

Toplum Kökenli Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonlarında Bakteriyel ve Viral Etiyolojinin Moleküler Yöntemlerle Değerlendirilmesi

Investigation of Bacterial and Viral Etiology in Community Acquired Central Nervous System Infections with Molecular Methods

Hasip KAHRAMAN¹, Alper TÜNGER², Şebnem ŞENOL³, Hörü GAZİ⁴, Meltem AVCI⁵, Bahar ÖRMEN⁶, Nesrin TÜRKER⁶, Sabri ATALAY⁷, Şükran KÖSE⁷, Sercan ULUSOY⁸, Meltem IŞIKGÖZ TAŞBAKAN⁸, Oğuz Reşat SİPAHİ⁸, Tansu YAMAZHAN⁸, Zeynep GÜLAY⁹, Sema ALP ÇAVUŞ¹⁰, Hüsnü PULLUKÇU⁸

¹ Sabuncuoğlu Şerefeddin Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Amasya.
¹ Sabuncuoğlu Şerefeddin Training and Research Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Amasya, Turkey.

² Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

² Ege University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Izmir, Turkey.

³ Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa.

³ Celal Bayar University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Manisa, Turkey.

⁴ Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa.

⁴ Celal Bayar University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Manisa, Turkey.

⁵ Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir.

⁵ Bozyaka Training and Research Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Izmir, Turkey.

⁶ Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir.

⁶ Atatürk Training and Research Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Izmir, Turkey.

⁷ Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir.

⁷ Tepecik Training and Research Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Izmir, Turkey.

⁸ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

⁸ Ege University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Izmir, Turkey.

⁹ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

⁹ Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Izmir, Turkey.

¹⁰ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

¹⁰ Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Izmir, Turkey.

* Bu çalışma, ASM Microbe 2016 Kongresi (16-20 Haziran 2016, Boston)'nda poster olarak sunulmuş ve Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

Geliş Tarihi (Received): 04.01.2017 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 14.06.2017

İletişim (Correspondence): Uzm. Dr. Hasip Kahraman, Sabuncuoğlu Şerefeddin Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Amasya, Türkiye.
Tel (Phone): +90 258 218 1417, E-posta (E-mail): hasipkahraman@gmail.com

ÖZ

Bu çok merkezli, prospektif kohort çalışmasında, toplum kökenli santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonlarındaki bakteriyel ve viral etkenlerin bakteriyel kültür yöntemi ve multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle araştırılması planlanmıştır. Nisan 2012-Şubat 2014 tarihleri arasında SSS enfeksiyonu bulguları ile hastaneye yatırılarak izlenen hastalar çalışmaya alınmıştır. Olguların demografik ve klinik bilgilerini içeren olgu bildirim formları prospektif olarak kayıt edilmiştir. Olguların beyin omurilik sıvısı (BOS) örnekleri, bakteriyolojik kültür yöntemleri, bakteriyel multipleks PCR yöntemi (Seeplex meningitis-B ACE Detection: *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes* ve grup B streptokok) ve viral multipleks PCR yöntemi [Seeplex meningitis-V1 ACE Detection kiti herpes simplex virüs-1 (HSV1), herpes simplex virüs-2 (HSV2), varicella zoster virüs (VZV), sitomegalovirüs (CMV), Epstein Barr virüs (EBV) ve human herpes virüs 6 (HHV6)] [Seeplex meningitis-V2 ACE Detection kiti (enterovirüsler)] ile çalışılmıştır. Hastalar klinik bulgularına, BOS değerlendirmesindeki; beyaz küre sayısına, hakim olan hücre tipine, protein, glukoz değerlerine, BOS/kan glukoz oranına ve kraniyal görüntüleme bulgularına göre pürülan menenjit, aseptik menenjit ve ensefalit tanıları ile gruplandırılmıştır. İzlem süresince çalışma kitinde bulunmayan bir etken ile enfekte olan, kronik menenjit tanısı alan veya farklı bir tanı alan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışma kriterlerini karşılayan 79 hasta (28 kadın, 51 erkek, yaş 42.1 ± 18.5) çalışmaya alınmıştır. Kırk altı hasta pürülan menenjit grubunda, 33 hasta ise aseptik menenjit/ensefalit grubunda yer almıştır. Olguların 41'inde multipleks PCR ile etken gösterilmiştir. Bakteriyel menenjit grubundaki olgularda konvansiyonel kültür yöntemiyle 10 (%21.7) olguda (9 *S.pneumoniae*, 1 *H.influenzae*), PCR yöntemiyle ise 27 (%58.6) olguda etken gösterilmiştir. Bu olguların 18'inde tek bakteri (14 *S.pneumoniae*, 2 *N.meningitidis*, 1 *H.influenzae*, 1 *L.monocytogenes*), 8 hastada bakteri-virüs, bir hastada ise iki bakteri birlikte saptanmıştır. Viral menenjit/ensefalit düşünülen 33 olgunun 14'ünde etken izole edilmiş, 11 olguda tek virüs (Yedi enterovirüs, iki HSV1, bir HSV2 ve bir VZV), üç olguda ise iki virüs birlikteliği tespit edilmiştir. Verilerimiz PCR yönteminin, SSS enfeksiyonlarında etkenin gösterilme oranını artırabildiğini göstermektedir. Çalışmamızdaki çoklu etken üremeleri dikkat çekicidir. Çoklu etken birlikteliğinin klinik olarak anlamlılığını değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar sözcükler: Akut bakteriyel menenjit; PCR; viral menenjit; ensefalit; mikst enfeksiyon.

