

Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonlarında Viral Etiyolojinin İzmir’de Bir Üniversite Hastanesinin Yedi Yıllık Verileri Üzerinden Değerlendirilmesi

Evaluation of Viral Etiology in Central Nervous System Infections from A University Hospital Point of View in Izmir Based on Seven Years Data

Ayşın ZEYTİNOĞLU¹, Selda ERENŞOY¹, Rüçhan SERTÖZ¹, İmre ALTUĞLU¹, Candan ÇİÇEK¹, Münevver KAYIN¹, Hediye ŞİRİN², Şafak TANER³

¹ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

¹ Ege University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Izmir, Turkey.

² Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İzmir.

² Ege University Faculty of Medicine, Department of Neurology, Izmir, Turkey.

³ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İzmir.

³ Ege University Faculty of Medicine, Department of Public Health, Izmir, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 11.11.2016 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 11.03.2017

ÖZ

Santral sinir sistemi (SSS)’nin ciddi seyreden tabloları ensefalit ve menenjit, tanı konmadığında ve tedavi edilemediğinde yüksek mortalite ve morbidite ile seyreder. SSS enfeksiyonlarında nükleik asitlerin saptanması, viral tanıda tercih edilen tanı yöntemidir. Bu çalışmanın amacı, SSS enfeksiyonlarında viral etiolojinin üniversite hastanemizde yedi yıllık verileri üzerinden değerlendirilmesi için viroloji laboratuvarlarına gönderilen beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinde çalışılmış test sonuçlarını geriye dönük olarak değerlendirmek ve sonuçları ülkemizdeki diğer çalışmalarla karşılaştırmaktır. Çalışmada 01.01.2009-31.12.2015 tarihleri arasında SSS enfeksiyonu ön tanısı olan hastalardan Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’na gönderilen BOS örneklerinde çalışılmış test sonuçları geriye dönük olarak değerlendirilmiştir. Klinikten yapılan isteklere göre 487 örnekte hücre kültürü ile enterovirus (EV), gelen diğer BOS örneklerinde de gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile herpes simpleks virus 1 (HSV1), herpes simpleks virus 2 (HSV2), varisella zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), sitomegalovirus (CMV), insan herpes virus 6 (HHV6) ve EV için 3291 nükleik asit testi olmak üzere toplam 3778 test çalışılmıştır. VZV ve EV testleri sırasıyla son bir ve beş yılda araştırılmıştır. Nükleik asit testi ile çalışılan etkenlere göre HSV1, HSV2, CMV, EBV, VZV, HHV6 ve EV sırasıyla %1.80 (24/1333), %0.08 (1/1333), %3.28 (19/580), %4.35 (22/506), %0.46 (1/216), %1.05 (5/478) ve %3.37 (6/178)

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. Ayşın Zeytinoğlu, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 35100 Bornova, İzmir, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 232 390 2989, **E-posta (E-mail):** ayşin.zeytinoglu@ege.edu.tr

pozitif saptanmıştır. EV hücre kültüründe 487 BOS örneğinin 30 (%6.20)’unda saptanmıştır. Pozitif örnekler, başlıca Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Nöroloji ve Enfeksiyon Hastalıkları kliniğinden gelen örneklerde saptanmıştır. Aylara göre bakıldığında; pozitif örneklerin çoğunluğu hastaneye aralık (%35.3), temmuz (%12.9) ve kasım (%10.6) aylarında başvuran hastalara ait örneklerdi. Pozitif örneklerin %80’i 18 yaş üzerine aitti. Türkiye’den bildirilen diğer çalışmaların sonuçları incelendiğinde; pozitiflik oranlarının genel olarak benzer olmakla birlikte, seçilmiş daha küçük hasta gruplarında belirli etkenlere özgü oranların yüksek olduğu görülmektedir (HSV1, EV gibi). SSS enfeksiyonlarında daha birçok mikroorganizmanın da etken olabileceği düşünüldüğünde, rutin laboratuvar tanıda multiplex PCR, “microarray” gibi çoklu ve hızlı güvenilir nükleik asit testleriyle inceleme yapılması daha pratik ve etkin bir yaklaşım sağlayacaktır.

