapid detection of herpes simplex virus and varicella-zoster virus infections by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2003;41:1565-1568.
82. Chichili GR, Athmanathan S, Farhatullah S, Gangopadhyay N, Jalali S, Pasricha G, Sharma S. Multiplex polymerase chain reaction for the detection of herpes simplex virus, varicella-zoster virus and cytomegalovirus in ocular specimens. *Curr Eye Res* 2003;27:85-90.
83. Watzinger E, Suda M, Preuner S, Baumgartinger R, Ebner K, Baskova L, Niesters HG, Lawitschka A, Lion T. Real-time quantitative PCR assays for detection and monitoring of pathogenic human viruses in immunosuppressed pediatric patients. *J Clin Microbiol* 2004;42:5189-5198.
84. Ishizaki Y, Tezuka J, Ohga S, Nomura A, Suga N, Kuromaru R, Kusuhara K, Mizuno Y, Kasuga N, Kara T. Quantification of circulating varicella zoster virus DNA for the early diagnosis of visceral varicella. *J Infect* 2003;47:133-138.
85. Stöcher M, Hölzl G, Stekel H, Berg J. Automated detection of five human herpes virus DNAs by a set of Light Cycler PCRs complemented with a single multiple internal control. *J Clin Virol* 2004;29:171-178.
86. Corral I, Laguna F, Valencia ME, Tenorio A, Echeverria JE, Navas E, Martin-Davila P, Moreno A, Moreno V, Gonzalez-Lahoz JM, Arribas JR, Guerrero A. Diagnostic utility of a multiplex herpesvirus PCR assay performed with cerebrospinal fluid from human immunodeficiency virus-infected patients with neurological disorders. *J Clin Microbiol* 2000;38:3061-3067.

87. Campsall PA, Au NH, Prendiville JS, Speert DP, Tan R, Thomas EE. Detection and genotyping of varicella-zoster virus by TaqMan allelic discrimination realtime PCR. *J Clin Microbiol* 2004; 42:1409-1413.
88. Larussa P, Lungu O, Hardy I, Gershon A, Steinberg S, Silverstein S. Restriction fragment length polymorphism of polymerase chain reaction products from vaccine and wild-type varicella-zoster virus isolates. *J Virol* 1992;66:1016-1020.
89. Loparev VN, McCaustland K, Holiohay B, Krause PR, Takayama M, Schmid S. Rapid genotyping varicella-zoster virus vaccine and wild-type strains with fluorophore-labeled hybridization probes. *J Clin Microbiol* 2000;38:4315-4319.
90. Burggraf S, Olgemöller B. Simple technique internal control of real-time amplification assays. *Clin Chem* 2004;50:819-825.
91. Sharrar RG, LaRussa E, Galea S, Steinberg S, Sweet A, Keatley M, Welis M, Stephenson W, Gershon A. The postmarketing safety profile of varicella vaccine. *Vaccine* 2000;19:916-923.
92. Demmler G, Steinberg S, Blum G, Gershon A. Rapid enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibody to varicella-zoster virus. *J Infect Dis* 1988;157:211-212.
93. Larussa P, Steinberg S, Waithe E, Hanna B, Hoizman R. Comparison of five assays for antibody to varicella-zoster virus and the fluorescent-antibody-to-membrane-antigen test. *J Clin Microbiol* 1987;25:2059-2062.
94. Saiman L, Larussa P, Steinberg SP, Zhou J, Baron K, Whittier S, Dela-Latta P, Gershon A. Persistence of immunity to varicella-zoster virus vaccination among are workers. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001;22:279-283.
95. Preissner CM, Steinberg S, Gershon AA, Smith TF. Evaluation of the anticomplement immunofluorescence test for detection of antibody to varicella-zoster virus. *J Clin Microbiol* 1982;16:373-376.
96. Steinberg S, Gershon AA. Measurement of antibodies to varicella-zoster virus by using a latex agglutination test. *J Clin Microbiol* 1991;29:1527-1529.
97. Leung AK, Robson WL, Leong AG. Herpes zoster in childhood. *Journal of Pediatric Health Care* 2006;20:300-303.
98. Feder HM, Hoss DM. Herpes zoster in otherwise healthy children. *Pediatric Infect Dis J* 2004;23:451-457.
99. Giehl KA, Müller-Sander E, Rottenkolber M, Degitz K, Volkenandt M, Berking C. Identification and characterization of 20 immunocompetent patients with

