

Beyin Omurilik Sıvısı Örneklerinden Saptanan Viral Etkenler

Rabia CAN SARINOĞLU, İmran SAĞLIK, Derya MUTLU, Betil ÖZHAK BAYSAN, Dilara ÖĞÜNÇ, Dilek ÇOLAK

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya

ÖZ

Amaç: Viral etkenlere bağlı santral sinir sistemi enfeksiyonları her yaşta görülebilen, akut seyirli ve hızlı ilerleyen, mortalite ve morbiditesi yüksek enfeksiyonlardır. Tanıda, nükleik asit amplifikasyon test yöntemlerinden polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) sıklıkla tercih edilmektedir. Bu çalışmanın amacı, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı, Mikrobiyoloji Bölümü'ne viral etkenlerin PZR yöntemi ile araştırılması için gönderilen beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinde elde edilen sonuçların retrospektif olarak değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı, Mikrobiyoloji Bölümü'ne 2010-2014 yılları arasında viral SSS enfeksiyonu ön tanısı ile gönderilen 704 hastaya ait 2849 BOS örneğinin sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. BOS örneklerinde adenovirus (AdV), sitomegalovirus (CMV), Epstein Barr virus (EBV), enterovirus (EV), herpes simplex virus tip 1 ve tip 2 (HSV-1, HSV-2) virüsleri gerçek zamanlı PZR yöntemiyle araştırılmıştır. BOS örneklerinde protein ve glukoz ölçüm değerleri kaydedilmiştir.

Bulgular: Otuz beş hastaya ait 38 BOS örneğinde araştırılan viral etkenler pozitif bulunmuştur. BOS örneklerinde saptanan viral etkenlerin oranları; EBV DNA, EV RNA, HSV-1 DNA, AdV DNA, CMV DNA ve HSV-2 DNA için sırasıyla %3.6 (11/308), %1.8 (8/447), %1.7 (12/721), %1 (4/405), %0.4 (1/271) ve %0.2 (2/697) olarak bulunmuştur. Bir hastada HSV-1 DNA ve EBV DNA birlikte saptanmıştır. BOS örneklerinde viral etken saptanan hastaların BOS glukoz düzeyi, 19 (%54.2) hastada normal sınırlarda, altı (%17.1) hastada düşük ve on (%28.6) hastada yüksek bulunmuştur. BOS protein düzeyi ise 17 (%48.6) hastada normal sınırlarda ve 18 (%51.4) hastada yüksek bulunmuştur.

Sonuç: BOS örneklerinde PZR temelli moleküler yöntemler kullanılarak olası tüm viral etkenlerin araştırılmasının erken tanı ve tedaviye olanak sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: BOS, PZR, Viral SSS enfeksiyonu

ABSTRACT

Viral Agents Identified in Cerebrospinal Fluid Samples

Objective: Viral infections of central nervous system (CNS) are rapidly progressive, acute infections with high mortality and morbidity rates, and affect people of every age. Polymerase chain reaction (PCR), which is a nucleic acid amplification test (NAAT) is frequently used for diagnosing viral infections of CNS. The aim of this study is to retrospectively analyze the results of cerebrospinal fluid (CSF) samples, which were sent to Akdeniz University Medical Faculty Hospital, Central Laboratory, Department of Microbiology to be investigated for viral agents by PCR method.

Material and Methods: The results of a total of 2849 CSF samples from 704 patients, sent to Akdeniz University Hospital Central Laboratory, Department of Microbiology between 2010-2014 with a preliminary diagnosis of viral CNS infection, were retrospectively analyzed. The CSF samples were tested by the real-time PCR method for adenovirus (AdV), cytomegalovirus (CMV), Epstein Barr Virus (EBV), enterovirus (EV) and herpes simplex viruses type 1 and type 2 (HSV-1, HSV-2). Also, protein and glucose levels in CSF samples were recorded.

Results: Thirty eight CSF samples from 35 patients were found to be positive for viral infectious agents. EBV DNA, EV RNA, HSV-1 DNA, AdV DNA, CMV DNA and HSV-2 DNA were detected in 3.6% (11/308), 1.8% (8/447), 1.7% (12/721), 1% (4/405), 0.4% (1/271) and 0.2% (2/697) of the samples respectively. HSV-1 DNA and EBV DNA were detected in one patient simultaneously. The CSF glucose levels of the patients, who were found to be positive for viral infectious agents were within normal limits in 19 (54.2%), low in six (17.1%) and high in ten (28.6%) patients. Also normal, and higher CSF protein levels were found in 17 (48.6%) and 18 (51.4%) patients, respectively.