ABSTRACT

In this multicenter prospective cohort study, it was aimed to evaluate the bacterial and viral etiology in community-acquired central nervous system infections by standart bacteriological culture and multiplex polymerase chain reaction (PCR) methods. Patients hospitalized with central nervous system infections between April 2012 and February 2014 were enrolled in the study. Demographic and clinical information of the patients were collected prospectively. Cerebrospinal fluid (CSF) samples of the patients were examined by standart bacteriological culture methods, bacterial multiplex PCR (Seeplex meningitis-B ACE Detection (*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, Group B streptococci) and viral multiplex PCR (Seeplex meningitis-V1 ACE Detection kits herpes simplex virus-1 (HSV1), herpes simplex virus-2 (HSV2), varicella zoster virus (VZV), cytomegalovirus (CMV), Epstein Barr virus (EBV) and human herpes virus 6 (HHV6)) (Seeplex meningitis-V2 ACE Detection kit (enteroviruses)). Patients were classified as purulent meningitis, aseptic meningitis and encephalitis according to their clinical, CSF (leukocyte level, predominant cell type, protein and glucose (blood/CSF) levels) and cranial imaging results. Patients who were infected with a pathogen other than the detection of the kit or diagnosed as chronic meningitis and other diseases during the follow up, were excluded from the study. A total of 79 patients (28 female, 51 male, aged 42.1 ± 18.5) fulfilled the study inclusion criteria. A total of 46 patients were classified in purulent meningitis group whereas 33 were in aseptic meningitis/encephalitis group. Pathogens were detected by multiplex PCR in 41 patients. CSF cultures were positive in 10 (21.7%) patients (nine *S.pneumoniae*, one *H.influenzae*) and PCR were positive for

27 (58.6%) patients in purulent meningitis group. In this group one type of bacteria were detected in 18 patients (14 *S.pneumoniae*, two *N.meningitidis*, one *H.influenzae*, one *L.monocytogenes*). Besides, it is noteworthy that multiple pathogens were detected such as bacteria-virus combination in eight patients and two different bacteria in one patient. In the aseptic meningitis/encephalitis group, pathogens were detected in 14 out of 33 patients; single type of viruses in 11 patients (seven enterovirus, two HSV1, one HSV2, one VZV) and two different viruses were determined in three patients. These data suggest that multiplex PCR methods may increase the isolation rate of pathogens in central nervous system infections. Existence of mixed pathogen growth is remarkable in our study. Further studies are needed for the clinical relevance of this result.

Keywords: Acute bacterial meningitis; polymerase chain reaction; viral meningitis; encephalitis; mixed infection.

