

Menenjit Etkenlerinin Real-time PCR Yöntemiyle Araştırılması

Oya AKKAYA*, Hülya İren GÜVENÇ**, Asuman GÜZELANT*, Meral KAYA*, Şerife YÜKSEKKAYA*, Ayşegül OPUŞ*, Muhammet Güzel KURTOĞLU*, Habibe ÖVET*

*Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Konya Eğitim Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya

**Batman Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Batman

ÖZ

Amaç: Santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları, hızlı ilerleyerek ölüme veya ciddi kalıcı sekellere yol açabilmesi nedeniyle, hızlı tanı gerektiren hastalıkların başında gelir. Bu çalışmanın amacı, retrospektif olarak multiplex real-time PCR yöntemiyle BOS örneklerinden saptanan viral ve bakteriyel etkenlerin, yaşa ve mevsimlere göre dağılımını göstermektir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya hastanemiz moleküler ünitesine menenjit kuşkusuyla gönderilen 200 hastanın BOS örneği dâhil edildi. Viral etkenlerden adenovirus (AdV), sitomegalovirus (CMV), enterovirus (EV), Epstein-Barr virus (EBV), herpes simplex virus 1 ve 2 (HSV), insan herpesvirus 6 ve 7, insan parechovirus, parvovirus B19, varisella-zoster virus (VZV), bakteriyel etkenlerden de Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis ve Streptococcus pneumoniae pozitifliği multiplex real-time polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle araştırıldı.

Bulgular: Çalışmaya alınan 200 hasta örneğinin 50'sinde (%25) bakteriyel veya viral bir etken tespit edildi. Pozitif örneklerde enterovirus %6,5'lik oranla ilk sırada yer alırken, adenovirus ve HSV-1 %5 ile ikinci sırada, S. pneumoniae ise %3,5 ile üçüncü sırada yer aldı. Pozitiflik oranının en yüksek olduğu yaş aralığı 0-5 yaş idi. Dokuz hastada bakteri pozitif bulundu. İki örnekte iki virus koenfeksiyonu görüldü.

Sonuç: Menenjitlerde mortalite ve morbiditeyi azaltmak için erken tanı ve tedavi çok önemlidir. PCR gibi moleküler yöntemlerle etkenlerin erken saptanması olası olmaktadır. Multiplex PCR testleri kolay ve hızlı testlerdir ve çalışma sayısının artmasıyla epidemiyolojik verilerin daha da zenginleşeceği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Beyin omurilik sıvısı, polimeraz zincir reaksiyonu, santral sinir sistemi enfeksiyonları

ABSTRACT

Investigation of the Causative Agents of Meningitis By Real-Time PCR Method

Objective: Central nervous system (CNS) infections require rapid diagnosis because of their rapid progression to death or severe permanent sequelae. The aim of this study is to demonstrate retrospectively, the distribution of viral and bacterial agents detected by multiplex real-time PCR method in CSF samples in terms of patients' age and season of the infection.

Material and Methods: CSF samples of 200 patients which were sent to the molecular microbiology unit of our hospital with suspect meningitis were investigated in this study. Specimens were tested using multiplex real-time PCR assay for adenovirus (AdV), cytomegalovirus (CMV), enteroviruses (EV), Epstein-Barr virus (EBV), herpes simplex virus 1 and 2 (HSV), human herpes virus 6 and 7, human parechovirus, parvovirus B19, varicella-zoster virus (VZV) and among the bacterial pathogens Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis and Streptococcus pneumoniae.

Results: A bacterial or a viral agent was detected in 50 (25%) of the 200 samples analyzed in the study. Among positive samples most frequently (6.5%) enterovirus was detected, followed by adenovirus and HSV-1 (5%), and S. pneumoniae (3.5%). The highest rate of positivity was detected within age bracket of 0-5 years. Bacterial positivity was detected in 9 patients. The two viral coinfections were seen in 2 (1%) patients.

Conclusion: Early diagnosis and treatment of meningitis are very important to reduce mortality and morbidity. Early detection of the responsible agents may be possible with molecular methods, such as PCR. Multiplex PCR method is an easy and rapid test and it is considered that as the relevant studies increase in number, it will enrich the epidemiologically valuable data.