Conclusion: Using PCR based molecular methods for the investigation of all possible viral agents in CSF samples will conceivably provide opportunity for early diagnosis and therapy of viral CNS infections.

Keywords: CSF, PCR, Viral CNS infection

Alındığı tarih: 19.07.2016

Kabul tarihi: 20.12.2016

Yazışma adresi: Rabia Can Sarınoğlu, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya

e-posta: rabiicansarinoglu@hotmail.com

GİRİŞ

Viral santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları; menenjit, ensefalit, postenfeksiyöz ensefalomyelit ve yavaş ilerleyen nörolojik hastalıklar gibi pek çok farklı klinik tablo ile karşımıza çıkabilir. Bu klinik tablolar her yaşta görülebilir; enfeksiyonun tipine göre akut, subakut ya da kronik olabilir. Klinik seyri kendini sınırlayan enfeksiyonlardan hızlı ilerleyen mortalite ve morbiditesi yüksek enfeksiyonlara kadar farklılıklar gösterebilir^(1,2). Viral SSS enfeksiyonlarının tanısında beyin omurilik sıvısının (BOS) mikroskopik incelenmesi, spesifik viral antikorların, antijenlerin veya viral nükleik asitlerin saptanması ve hücre kültüründe virus izolasyonu gibi farklı yöntemler uygulanmaktadır. Fakat her bir yöntemin kendi içinde sınırlamaları vardır. Mikroskopik inceleme çok sayıda enfekte hücre varlığında tanısal değer taşır. İntratekal üretilen antikorlar ise enfeksiyonun başlangıcından ancak 8-10 gün sonra BOS'da saptanabilir. BOS'dan hücre kültüründe virus izolasyonu, menenjit etkeni birçok viral patojenin tanısı için altın standart olarak kabul edilmekle birlikte, örnek doğru zamanda alınmadığında duyarlılığı düşük, pahalı, sıkıntılı ve zaman alıcı bir tanı yöntemidir. Ayrıca Coxsackie A gibi bazı nörotropik viruslar hücre kültüründe üretilemez. Tüm bu nedenlerden dolayı son yıllarda nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) en sık kullanılan yöntem olmuştur⁽²⁻⁴⁾. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip hızlı bir yöntem olması nedeniyle birçok laboratuvar da BOS'da enteroviruslar (EV), herpes simplex virus (HSV), sitomegalovirus (CMV) ve Epstein-Barr Virus (EBV) enfeksiyonlarının tanısında tercih edilmektedir⁽⁵⁾.

Bu çalışmanın amacı, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı, Mikrobiyoloji Bölümü'ne PZR yöntemi ile viral etkenlerin araştırılması için gönderilen BOS örneklerinde elde edilen sonuçların retrospektif

olarak değerlendirilmesidir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı, Mikrobiyoloji Bölümü'ne Ocak 2010-Nisan 2014 tarihleri arasında viral etkenlerin PZR ile araştırılması için gönderilen 704 hastaya ait 2849 BOS örneğinin sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Hastalara ait klinik ve laboratuvar bulguları hasta dosyalarından elde edilmiştir. BOS örneklerinde Adenovirus (AdV), CMV, EBV, EV ve HSV 1-2 nükleik asitleri araştırılmıştır. CMV için nükleik asit ekstraksiyonu ve gerçek zamanlı PZR Cobas Ampliprep/COBAS Taqman (Roche, ABD) sisteminde gerçekleştirilmiştir. Diğer örneklerde ise nükleik asit ekstraksiyonu EZ1 Virus Mini Kit v2.0 (Qiagen, Almanya) ile yapıldıktan sonra gerçek zamanlı PZR HSV 1-2 için Artus HSV 1-2 RG PZR (Qiagen, Almanya), AdV için LightMix Kit Human Adenovirus (TIB MOLBIOL, Almanya), EBV için Artus EBV RG PZR (Qiagen, Almanya), Enterovirus için Argene Enterovirus R-gene (BioMérieux, Fransa) kitleri ile araştırılmıştır.

BOS protein düzeyleri türbidimetrik yöntem (Cobas c502, Roche, Almanya) ile BOS glukoz düzeyleri ise heksokinaz enzimatik referans yöntemi (Cobas c701, Roche, Almanya) ile çalışılmıştır. BOS glukoz normal değeri 40-70 mg/dL, BOS protein normal düzeyi ise 15-45 mg/dL olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

BOS örnekleri çalışılan hastaların 296'sı (%42) kadın, 408'i (%58) erkek olup, ortanca yaş değeri 14.92 (yaş aralığı: 0-91 yıl) olarak bulunmuştur. Hastaların 374'ü (%53.1) çocuk, (yaş aralığı: 6 gün-18 yıl) ve 330'u (%46.9) erişkin (yaş aralığı: 19-91 yıl) yaş grubundadır. BOS örneklerinde saptanan viral etkenlerin oranları; EBV

Tablo 1. Viral etkenlerin araştırıldığı BOS örnek sayıları, pozitiflik oranları ve hastaların demografik özellikleri.

