

Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonu Ön Tanılı Hastaların Kan ve Beyin Omurilik Sıvısı Örneklerinde Batı Nil Virüsünün Araştırılması ve Sonuçların Karşılaştırılması

Zülfü BAYAR, Mustafa YILMAZ, Zülal AŞCI TORAMAN, Yasemin BULUT

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Batı Nil virüsü (BNV); ilk defa 1937 yılında Uganda'nın Batı Nil kesiminde izole edilmiştir. Bu virüs Flaviviridae ailesi, Flavivirüs cinsi ve Japon ensefaliti virüsü serokompleksi içerisinde sınıflandırılan, 45-50 nm büyüklüğünde, zarflı ve ikozahedral yapıya sahip bir RNA virüsüdür. Çalışmamızın amacı, SSS enfeksiyonu ön tanılı hastaların kan ve/veya beyin-omurilik sıvısı (BOS)'nda BNV'ye özgü antikorların veya viral nükleik asidin gösterilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Santral Sinir Sistemi enfeksiyonu ön tanısıyla tedavi gören ve herhangi bir patojen mikroorganizma tespit edilemeyen hastaların, hastanenin merkez laboratuvarına gönderilen rutin kan ve BOS örnekleri toplandı. Yaş, cinsiyet ve gönderilen servis ayırımı yapılmaksızın kırk yedi hastanın 94 örneği (47'si BOS ve 47'si kan) değerlendirilmeye alındı. Bu örneklerde ELISA ve RT-PCR yöntemleriyle BNV araştırıldı.

Bulgular: Çalışmaya alınan hastaların yaş ortalaması 19 idi. Bu çalışmanın BOS örneklerinde; pleositoz (ortalama 155 hücre), orta derece protein artışı (ortalama 89 mg/dL) ve hafif glukoz (ortalama 53 mg/dL) düşüklüğü tespit edilmiştir. Bu çalışmada, yalnızca bir hastanın kan örneğinde ELISA yöntemi ile BNV IgM şüpheli pozitif saptanmıştır. Diğer örneklerde BNV IgG ve IgM antikorları negatif olarak saptanmıştır. Bu şüpheli örneğin BOS'u ve kanı gerçek zamanlı RT-PCR yöntemi ile negatif bulunmuştur. Benzer şekilde tüm örnekler gerçek zamanlı RT-PCR yöntemi ile de çalışılmış, BNV'ye ait RNA tespit edilememiştir.

Sonuç: Çalışmamızda şüpheli değer ELISA yönteminde görülebilen çapraz reaksiyonlara bağlanmıştır. BNV seronegatifliği büyük ölçüde çalışmaya alınan hastaların yaş ortalamasının (ortalama: 19) düşük olmasından kaynaklanmıştır. Ayrıca PCR ve ELISA'yı beraber dikkate aldığımızda çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre, bölgede BNV kaynaklı SSS enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Ekolojik koşullara bağımlı olarak daha kapsamlı çalışmalara gereksinim olacaktır. Çalışmamızın bu konuda ülkemiz BNV veri tabanına yarar sağlamasını ümit etmekteyiz.

Anahtar kelimeler: BNV, BOS, ELISA, RT-PCR

SUMMARY

Investigation of West Nile Virus in Cerebrospinal Fluid and Blood Samples of Patients with Initial Diagnosis of Central Nervous System Infection and Comparison of Results

Objective: West Nile Virus (WNV) was firstly isolated in 1937 in West Nile area of Uganda. This virus is an enveloped, 45-50 nm sized RNA virus with icosahedral symmetry that is classified in the Japanese encephalitis virus serocomplex of genus flavivirus of the family flaviviridae. The aim of our study is to show WNV specific antibodies or viral nucleic acid in blood and/or cerebrospinal fluid (CSF) of the patients with initial diagnosis of CNS infections.

Materials and Methods: Routine blood and CSF samples without any identifiable pathogenic microorganism of the patients who were treated with the initial diagnosis of central nervous system infection which were sent to the hospital's central laboratory, were collected. Ninety-four samples of 47 patients (47 CSF and 47 blood) were examined with no distinction of age, gender, and service. WNV were examined by ELISA and RT-PCR methods in these samples.

Results: Average age of the patients included in this study was 19 years. CSF samples of the patients showed pleocytosis (average 155 cells), moderately high protein levels (mean 89 mg/dl) and mildly low glucose levels (mean 53 mg/dl). In this study, only in one patient's blood sample suspect WNV IgM positivity was detected by ELISA. In all other samples WNV IgM and IgG antibodies were not detected. The CSF and blood samples of the suspected WNV IgM positive samples were found to be negative by RT-PCR method. Similarly, all samples were tested by RT-PCR method and no RNA related to WNV was detected.