Keywords: Cerebrospinal fluid, polymerase chain reaction, central nervous system infections

Alındığı tarih: 08.02.2017

Kabul tarihi: 21.04.2017

Yazışma adresi: Oya Akkaya, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Konya Eğitim Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya

e-posta: oyaakkaya12@gmail.com

GİRİŞ

Santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları; menenjit, ensefalit, ensefalomiyelit, beyin apsesi, subdural ampiyem, epidural apse, intrakraniyal flebit gibi değişik klinik tablolarla seyredebilir. Beyin omurilik sıvısının inflamasyonu olarak tanımlanan menenjit, antimikrobiyal tedavi yöntemlerinde elde edilen gelişmeye rağmen, ciddi mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam etmektedir. Klinik tablonun hızlı ilerlemesi, ölüme veya ciddi kalıcı sekillere yol açabilmesi nedeniyle, hızlı tanı gerektiren hastalıkların başında gelir. Enfeksiyonlar akut veya kronik seyirli olabilir. Akut pürülan menenjitler genellikle bakteriyel, akut aseptik menenjitler ise genellikle viral etkenlidir. Menenjitlerin etiyolojik dağılımı, yaş, coğrafi farklılıklar, mevsim ve sosyoekonomik koşullara bağlı olarak önemli değişiklikler göstermektedir. Akut bakteriyel menenjit olgularının %80-85 kadarından *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* ve *Haemophilus influenzae* sorumlu olmasına karşın, belli yaşlarda ve bazı durumlarda etkenlerin görülme sıklığı değişebilir^(1,2). Etiyolojinin belirlendiği aseptik menenjit olgularının ise %80-95'inden polio dışı enterovirusların sorumlu olduğu bildirilmiştir⁽³⁾.

Viral menenjit tablosu, beyin omurilik sıvısı (BOS)'nda Gram boyama ve kültür teknikleri ile etken saptanamayan, BOS'ta protein artışı ve hücre artışının (genellikle lenfosit) olduğu tablodur^(4,5). Virüslerin konvansiyonel yöntemlerle tanımlanması çok geç olur. Hastanın klinik tablosu ilerledikten sonra, retrospektif olarak tanı konmuş olur⁽⁶⁾. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile aseptik menenjit etkenlerini belirlemedeki başarı günümüzde %50-70'lere ulaşmıştır. Bu başarıda özellikle nükleik asit saptama testlerinin kullanımı rol oynamıştır⁽⁷⁾.

Birçok virus benzer klinik tablolar oluşturabildiği için, eşzamanlı birden fazla etkeni belirleye-

bilecek PCR yöntemleri tanımlanmıştır. Viral etkenlerin hızlı, duyarlı ve özgül olarak tanınması, gereksiz antibiyotik veya antiviral kullanımı, invaziv ve pahalı ek testlerin yapılmasını önleyerek ve hastanede kalış süresini azaltarak da kazanımlar sağlamakta; epidemiyolojik bilgiler toplanabilmekte, koruyucu ve tedavi edici çalışmalar yapılabilir⁽⁸⁾.

Viral ve bakteriyel menenjitte klinik seyir başlangıçta aynıdır ama prognozu ve tedavisi farklıdır. Bu nedenle etiyojinin bakteriyel mi yoksa viral mi olduğunu ayırmak acil olarak yapılması gereken bir durumdur⁽⁹⁾. Viral menenjitlerin en sık nedeni enteroviruslardır. Enteroviruslar dünya genelinde yaz ve sonbaharda yaygın olarak görülürler, çocuklarda daha sık etkendirler. Enterovirusların oluşturduğu SSS enfeksiyonlarının, yetişkin şizofrenisi ve diğer psikozlarla ilişkili olabileceğini gösteren yayınlar vardır^(10,11). Ayrıca kardiyomiyopatilere ve diğer başka organ bozukluklarına neden olabilir. Virusun virulansı serotipe göre değişir, bu nedenle virusun adı ve serotipi bilinirse ona göre antiviral geliştirmek ve fekal oral bulaşan enterovirusa yönelik korunma sağlanması olası olabilir⁽¹²⁾.