Viral etken	Sayı n	Pozitif n (%)	Yaş median değeri* (yaş aralığı-yıl)	Erkek* n (%)	Kadın* n (%)
HSV-1	721	12 (1.7)	14.8 (0-91)	58.6	41.4
HSV-2	697	2 (0.2)	16.0 (0-91)	58.0	41.2
EV	447	8 (1.8)	27.5 (0-91)	57.5	42.5
AdV	405	4 (1.0)	17.2 (0-85)	53.2	46.8
EBV	308	11 (3.6)	28.7 (0-85)	55.2	44.8
CMV	271	1 (0.4)	31.4 (0-82)	54.7	45.3
Toplam	2849	38 (1.3)	14.92 (0-91)	58.0	42.0

*istatistiksel analiz hasta sayısı esas alınarak yapılmıştır.

DNA, EV RNA, HSV-I DNA, AdV DNA, CMV DNA ve HSV-2 DNA için sırasıyla %3.6 (11/308), %1.8 (8/447), %1.7 (12/721), %1 (4/405), %0.4 (1/271) ve %0.2 (2/697) olarak bulunmuştur. İki bin sekiz yüz kırk dokuz BOS örneğinde araştırılan viral etkenler ve viral etkenlerin araştırıldığı hastalara ait bazı demografik özellikler Tablo 1’de gösterilmiştir.

Otuz beş hastanın BOS örneği araştırılan viral etkenler için pozitif bulunmuştur. On iki (%34.2) hastada HSV-1 DNA, sekiz (%22.8) hastada Enterovirus RNA, sekiz (% 22.8) hastada EBV DNA, dört (%11.4) hastada Adenovirus DNA, iki (%5.7) hastada HSV-2 DNA ve bir (%2.8) hastada CMV DNA pozitif bulunmuştur. Bir hastanın BOS örneğinde HSV-1 DNA ve EBV DNA birlikte pozitifdir. Viral etkenlerin aylara göre dağılımı Şekil 1’de gösterilmiştir. Dokuz (%25.7) hastada yaz, dört (%11.4) hastada sonbahar, on iki (%34.2) hastada kış, on (%28.5) hastada ilkbahar mevsimlerinde pozitiflik saptanmıştır.

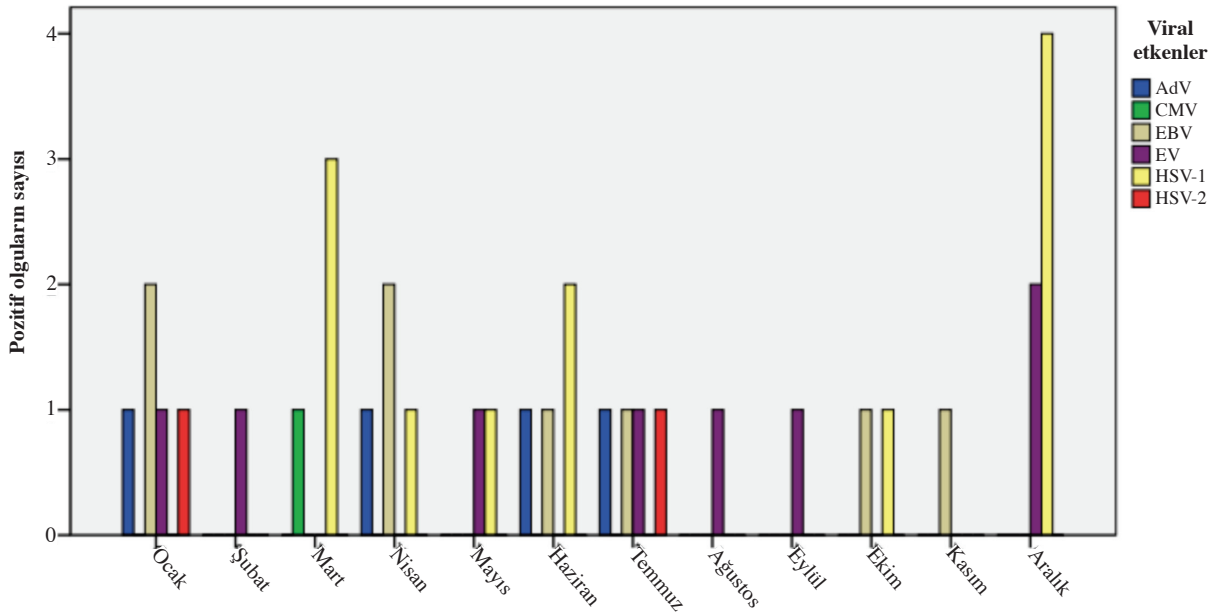
BOS örneklerinde viral etken saptanan hastaların ortanca yaş değeri 15.71 yıldır (aralık: 0-70) ve hastaların %65.8’inin cinsiyeti erkektir. Viral etkenlerin hastaların yaş gruplarına göre dağılımı Şekil 2’de gösterilmiştir. Bu hastaların 28’i (%80) viral meningoensefalit, üçü (%8.6) Guillain-Barré Sendromu, ikisi (%5.7) multiple skleroz ve transvers myelit, biri (%2.9) enflamatuvar polinöropati ve bir hasta (%2.9) ise HIV enfeksiyonu ve beyin tutulumu (lenfoma) nörolojik tanısı almıştır (Tablo 2). Hastaların 11’inde immün yetmezlik [bir böbrek nakli, bir kompozit doku nakli, bir HIV enfeksiyonu, dört malignite (lenfoid lösemi, lenfoma, aplastik ependimom ve medullablastom), iki kombine immün yetmezlik] saptanmıştır. Bu hastalarda en sık saptanan viral etken EBV’dir (n=7).