Anahtar sözcükler: Viral santral sinir sistemi enfeksiyonları; viral nükleik asit testleri.

ABSTRACT

The serious diseases of the central nervous system (CNS); encephalitis and meningitis, have high mortality and morbidity rate especially not diagnosed and treated in time. Nucleic acid testing (NAT) is the tool of choice for viral diagnosis in CNS infections. In this study, viral etiological agents found in cerebrospinal fluid (CSF) samples sent to our university hospital virology laboratory for laboratory diagnosis of CNS infections were retrospectively evaluated and results were compared with other reports from our country. Viral etiological agents found in cerebrospinal fluid (CSF) samples sent to Ege University Faculty of Medicine Department of Medical Microbiology Virology Laboratories for laboratory diagnosis of CNS infection between 01.01.2009-31.12.2015 were evaluated retrospectively. A total of 3778 CSF tests were performed for cell culture of enterovirus (EV) in 487 samples and 3291 tests for nucleic acid testing (NAT) by real time polymerase chain reaction (PCR) in herpes simplex virus 1 (HSV1), herpes simplex virus 2 (HSV2), varicella zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), cytomegalovirus (CMV), human herpes virus 6 (HHV6) and EV. VZV and EV NAT’s were performed during the last one and five years period, respectively. NAT positive results for HSV1, HSV2, CMV, EBV, VZV, HHV6 and EV were 1.80% (24/1333), 0.08% (1/1333), 3.28% (19/580), 4.35% (22/506), 0.46% (1/216), 1.05% (5/478) and 3.37% (6/178), respectively. EV was isolated in 30 (6.20%) of 487 CSF samples by viral culture. Positive samples were mainly from pediatric, neurology and infectious diseases clinics as expected. The number of higher positive results were found in samples sent in december (35.3%), july (12.9%) and november (10.6%). Overall 80% of positive samples belonged to patients over 18 years old. When the results of other studies reported from Turkey are examined, although the positivity rates are generally similar, it is seen that the rates specific to certain factors are higher in selected smaller patient groups like HSV1 and EV. Rapid nucleic acid tests like multiplex PCR and microarray will provide more practical and effective laboratory diagnosis approach in CNS infections, since many more microorganisms may be causative agents.

Keywords: Central nervous system viral infections; viral nucleic acid tests.

GİRİŞ

Akut menenjit ve ensefalit gibi santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonlarında başlıca etken virustur. Özellikle aseptik menenjitlerde enteroviruslar, ensefalitlerde ise herpes-viruslar ve arboviruslar en sık görülen viral etkenlerdir. Viral aseptik menenjitlerde klinik genellikle hafif seyrederek ve komplikasyonlar nadirdir. Ensefalit ise beyin parankiminin enflamasyonudur. Menenjitte beraber seyrederek meningoensefalit tablosuna neden olur. Ensefalitlerde menenjit tablosundan farklı olarak mental durumda değişiklikler ve epileptik nöbetler, SSS enfeksiyonlarında görülen ateş, baş ağrısı bulgularına eklenir. En-

sefalitlerde sekel ve ölüm oranları özellikle herpes simpleks ensefaliti (HSE)'nde erken antiviral başlanmazsa yüksektir ve tanı için örnekler alınır alınmaz ampirik tedavi başlanması önemlidir^{1,2}. Hastaların detaylı klinik değerlendirilmesinde altta yatan hastalıklar, mesleği, yaşadığı coğrafya, son zamanlardaki seyahatleri, hayvanlarla/kenelerle/sivrisineklerle temas ve aşılamalar menenjit ve ensefalit ön tanısı için önemlidir. Kızamık, kabakulak ve kızamıkçık aşılarının etkin yapıldığı ülkelerde bu etkenlere bağlı ensefalit oranları düşüktür.