GİRİŞ

Tıptaki gelişmelere rağmen, akut pürülan menenjitler ciddi mortalite ve morbiditeye neden olmaya devam etmektedir. Akut menenjitlerin etiolojisinde en sık bakteriler ve virüsler yer almaktadır^{1,2}. Toplum kökenli akut bakteriyel menenjitlerin büyük çoğunluğunu *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes* ve grup B streptokoklar oluşturmaktadır^{3,4}. Akut viral menenjitlerin ve meningoensefalitlerin etiolojisinde ise enterovirüsler, herpesvirüsler, adenovirüs, rinovirüs, insan immün yetmezlik virüsü, influenza, kabakulak, lenfositik koryomenenjit virüsü ve arbovirüsler en sık karşılaşılan etkenlerdir⁵.

Akut menenjitlerde, hastaların acil olarak değerlendirilmesi, etkenin tespiti ve etkene göre tedavinin düzenlenmesi hayat kurtarıcıdır. Olguların %32-75'inde ileri tanı yöntemleri (serolojik testler, doku biyopsisi, hücre kültürü, moleküler yöntem vb.) kullanılmasına rağmen etiyojik etken belirlenememektedir⁶. Konvansiyonel yöntemlerle uzun süren izolasyon ve kültür testlerinin aksine, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek olan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle etken hızla saptanabilmekte, bu sayede etkene yönelik uygun tedavi düzenlenebilmektedir^{7,8}.

Bu çalışmanın birinci amacı, toplum kaynaklı santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonlarında etken olan bakteriyel ve viral mikroorganizmaların multipleks PCR ile araştırılmasıdır. Bir diğer amaç ise, standart bakteriyel kültür yöntemi ile multipleks PCR sonuçlarının karşılaştırılması ve bu sonuçların klinik ve laboratuvar bulgular eşliğinde değerlendirilerek hızlı moleküler testlerin rutinde kullanılmasının gözden geçirilmesidir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Ege Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Komitesi (12-2.1/68) tarafından onaylanmış ve Helsinki bildirgesine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Nisan 2012-Şubat 2014 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi (EÜTF) Hastanesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi (EAH), Tepecik EAH, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine SSS enfeksiyonu bulguları ile başvuran 92 hasta çalışmaya alındı. Hastalar klinik bulguları, beyin omurilik sıvısı (BOS) değerlendirmesindeki bulguları (beyaz küre sayısı, hakim olan hücre

tipi, protein, glukoz değerleri, BOS/kan glukoz oranı) ve kraniyal görüntüleme bulgularına göre pürülan menenjit, aseptik menenjit ve ensefalit tanıları ile gruplandırıldı.

Hastaların ilk vizitlerinde demografik bilgileri, klinik-laboratuvar bulguları ve uygulanan tedavileri içeren olgu bildirim formları kayıt edildi. Tedavinin 3-5. gününde ve tedavi sonunda hastalar tedavi etkinliği ve komplikasyonlar açısından tekrar değerlendirildi ve sonuçlar olgu rapor formuna kaydedildi.

BOS örnekleri tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında kanlı agar, çikolata agar ve Eosin Methylene Blue (EMB) agara ekilerek 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Kan kültür örnekleri için BACT/ALERT 3D (Biomérieux, Fransa) otomatize sistemi kullanıldı. Pozitif sinyal alınan örnekler kanlı agar, çikolata agar ve EMB agara ekilerek 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda üreyen bakterilerin tanımlanmasında konvansiyonel ve otomatik (VITEK 2, bioMérieux, Fransa) değerlendirme yöntemleri kullanıldı.