BOS örneklerinde viral etken saptanan hastaların BOS glukoz düzeyi 19 (%54.3) hastada normal sınırlarda, altı (%17.1) hastada düşük ve on (%28.6) hastada yüksek bulunmuştur. BOS protein düzeyi ise 17 (%48.6) hastada normal sınır

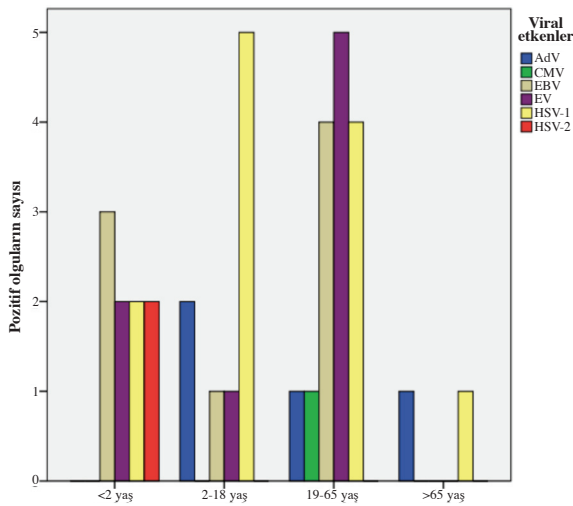
Tablo 2. BOS’da viral etken saptanan hastaların klinik tanıları ve viral etkenlerin dağılımı.

Tanı	Hasta sayısı (n)	AdV	CMV	EBV	EV	HSV-1	HSV-2
Akut meningoensefalit	28	3	1	5	6	11	2
Guillain-Barré Sendromu	3	1			1	1	
Multipl skleroz	2			1	1		
Enflamatuvar polinöropati	1			1			
AIDS+ Lenfoma	1			1			
Toplam	35	4	1	8	8	12	2

AdV: Adenovirus; CMV: Sitomegalovirus; EBV; Epstein Barr virus; EV: Enterovirus HSV: Herpes simplex virus



Şekil 1. Beyin-Omurilik sıvısı örneklerinde viral etken saptanan hastaların aylara göre dağılımı (2010-2014).



Şekil 2. BOS örneklerinde viral etken saptanan hastaların yaş dağılımı.

lar içinde ve 18 (%51.4) hastada yüksek bulunmuştur. BOS örneklerinin Gram boyamasında iki örnekte 3-5 polimorf nüveli lökosit görülmüştür, hiçbir örnekte bakteri üremesi saptanmamıştır.

TARTIŞMA

SSS enfeksiyonlarında özellikle moleküler tekniklerin gelişimi ile viral etkenlerin saptanmasında artış olmuştur.