- simultaneous varicella zoster and herpes simplex virus infection. *Journal of the European Academy of Dermatology Venereology* 2008;22:722-728.
100. Cohen JI, Brunell PA, Straus SE. Recent advances in varicella zoster infection. *Ann Intern Med* 1999;130:922-932.
101. Whitley RJ. Varicella-Zoster Virus. In: *Principles and Practise of Infectious Diseases*. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). 6th ed. Elsevier.2005;1780-1785.
102. Manley S, Mallinson H, Caswell M, Kenan R, Pizer B. Chickenpox in varicella IgG positive patients: Experience of a regional paediatric oncology centre. *Pediatric Blood Cancer* 2008;51:540-542.
103. Feldman S, Hughes WT, Daniel CB. Varicella in children with cancer: Seventy-seven cases. *Pediatrics* 1975;56(3):388-397.
104. Feldman S, Lott L. Varicella in children with cancer: Impact of antiviral therapy and prophylaxis. *Pediatrics* 1987;80(4):465-472.
105. Patti ME, Selvaggi KJ, Krobboth FJ. Varicella hepatitis in the immunocompromised adult: a case report and review of the literature. *Am J Med* 1990;88:77-80.
106. Waring JJ, Neuburger K, Greever EF. Severe forms of chickenpox in adults. *Arch Intern Med* 1943;69:384-404.
107. Özan ME, Alacacıoğlu İ, Akıncı B, Sayiner AA, Soytürk M, Özsan GH, Demirkan F, Ündar B. Akut lenfoblastik lösemide varicella hepatit infeksiyonu. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fak. Dergisi* 2004;18:173-176.
108. Rowland P, Wald ER, Mirro JR. Progressive varicella presenting with pain and minimal skin involvement in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1995;13:1697-1703.
109. Dits H, Frans E, Wilmer A, Van Ranst M, Fevery J, Bobbaers H. Varicella-zoster virus infection associated with acute liver failure. *Clin Infect Dis* 1998;27:209-210.
110. Demirçay ZÖ. Hematolojik Malignitesi Olan Hastalarda Gözlenen Deri ve Mukoza Lezyonlarının Değerlendirilmesi, 1996, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji A.D. Uzmanlık tezi, İstanbul.
111. Yalçın AS, Çoşkun E, Uyanık H, Dai A, Bay A. Varicella zoster enfeksiyonu takiben gelişen immun trombositopenik purpura. *Klinik ve Deneysel Araştırmalar Dergisi* 2011;2(1):85-87.

112. Demirören K, Demirören S, Aydın M. Suçiçeğini takiben gelişen immün trombositopenik purpura olgu sunumu. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2007;21:137-140.
113. İncecik F, Önlü Y, Leblebistan G. Suçiçeği sonrası gelişen immün trombositopenik purpura. Dicle Tıp Dergisi 2008;35:138-140.
114. Sönmez N, Sosyal A, Koç İ, Özer F, Arpacı B. Herpes zoster ensefaliti tanısı konan bir olgu sunumu. Düşünen Adam 1995;8(3):58-60.
115. Wiegering V, Schick J, Beer M, Weissbrich B, Gattenlöhner S, Girschick HJ, Liese J, Schlegel GP, Eyrich M. Varicella-zoster virus infections in immunocompromised patients - a single centre 6-years analysis. BMC Pediatrics 2011;11:31.
116. Gil A, San-Martín M, Carrasco P, González A. Epidemiology of severe varicella-zoster virus infection in Spain. Vaccine 2004;22:3947-3951.
117. Cowl CT, Udaya B, Prakash S, Mitchell SP, Migden MR. Varicella-zoster virus detection by polymerase chain reaction using bronchoalveolar lavage specimens. Am J Respir Crit Care Med 2000;161:753-754.

ÖZGEÇMİŞ

1983 Malatya'nın Akçadağ ilçesinde doğdu. 2002 yılında Alanya Ayşe Melahat Erkin Anadolu Lisesinde mezun oldu. 2009'da İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü bitirdi. 2009 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans programına başladı.