ASİKLOVİR TEDAVİSİNE KLİNİK YANIT ALINAMAYAN BİR HERPES SİMPEKS VİRUS ENSEFALİTİ OLGUSU

A HERPES SIMPLEX VIRUS ENCEPHALITIS CASE WITH NO CLINICAL RESPONSE TO ACYCLOVIR TREATMENT

**Fatma ÇAKMAK ÇELİK¹, Ayhan DAĞDEMİR¹, Cafer EROĞLU²
Ömer Faruk AYDIN¹, Lütfi İNCESU³, Hava YILMAZ²**

ÖZET: Herpes simpleks virus (HSV) ensefaliti, yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olmakla birlikte özgül ve etkin tedavisi olan nadir viral enfeksiyonlardan biridir. Bu raporda, asiklovir tedavisine klinik yanıt alınmayan bir HSV ensefaliti olgusunun sunulması amaçlanmıştır. Kliniğimize ateş ve fokal havale geçirme şikayeti ile getirilen 11 aylık bir kız hastanın beyin omurilik sıvısı (BOS)'nda, düşük glukoz düzeyi ve travmatik olmamasına rağmen bol eritrosit varlığı saptanmış, diğer biyokimyasal bulgularının normal olduğu izlenmiştir. BOS'nda HSV-1 IgG negatif, HSV-2 IgG pozitif ve HSV-1/2 IgM negatif olarak bulunmuş, ancak eş zamanlı serum örneği alınmadığından antikor indeksi hesaplanamamıştır. Kraniyal manyetik rezonans görüntüleme (MRG)'de bilateral temporal loblarda kontrastlanma artışı izlenmiştir. BOS kültürlerinde üreme olmayan hastaya herpes ensefaliti ön tanısı ile asiklovir tedavisi (30 mg/kg/gün) başlanmıştır. Tedavinin üçüncü haftasında hastanın parsiyel nöbetlerinin başlaması nedeniyle tekrarlanan BOS incelemesinde, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile HSV-1 DNA pozitifliği saptanmıştır. Uygulanan 21 günlük tedaviye rağmen BOS bulgularının devam etmesi ve klinik bulguların şiddetlenmesi üzerine asiklovir direnci olasılığı düşünülmüş ve ilacın dozu artırılmıştır (60 mg/kg/gün, üç hafta). Kontrol beyin MRG'sinde solda daha belirgin olmak üzere her iki temporal bölgede kontrastlanma ve ensefalomalazik değişiklikler saptanmıştır. Parsiyel nöbetleri devam eden hastanın tedavisine valproik asit eklenmiş, izleminde orofasiyal diskinezisi ortaya çıkan hastaya haloperidol başlanmıştır. Nöbetleri kontrol altına alınan ve orofasiyal diskinezisi olmayan hasta taburcu edilerek ayaktan takibe alınmıştır. Çalışmamızda asiklovir direncinin moleküler yöntemlerle gösterilmesi mümkün olamamış, ancak olgumuzun kliniğinde kötüleşme olduğu dönemde BOS örneğinde HSV-DNA pozitifliği saptandığından, bu direncin hem klinik hem de virolojik olduğu düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: HSV, ensefalit, asiklovir direnci.

ABSTRACT: In spite of high rates of morbidity and mortality in herpes simplex virus (HSV) encephalitis, however, it is one of the exceptional viral infections with specific and effective therapy. In this report a HSV encephalitis case who was clinically

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun. (clkfatma@yahoo.com)

² Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun.

³ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Samsun.

unresponsive to acyclovir treatment, has been presented. An 11 months old girl patient has been brought to our clinic with the complaints of high fever and focal convulsions. Analysis of cerebrospinal fluid (CSF) revealed decreased glucose level and abundant red blood cells, despite it was not traumatic. The other CSF biochemical findings were found normal. Viral serology performed with CSF yielded negative result for HSV-1 IgG, positive result for HSV-2 IgG, and negative result for HSV-1/2 IgM, however, antibody index could not be estimated since it was not possible to obtain a simultaneous serum sample. Cranial magnetic resonance imaging (MRI) showed contrast material enhancement on bilateral temporal lobes. There was no growth in the CSF cultures. Acyclovir therapy (30mg/kg/day) was started with the prediagnosis of herpes encephalitis. In the third week of therapy CSF analysis was repeated because of the presence of partial paroxysmal attacks and absence of sufficient clinical improvement. In this CSF sample HSV-1 DNA was found positive by real-time polymerase chain reaction. Since CSF findings were still abnormal and the clinical picture worsened despite 21 days of therapy, the dose of acyclovir was increased to 60 mg/kg/day (3 weeks) with a possible drug resistance problem. Control brain MRI showed contrast enhancement on bilateral temporal lobes, with more intensivity in left, and encephalomalacia. Valproic acid and haloperidol were given to the patient for the treatment of permanent partial paroxysms and orofacial dyskinesia, developing in the follow-up period, respectively. After getting these complications under control, the patient was discharged and taken into follow-up. As a result, although it could not be possible to confirm the drug resistance by molecular methods, it was thought that this might be both a clinical and virological resistance phenomenon, because of the detection of HSV-DNA in the CSF sample during the period of severity of the illness.