Günümüzde PZR ve ilişkili yöntemlerin akut, sporadik, fokal ensefalopatinin en yaygın etkeni olan HSV'nin tanısında etkinliği kanıtlanmıştır. Herpes viruslar aseptik menenjit ve ensefalitin en sık saptanan viral etkenleri arasındadır. BOS PZR yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü HSV için %95'in üzerinde, EBV için duyarlılığı %98, özgüllüğü %100, CMV için ise duyarlılığı %82-100, özgüllüğü %86-100 oranlarındadır^(2,5-9). Çalışmamızda BOS örneklerinde saptanan herpes virusların oranları EBV, HSV-1, HSV-2 ve CMV için sırasıyla %3.6 (11/308) %1.7 (12/721), %0.3 (1/271), %0.2 (2/721) olarak bulunmuştur. Studahl ve ark.⁽¹⁰⁾ viral SSS enfeksiyonu düşünülen 662 hastanın BOS örneğinde %2.87 HSV-1 DNA, %1.5 HSV-2 DNA, %3.2 EBV DNA saptamıştır. García-Bardeci ve ark.⁽¹¹⁾ yaptıkları çalışmada, 330 BOS örneğinde %1.2 (4/330) HSV-1 DNA, %0.3 (1/330) HSV-2 DNA, %0.3 (1/330) CMV DNA bulmuşlardır. Bhaskaran ve ark.⁽³⁾ ise 1663 BOS örneğinde %0.9 (16/1663) HSV DNA, %0.4 (7/1663) CMV DNA ve %2.1 (35/1663) EBV DNA bulmuşlardır. Türkiye'de yapılan çalışmalarda, ensefalit ya da aseptik menenjit tanısı almış hastaların BOS örneklerinde saptanan HSV DNA oranı %9.7-29.4

arasındadır⁽¹²⁻¹⁴⁾. Ege Üniversitesi Hastanesi'nde yapılan retrospektif bir çalışmada, SSS enfeksiyonu ön tanılı hastaların BOS örneklerinde viral etkenler araştırılmış, toplamda 289 BOS örneğinde EBV DNA %15 (3/20), HSV DNA %2 (2/198) ve CMV DNA %1 (1/46) oranında saptanmıştır⁽¹⁵⁾.

Herpes viruslar hem immünsüpresif hem de immünkompetan hastalarda SSS'yi tutan çeşitli akut, subakut ve kronik nörolojik hastalıklarla ilişkilidir⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Çeşitli çalışmalarda da SSS'yi etkileyen nörolojik hastalıklarda herpes virus koenfeksiyonlarının olabileceği bildirilmiştir^(6,19,20). Bu çalışmada, Guillain-Barré sendromu tanısı alan bir hastanın BOS örneğinde HSV-1, beyin tutulumu olan bir AIDS hastası ile multiple skleroz ve polinöropati tanıları alan iki hastanın BOS örneğinde de EBV izole edilmiştir.

Meningoensefalite neden olan herpesviruslardan EBV, CMV, VZV ve HHV-6'nın neden olduğu SSS enfeksiyonları genellikle immünsüpresif hastalarda ortaya çıkar. EBV DNA'sı pozitif bulunan 11 BOS örneğinden yedisi (%63.6) immünsüpresif hastalara aittir. EBV enfeksiyonunda ensefalit, aseptik menenjit, transvers myelit ve Guillain-Barré sendromunu içeren birçok nörolojik tutulum bildirilmiştir. Bu klinik sendromlar tek başına ya da enfeksiyöz mononükleozun klinik tablosu ile beraber olabilir⁽²¹⁾. İmmünitesi normal kişilerde primer enfeksiyondan sonra enfekte hücrelerin büyük kısmı elimine edilir ve virus az sayıda B lenfositte ömür boyu latent olarak kalır. İmmün yetmezlikli hastalarda, özellikle hücrel immün yanıtın baskılandığı (AIDS, transplantasyon, X'e bağlı lenfoproliferatif hastalık) durumlarda reaktif olabilir⁽²⁾. AIDS hastalarında eşlik eden serebral bir lezyon varlığında EBV'nin BOS'da saptanmasının primer SSS lenfoması için yüksek prediktif değere sahip olduğu bildirilse de başka bir çalışmada düşük duyarlılığa sahip olduğu gösterilmiştir^(22,23). Konağın immünsüpresif

durumuna bağlı olarak virusun reaktivasyonu ya da latent enfeksiyonu taşıyan lökositlerin intratekal boşluğa geçişiyle BOS'da EBV saptanabilir⁽²¹⁾. Bu çalışmada, EBV enfeksiyonlarının primer enfeksiyona mı yoksa reaktivasyona mı bağlı olduğunun ayırımı yapılamamıştır.