Conclusion: In our study, suspect positive result was considered to be related with cross reactivity that can be detected in ELISA method. BNV seronegativity mostly resulted from the low mean age level (mean: 19) of the patients included in the study. Also according to the data we obtained in our study with PCR and ELISA, WNV borne CNS infections were not encountered in our region. Depending on the ecological conditions more comprehensive studies will be needed. We hope our work is of benefit for the WNV database in our country.

Key words: WNV, CSF, ELISA, RT-PCR

Alındığı tarih: 29.01.2016

Kabul tarihi: 07.04.2016

Yazışma adresi: Zülfü Bayar, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 2016 Elazığ

e-posta: bayarzulfu@gmail.com

GİRİŞ

Batı Nil virüsü insanlarda, subklinik enfeksiyondan ölüme kadar uzanan farklı klinik tablolara sebep olmaktadır⁽¹⁾. İnsanda görülen BNV enfeksiyonlarının büyük bir kısmı (%80) asemptomatik seyrederek. BNV, enfekte insanların 1/5'inde (%20) Batı Nil Ateşi denilen; genellikle 3-6 gün süren ani ateş yükselmesi, baş ağrısı, sırt ağrısı, miyalji, hâlsizlik, anoreksi, bulantı, kusma gibi semptomlarla karakterize, sıklıkla yaygın lefadenopatinin eşlik ettiği kendini sınırlayan grip benzeri klinik tablo oluşturur⁽²⁾. Nörolojik tutulumun olmadığı BNV ile enfekte olguların tamamı iyileşirken, SSS hastalığı olanlarda uzun süren morbidite ve %10'u aşan mortalite görülmüştür⁽¹⁾.

BNV ile enfekte insanlarda santral sinir sistemi (SSS) tutulumuna bağlı nöroinvaziv hastalık gelişme oranı %1'den daha az oranda bildirilmiştir. Batı Nil virüsü ile enfekte olguların ileri yaşta olması (50 ve üzeri yaş) invaziv nörolojik hastalık açısından en anlamlı risk faktörüdür. 1999 yılındaki New York salgınının semptom analizi ile, ciddi nörolojik hastalık insidansının 50-59 yaş arası kişilerde, 0-19 yaş arası kişilerden 10 kat; 80 yaş ve üstü kişilerde ise, 0-19 yaş arası kişilerden 43 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir⁽³⁾. Batı Nil virüsünün SSS'ye yayılması, vireminin en yüksek olduğu virüsün periferik dokulardan temizlenmesinden hemen önceki dönemde gerçekleşir⁽⁴⁾. Kan-beyin bariyerini aşmış SSS'ye ulaşan virüs, serebral korteks, hipokampus, bazal ganglionlar, serebellum, beyin kökü ve omuriliği enfekte eder⁽⁵⁾. Beyin ve omurilikte BNV'nin birinci hedefi nöronlar olduğundan, ilk patolojik hasar nöronlarda dejenerasyon, yapı ve fonksiyon kaybı ile apoptozdur⁽⁶⁾.

BNV'ye bağlı SSS tutulumunda meningoensefalit en sık görülen klinik tablodur. Ancak tek başına menenjit veya ensefalit olguları da

bildirilmiştir⁽¹⁾. Ciddi SSS enfeksiyonu olgularında yüksek ateş, baş ağrısı, kas zayıflığı, ense sertliği, uyuşukluk, konfüzyon, koma, kas titremeleri, konvülsiyonlar görülür ve nihayetinde akut flask paralizi oluşur^(7,8). Asimetrik kuvvet kaybının görüldüğü, spinal ön boynuz hücrelerinde hasarın olduğu, duyu tutulumunun olmadığı bu klinik tablo poliyomiyelit paralizisine benzer⁽⁸⁾.