Bakteride ise yaş, coğrafi farklılıklar, mevsim, toplumun belirli etkenlere karşı aşılı olup olmaması, genetik yapı, sosyoekonomik koşullar gibi risk faktörlerine bağlı olarak değişmekle birlikte, dünyada ve ülkemizde en sık tespit edilen etkenler, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* tip b ve *Haemophilus influenzae*'dir. Erken tanı ve tedavinin son derece önemli olduğu bu hastalıkta menenjit bulguları ile gelen olgular hızla değerlendirilmeli ve hemen uygun antimikrobiyal tedavi başlanmalıdır. Bu sayede ölüm oranını azaltmak ve komplikasyonsuz iyileşmeyi artırmak olası olmaktadır^(13,14). Bakteriyel menenjit şüphesi olan hastada rutin tanı koyma yöntemi, BOS Gram boyama ve BOS kültürüdür. Ama kültürün en az 2 günde sonuçlanması

bir dezavantajdır. PCR'ın, bakteri kültürüne karşı en büyük avantajı ise hızlı sonuçlanması, canlı bakteri gerektirmemesi ve yüksek duyarlılığa sahip olmasıdır⁽¹⁵⁾. Menenjit şüpheli hastaya, yatıştan ve BOS örneği alınmadan önce genellikle antibiyotik verildiği için, bakteriyel etkenin kültürde üretilmesi zorlaşmaktadır. Bu nedenle nükleik asit temelli testler bakteriyi belirlemede de önemlidir⁽¹⁶⁾. Bu çalışmada, hastanemiz Moleküler Ünitesine, SSS enfeksiyonu ön tanısı düşünülerek gönderilen BOS örneklerinden "Multiplex real-time PCR" yöntemiyle, viral ve bakteriyel etkenlerin belirlenmesi, bu etkenlerin yaşa ve mevsimlere göre değerlendirilmesi amaçlandı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hastanemiz Moleküler Ünitesi'ne, Ocak 2014-Aralık 2014 tarihleri arasında menenjit ön tanısı düşünülerek gönderilen toplam 200 BOS örneğinde, PCR yöntemiyle bulunan sonuçlar retrospektif olarak değerlendirildi. İki yüz örneğin, 160'ı 15 yaşın altında ve 40'ı 15 yaşın üzerindedir.

BOS örnekleri için, "multiplex real-time PCR" yöntemi (FTD NEURO9 ve FTD Bacterial Meningitis, Fast-Track Diagnostics, Lüksemburg) kullanıldı. "FTD NEURO9" ve "FTD Bacterial meningitis mPCR" sisteminin çalışma panelinde adenovirus (AdV), cytomegalovirus (CMV), enterovirus (EV)'lar (poliovirus, coxsackievirus, echovirus ve diğer enteroviruslar), Epstein Barr virus (EBV), herpes simplex virus 1 ve 2, insan herpesvirus 6 ve 7, insan parechovirus ve parvovirus B19, varicella-zoster virus (VZV), *H. influenzae*, *N. meningitidis* ve *S. pneumoniae* olmak üzere 14 virus ve 3 bakteri vardır.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 200 BOS örneğinin 50'sinde (%25) etken belirlendi. Pozitif örneklerde enterovirus %6.5'lik oranla ilk sırada yer alırken,

adenovirus ve HSV-1 %5 ile ikinci sırada, *S. pneumoniae* ise %3.5 ile üçüncü sırada yer aldı (Tablo 1). 27 (%13.5) pozitif hasta 0-5 yaş aralığında, 10 (%5) pozitif hasta 5-10 yaş aralığında, yedi (%3.5) pozitif hasta 10-15 yaş aralığında ve altı (%3) pozitif hasta 15 yaş üzeridir (Tablo 2). En sık menenjit etkeni olarak 13 hastada pozitif bulunan enterovirusun yalnızca biri 15 yaş üzerindedir. Pozitiflik oranının en yüksek olduğu yaş aralığı 0-5 yaş oldu. Dokuz hastada bakteri pozitif bulundu. Bunların kültürlerine bakılınca yalnızca yedisinde *S. pneumoniae*'nin ve birinde de *N. meningitidis*'in ürediği görülmüştür. EV ve AdV'ye en sık yaz aylarında rastlandı. İki örnekte EV ve AdV birlikteliğiyle ortaya çıkan iki virus koenfeksiyonu görüldü.

Tablo 1. Menenjit etkenlerinin oranları.

Saptanan etken	Sayı (%)
Enterovirüs	13 (%6.5)
Adenovirüs	10 (%5)
HSV-1	10 (%5)
HHV-6	5 (%2.5)
HSV-2	1 (%0.5)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	7 (%3.5)
<i>Neisseria meningitidis</i>	2 (%1)
İki virus koenfeksiyonu	2 (%1)
TOPLAM	50 (%25)

HSV: herpes simpleks virüs; HHV: insan herpesvirüs

Tablo 2. Pozitiflik saptanan etkenlerin yaş gruplarına göre dağılımı.