Key words: HSV, encephalitis, acyclovir resistance.

GİRİŞ

Herpes simpleks virus (HSV) ensefaliti nadir görülmesine rağmen tedavisi mümkün olan tek viral ensefalittir. Tedavi edilmediğinde mortalite ve morbiditesi yüksektir. Tanı için, beyin omurilik sıvısı (BOS) bulguları, manyetik rezonans görüntüleme (MRG), elektroensefalografi (EEG), serolojik (eş zamanlı serum ve BOS örneklerinde antikör indeksinin hesaplanması) ve moleküler [polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile BOS'da HSV-DNA tayini] yöntemler kullanılabilir¹⁻³.

Bu raporda, HSV ensefaliti ön tanısı ile asiklovir tedavisi başlanan ve daha sonra PCR ile tanısı doğrulanan, ancak klinik olarak tedaviye beklenen yanıt alınamadığı için asiklovire direnç geliştiği düşünülen bir olgu sunulmaktadır.

OLGU SUNUMU

Ateş ve sağ kol ve bacağı fokal havale geçirme yakınması ile hastanemize getirilen 11 aylık kız bebeğin, bir hafta önce başlayan ateş ve üç gün önce gelişen sağ hemitonik-klonik nöbet nedeniyle başka bir sağlık merkezine götürüldüğü, burada lomber ponksiyon (LP) ile alınan beyin omurilik sıvısı (BOS) örneğinin direk incelemesinde lökosit görülmediği öğrenilmiştir.

Nöromotor gelişimi normal olan, öz ve soy geçmişinde özellik olmayan hastanın fizik muayenesinde; vücut ağırlığı: 8200 gr (25p), boyu: 75 cm (50-75 p), baş çevresi: 44 cm (25 p), vücut ısı: 37.7°C (aksiller), nabız: 130/dk,

solunum: 36/dk, kan basıncı: 90/60 mmHg olarak bulunmuştur. Hastanın BOS incelemesinde; glukoz 5 mg/dl (eş zamanlı kan glukozu:102 mg/dl), protein 141 mg/dl olarak tespit edilmiş ve bol eritrosit varlığı izlenmiştir. Bilinci açık, ön fontaneli normal bombelikle olan hastanın beyin MRG'sinde sol temporal lobda T2 ağırlıklı görüntülerde hiperintens sinyal değişiklikleri, kontrast madde enjeksiyonu sonrasında bu lokalizasyonda pial yüzeylerde ve parankim içinde kontrast tutulumları gözlenmiştir (Resim 1). HSV meningoensefaliti ön tanısı ile asiklovir (30mg/kg/gün) başlanan hastanın izleminin üçüncü gününde bilinci açılmış, bir hafta sonraki kontrol LP'sinde BOS biyokimyası normal ve lenfosit sayısı 22 hücre/mm³ olarak tespit edilmiştir. BOS kültürlerinde üreme olmamıştır. BOS'da özgül HSV antikorları ticari ELISA kiti (Dia.pro, Medicell) ile araştırılmış; HSV-1 IgG negatif, HSV-2 IgG pozitif ve HSV-1/2 IgM negatif olarak bulunmuştur. İzleminde nöbet gözlenmeyen hastanın, dokuzuncu günde çekilen EEG'sinde sol frontosantral bölgede epileptik aktivite saptanmıştır. İkinci haftasında jeneralize tonik klonik nöbetleri olan hastaya fenobarbital başlanmış ve tekrarlanan EEG normal bulunmuştur. İzleminin üçüncü haftasında, gözlerinde sola kayma ve kendini bırakma şeklinde nöbetleri olan hastanın LP'si tekrarlanmış; alınan BOS'nın biyokimyası normal, berrak görünümde ve direk incelemede 77 eritrosit içerdiği görülmüştür. Gerçek zamanlı PCR yöntemi ile BOS'da HSV-1 DNA'sı pozitif bulunmuştur (Şekil 1).