Örnekler, PCR çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı. Nükleik asitlerin ekstraksiyonu, "viral DNA/RNA Extraction Kit (iNtRON, Güney Kore)" ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı. Ekstraksiyon işleminden itibaren reaksiyona internal kontroller ilave edildi. Ekstraksiyon işleminden sonra, RNA virüsleri için revers transkripsiyon ile cDNA'lar üretici firmanın (RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kits, Fermentas, ABD) önerileri doğrultusunda elde edildi. Virüslerin saptanması için Seeplex meningitis-V1 ACE Detection (Seegene, Güney Kore) ve Seeplex meningitis-V2 ACE Detection (Seegene, Güney Kore), bakterilerin saptanması için ise Seeplex meningitis-B ACE Detection (Seegene, Güney Kore) kitleri üreticilerin önerileri doğrultusunda kullanıldı. Seeplex meningitis-V1 ACE Detection kiti herpes simplex virüs 1 (HSV-1), herpes simplex virüs 2 (HSV-2), varicella zoster virüs (VZV), sitomegalovirüs (CMV), Epstein Barr virüs (EBV) ve human herpes virüs 6 (HHV6)'yı, Seeplex meningitis-V2 ACE Detection kiti enterovirüsleri, Seeplex meningitis-B ACE Detection kiti ise *S.pneumoniae*, *N.meningitidis*, *H.influenzae*, *L.monocytogenes* ve grup B streptokokları içermektedir. Sonuçların değerlendirilmesinde sisteme ait Meningitis-B ve Meningitis-V1, V2 ACE Screening yazılımı kullanıldı.

Çalışmanın istatistiksel analizlerinde, kategorik değişkenler için ki-kare veya Fisher Exact testi, parametrik ölçümler için Student's t-test ve nonparametrik ölçümler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için p değerinin < 0.05 olması kabul edildi. Analizler için SPSS versiyon 20 kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmaya 92 hasta alınmıştır. İzlem süresince çalışma kitinde bulunmayan bir etken ile enfekte olduğu saptanan (bir influenza virüsüne bağlı ensefalit, bir Lyme hastalığı), kronik menenjit tanısı alan (beş tüberküloz menenjiti) veya farklı bir tanı alan hastalar (bir kronik otitise sekonder kraniyal apse, beş nonenfeksiyöz nörolojik hastalık) çalışma dışı bırakılmıştır.

Kırk altı hasta pürülan menenjit grubunda, 33 hasta ise aseptik menenjit/ensefalit

grubunda yer almıştır. Çalışmaya alınan 79 hastanın (28 kadın, 51 erkek) yaş ortalaması 42.1 ± 18.5 (16-87 yaş) yaş olarak bulunmuştur.

Hastaların en sık başvuru yakınmaları sırasıyla baş ağrısı (%86), ateş yüksekliği (%83), bulantı-kusma (%60), bilinç değişikliği (%57) ve uykuya meyil (%45) olmuştur.

Hastaneye başvuru anında olguların %64.6'sında lökositoz olduğu görülmüştür. Bu durum pürülan menenjit grubunda %76, aseptik menenjit/ensefalit grubunda ise %48.4 oranındadır. C-reaktif protein yüksekliği tüm olgularda %71, alt gruplarda ise sırasıyla %82, %55 oranında tespit edilmiştir.

Çalışmaya alınan 79 hastanın BOS örnekleri hem standart bakteriyel kültür hem de bakteriyel ve viral etkenler için PCR yöntemi ile değerlendirilmiştir. On hastanın BOS kültüründe üreme olmuştur (dokuz pnömokok, bir *H.influenzae*). Beş hastanın kan kültüründe üreme olmuştur (beş pnömokok). Bu olguların BOS kültüründe de aynı etken saptanmıştır.

Olguların 41 (%51.9)'inde PCR yöntemi ile etken gösterilmiştir. Olguların 18 (%22.7)'inde tek bakteri (14 pnömokok, iki meningokok, bir *H.influenzae*, bir *L.monocytogenes*), 11 (%13.9)'inde tek virüs (yedi enterovirüs, iki HSV-1, bir HSV-2, bir VZV) saptanırken, 8 (%10.1)'inde bakteri ve virüs birlikte, üçünde iki virüs, birinde iki bakteri birlikte saptanmıştır. Bakteriyel kültür altın standart kabul edildiğinde PCR'nin duyarlılığı ve özgüllüğü %100 olarak saptanmıştır.

Klinik ve laboratuvar bulgular sonucunda bakteriyel menenjit ön tanısı düşünülen 46 olguda konvansiyonel kültür yöntemiyle 10 (%21.7) hastada üreme saptanırken, PCR yöntemi ile 27 (%58.6) hastada bakteriyel etken tanımlanmıştır. BOS ve kan kültüründe saptanan etkenlerin hepsi PCR yönteminde de pozitif olarak saptanmıştır.