Saptanan etken	0-5 yaş	5-10 yaş	10-15 yaş	15 yaş üstü	Toplam
EV	7	3	2	1	13
AdV	5	2	2	1	10
HSV-1	6	4	-	-	10
HSV-2	1	-	-	-	1
HHV-6	4	1	-	-	5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	-	3	2	7
<i>Neisseria meningitidis</i>	-	-	-	2	2
İki virüs koenfeksiyonu	2	-	-	-	2
Toplam	27	10	7	6	50

EV: enterovirüs, AdV: adenovirüs, HSV: herpes simpleks virüs; HHV: insan herpesvirüs

Çalışmamızda en sık pozitiflik Tablo 3'te görüldüğü gibi Haziran, Temmuz, Ağustos ve Eylül gibi yaz aylarında oldu. Bizde en sık etken olan EV ve AdV yaz aylarında görülürken, *S. pneumoniae*'a ise tüm aylarda rastlandı.

Tablo 3. En sık saptanan etkenlerin aylara göre dağılımı.

AYLAR	EV	AdV	HSV-1	HSV-2	HHV-6	Ko-enfeksiyon	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
Ocak	1	-	1	-	2	2	1	-
Şubat	1	-	-	-	-	-	1	2
Mart	-	-	-	-	1	-	1	-
Nisan	-	-	-	-	1	-	-	-
Mayıs	-	-	2	-	-	-	-	-
Haziran	4	3	-	-	1	-	1	-
Temmuz	3	3	3	-	-	-	-	-
Ağustos	3	3	2	-	-	-	-	-
Eylül	1	-	1	-	-	-	1	-
Ekim	-	-	-	1	-	-	-	-
Kasım	-	1	1	-	-	-	2	-
Aralık	-	-	-	-	-	-	-	-
Toplam	13	10	10	1	5	2	7	2

EV: enterovirüs, AdV: adenovirüs, HSV: herpes simpleks virüs; HHV: insan herpesvirüs

TARTIŞMA

Santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları, son yıllarda geliştirilen aşılarda ve antimikrobiyal tedavi protokollerine rağmen, yüksek morbidite ve mortalitesi ile bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir⁽¹⁾. SSS enfeksiyonlarının %30'u viral ve bakteriyel menenjitlerdir⁽¹⁷⁾. Menenjit etkenleri ise yaşa, mevsime, bulunulan coğrafi bölgeye, ülkelerin gelişmişlik düzeylerine ve kullanılan aşılar göre farklılıklar göstermektedir⁽¹⁸⁾. PCR gibi amplifikasyon temelli yöntemlerle, viral nükleik asidin BOS'da saptanması, SSS enfeksiyonlarının tanısında önemli bir dönüm noktası olmuş ve böylece viral etkenleri belirlemedeki başarı %20-30'lardan, günümüzde %50-70'lere ulaşmıştır⁽⁸⁾. BOS'da PCR yöntemiyle etken arama, HSV, CMV ve enteroviral menenjit tanısı için önerilen tanı yöntemidir⁽⁸⁻¹⁹⁾. HSV menenjitleri, viral menenjitlerin %1-3'ünü oluşturur. Bu çalışmada, HSV oranı %5 bulundu. HSV enfeksiyonunda erken tanı sayesinde başlanacak antiviral tedavi, prognozu önemli ölçüde etkilemektedir. Özellikle bağışık sistemi baskılanmış bireylerde, PCR ile erken tanı konup, antiviral tedaviye başlanabilmekte ve böylece nörolojik komplikasyonlar azaltılabilmektedir. Etkenin HSV olduğundan şüphelenilen menenjitlerde, BOS'ta PCR ile HSV-DNA saptanması değerlidir, sensi-

tivite ve spesifitesi yüksektir⁽²⁰⁾.

Bu çalışmada kullanılan yöntem kalitatif bir yöntemdir. Ama döngü sayısını gösteren Ct (Cycle Thresold) değerinin düşük olması, HSV-DNA kopya sayısının yüksek olduğunu yani virusun miktarının fazla olduğunu gösterir. Çalışmada HSV-DNA saptanan hastalarda Ct değeri 25-30 arasındayken özellikle 2 hastada Ct değeri 25.6 gibi çok düşük bulundu. Bu hastalar, HSV menenjit şüphesiyle yatan, 0-5 yaş aralığında 2 hastaydı. Bu hastalarda saptanan Ct değerleri ve anlamı hakkında klinisyene bilgi verildi. Hastalardan birinin beyin manyetik rezonans görüntülemesinde (MRG), iki taraflı temporal lop tutulumu olması HSV enfeksiyonunu doğruladı.