SSS enfeksiyonlarının tanı yöntemi eskiden virus izolasyonu iken artık duyarlılık ve özgüllüğü yüksek olan nükleik asit testleri (NAT) günümüzde rutin tanıda yerlerini almıştır. Son yıllarda özellikle immün sistemi baskılanmış olgularda multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tanıda daha da yararlı olmaktadır. Batı Nil virusunun tanısında ise vireminin kısa sürmesi nedeniyle tanıda beyin omurilik sıvısı (BOS)'nda IgM'nin saptanması önerilmektedir. Bazı latent virusların (Epstein-Barr virus (EBV), insan herpes virus 6 (HHV6) vb.) etken olduğunun gösterilmesi için kantitatif NAT önerilmektedir ancak bu konuda bir standardizasyon yoktur. BOS'da negatif NAT sonuçlarında klinik bulgular devam ediyorsa yeni örnekler NAT 3-5 gün sonra tekrar edilmelidir. Viral SSS enfeksiyonlarının ilk üç gününde ve 10. günden sonra yanlış negatif sonuçlar alınabilir³.

Laboratuvarımızda uzun yıllardan beri rutinde uygulanan BOS'ta herpes simpleks virus 1 ve 2 (HSV1, HSV2), CMV, HHV6, EBV DNA testlerine 2010 yılında enterovirus (EV) RNA ve 2014 yılından beri varisella zoster virus (VZV) DNA testi eklenmiştir. Bu çalışmada, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Viroloji Laboratuvarlarında SSS enfeksiyonu ön tanısıyla 2009 yılından beri incelenen BOS örneklerinde HSV1, HSV2, VZV, EBV, CMV, HHV6 DNA, EV RNA ve 2005 yılından itibaren de EV hücre kültürü sonuçlarımız incelenmiş, tanısall mikrobiyoloji laboratuvarımızda kullanılan yöntemlerle SSS enfeksiyonları viral etiolojide tanımlanan etken virusların ve oranlarının değerlendirilmesi amaçlanmış ve elde edilen verilerin ülkemizde 2015 yılı sonuna kadar SSS enfeksiyonu için bildirilen viral etkenlerle karşılaştırılması planlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Viroloji Laboratuvarına 01.01.2009-31.12.2016 tarihleri arasında SSS enfeksiyonu ön tanısıyla (yedi yıllık) gönderilen BOS örnekleri değerlendirildi. Klinikten yapılan isteklere uygun olarak; EV hücre kültürü 487 BOS örneğinde ve 3291 NAT BOS örneğinde çalışıldı. Bu tarihlerde HSV1 ve HSV2 DNA için 1333'er, VZV DNA için 216, EBV DNA için 506, CMV DNA için 580, HHV 6 DNA için 478 ve EV RNA için 178 test çalışıldı. EV için 01.01.2009-01.05.2015 tarihlerinde yapılan hücre kültürü sonuçları da değerlendirmeye alındı.

Gerçek zamanlı PCR için Lightcycler Roche (İsviçre), Rotorgene Qiagen (Almanya), Seegene multiplex PCR (Kore), Fluorion Iontek (Türkiye), Abbott M2000 (ABD), Saccace-ABI 7500 (İtalya, ABD) ve Cepheid Gene Expert (ABD) kitleri ve platformları kullanıldı. VZV ve EV NAT yöntemleri sırasıyla son bir ve beş yıl içerisinde rutine girmiştir. Bu dönemde kullanılan NAT yöntemleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Üretici firmaların önerilerine uygun nükleik asit izolasyon yöntemleri ve analizde frekans ve yüzde dağılımları kullanıldı.