Batı Nil virüsü'ne bağlı SSS enfeksiyonlarının tanısı, klinik bulguların laboratuvar sonuçlarıyla uyumlu olması sonucu konulur⁽³⁾. Ateş ve açıklanamayan nörolojik belirtiler, hâlsizlik, kaslarda güçsüzlük, eritematöz döküntü ve baş ağrısı ile BNV'nin endemik olduğu bölgelerde, ilkbaharın sonu ile sonbahar başında ya da sıcak iklimlerde yılın herhangi bir döneminde hastaneye başvuran hastalarda BNV enfeksiyonunun ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Bu amaçla, tam kan sayımı, BOS hücre sayımı, glukoz ve protein düzeyi testleri; BNV serolojisi, beyin görüntüleme yöntemleri (MR gibi), EEG (Elektroensefalografi) ilk etapta önerilen tetkiklerdendir⁽⁹⁾. BNV'ye bağlı nöroinvaziv hastalığı olanlarda hafif düzeyde lökositoz ya da lenfositopeni saptanabilir⁽¹⁰⁾. BNV kaynaklı meningoensefalit olgularının BOS bulguları; pleositoz (ortalama 30-100 hücre/ μ l, lenfosit baskın), hafif-orta düzeyde protein artışı ve normal glukoz düzeyi olarak belirtilmiştir^(1,10).

Rutin klinik bulgular ve laboratuvar testleri BNV enfeksiyonunun diğer viral etkenlerden ayırıcı tanısında yetersiz kaldığından BNV, özgül virolojik yöntemlere doğrulanmalıdır. Bunun için kan veya BOS'ta BNV'ye özgül antikorların veya viral RNA'nın gösterilmesi şarttır^(1,11,12). Batı Nil virüsü enfeksiyonunda özgül IgM antikorları 2-8 gün içinde pozitifleşir, enfeksiyondan sonra 2 hafta yüksek kalır ve birkaç hafta ya da ay içinde kaybolur. Ancak bazı olgularda serum IgM antikorları, 1 yıldan daha uzun süre kalabilir⁽³⁾. Nöroinvaziv BNV hastalığı

olanlarda ise IgM, SSS bulgularının başladığı genellikle 8. günde serum ve BOS'ta saptanabilir⁽¹⁴⁾. BNV ensefaliti geçiren ve iyileşen hastaların %36'sında 12 ay, %20'sinde ise 16 ay boyunca serum IgM pozitifliğinin devam ettiği, bazı hastaların BOS'unda ise IgM düzeyinin 199 günden fazla saptandığı bildirilmiştir^(15,16). IgG antikorları ise, genellikle hastalık semptomlarının başlangıcından sonra 12. günde, yani IgM'nin pozitifleşmesinden birkaç gün sonra, serumda saptanabilir düzeye ulaşır ve üç hafta boyunca göreceli olarak yükselip uzun yıllar kalıcı olmaktadır^(1,13).

Batı Nil virüsünün laboratuvar tanısında en etkili yol; klinik bulguların görüldüğü 8.-14. günlerde alınan serum veya 8. günden sonra alınan BOS örneğinde IgM antikorlarının MAC-ELISA (IgM-Antibody Captured-ELISA) yöntemiyle araştırılmasıdır⁽¹⁰⁾. Bu yöntem, ticari olarak temin edilebilir, kolay uygulanabilir ve duyarlılığı yüksek (%95) bir yöntemdir⁽⁹⁾. BNV'ye karşı oluşan IgM antikorları, kan-beyin bariyerini geçemediğinden, BOS'ta BNV IgM pozitifliği, SSS enfeksiyonunu kuvvetle doğrular^(10,12). Fakat serumda BNV IgM pozitifliğini dikkatli yorumlamak gerekir^(9,10,17). Örneğin, klinik belirtilerin görülmesinden sonraki ilk 72 saatte IgM varlığının araştırılması antikor yanıtının kinetiği nedeniyle yalancı negatif sonuç verebilir^(9,17). Aynı şekilde BNV IgM; Japon ensefaliti, St.Louis ensefaliti, Dengue, sarı humma gibi diğer akraba flaviviruslerle çapraz reaksiyona girdiğinden yalancı pozitif sonuçlar verebilir^(10,11). Ayrıca diğer birçok enfeksiyonun aksine BNV'ye karşı oluşan IgM antikorları, serumda bir yıla kadar hatta daha uzun süre kalıcı olduğu için bir tek serum örneğinde IgM pozitifliği akut BNV enfeksiyonunu için yetersizdir^(1,18). Bütün bu olumsuzlukların önüne geçmek için CDC tarafından BNV doğrulama kriterleri geliştirilmiştir⁽¹⁹⁾;

- Doku, kan, BOS ve diğer vücut sıvılarının

dan BNV'nin izolasyonu ya da bu örneklerde BNV antijenlerinin veya genom dizilerinin gösterilmesi,

- BOS örneğinde MAC-ELISA ile BNV IgM antikorlarının gösterilmesi,
- Uygun zaman aralıkları ile alınmış çift serum (en az 14 gün arayla alınmış) ve BOS örnekleri arasında BNV'ye özgü nötralizan antikor titresinde en az 4 kat artışın olması ve plak redüksiyon nötralizasyon testi (PRNT) ile doğrulanması,
- Tek bir serum örneğinde, MAC-ELISA ile BNV IgM pozitifliği ile birlikte, ELISA ile saptanmış ve PRNT ile doğrulanmış IgG pozitifliği.