Geleneksel yöntemler olarak bilinen hücre kültürü yönteminin çok uzun sürmesi, BOS'ta viral antikor arama yönteminde de antikorların iyileşme döneminde pozitifleşmesi gibi nedenlerle bu yöntemlerin kullanılabilirliği azalmıştır. Viral nükleik asitlerin BOS ta saptanmasıyla, menenjitlerin tanısında çok önemli bir yol alınmıştır. Bu testlerinin kullanımı ile virusların oluştukları değişik klinik tabloların fark edilmesi de sağlanmıştır⁽⁸⁾.

Çalışmamızda, 200 BOS örneğinin 50 (%25)'inde

bakteriyel veya viral bir etken bulundu. Ülkemizde konu ile ilgili yapılan çalışmalara baktığımızda, çocukluk yaş grubunda viral etkenlerin araştırıldığı kapsamlı çalışmalara çok az rastlanılmaktadır. Çalışmamız ise hem erişkin hem de çocuk hastaları kapsayıp, menenjitte en sık görülen viral ve bakteriyel etkenleri de aynı anda saptadı. Bu nedenle bizden sonraki çalışmalara katkı sağlayacağı düşüncesine varıldı.

EV, aseptik menenjitin ilk sıradaki nedenidir ve viral menenjitin genel klinik özelliklerini büyük ölçüde yansıtır⁽²¹⁾. Etiyolojinin belirlendiği aseptik menenjit olgularının % 85-95'inden poliodışı enteroviruslar sorumludur. Sağlıklı insanlarda farklı EV serotipleriyle birkaç kez aseptik menenjit oluşabilir. EV salgınlar yapabilir ve ılıman iklim kuşağında yaz ve sonbahar döneminde görülür. Özellikle sıcak hava ve iklim koşullarında EV fekal-oral yayılımı artar. EV menenjiti açısından en duyarlı grup sütçocukları ve küçük çocuklardır^(8,22). Çalışmamızda da, EV %25 ile en sık etken olarak yer aldı. Tüm EV lerin yarısı 0-5 yaş aralığında ve yaz aylarında saptandı. Ülkemizden bildirilen diğer çalışmalarda BOS örneklerinde EV pozitiflik oranı değişmektedir. Kılıç ve ark.'nın⁽³⁾ RT-PCR yöntemiyle SSS enfeksiyonu etkenlerini aradığı çalışmada %8 oranında EV pozitifliği bulunmuştur. 2013'te Kore'de Dahee Jin ve ark.⁽²³⁾ tarafından menenjitli hastalar üzerinde yapılan 3 yıllık bir çalışmada, EV %33 oranında yine en sık rastlanan ajan bulunmuştur⁽²³⁾.

Hücre kültürü ile PCR'nin karşılaştırıldığı çalışmalarda, BOS'dan yapılan hücre kültürünün duyarlılık ve özgüllüğü %50-70 iken, RT-PCR testinin duyarlılık ve özgüllüğünün ise %90'ın üzerinde olduğu gösterilmiştir. Ayrıca BOS'taki EV miktarı çok düşük olunca hücre kültüründe üreme günler sürebilirken, PCR ile aynı gün sonuç verilebilmesi bir avantaj olarak değerlendirilmiştir⁽⁸⁾.

2007-2012 yılları arasında Xie ve ark.'nın⁽²⁴⁾ Çin'de yaptığı bir çalışmaya, akut menenjit ve ensefalit öntanılı yaklaşık 2000 hasta dahil edilmiş ve 137 EV ve 123 Japon ensefaliti virüsü pozitif bulunmuştur. Akut menenjitlerde en sık etkenin viruslar olduğu ve en sık rastlanan virusun da EV olduğu vurgulanmıştır. Çalışmada, ayrıca 103 örnekte bakteri pozitifliği bulunmuştur.

Othman'ın⁽¹²⁾ 2011-2013 yılları arasında, menenjit öntanılı 215 hastada Tunus'ta yaptığı bir çalışmada, EV'nin değişik antijenik tiplerinin değişik klinik tablolara neden olduğu ve her farklı antijenik tipin farklı viral yüklerle neden olduğu gösterilmiştir.