Tablo I. 01.01.2009-31.12.2016 Tarihlerinde Kullanılan Gerçek Zamanlı PCR Yöntemleri

	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
HSV1 DNA	LCR	Q	LCR				MPCR
HSV2 DNA	LCR	Q	LCR				MPCR
VZV DNA							MPCR
EBV DNA	LCR	Q	LCR			FI	MPCR
CMV DNA	Q	FI				A	MPCR
HHV6 DNA	LTPCR		S				MPCR
EV RNA		S		GE			
■ : Rutinde NAT yok; LCR: Lightcycler Roche; Q: Qiagen; MPCR: Multipleks polimeraz zincir reaksiyonu; Seegene; FI: Fluorion Iontek; A: Abbott; S: Saccace; GE: Gene expert; HSV: Herpes simpleks virus; VZV: Varisella zoster virus; EBV: Ebstein-Barr virus; CMV: Sitomegalovirüs; HHV: Human herpes virus; EV: Enterovirus.							

Hücre kültürü için gelen örnekler Vero (National Public Health Institute, Helsinki, Finlandiya), HEP-2 (National Public Health Institute, Helsinki, Finlandiya), RD (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, DSMZ, Almanya) hücre dizileri olmak üzere üç ayrı “shell vial”e ekildi. Kırk sekiz saatlik inkübasyon süresi sonunda “shell vial”de bulunan lameller floresan izotiyosiyanat ile işaretlenmiş EV poliklonal antikor (Light Diagnostic, Millipore, Amerika) kullanılarak boyandı.

BULGULAR

Cinsiyet açısından kadın ve erkek oranları NAT ile bakılan örneklerde sırasıyla, HSV1 ve HSV2 için %48.3, %51.7, VZV için %46.3, %53.7, EBV için %46.6, %53.4, CMV için %45.2, %54.8, HHV6 için %45.4, %54.6 ve EV için %44.4, %55.6 olarak bulunmuştur. HSV için başvuran hastaların %20’sinin, VZV için başvuranların %3.7’sinin, EBV için başvuranların %29.1’inin, CMV için başvuranların %23.4’ünün, HHV6 için başvuranların %19.2’sinin ve EV için başvuranların %56.2’sinin 18 yaşından küçük olduğu gözlenmiştir. 01.01.2009-01.05.2015 tarihleri arasında EV izolasyonu için başvuran 487 olgunun %45’i kadın, %55’i erkek ve 0-88 yaşındaki olguların medyan yaşının dokuz olduğu görülmüştür. Herpes DNA istekleri en sık nöroloji kliniğinden, ikinci olarak da çocuk sağlığı ve hastalıkları kliniğinden olmuştur. EV RNA istekleri ise en sık sırasıyla çocuk sağlığı ve hastalıkları, enfeksiyon hastalıkları ve nöroloji kliniklerinden gelmiştir. NAT istekleri geldikleri aylara göre değerlendirildiğinde, HSV1, HSV2, EBV ve CMV DNA testlerinin aylara göre dağılımında bir özellik olmamakla beraber, EV, VZV ve HHV6 daha çok kasım ve aralık aylarında istenmiştir. HHV6 için bu aylara ek olarak, ekim ayı ve VZV için de ağustos ayı örneklerinin daha fazla istendiği aylar olmuştur.

Yedi yıllık dönemde SSS enfeksiyonu laboratuvar tanısı için istenen 3291 viral NAT’ta 78 pozitiflik saptanmıştır. BOS örneklerinde NAT ile saptanan etken viruslar Tablo II ve III’te gösterilmiştir.

Tablo II. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Viroloji Laboratuvarına Yedi Yıllık Dönemde Rutin SSS Enfeksiyonu Ön Tanısıyla Gelen BOS Örneklerinde NAT ile Saptanan Etken Viruslar

Etken	Sayı	Pozitif	Yüzde
HSV1	1333	24	%1.80
HSV2	1333	1	%0.08
CMV	580	19	%3.28
EBV	506	22	%4.35
VZV	216	1	%0.46
HHV6	478	5	%1.05
EV	178	6	%3.37

HSV: Herpes simpleks virus; VZV: Varisella zoster virus; EBV: Epstein-Barr virus; CMV: Sitomegalovirüs; HHV: Human herpes virus; EV: Enterovirus.