Batı Nil virüsünün teşhisinde, kan, BOS ve dokularda viral RNA'nın tespiti için nükleik asit amplifikasyon testleri kullanılabilir^(2,13,20,21). Viremi düzeyi düşük ve kısa süreli olduğu için kandan BNV'nin izolasyonu genellikle başarısız olmaktadır^(1,2,7,13). Buna rağmen, nörolojik tutulum için viral yükün yüksek olması, duyarlılıkları düşük de olsa nükleik asit testlerinin önemini artırmıştır^(18,19). Kullanılan moleküler yöntemler arasında gerçek zamanlı RT-PCR ve nükleik asit dizi temelli amplifikasyon en duyarlı olanlardır. Bu yöntemlerin viral RNA'yı saptama düzeyinin (≥ 50 kopya/ml) hücre kültüründen 1,000 kat daha duyarlı olduğu belirtilmiştir⁽²¹⁾. Bir çalışmada, BNV meningoensefaliti olan hastalarda RT-PCR yönteminin BOS ve serum örneklerindeki duyarlılığı sırasıyla %57 ve %14 olarak raporlanmıştır⁽²⁰⁾.

Türkiye'deki BNV varlığı gösterilmiş olmasına rağmen, BNV'nin bölgelerimizde santral sinir sistemi enfeksiyonlarına neden olup olmadığına dair veriler sınırlıdır. Bu çalışmanın amacı, Fırat Üniversitesi Hastanesinde santral sinir sistemi enfeksiyonu öntanısıyla tedavi gören ve bakteriyolojik, serolojik, moleküler yöntemler kullanıldığı hâlde herhangi bir patojen mikroorganizma

tespit edilemeyen hastaların, merkez laboratuvarına gönderilen kan ve BOS örneklerinde BNV'nin serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılmasıdır. Bu çalışmanın amacı; bölgemizde BNV'ye bağlı SSS enfeksiyonlarının olup olmadığının belirlenmesi ve kullanılacak yöntemlerin güvenilirliğinin araştırılması, hastalığın güncel durumu hakkında bilgi sağlanması, tıp ve sağlık çevresinde farkındalığın oluşturulması ve Türkiye'de BNV enfeksiyonlarının seroepidemiolojik verilerine katkıda bulunulmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yürütüldü. Ocak 2013-Mayıs 2015 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Hastanesinde, santral sinir sistemi enfeksiyonu ön tanısıyla tedavi gören ve herhangi bir patojen mikroorganizma tespit edilemeyen hastaların, hastanenin merkez laboratuvarına gönderilen rutin kan ve BOS örnekleri toplandı. Yaş, cinsiyet ve gönderilen servis ayrımını yapılmaksızın 47 hastadan 94 örnek (47'si BOS ve 47'si kan) değerlendirmeye alındı. Bu örnekler, ELISA yöntemiyle BNV'ye karşı IgM ve IgG tipinde antikor varlığını ve gerçek zamanlı RT-PCR yöntemiyle nükleik asit varlığını araştırmak amacıyla çalışmaya dâhil edildi. BOS örnekleri, basit mikroskopik inceleme, Gram boyama, asido-rezistan boyama işlemlerine alındı. Bu örnekler kanlı, çukulatalı, EMB, Löwenstein-Jensen ve MGIT 960 besiyerlerine ekildi. Bu işlemlerde herhangi bir mikroorganizma tespit edilen örnekler ile serolojik (ELISA) veya moleküler yöntemlerle SSS'de enfeksiyon yapabilen herhangi bir mikroorganizma tespit edilen kan ve BOS örnekleri çalışma dışı bırakıldı.

Biyokimya tüpünde gelen kan örnekleri 4000 rpm'de 15 dk. santrifüj edilerek serumları ayrıldı. BOS ve serum örnekleri steril pipet uçları kullanılarak steril burgulu kapaklı mikro santri-

füj tüplerine aktarılıp numaralandırıldı. Çalışma gününe kadar -80°C'lik derin dondurucuda saklandı.