Viral menenjit/ensefalit düşünülen 33 olgunun 14'ünde etken gösterilmiş, 11 olguda tek virüs, üç olguda ise iki virüs birlikteliği tespit edilmiştir. Tablo I'de viral menenjit ensefalit grubunda saptanan etkenler özetlenmiştir.

Olguların 37'sinde (%46.8) LP öncesinde antimikrobiyal ilaç kullanım öyküsü mevcut iken, bu olguların 25'i pürülan menenjit grubunda yer almıştır. Konvansiyonel kültür yöntemleriyle bu olguların dördünde,PCR yönteminde ise 15 olguda etken gösterilmiştir.

Çalışmaya alınan 79 hastanın 8 (%10.1)'i ölmüştür. Mortalite ile seyreden olguların tümünün bakteriyel menenjit grubunda olduğu tespit edilmiştir. Bakteriyel menenjit grubunda PCR pozitif ve negatif hastalar arasında ölüm açısından fark saptanmamıştır (4/27 karşı 4/19, $p= 0.70$). Hem kültür hem de PCR pozitif olgularda mortalite oranı yalnızca PCR pozitiflere göre nispeten daha yüksek bulunsa da, aradaki fark istatistiksel olarak (3/10 karşı 1/17, $p= 0.12$) anlamlı bulunmamıştır. Tablo II'de mortalite ile seyreden olguların verileri özetlenmiştir.

Tablo I. PCR Yöntemiyle İzole Edilen Etkenlerin Dağılımı

Bakteriyel menenjit olguları	
İzole edilen etkenler	Sayı
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	14
<i>Neisseria meningitidis</i>	2
<i>Haemophilus influenzae</i>	1
<i>Listeria monocytogenes</i>	1
<i>S.pneumoniae</i> + <i>N.meningitidis</i>	1
<i>S.pneumoniae</i> + enterovirüs	2
<i>S.pneumoniae</i> + EBV	2
<i>N.meningitidis</i> + enterovirüs	2
<i>S.pneumoniae</i> + HHV-6	1
Grup B streptokok + enterovirüs	1
Toplam	27
Viral menenjit/ensefalit olguları	
İzole edilen etkenler	Sayı
Enterovirüs	7
HSV-1	2
HSV-2	1
VZV	1
Enterovirüs + HSV-1	1
Enterovirüs + EBV	1
HSV-1 + EBV	1
Toplam	14

HSV: Herpes simpleks virüs; EBV: Epstein Barr virüs.

Tablo II. Mortalite ile Seyreden Olguların Değerlendirilmesi

Olgu	Yaş	Başvuru anında Glasgow koma skoru	LP öncesinde antibiyotik kullanımı	Menenjit tipi	Kültür sonucu	PCR
1	56	5	Var	Bakteriyel	Üreme yok	Negatif
2	33	12	Var	Bakteriyel	Üreme yok	Negatif
3	34	6	Yok	Bakteriyel	Üreme yok	Pnömonokok + Enterovirüs
4	62	10	Var	Bakteriyel	Pnömonokok	Pnömonokok
5	75	8	Yok	Bakteriyel	Pnömonokok	Pnömonokok
6	20	7	Var	Bakteriyel	Üreme yok	Negatif
7	57	3	Yok	Bakteriyel	Pnömonokok	Pnömonokok
8	76	9	Yok	Bakteriyel	Üreme yok	Negatif

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu.

TARTIŞMA

Menenjitli olguların SSS enfeksiyonuna neden olan etkenlerinin tayininde, konvansiyel kültür yöntemleri altın standart yöntem olmasına rağmen, nükleik asit testleri bu olgularda gittikçe daha sık olarak kullanılmaya başlanmıştır⁷. Nükleik asit testlerinin avantajları arasında patojenin saatler içinde saptanması, etkenin tayini için canlı mikroorganizmaya ihtiyaç duyulmaması ve kültür yöntemine oranla önceki antibiyotik tedavisinden daha az etkilenmesi sayılabilir⁹. Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak en sık görülen etkenler pnömokok ve meningokok olarak saptanmıştır^{1,2,4}.