Çalışmamızda meningoensefalit ön tanısı alan bir çocuk hastanın BOS örneğinde HSV-1 DNA ve EBV DNA pozitif bulunmuştur. Bu hastanın serum örneğinde EBV viral kapsit antijeni (VCA) IgG sonucu pozitif, VCA IgM sonucu negatif olarak bulunmuştur. Viral SSS koenfeksiyonlarında EBV saptanmasının patogenezinde; mevcut enflamasyonun EBV reaktivasyonunu tetikleyebileceği ya da uygun primerler seçilmediği takdirde BOS'a geçen B lenfositlerinde latent virusun saptanabileceği bildirilmektedir^(21,24).

Enterovirüsler daha çok çocuklarda enfeksiyona neden olur ve nonspesifik febril tablolardan, aseptik menenjit ve aseptik ensefalite kadar değişik klinik tablolar oluşturabilir. Enteroviral menenjitin özgül virolojik tanısında BOS örneklerinde PZR yöntemi ile enterovirus saptanması, hücre kültüründe virus izolasyonundan daha duyarlıdır⁽²⁵⁻²⁷⁾ ve meningoensefalite bağlı nörolojik semptomları olan hastaların tanısında önemli bir yere sahiptir⁽²⁸⁾. Ülkemizde yapılan çalışmalarda aseptik menenjit ön tanısı alan olgularda %82.6, %38.7, %63, %16.6 ve %0 oranlarında EV RNA saptandığı bildirilmiştir⁽²⁹⁻³³⁾. Ülkemizden bildirilen diğer çalışmalarda, BOS örneklerinde RT-PZR ile EV RNA pozitiflik oranları %1.5 ve DNA chip yöntemiyle %5'dir^(25,34). Çalışmamızda bu oran %1.8 olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda, BOS örneklerinde EV RNA saptanan sekiz hastanın üçü çocuk yaş grubunda, beşi erişkin yaş grubundadır. Pozitif örneklerin ikisi yaz, biri sonbahar, dördü kış ve biri ilkbahar mevsiminde saptanmıştır. EV enfeksiyonla-

rının yaz ve erken sonbahar aylarında arttığı bilinmektedir⁽³⁵⁻³⁷⁾. Bununla birlikte, kış aylarında olgularda artış olduğu bildirilen yayınlar da bulunmaktadır^(38,39). Çalışmamızda, yılın tamamında bir dağılım görülmekle birlikte, yaz ve kış aylarında pikler gözlenmiştir. Olgu sayımının az olmasının ve bulunduğumuz bölgenin iklim özelliklerinin buna neden olabileceğini düşünüyoruz.

Viral menenjit ve ensefalitlerde BOS glukoz düzeyi normal, protein düzeyi ise normal ya da hafif yüksek saptanabilir⁽²⁾. Çalışmamızda, benzer şekilde BOS örneklerinde viral etken saptanan hastaların %54.3'ünde BOS glukoz düzeyi normal sınırlarda ve BOS protein düzeyi ise %48.6 hastada normal sınırlar içindeyken, %51.4 hastada hafif yüksek bulunmuştur.