Cabrerizo ve ark.'nın⁽²⁵⁾ 84 menenjit öntanılı yenidoğanda yaptığı bir çalışmada EV %38 oranında pozitif bulunmuştur ve çalışmamızdaki gibi ilkbahar ve yaz aylarında görülme sıklığı artmıştır. EV oranının bu kadar yüksek olmasının bir nedeni, virüsün yaz aylarında artması, bir diğer nedeni de bize göre kullanılan testin duyarlılığının yüksek olmasıdır. El Hiar ve ark.'nın⁽²⁶⁾, SSS enfeksiyonu öntanılı 60 hastadan yaptığı çalışmanın 20'sinde EV pozitifliği görülmüş, bunun da %45'i 0-2 yaş aralığında ve %35'i 2-5 yaş aralığında bulunmuştur. EV yine ilkbahar ve yaz aylarında en sık görülmüştür.

Çalışmamızda viruslarda en sık etken enterovirus iken bakterilerde ise *S. pneumoniae* bulunmuştur. *S. pneumoniae*, toplum kaynaklı bakteriyel menenjitlerin en sık ve en sekelli etiyolojik ajanıdır⁽¹⁸⁾. Duman ve ark.'nın⁽¹³⁾ yaptığı 3 yıllık bir retrospektif çalışmada, *S. pneumoniae* %15 oranıyla koagülaz negatif stafilokoklardan sonra ikinci sırada yer almıştır. Abuhandan ve ark.'nın⁽²⁷⁾, menenjit öntanılı 92 olgulu çalışmada üreyen 14 BOS'un 6'sında etken *S. pneumoniae* olmuştur. Çalışmamızda ise 7 (%3.5) hastada *S. pneumoniae* etken olarak bulundu. Ramautar ve ark.'nın⁽²⁸⁾, menenjit öntanılı hastalardan yap-

tığı çalışmada ise, kültür sonucunun en az 48 saatte çıkması ve eğer hastaya antibiyotik verilmişse hastada üremenin olmaması gibi nedenlerden dolayı PCR yönteminin kullanılabilceği sonucuna varılmıştır. Hatta, eğer hasta antibiyotik kullanmışsa, PCR ve Gram boyamanın birlikte yapılmasının çok etkili bir tanı yöntemi olabileceği üzerinde durulmuştur⁽²⁸⁾. PCR çalışması ile 4 saatten daha kısa bir sürede hastalara sonuç verilir. Bu da klinisyenin daha erken tedaviye başlaması, hastanın erken iyileşmesi ve dolayısıyla yatış maliyetinin düşmesiyle sonuçlanır^(29,30).

H. influenzae'nin izole edilememesi, *Haemophilus* cinsi bakterilerin hassas ve zor üreyen bakteriler olmasıyla ve örneklerin hem alımında hem de laboratuvara ulaştırılmasında oluşan gecikmelerle ilgili olabilir. Çalışmamızda, hiç *H. influenzae* izole edilemedi. Gültepe ve ark.'nın⁽¹⁾ 2015'te yaptığı 100 hastalık PCR çalışmasında, 1 tane *H. influenzae*'ya rastlanmıştır. Teleb ve ark.'nın⁽³¹⁾, Doğu Akdeniz ülkelerinde menenjit öntanılı hastalardan yaptığı bir sürveyans çalışmasında da, 2008'de popülasyona *H. influenzae* aşısının uygulandığı ve aşından sonra *H. influenzae* menenjit olgu sayısının sıfıra indiği vurgulanmıştır. Kültür ve PCR'nin karşılaştırmalı çalışmaları sonucunda PCR'ın hızlı ve güvenilir bir test olduğu ve bu nedenle bakteriyel menenjit tanısı için de kullanılabilceği vurgulanmıştır.

Çalışmamızda, 2 örnekte EV - AdV birlikteliği tespit edildi. Koenfeksiyona 0-5 yaş aralığında ve ocak ayında rastlandı.