BOS ve serum örneklerinde BNV varlığının araştırılması için BNV antikorlarını bulmaya yönelik ticari Anti-West Nile Virus IgG (Euroimmun, Almanya) ve Anti-West Nile Virus IgM (Euroimmun, Almanya) ELISA kitleri kullanıldı. Bu ELISA çalışmaları üretici firmanın belirttiği test prosedürüne uygun olacak şekilde Grifols Triturus® (Birleşik Krallık) tam otomatik ELISA cihazında gerçekleştirildi.

Gerçek zamanlı RT-PCR yöntemi ile BNV varlığı virüse ait RNA'yı tespit etmeye dayalı ticari olarak temin edilen kit ile yapıldı (Primerdesign™ Genesig® Kit for West Nile Virus (WNV), Qiagen, Almanya). Üretici firmanın önerileri doğrultusunda tüm örneklerden RNA saflaştırılması QIASymphony® SP System cihazında yapıldı ve Rotor-Gene (Qiagen, Almanya) cihazında bütün örnekler "One Step RT-PCR" protokolü uygulandı.

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığınca 27.12.2012 tarih, 21 sayılı toplantı ve 05 nolu Etik Kurulu kararı alınarak yapılmıştır. Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

BULGULAR

Yaptığımız çalışmada Fırat Üniversitesi Hastanesi merkez laboratuvarına rutin olarak gönderilen SSS enfeksiyonu ön tanılı olup, herhangi bir patojen mikroorganizma tespit edilemeyen, 47 adet hastanın 47'si BOS ve 47'si kan (Her hastanın hem BOS hem kan örneği eşzamanlı olarak alındı) olmak üzere toplam 94 numunesi ele alındı.

Tablo 1. Hastaların yaş ve cinsiyetlerine göre dağılım oranları.

	Yaş					Toplam
	0-2	3-18	19-40	41-64	65-72	
Kadın	6 (%12.8)	4 (%8.5)	6 (%12.8)	4 (%8.5)	2 (%4.3)	22 (%46.8)
Erkek	10 (%21.3)	7 (%14.9)	7 (%14.9)	0 (%0.0)	1 (%2.1)	25 (%53.2)
Toplam	16 (%34.1)	11 (%23.4)	13 (%27.7)	4 (%8.5)	3 (%6.4)	47 (%100.0)

Çalışmaya aldığımız hastaların yaş ortalaması 19 olup, yaş ve cinsiyet dağılım oranları tabloda verilmiştir (Tablo 1).

Laboratuvarımıza SSS enfeksiyonu şüphesi ile gönderilen BOS örneklerinin, yaptığımız mikroskopik ve biyokimyasal analizler sonucu BOS hücre sayısı, BOS protein değeri, klor değeri beklenen derecede ılımlı yüksek ve BOS glukoz değeri de ılımlı düşük olup, viral SSS enfeksiyonu ile uyumlu olduğu görülmektedir (Tablo 2).

Tablo 2. BOS laboratuvar bulguları.

BOS Bulguları	Değerler	Ortalama	Sınırlar
Hücre sayısı (/mm ³)	0-1200	155	-
Glukoz (mg/dL)	3-105	53	75-115
Protein (mg/dL)	1.3-461	89	15-45
Klor (mmol/L)	106-136	122	98-110
Sodyum (mmol/L)	138-154	146	135-145
Potasyum (mEq/L)	2.4-3.1	2.7	3.5-5.5

Yaptığımız çalışmada toplam 47 BOS örneğinin tamamında BNV IgG antikorları negatif saptandı. Toplam 47 kan örneğinin tamamında da BNV IgG antikorları negatif saptandı. Benzer şekilde 47 BOS örneğinin tamamında BNV IgM antikorları negatif saptandı ve 47 kan örneğinin ise 46'sında BNV IgM antikorları negatif saptandı. Yalnızca bir kan örneğinde BNV IgM şüpheli pozitif (intermediate) bulundu. BOS örneklerin %100'ü (47/47) BNV IgG antikorları açısından negatif, %97.9 (46/47)'u BNV IgM antikorları açısından negatif, %2.1 (1/47)'i ise BNV IgM antikorları açısından şüpheli pozitif saptandı. Şüpheli kan örneği 29 yaşında bir kadın hastaya ait olup, nörolojik semptomlardan dolayı tedavi almak-

taydı. Bu hastanın BOS'unda pleositoz (500 hücre, eritrosit baskın) bulunmaktaydı. Protein normal sınırlarda, glukoz hafif düşük ve klor hafif yüksekti.