Viral SSS enfeksiyonlarına çok farklı virus neden olabilmekte, bu da tanı ve tedavide önemli sorunlara yol açabilmektedir. Viral SSS enfeksiyonlarının kliniği virusa özgü olmadığı için klinik bulgular tanıda yol gösterici değildir. Elde edilmesi oldukça zahmetli olan BOS'da olası tüm etkenlerin araştırılması erken tanı ve tedaviye olanak sağlamaktadır. Bu çalışmada, viral etkenlerin tümünün aynı örnekte eşzamanlı olarak çalışılmamış olması çalışmamızın bir sınırlılığıdır. Ancak, ekonomik nedenler ve farklı klinik yaklaşımlar buna neden olmuştur. Multipleks PZR temelli moleküler yöntemlerle yapılacak ileri çalışmaların bu soruna çözüm getirebileceği düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. **Smalling TW, Sefers SE, Li H, Tang YW.** Molecular approaches to detecting herpes simplex virus and enteroviruses in the central nervous system. *J Clin Microbiol* 2002; 40:2317-22. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.7.2317-2322.2002>
2. **Us AD.** Viral santral sinir sistemi enfeksiyonları. Us AD, Ergünay K (Eds), Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2012: 271-94.
3. **Bhaskaran A, Racska L, Gander R, Southern P, Cavuoti D, Alatoom A.** Interpretation of positive molecular tests of common viruses in the cerebrospinal fluid. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 77:236-40. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.07.017>
4. **Chadwick DR.** Viral meningitis. *Br Med Bull* 2006; 75-76:1-14. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldh057>
5. **Delbue S, Tremolada S, Ferrante P.** Application of molecular tools for the diagnosis of central nervous system infections. *Neurol Sci* 2008; 29(Suppl 2):S283-5. <https://doi.org/10.1007/s10072-008-0965-7>
6. **DeBiasi RL, Kleinschmidt-DeMasters BK, Weinberg A, Tyler KL.** Use of PCR for the diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system. *J Clin Virol* 2002; 25(Suppl 1):S5-11. [https://doi.org/10.1016/S1386-6532\(02\)00028-8](https://doi.org/10.1016/S1386-6532(02)00028-8)
7. **Tebas P, Nease RF, Storch GA.** Use of the PCR in the diagnosis of herpes simplex encephalitis: a decision analysis model. *Am J Med* 1998; 105:287-95. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(98\)00259-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(98)00259-9)
8. **Boivin G.** Diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system. *Herpes* 2004; 11(Suppl 2):48A-56A.
9. **Bestetti A, Pierotti C, Terreni M, et al.** Comparison of three nucleic acid amplification assays of cerebrospinal fluid for diagnosis of cytomegalovirus encephalitis. *J Clin Microbiol* 2001; 39:1148-51. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.3.1148-1151.2001>
10. **Studahl M, Hagberg L, Rekdar E, Bergström T.** Herpesvirus DNA detection in cerebral spinal fluid: differences in clinical presentation between alpha-, beta-, and gamma-herpesviruses. *Scand J Infect Dis* 2000; 32:237-48. <https://doi.org/10.1080/00365540050165857>
11. **Garcia-Bardeci D, Pena MJ, Suárez-Bordón P, Aladro Y, Pérez-González C, Lafarga B.** Value of the polymerase chain reaction in the diagnosis of herpes infections of the nervous system. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; 22:150-5.
12. **Sayiner A, Oktem M, Ergani A, Ergon C, Kurul S, Abacioglu YH.** Detection of herpes simplex virus DNA and enterovirus RNA in cerebrospinal fluid using PCR and microplate or strip hybridization assay. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9(Suppl 1):S410-9.
13. **Zeytinoglu A, Altuglu I, Saymer A, ve ark.** Herpes ensefalitinin beyin omurilik sıvısı örneklerinden polimeraz zincir reaksiyonu ile tanısı. *FLORA* 2000; 5:179-82.
14. **Altuglu I, Zeytinoglu A, Sirin H, Yuceyar N, Erensoy S.** Comparison of different polymerase chain reaction methods for detection of herpes simplex virus types 1 and 2 encephalitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25:669-71. <https://doi.org/10.1007/s10096-006-0202-3>
15. **Soylar M, Altuglu I, Sertöz R, Aydın D, Akkoyun F, Zeytinoglu A.** Ege Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran santral sinir sistemi enfeksiyonu olgularında saptanan viral etkenler. *Ege Tıp Derg* 2014; 53:65-70.
16. **Gaeta A, Verzaro S, Cristina LM, Mancini C, Nazari C.** Diagnosis of neurological herpesvirus infections: real time PCR in cerebral spinal fluid analysis. *New Microbiol* 2009; 32:333-40.
17. **Kleinschmidt-DeMasters BK, DeBiasi RL, Tyler KL.** Polymerase chain reaction as a diagnostic adjunct