Resim 1. Olgunun ilk MRG bulgusu: Bilateral temporal kontrastlanma.

Şekil 1. Hastanın gerçek zamanlı PCR sonucu.

Gerçek zamanlı PCR yöntemi, FastStart DNA Master Plus Hibridization Probes kiti ile HSV'a özgül primerler (HSV polA: 5'- TgC ggT TgA TAA ACg CgC AgT ve HSV2 polF: 5'- gCT CgA gTg CgA AAA AgA AgT TC) kullanılarak gerçekleştirilmiş, amplifikasyon Lightcycler (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) cihazında yapılmıştır. Tm (Melting Curve) analizinde, amplifikasyon tamamlandıktan sonra HSV-1 ve -2'nin ayırd edilmesi için örnek 50°C'ye soğutulmuş ve 85°C'ye kadar yavaş yavaş (0.1°C/saniye) ısıtılmıştır.

İzleminin dördüncü haftasında çekilen EEG'de sol hemisferde epileptik aktivite görülmesi üzerine olgunun klinik açıdan dirençli olabileceği düşünülerek asiklovir dozu 60 mg/kg/gün'e çıkarılmıştır. Kontrol beyin MRG'sinde solda daha belirgin olmak üzere her iki temporal bölgede kontrastlanma ve ensefalomalazik değişiklikler saptanmıştır (Resim 2). Parsiyel nöbetleri devam eden hastanın tedavisine valproik asit eklenmiş, izleminde orofasiyal diskinezisi ortaya çıkan hastaya haloperidol başlanmıştır. Asiklovir artırılmış dozda 21 gün verilmiş, nöbetleri kontrol altına alınan ve orofasiyal diskinezisi olmayan hasta taburcu edilerek takibe alınmıştır.

Resim 2. Olgunun kontrol MRG bulguları: Temporal kontrastlanma (solda) ve ensefalomalazik değişiklikler (sağda).

TARTIŞMA

Herpes ensefaliti, sporadik ensefalitlerin en sık nedenidir ve yüksek mortalite ile seyretmektedir^{2,3}. Herpes enfeksiyonlarının nadir bir komplikasyonu olan HSV ensefalitinin 1/3'ü primer, 2/3'ü ise reaktivasyon sonucu ortaya çıkmaktadır¹. En sık tutulan bölgelerin, temporal loblar, hipokampus ve insula olduğu belirtilmektedir⁴.

Herpes ensefalitinin tanısı, EEG ve beyin MRG bulguları ile BOS ve serum bulgularına dayanır. Karakteristik MRG bulgusu inferior temporal loblardaki hiperintens alanlar olup, bilateral temporal lob tutulumunun patognomonik olduğu bildirilmiştir^{1,5,6}. Bazen erken dönemde MRG bulguları normal olabilir⁵. MRG'deki tutulumun şiddeti ile klinik bulguların şiddeti arasında ilişki olduğu bildirilmiştir⁷. Hastamızın beyin MRG'sinde bilateral temporal lob tutulumu olup, kontrolünde ek olarak ensefalomalazik değişiklikler görülmüştür. Herpes ensefalitinde EEG paterninin tipik olduğu, ardarda gelen keskin ve yavaş dalga

kompleksleri şeklinde görüldüğü ve hastalığın 2-15. günleri arasında ortaya çıktığı bildirilmektedir¹. Olgumuzun EEG'sinde bu özel patern görülmemesine karşın epileptik aktivite saptanmıştır.

Herpes ensefalitinde BOS bulguları; basınç artışı, 10-2000/mm³ hücre sayısı, lenfositler pleositoz, protein artışı, hafif azalmış veya normal glukoz düzeyi ve ksantokromi olarak saptanmaktadır^{1,2}. Hemorajik ensefalite sebep olduğundan BOS'nda sıklıkla görülen eritrosit tanıda yardımcıdır⁴. Erken dönemde BOS'nda parçalı lökositler görülebilir². Hastamızın yapılan ilk LP'sinde bol eritrosit ve düşük glukoz düzeyi saptanmış, kontrol LP'lerde ise BOS biyokimyası normal olmasına karşın lenfosit ve eritrosit varlığı tespit edilmiştir.