Sonuç olarak, menenjitler yaşamı tehdit eden enfeksiyonlardır ve antibiyotik ve antiviral ilaçlarla tedavi edilebilirler. Bu nedenle etkenin hızlı bir şekilde tespit edilebilmesi çok önemlidir. Menenjit şüpheli hastalarda, PCR gibi moleküler yöntemlerle, viral veya bakteriyel etkenlerin erken saptanması olası olmaktadır. Etkenin

erken saptanmasıyla hem epidemiyolojik tedbirler alınmakta hem de hastaneye gereksiz yatışlar azaltılabilmekte, bilgisayarlı tomografi (BT) ve magnetik rezonans (MR) gibi tetkikler daha az kullanılabilmekte ve gereksiz antibiyotik kullanımını önlenerek ciddi ekonomik kazançlar sağlanabilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Gültepe B, Bayram Y, Güdücüoğlu H, Çıkman A, Berktaş M. Bir üniversite hastanesinde bakteriyel ve viral menenjit etkenlerinin farklı PCR yöntemleri ile araştırılması. *Abant Med J* 2015; 4:125-9. <https://doi.org/10.5505/abantmedj.2015.64325>
2. Soylar M, Altuğlu İ, Sertöz R, Aydın D, Akkoyun F, Zeytinoglu A. Ege Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran santral sinir sistemi enfeksiyonu olgularında saptanan viral etkenler. *Ege Tıp Dergisi* 2014; 53:65-70.
3. Kılıç I, Altuğlu I, Çiçek C, Pullukçu H, Bayram N, Sirin H, Erensoy S. Santral sinir sistemi enfeksiyonu etkeni enterovirusların RT-PCR ve hücre kültür yöntemleri ile saptanması. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45:468-77.
4. Wang YJ, Chiu NC, Ho CS, Chia H. Comparison of childhood aseptic meningitis with bacterial meningitis in a tertiary children's hospital of Taiwan. *J Meningitis* 2016, 1:103.
5. Demiroğlu YZ, Turunç T, Ahşkan H, Çolakoğlu Ş, Erdoğan AF, Arslan H. Toplum kökenli menenjit/meningoensefalitler: Beş yılın retrospektif değerlendirilmesi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2010; 30:218-26. <https://doi.org/10.5336/medsci.2008-8623>
6. Davies N, Brown LJ, Gonde J, et al. Factors influencing PCR detection of viruses in cerebrospinal fluid of patients with suspected CNS infections. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76:82-7. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2004.045336>
7. Jarrin I, Sellier P, Lopes A, et al. Etiologies and management of aseptic meningitis in patients admitted to an internal medicine department. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95:e2372. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002372>
8. Saymer AA. Viralmerkezisindir sistemienfeksiyonlarında tanı. *ANKEM Derg* 2005; 19(Ek 2):E130-6.
9. Kelly C, Sohal A, Michael BD, et al. Suboptimal management of central nervous system infections in children: a multi-centre retrospective study. *BMC Pediatrics* 2012; 12:145. <https://doi.org/10.1186/1471-2431-12-145>
10. Rahimi P, Roohandeh A, Sohrabi A, Mostafavi E, Bahram Ali GB. Impact of human enterovirus 71 genotypes in meningoencephalitis in Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8:e27113. <https://doi.org/10.5812/jjm.27113>
11. Krasota A, Loginovskih N, Ivanova O, Lipskaya G. Direct identification of enteroviruses in cerebrospinal fluid of patients with suspected meningitis by nested