ELISA sonuçlarını moleküler bir yöntem ile karşılaştırmak amacıyla 47 hastanın 47'si BOS ve 47'si kan olmak üzere toplam 94 örneğin tamamında uygulanan gerçek zamanlı PCR yönteminde, çalışılan örneklerin tamamı viral RNA açısından negatif olarak tespit edildi.

TARTIŞMA

Ülkemizde SSS tutulumu ile seyreden BNV olguları sınırlıdır. 2009 yılında Ankara bölgesinde BNV ensefaliti 62 yaşındaki bir kadın hastada tespit edilmiştir⁽²²⁾. 2010 yılında da 56 ve 61 yaşlarındaki iki erkek hastada tespit edilmiştir⁽²³⁾. Bu hastalarda yüksek ateş, baş ağrısı, hâlsizlik, konfüzyon ve bilinç kaybı olmuş, fakat fokal nörolojik bulgu görülmemiştir. BOS'ta lenfositik pleositoz, protein artışı ve özgül IgM antikorları saptanmıştır^(22,23). Ankara bölgesinde de 2011 yılında bilinç bulanıklığı, oryantasyon, tremor, karaciğer enzimlerinde yükseklik, BOS'da pleositoz ve protein artışı, serumda ise BNV'ye özgül IgM varlığı ile karakterize bir olgu rapor edilmiş ve hasta yatışının dokuzuncu gününde eksitus olmuştur⁽²⁴⁾.

Mayıs 2012'de yayınlanan raporlarında Öcal ve ark.⁽²⁵⁾ bilinç bulanıklığı, el-kol ve yüzde kas kısılmaları yakınmaları ile başvuran bir hastanın BOS ve serum örneğinin her ikisinde de BNV RNA'sını PCR yöntemiyle pozitif bulmuş-

tur. Ertilav ve ark.⁽²⁶⁾ ise 2014 yılında böbrek nakli yapılmış bir hastada, posttransplantasyonel dönemde meningoensefalit gelişen bir hastanın BOS ve kan örneğini BNV açısından takibe almış, hastanın BOS'unda BNV RNA'sı In-house RT nested PCR yöntemiyle pozitif saptanmıştır. Kan örneği ise aynı yöntemle negatif olarak rapor edilmiştir.

Petersen ve ark.'nın⁽¹⁾ TaqMan yöntemi ile yapmış oldukları bir çalışmada, RT-PCR test sonuçları, BOS örneklerinin %55'inde ve serum örneklerinin %10'unda BNV RNA pozitif saptanmıştır. Bu durum viremi düzeyinin düşük olmasına bağlanmıştır. Başka bir çalışmada da, PCR sensitivitesi RT-PCR metodunda BOS'ta %57, serumda %14 olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmanın sonucuna göre BNV tanısında düşük duyarlılık gösterdiğinden PCR yönteminin serum örneklerinde rutin tanı yöntemi olarak kullanılmaması gerektiği bildirilmiştir⁽²⁷⁾.

Batı Nil virüsü'nün transplasental geçişi ile ilgili olarak, Ağustos 2002'de acil servise başvuran 20 yaşında gebe bir kadının BOS ve serum örneklerinde BNV IgM pozitifliği saptanmıştır⁽²⁸⁾. Hasta kadın 5 hafta sonra doğum yapmış, yenidoğanda serolojik testlerle BNV izole edilmiştir. Yenidoğan bebekte bilateral koryoretinit ve MR (Manyetik Rezonans görüntüleme)'da temporal ve oksipital loblarda beyaz cevher kaybı gözlenmiştir⁽²⁸⁾.

Türkiye'ye en yakın coğrafya olan Yunanistan'da ise, en yakın tarihli Avrupa'daki BNV salgını 2010 Temmuz-Ağustos ayları arasında bildirilmiştir. Bu salgında nöroinvasiv 81 olgu bildirilmiştir. Özellikle 50 yaş üzerindeki hastalarda ensefalit, menenjit ve meningoensefalit bulgularının görüldüğü bu salgındaki olguların yaş ortalaması 70 olarak rapor edilmiştir⁽²⁹⁾.

BNV kaynaklı meningoensefalit olgularının BOS bulguları, pleositoz (ortalama 30-100

hücre/ μ L, lenfosit baskın), hafif-orta düzeyde protein artışı ve normal glukoz düzeyi olarak belirtilmiştir^(1,30). Çalışmamızın BOS bulguları ise pleositoz (ortalama 155 hücre), orta derece protein artışı (ortalama 89 mg/dL) ve hafif glukoz (ortalama 53 mg/dL) düşüklüğü ile karakterize olup, viral SSS enfeksiyonlarının BOS bulgularıyla uyusmaktadır.