Herpes ensefalit/meningoensefalitlerinin virolojik tanısında önceleri hücre kültürü yöntemi altın standart olarak kabul edilirken, moleküler tekniklerin gelişmesine bağlı olarak yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip gerçek zamanlı PCR yönteminin kullanımı konvansiyonel kültür yönteminin yerini almıştır. Günümüzde PCR ile BOS'nda HSV DNA'sının belirlenmesi, ensefalit tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir⁸. Metodun temeli, klasik PCR'da agaroz jel elektroforezi ile gösterilen ürünlerin tüp içindeki varlığının floresan boyalarla gösterilmesi ve amplifikasyon basamaklarının izlenmesine dayanmaktadır. Bu yöntem ile örnek laboratuvara geldikten sonra yaklaşık iki saat içinde HSV varlığı belirlenebilir. Ayrıca uygun eksternal standartlar konulduğunda kantitasyona da imkan veren bu metod aynı anda HSV tip 1 ve 2'yi de birbirinden ayırabilmektedir. Zeytinoğlu ve arkadaşlarının⁹ çalışmasında, ensefalitli hastaların BOS'nda PCR ile HSV-1 pozitiflik oranı %19.5 olarak bildirilmiştir. Mitchel ve arkadaşları¹⁰ ise bu oranı %7 olarak bildirmektedir.

Herpes ensefaliti olgularında asiklovir tedavisi başlandıktan sonra genellikle HSV DNA'sının BOS örneklerinde 1-2 hafta pozitif olarak saptanabildiği ifade edilmektedir¹¹. Schvoerer ve arkadaşları¹¹, reaktivasyon düşündükleri bir olguda asiklovir tedavisinin 23. gününde bile HSV DNA'sının tespit edilebildiğini bildirmişlerdir. Hastamızın BOS'nda ise üç haftalık tedavi sonrası HSV DNA pozitifliğinin halen saptanmaya devam etmesi, olgunun dirençli olduğunu düşündürmüştür.

Herpes ensefalitinin serolojik tanısı, özgül HSV antikorların intratekal sentezinin gösterilmesine dayanır. Bu amaçla eş zamanlı alınan serum ve BOS örneklerinde özgül antikor değerlerinin total antikor değerlerine oranı hesaplanarak elde edilen indeks değeri değerlendirilmektedir¹². Hastamızın BOS örneğinde HSV-1 IgG negatif, HSV-2 IgG pozitif ve HSV-1/2 IgM negatif olarak bulunmuş, ancak eş zamanlı serum örneği alınamadığından HSV-2 IgG pozitifliğinin değeri belirlenememiştir. Ayrıca, maternal antikorların enfeksiyon dışı nedenlere bağlı olarak BOS'na yansması olarak da değerlendirilebilecek olan bu pozitiflik, annenin HSV antikorlarına bakılamadığı için yorumlanamamıştır.

Herpes ensefalitinde tedaviye erken başlanması zorunludur. Tedavide 14-21 gün boyunca 8 saatte bir 30 mg/kg/gün dozunda asiklovir önerilmektedir¹³. Tedavi edilmeyen herpes ensefalitinin mortalitesinin %70'lere ulaştığı, tedavi ile

bu oranın %20-30'lara düştüğü belirtilmektedir^{3,13,14}. Tedavi edilmeyen ancak yaşayan olgularda ise ciddi nörolojik sekeller ortaya çıkar^{1,2}. Ayrıca başarılı tedaviye rağmen relaps oranlarının da azımsanmayacak düzeyde (%4-26) olduğu görülmektedir^{14,15}. Spastik kuadripleji, mikrosefali, körlük, epilepsi ve gelişme geriliği önemli morbidite nedenleri arasındadır. Olgumuzda da tekrarlayan nöbetlerin olduğu gözlenmiştir.

Herpes ensefalitinde tedavi başarısızlığından, postenfeksiyöz ensefalomyelit, latent virusun reaktivasyonu, 14 günlük standart tedavi rejiminin yetersiz kalması ve ilaç direnci gibi faktörler sorumlu tutulmaktadır². Hastamıza uygulanan 21 günlük 30 mg/kg/gün asiklovir tedavisine rağmen, BOS bulgularının devam etmesi ve klinik bulguların şiddetlenmesi üzerine asiklovir direnci olasılığı düşünülmüş ve ilacın dozu artırılmıştır (60 mg/kg/gün, 21 gün). Çalışmamızda asiklovir direncinin moleküler yöntemlerle gösterilmesi mümkün olamamış, ancak olgumuzun kliniğinde kötüleşme olduğu dönemde BOS örneğinde PCR ile HSV-DNA pozitifliği saptandığından, bu direncin hem klinik hem de virolojik olduğu düşünülmüştür.