Bakteriyel menenjitli olgularda nükleik asit testlerinin duyarlılık ve özgüllüğü standart kültür yöntemi ile karşılaştırıldığında %91-100 arasında değişmektedir¹⁰. Chiba ve arkadaşlarının¹¹ 150 çocuk ve 18 erişkin hastanın dahil edildiği çalışmasında BOS kültüründe %48.2, multipleks PCR'de ise %72 oranında etken varlığı gösterilmiştir. Brezilya'da, Sacchi ve arkadaşları¹² tarafından yapılan ve hastaların çoğunluğunun çocuk yaş grubunda olduğu bir çalışmada, 460 olgunun %27'sinde BOS kültüründe etken üretilmiştir. Aynı çalışmada etkeni PCR ile saptama oranı %57 olarak bulunmuştur. Ülkemizde yapılan ve akut bakteriyel menenjit tanısı alan 57 erişkin olgunun değerlendirildiği bir çalışmada, standart kültür yöntemiyle 10 (%17.5), multipleks PCR yöntemiyle ise 34 (%59.6) hastada etken gösterilmiştir¹³. Çalışmamızda akut bakteriyel menenjit tanılı 46 olguda konvansiyonel kültür yöntemiyle 10 (%21.7) hastada üreme saptanırken, PCR yöntemi ile 27 (%58.6) hastada bakteriyel etken tanımlanmıştır. Verilerimiz bu çalışmalarla uyumlu gözükmektedir.

Viral menenjit veya ensefalit tanılı immünyetmezliği olmayan 156 olgunun değerlendirildiği bir çalışmada herpes virüsler ve enterovirüsler PCR yöntemi ile araştırılmış ve olguların 55 (%36)'inde etken gösterilmiştir (49 enterovirüs, 6 herpes virüsler)¹⁴. Akhvediani ve arkadaşlarının¹⁵ yaptığı bir çalışmada ise viral menenjit veya ensefalit tanılı 51 olgunun 21 (%41)'inde etken (16 enterovirüs, 4 VZV, 1 HSV-1) saptanmıştır. Çalışmamızda bu iki çalışmaya benzer şekilde bu grup taki 33 olgunun 14 (%42.4)'ünde etken varlığı gösterilmiştir.

Çalışmamızda çoklu patojen etken birlikteliği dikkat çekicidir. Sekiz olguda bakteri ve virüs birlikteliği, üç olguda virüs-virüs birlikteliği, bir olguda ise iki bakteri saptanmıştır. Literatürde çoklu bakteriyel menenjitler açısından pnömokok, meningokok ve *H.influenzae*'nin birlikte sunulduğu olgu sunumları mevcuttur. Bu olgularda genellikle travma, kranial kitle vb. gibi altta yatan bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir¹⁶. Bizim olgumuzda herhangi bir risk faktörü bulunmamaktadır. Dupuis ve arkadaşlarının¹⁷ 2357 viral menenjit-ensefalit tanılı olgunun, BOS örneklerinin değerlendirildiği çalışmasında 340 örnekte etken gösterilmiş ve bu örneklerin 22'sinde virüs-virüs birlikteliği saptanmıştır. Labska ve arkadaşlarının¹⁸ çalışmasında 96 kene kaynaklı ensefalit ve 77 enterovirüs meningoensefaliti olgusunun BOS örnekleri HHV DNA açısından araştırılmış ve 12 (%6.9) olguda pozitiflik saptanmıştır. Çalışmamızda kullanılan moleküler kitlerle yapılmış olan bakteriyel-viral etkenlerin birlikte araştırıldığı ve 78 akut menenjit olgusunun yer aldığı bir başka çalışmada, hastaların %56'sında BOS'ta patojen etken varlığı saptanmıştır. Bizim

çalışmamıza benzer şekilde bu çalışmada da çoklu patojen etken birlikteliği mevcut olup, olguların dördünde bakteri-virüs, birinde virüs-virüs birlikteliği olduğu belirtilmiştir¹⁹.

Çalışmamızın kısıtlılıkları değerlendirildiğinde; hasta sayısının nispeten az olması, BOS örneklerinin biriktirilerek çalışılması nedeniyle, multipleks PCR sonuçları tedavilerin yönlendirilmesine aktif katkı sağlayamamış, ancak geriye dönük çıkarımlar yapılmıştır.