- in herpesvirus infections of the nervous system. *Brain Pathol* 2001; 11:452-64.
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2001.tb00414.x>
18. **Kleinschmidt-DeMasters BK, Gilden DH.** The expanding spectrum of herpesvirus infections of the nervous system. *Brain Pathol* 2001; 11:440-51.
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2001.tb00413.x>
 19. **Cinque P, Cleator GM, Weber T, Monteyne P, Sindic CJ, van Loon AM.** The role of laboratory investigation in the diagnosis and management of patients with suspected herpes simplex encephalitis: a consensus report. EU Concerted Action on Virus Meningitis and Encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996; 61:339-45.
<https://doi.org/10.1136/jnnp.61.4.339>
 20. **Studahl M, Ricksten A, Sandberg T, et al.** Cytomegalovirus infection of the CNS in non-compromised patients. *Acta Neurol Scand* 1994; 89:451-7.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1994.tb02665.x>
 21. **Doja A, Bitnun A, Ford Jones EL, et al.** Pediatric Epstein-Barr virus-associated encephalitis: 10-year review. *J Child Neuro* 2006; 21:384-91.
 22. **Cinque P, Brytting M, Vago L, et al.** Epstein-Barr virus DNA in cerebrospinal fluid from patients with AIDS-related primary lymphoma of the central nervous system. *Lancet* 1993; 342:398-401.
[https://doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)92814-A](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)92814-A)
 23. **Ivers LC, Kim AY, Sax PE.** Predictive value of polymerase chain reaction of cerebrospinal fluid for detection of Epstein-Barr virus to establish the diagnosis of HIV-related primary central nervous system lymphoma. *Clin Infect Dis* 2004; 38:1629-32.
<https://doi.org/10.1086/420934>
 24. **Weinberg A, Bloch KC, Li S, et al.** Dual infections of the central nervous system with Epstein-Barr virus. *J Infect Dis* 2005; 191:234-7.
<https://doi.org/10.1086/426402>
 25. **Kılıç I, Altuğlu İ, Çiçek C, ve ark.** Santral sinir sistemi enfeksiyonu etkeni enterovirusların RT-PCR ve hücre kültürü yöntemleri ile saptanması. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45:468-77.
 26. **Rotbart HA.** Viral meningitis and the aseptic meningitis syndrome. In: Scheld WM, Whitley RJ, Durack DT eds. *Infections of the Central Nervous System*. 2th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997:23-46.
 27. **Sawyer MH, Holland D, Aintablian M.** Diagnosis of enteroviral central nervous system infection by polymerase chain reaction during a large community outbreak. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13:177-82.
<https://doi.org/10.1097/00006454-199403000-00002>
 28. **Ramers C, Billman G, Hartin M, Ho S, Sawyer MH.** Impact of a diagnostic cerebrospinal fluid enterovirus polymerase chain reaction test on patient management. *JAMA* 2000; 283:2680-5.
<https://doi.org/10.1001/jama.283.20.2680>
 29. **Akman S, Özkaya E, Çolak D, Daloğlu H.** A hospital outbreak of aseptic meningitis due to echovirus type 30 in Antalya, Turkey. *Türk J Pediatr* 2002; 44:237-9.
 30. **Saymer AA, Oktem IMA, Ergani A, Ergon C, Kurul S, Abacioglu YH.** Detection of herpes simplex virus DNA and enterovirus RNA in cerebrospinal fluid using PCR and microplate or strip hybridization assay. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9(Suppl 1):410.
 31. **Guney C, Ozkaya E, Yapar M, Gumus I, Kubar A, Doganci L.** Laboratory diagnosis of enteroviral infections of the central nervous system by using a nested RT-polymerase chain reaction (PCR) assay. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003; 47:557-62.
[https://doi.org/10.1016/S0732-8893\(03\)00148-2](https://doi.org/10.1016/S0732-8893(03)00148-2)
 32. **Özkaya E, Uysal G, Atak T, Alkan M.** 2001-2004 yılları arasında aseptik menenjit ön tanılı pediatrik olgulardan izole edilen enterovirüs serotiplerinin dağılımı. *Mikrobiyol Bul* 2005; 39:43-51.
 33. **Deniz E.** Aseptik menenjitli hastaların BOS örneklerinde enterovirüs ve herpesvirüslerin hücre kültürü ve PCR yöntemleri ile araştırılması. [Tıpta Uzmanlık tezi] Kayseri: Erciyes Üniversitesi, 2006.
 34. **Karakadioğlu S.** Aseptik menenjit ve kardit etyolojisinde enteroviruslerin chip tekniği (Microarray) ile araştırılması. [Uzmanlık Tezi] Manisa: Celal Bayar Üniversitesi, 2007.
 35. **Dumaidi K, Frantzidou F, Papa A, Diza E, Antoniadis A.** Enterovirus meningitis in Greece from 2003-2005: diagnosis, CSF laboratory findings, and clinical manifestations. *J Clin Lab Anal* 2006; 20:177-83.
<https://doi.org/10.1002/jcla.20129>
 36. **El Hiar R, Haddad S, Jaïdane 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>
 37. **Hyeon JY, Hwang S, Kim H, et al.** Accuracy of diagnostic methods and surveillance sensitivity for human enterovirus, South Korea, 1999-2011. *Emerg Infect Dis* 2013; 19:1268-75.
<https://doi.org/10.3201/eid1908.130496>
 38. **Tao Z, Wang H, Li Y, et al.** Molecular epidemiology of human enterovirus associated with aseptic meningitis in Shandong Province, China, 2006-2012. *PLoS One* 2014; 9:e89766.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089766>
 39. **Murina EA, Ivanova MV, Osipova ZA, Mukomolova AL.** Clinical laboratory characteristics of serous meningitides in Saint Petersburg. *Arkh Patol* 2010; 72:32-4.