Asiklovir direncinin immün yetmezliği olan hastalarda daha sık saptandığı bildirilmektedir^{16,17}. Bir çalışmada, immün yetmezliği olan hastalarda asiklovir direnci %4.7, normal olan hastalarda %0 olarak bildirilirken¹⁶, 12 yıllık başka bir çalışmada bağışık yanıtı normal olan hastalarda asiklovir direnci %0.3 olarak rapor edilmiştir¹⁷. Ayrıca ülkemizden sunulan bir raporda da, bağışık yanıtı normal olan bir olguda asiklovir direncinden söz edilmektedir¹⁸. Bizim olgumuz ise, immün yetmezlikli olmamakla birlikte, yaşı (11 ay) dikkate alındığında immün sistemin yeterince gelişmemiş olması nedeniyle bu riskli gruba dahil edilebilir. Sonuç olarak, karşılaşma olasılığı düşük olsa da, standart asiklovir tedavisi uygulanan HSV ensefaliti olgularında izlemin dikkatle yapılması ve klinik yanıtın gecikmesi ya da alınamaması durumunda direnç varlığının değerlendirilerek tedavi protokolünün düzenlenmesi kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Roos KL. Encephalitis. *Neurol Clin* 1999; 17: 813-25.
2. Griffin DE. Encephalitis, myelitis, and neuritis, pp: 1009-163. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 2000, 5th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia.
3. Loon AM, Cleator GM, Klapper PE. Herpesviruses, pp: 2021-39. In: Cohen J, Powderly WG (eds), Infectious Diseases. 2004, 2nd ed. Mosby Co, London.
4. Mutluer N. Ensefalomiyelitler ve nöritler, s: 1019-23. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (ed), Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2002, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
5. Gordon K. Infection and inflammation, pp: 1361-78. In: Stark DD, Bradley WG (eds), Magnetic Resonance Imaging. 1999, Mosby Co, St.Louis, Missouri.
6. Arıbas E, Türk Ü. Herpes simpleks virus ensefaliti: bir olgu sunumu. *Flora* 1996; 2:123-6.
7. Lamade UKM, Lamade WR, Wildemann BT, et al. Herpes simplex virus encephalitis: chronic progressive cerebral magnetic resonance imaging abnormalities in patients despite good clinical recovery. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 148-9.

8. Eroğlu C, Güldiken T, Sarıkaya H, Sünbül M, Esen Ş, Leblebicioğlu H. Herpes simplex'e bağlı meningo-ensefalitlerin real-time PCR metodu ile saptanması. 2. Ulusal Viroloji Kongresi, 13-17 Eylül 2005, Kemer/Antalya. Kongre Kitabı, s: 230.
9. Zeytinoglu A, Altuğlu I, Sayiner A, et al. Herpes ensefalitinin beyin omurilik sıvısı örneklerinden polimeraz zincir reaksiyonu ile tanısı. *Flora* 2000; 5: 179-82.
10. Mitchell PS, Espy MJ, Smith TF, et al. Laboratory diagnosis of central nervous system infections with herpes simplex virus by PCR performed with cerebrospinal fluid specimens. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2873-7.
11. Schvoerer E, Frechin V, Fritsch S, et al. Atypical symptoms in patients with herpesvirus DNA detected by PCR in cerebrospinal fluid. *J Clin Virol* 2006; 35: 458-62.
12. Jacobi C, Lange P, Reiber H. Quantitation of intrathecal antibodies in cerebrospinal fluid of subacute sclerosing panencephalitis, herpes simplex encephalitis and multiple sclerosis: discrimination between microorganism-driven and polyspecific immune response. *J Neuroimmunol* 2007; 187: 139-46.
13. Gnann JW, Salvaggio MR. Drugs for herpesvirus infections, pp: 1895-909. In: Cohen J, Powderly WG (eds), *Infectious Diseases*. 2004, 2nd ed. Mosby Co, London.
14. Piekarska A. Diagnostic difficulties in herpes simplex encephalitis patients: report of three cases. *Neurol Neurochir Pol* 2003; 37: 409-17.
15. Ito Y, Kimura H, Yabuta Y, et al. Exacerbation of herpes simplex encephalitis after successful treatment with acyclovir. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 185-7.
16. Englund JA, Zimmerman ME, Swierkosz EM, et al. Herpes simplex virus resistant to acyclovir. A study in a tertiary care center. *Ann Intern Med* 1990;112: 416-22.
17. Collins P, Ellis NM. Sensitivity monitoring of clinical isolates of herpes simplex virus to acyclovir. *J Med Vir* 1993; 1 (Suppl): 58-66.
18. Gurses N, Kalaycı AG, Islek I, Us D. Failure of acyclovir sodium therapy in herpes simplex encephalitis. *Ann Trop Paediatr* 1996;16: 173-5.