- PCR amplification. *Viruses* 2016; 8:E10.
<https://doi.org/10.3390/v8010010>
12. **Othman I, Romain Volle R, Elargoubi A, Guediche M, Chakroun M, Sfar M.** Enterovirus meningitis in Tunisia (Monastir, Mahdia, 2011-2013): identification of virus variants cocirculating in France. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016; 84:116-22.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.10.019>
 13. **Duman Y, Yakupoğulları Y, Tekerekoğlu MS, Güçlüer N, Otlu B.** Bir üniversite hastanesi laboratuvarında beyin omurilik sıvısında izole edilen mikroorganizmaların üç yıllık geriye dönük analizi. *Dicle Tıp Derg* 2012; 39:70-4.
<https://doi.org/10.5798/diclemedj.0921.2012.01.0097>
 14. **Akhvlediani T, Bautista CT, Shakarishvili R, et al.** Etiologic agents of central nervous system infections among febrile hospitalized patients in the country of Georgia. *PLoS One* 2014; 9:e111393.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111393>
 15. **Amin M, Ghaderpanah M, Tahereh Navidifar T.** Detection of *Haemophilus influenzae* type b, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae* and *Neisseria meningitidis* in CSF specimens of children suspicious of meningitis in Ahvaz, Iran. *Kaohsiung J Med Sci* 2016; 32:501-6.
<https://doi.org/10.1016/j.kjms.2016.08.009>
 16. **Shin SY, Kwon KC, Park JW, Ji JM, Koo SH.** Evaluation of the Seeplex® Meningitis ACE Detection Kit for the detection of 12 common bacterial and viral pathogens of acute meningitis. *Ann Lab Med* 2012; 32:44-9.
<https://doi.org/10.3343/alm.2012.32.1.44>
 17. **Khatib U, van de Beek D, Lees JA, Brouwer MC.** Adults with suspected central nervous system infection: A prospective study of diagnostic accuracy. *J Infect* 2017; 74:1-9.
<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2016.09.007>
 18. **Pehlivanoglu F, Yaşar KK, Şengöz G.** Beyin omurilik sıvısından izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 2011; 25:1-5.
 19. **Kaewpoowat Q, Salaza L, Aguilera E, Wootton SH, Hasbun R.** Herpes simplex and varicella zoster CNS infections: clinical presentations, treatments and outcomes. *Infection* 2016; 44:337-45.
<https://doi.org/10.1007/s15010-015-0867-6>
 20. **Momméja-Marin H, Lafaurie M, Scieux C, Galicier L, Oksenhendler E, Molina JM.** Herpes simplex virus type 2 as a cause of severe meningitis in immunocompromised adults. *Clin Infect Dis* 2003; 37:1527-33.
<https://doi.org/10.1086/379520>
 21. **Arisoy ES.** Viral menenjit. Türkiye Klinikleri. *J Pediatr-Special Topics* 2004; 2:237-43.
 22. **Ozkaya E, Hizel K, Uysal G, Akman S, Terzioglu S, Kuyucu N.** An outbreak of aseptic meningitis due to echovirus type 30 in two cities of Turkey. *Eur J Epidemiol* 2003; 18:823-6.
<https://doi.org/10.1023/A:1025334116364>
 23. **Jin D, Heo TH, Byeon JH, et al.** Analysis of clinical information and reverse transcriptase-polymerase chain reaction for early diagnosis of enteroviral meningitis. *Korean J Pediatr* 2015; 58:446-50.
<https://doi.org/10.3345/kjp.2015.58.11.446>
 24. **Xie Y, Tan Y, Chongsuvivatwong V, et al.** A population-based acute meningitis and encephalitis syndromes surveillance in Guangxi, China, May 2007-June 2012. *PloS One* 2015; 10:e0144366.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144366>
 25. **Cabrerizo M, Trallero G, Pena MJ, et al.** Comparison of epidemiology and clinical characteristics of infections by human parechovirus vs. those by enterovirus during the first month of life. *Eur J Pediatr* 2015; 174:1511-6.
<https://doi.org/10.1007/s00431-015-2566-9>
 26. **El Hiar R, Haddad S, Jaidane H, et al.** Enteroviral central nervous system infections in children of the region of Monastir, Tunisia: Diagnosis, laboratory findings of cerebrospinal fluid and clinical manifestations. *Indian J Virol* 2012; 23:294-302.
<https://doi.org/10.1007/s13337-012-0104-1>
 27. **Abuhandan M, Çalık M, Oymak Y, ve ark.** Çocuklarda menenjit: 92 olgunun değerlendirilmesi. *Dicle Tıp Derg* 2013; 40:15-20.
<https://doi.org/10.5798/diclemedj.0921.2013.01.0217>
 28. **Ramautar A, Halse T, Arakaki L, et al.** Direct molecular testing to assess the incidence of meningococcal and other bacterial causes of meningitis among persons reported with unspecified bacterial meningitis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015; 83:305-11.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.06.005>
 29. **Moayedi AR, Nejatizadeh A, Mohammadian M, Rahmati MB, Namardizadeh V.** Accuracy of universal polymerase chain reaction (PCR) for detection of bacterial meningitis among suspected patients. *Electron Physician* 2015; 8:1609-12.
<https://doi.org/10.19082/1609>
 30. **Ninove L, Nougairède A, Gazin C, et al.** Comparative detection of enterovirus RNA in cerebrospinal fluid: GeneXpert system vs. real-time RT-PCR assay. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17:1890-4.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03487.x>
 31. **Teleb N, Pilishvili T, van Beneden C, et al.** Bacterial meningitis surveillance in the Eastern Mediterranean region, 2005-2010: successes and challenges of a regional network. *J Pediatr* 2013; 163(Suppl 1):S25-31.
<https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.03.027>