Çalışmamıza benzer bir çalışma olarak Ergünay ve ark.⁽³¹⁾, 2010 yılında, Hacettepe Üniversitesi Hastanesinde aseptik menenjit/ensefalit ön tanısı olan 87 yetişkin hastanın serum ve BOS örneklerinden ELISA ve IFA yöntemleri ile BNV IgM ve IgG antikorlarını araştırmıştır. Bu çalışmada, serum örneklerinden 8 (%9.2)'inde IgM, 3 (%3.4)'ünde IgG pozitif olarak raporlanmıştır. Ergünay ve ark.⁽³¹⁾ bu çalışmada, yalnızca erişkin hastaları dikkate almıştır. Sunulan araştırmada ise farklı olarak, anneden bebeğe BNV geçişini saptamak amacıyla yenidoğan bebekleri ve çoğu zaman çalışmalara alınmayan çocuklar da ilave edilmiştir.

Sunulan araştırma, Doğu Anadolu bölgesinin çeşitli illerinden hasta kabul eden Fırat Üniversitesi Hastanesinde (Elazığ) yapılmıştır. Bu çalışmamızda 47 hastadan eşzamanlı olarak 47 BOS ve 47 serum örneğini ELISA ve gerçek zamanlı RT-PCR yöntemleri ile BNV IgG, IgM ve RNA açısından değerlendirmeye aldık. Serum örneklerinin yalnızca 1 (bir)'inde (%2.12) BNV IgM şüpheli pozitif bulunmuş olup geriye kalan 46 serum örneği BNV IgM açısından negatif bulunmuştur. Bu şüpheli örneğin BOS'u ve kanı RT-PCR yöntemi ile negatif bulunmuştur. Benzer şekilde tüm örnekler RT-PCR yöntemi ile de çalışılmış BNV'ye ait RNA tespit edilememiştir.

Sunulan araştırmada şüpheli değer ELISA yönteminde görülebilen çapraz reaksiyonlara bağlanmıştır. Çalışmada, BNV seronegatifliği büyük ölçüde çalışmaya alınan hastaların yaş ortalaması (ortalama 19)'nın küçük olmasından kaynak-