Sonuç olarak, rutin BOS incelemesine PCR testlerinin eklenmesi etken saptanma oranını artırmaktadır. Çalışmamız PCR ile bakteriyel-viral ya da viral-viral etkenlerin bir arada görülme olasılığının beklenenden daha yüksek olduğunu göstermektedir. PCR'nin rutin uygulamada kullanılması antibiyoterapinin doğru yönlendirimi ve gereksiz tedavi değişiklerini azaltabilir. Bu testlerin üçüncü basamak hastanelerde veya referans laboratuvarlarda daha sık kullanıma sunulması bu hasta grubunun yönetimine katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Tunkel AR, Van de Beek D, Scheld WM. Acute meningitis, pp: 1097-137. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 2015, 8th ed. Elsevier, Philadelphia.
2. van de Beek D, Cabellos C, Dzupova O, et al. ESCMID guideline: diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. Clin Microbiol Infect 2016;22 (Suppl 3): S37-62.
3. Thigpen MC, Whitney CG, Messonnier NE, et al. Bacterial meningitis in the United States, 1998-2007. N Engl J Med 2011; 364(21): 2016-25.
4. Arda B, Sipahi OR, Atalay S, Ulusoy S. Pooled analysis of 2.408 cases of acute adult purulent meningitis from Turkey. Med Princ Pract 2008; 17: 76-9.
5. Calleri G, Libanore V, Corcione S, De Rosa FG, Caramello P. A retrospective study of viral central nervous system infections: relationship amongst aetiology, clinical course and outcome. Infection 2017; 45(2): 227-31.
6. Tunkel AR, Glaser CA, Bloch KC, et al. The management of encephalitis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2008; 47(3): 303-27.
7. Brouwer MC, Tunkel AR, van de Beek D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. Clin Microbiol Rev 2010; 23(3): 467-92.
8. Çelik F, Erdoğan AP, Aydemir Ş, Uslu R, Sipahi OR. A case of *Listeria monocytogenes* bacteremia treated with levofloxacin. Mediterr J Infect Microb Antimicrob 2014; 3: 10.
9. Werno AM, Murdoch DR. Laboratory diagnosis of invasive pneumococcal disease. Clin Infect Dis 2008; 46(6): 926-32.
10. Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, et al. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. Clin Infect Dis 2004; 39(9): 1267-84.
11. Chiba N, Murayama SY, Morozumi M, et al. Rapid detection of eight causative pathogens for the diagnosis of bacterial meningitis by real-time PCR. J Infect Chemother 2009; 15(2): 92-8.
12. Sacchi CT, Fukasawa LO, Gonçalves MG, et al. Incorporation of real-time PCR into routine public health surveillance of culture negative bacterial meningitis in Sao Paulo, Brazil. PLoS One 2011; 6(6): e20675.
13. Başpınar EÖ, Dayan S, Bekçiabaşı M, et al. Comparison of culture and PCR methods in the diagnosis of bacterial meningitis. Braz J Microbiol 2017; 48(2): 232-6.
14. Casas I, Pozo F, Trallero G, Echevarria JM, Tenorio A. Viral diagnosis of neurological infection by RT multiplex PCR: A search for enterovirus and herpesviruses in a prospective study. J Med Virol 1999; 57: 145-51.
15. 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(11): e111393.

16. Downs NJ, Hodges GR, Taylor SA. Mixed bacterial meningitis. *Rev Infect Dis* 1987; 9(4): 693-703.
17. Dupuis M, Hull R, Wang H, et al. Molecular detection of viral causes of encephalitis and meningitis in New York State. *J Med Virol* 2011; 83(12): 2172-81.
18. Labská K, Roubalová K, Pícha D, Marešová V. Presence of herpesvirus DNA in cerebrospinal fluid of patients with tick-borne encephalitis and enteroviral meningoencephalitis. *J Med Virol* 2015; 87(7): 1235-40.
19. Shin SY, Kwon KC, Park JW, Kim JM, Shin SY, 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(1): 44-9.