lanmıştır. Ayrıca PCR ve ELISA'yı beraber dikate aldığımızda çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre, bölgemizde BNV kaynaklı SSS enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Ekolojik koşullara bağımlı olarak daha kapsamlı çalışmalara gereksinim olacaktır. Çalışmamızın bu konuda ülkemiz BNV veri tabanına yarar sağlamasını ümit etmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Sampathkumar P.** West Nile virus: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and prevention. *Mayo Clin Proc* 2003; 78:1137-43. <http://dx.doi.org/10.4065/78.9.1137>
- Hayes EB, Sejvar JJ, Zaki SR, et al.** Virology, pathology and clinical manifestations of West Nile virus disease. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:1174-9. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1108.050289b>
- Petersen LR, Marfin AA.** West Nile virus: a primer for the clinician. *Ann Intern Med* 2002; 137:173-9. <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-137-3-200208060-00009>
- Diamond MS.** Evasion of innate and adaptive immunity by flavivirus. *Immunol Cell Biol* 2003; 81:196-206. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1440-1711.2003.01157.x>
- Rotbart HA.** Viral meningitis. *Semin Neurol* 2000; 20:277-92. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2000-9427>
- Diamond MS, Pierson TC, Fremont DH.** The structural immunology of antibody protection against West Nile virus. *Immunol Rev* 2008; 225:212-25. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00676.x>
- Solomon T, Ooi MH, Beasley DWC, Mallewa M.** West Nile encephalitis. *BMJ* 2003; 326:865-9. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.326.7394.865>
- Sejvar JJ, Leis AA, Stokic DS, et al.** Acute flaccid paralysis and West Nile virus infection. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:788-93. <http://dx.doi.org/10.3201/eid0907.030129>
- Huhn GD, Sejvar JJ, Montgomery SP, Dworkin MS.** West Nile Virus in the United States: an update on an emerging infectious disease. *Am Fam Physician* 2003; 68:653-60.
- Centers for Disease Control and Prevention. Information and guidance for clinicians: West Nile virus: clinical description 2004.
- Martin DA, Biggerstaff BJ, Allen B, Johnson AJ, Lanciotti RS, Roehrig JT.** Use of immunoglobulin M cross-reactions in differential diagnosis of human flaviviral encephalitis infections in the United States. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9:544-9. <http://dx.doi.org/10.1128/cdli.9.3.544-549.2002>
- Zhang W, Wu J, Li Y, Li F, Njoo H.** Rapid and accurate in vitro assays for detection of West Nile virus in blood and tissues. *Transfus Med Rev* 2009; 23:146-54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tmr.2008.12.008>
- Dauphin G, Zientara S.** West Nile virus: recent trends in diagnosis and vaccine development. *Vaccine* 2007; 25:5563-76. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.005>
- Martin DA, Muth DA, Brown T, Johnson AJ, Karabatsos N, Roehrig JT.** Standardization of immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assays for routine diagnosis of arboviral infections. *J Clin Microbiol* 2000; 38:1823-6.
- Roehrig JT, Nash D, Maldin B, et al.** Persistence of virus-reactive serum immunoglobulin M antibody in confirmed West Nile Virus encephalitis cases. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:376-9. <http://dx.doi.org/10.3201/eid0903.020531>
- Kapoor H, Signs K, Somsel P, Downes FP, Clark PA, Massey JP.** Persistence of West Nile Virus (WNV) IgM antibodies in cerebrospinal fluid from patients with CNS disease. *J Clin Virol* 2004; 31:289-91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2004.05.017>
- Busch MP, Kleinman SH, Tobler LH, et al.** Virus and antibody dynamics in acute West Nile virus infection. *J Infect Dis* 2008; 198:984-93. <http://dx.doi.org/10.1086/591467>
- The New York State Department of Health. Guidelines and recommendations for healthcare providers. 2003.
- Centers for Disease Control and Prevention. Epidemic/epizootic West Nile virus in the United States: guidelines for surveillance, prevention, and control. 3rd revision, 2003.
- Lanciotti RS, Kerst AJ, Nasci RS, et al.** Rapid detection of West Nile virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay. *J Clin Microbiol* 2000; 38:4066-71.
- Parida M, Posadas G, Inoue S, Hasebe F, Morita K.** Real-time reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of West Nile virus. *J Clin Microbiol* 2004; 42:257-63. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.42.1.257-263.2004>
- Ergünay K, Özkul A.** Ankara bölgesinde nedeni bilinmeyen santral sinir sistemi enfeksiyonu olgularında saptanan Batı Nil virüsü seropozitifliğinin doğrulanması. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45:381-3.
- Ergünay K, Sayiner AA, Litzba N, et al.** Multicentre evaluation of central nervous system infections due to Flavi and Phleboviruses in Turkey. *J Infect* 2012; 65:343-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2012.05.010>
- Yeşilkaya A, Kurt Azap O, Arslan H ve ark.** Ölümcül seyreden Batı Nil virüsü ensefaliti olgusu. *Mikrobiyol Bul* 2012; 46:488-92.
- Öcal M, Önder H, Arsava EM, Alp Ş, Özkul A, Ergünay K.** Ankara ilinde Batı Nil virüsü Köken-1 kaynaklı bir merkezi sinir sistemi enfeksiyonu olgusu. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47:164-72. <http://dx.doi.org/10.5578/mb.4474>
- Ertilav M, Özkul A, Zeytinoglu A, ve ark.** Böbrek

- nakli alıcısında Batı Nil virusuna bağlı meningoensefalit. *Mikrobiyol Bul* 2014; 48:674-82.
<http://dx.doi.org/10.5578/mb.8212>
- 27. Petersen LR, Roehrig JT.** West Nile virus: a reemerging global pathogen. *Emerg Infect Dis* 2001; 7:611-4.
<http://dx.doi.org/10.3201/eid0704.017401>
- 28.** Centers for Disease Control and Prevention. Intrauterine West Nile virus infection-New York. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002; 51:1130-6.
- 29. Papa A, Danis K, Baka A, et al.** Ongoing outbreak of West Nile virus infections in humans in Greece, July-August 2010. *Euro Surveill* 2010; 15:pii19644.
- 30.** Centers for Disease Control and Prevention. Information and guidance for clinicians: West Nile virus: clinical description, 2004.
- 31. Ergünay K, Aydoğan S, Menemenlioğlu D, et al.** Ankara bölgesinde nedeni bilinmeyen merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarında Batı Nil virusunun araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2010; 44:255-62.