Tablo III. Saptanan İkili (dual) Etkenler

Saptanan viruslar (NAT)	Sayı
HSV1 + EBV	3
HSV1 + HHV6	1
EBV + VZV	1
EBV + HHV 6	1

NAT: Nükleik asit testi; HSV: Herpes simpleks virus; EBV: Epstein-Barr virus; HHV: Human herpes virus; VZV: Varisella zoster virus.

EV hücre kültürü için gelen 487 BOS örneğinin 30 (%6.20)'unda EV izole edilmiştir. Pozitif örneklerin yaş aralığı 2-73, yaş ortalaması 20 ve medyan değeri 10 yaş olarak hesaplanmıştır. Pozitif olguların 29'u aseptik menenjit, biri ensefalopati ön tanısıyla başvuran olgulardır. Olguların 21 (%70)'i mart (n= 4), nisan (n= 3), ekim (n= 6), kasım (n= 4) ve aralık (n= 4) aylarında gelmiştir.

Viral etiyoloji açısından pozitif bulunan NAT sonuçlarının %44.4'ü kadın, %55.6'sı erkek olgulara ait iken pozitif bulunan olguların %80'inin yaşı > 18 olarak saptanmıştır. Sadece EV NAT değerlendirildiğinde bu oran %43.8, EV hücre kültürü pozitifliğinde de (8 erişkin/30) %26.7 olarak bulunmuştur. Pozitif örnekler başlıca çocuk sağlığı ve hastalıkları, nöroloji ve enfeksiyon hastalıkları kliniğinden gelen örneklerden saptanmıştır. Aylara göre bakıldığında pozitif örneklerin çoğunluğu hastaneye aralık (%35.3), temmuz (%12.9) ve kasım (%10.6) aylarında başvuran örneklerken, pozitif örneklerin %80'i 18 yaş üzeri olgulardan belirlenmiştir.

TARTIŞMA

SSS enfeksiyonlarında viral etkenlerin rutin saptanmasında tüm dünyada oranlar düşüktür⁴. BOS'ta virusların saptanmasında altın standart PCR yöntemidir. Ülkemizde SSS enfeksiyonlarında viral etkenlerin saptanması çalışmaları 2000 yılından itibaren hız ka-

zanmıştır. Viral izolasyonlarla yapılan çalışmaları, PCR ile yapılan moleküler testler, sonrasında da multipleks PCR çalışmaları izlemiştir. Ülkemizde yapılan bu çalışmalarda HSV1 DNA viral SSS enfeksiyonlarında %0.9-3.6, ensefalit tablosu olan olgularda %19-29.4, ensefalit + HSE ile uyumlu manyetik rezonans bulguları olan olgularda ise %69 ve aseptik menenjitlerde %9.7 olarak bildirilmiştir. Viral SSS enfeksiyonu ön tanısıyla gelen olgularda %1.2-1.8 VZV, %0- 15 EBV, %0.4-2 CMV, %0.4-0.9 HHV6 ve %0.4 adenovirus saptanmıştır. EV RNA'sı viral SSS enfeksiyonlarında %4-18 ve aseptik menenjitlerde pediatrik grupta %17-63 olmak üzere %8-38.7 oranında bildirilmiştir⁵⁻¹⁹ (Tablo IV). Çalışmamızda SSS enfeksiyonlarında saptadığımız HSV1, HSV2, CMV, VZV, HHV6 ve EV oranları ülke genelindeki çalışmalarla benzerdir. Çoğu kongre sunusu olan diğer çalışmaların yayınlanmasıyla ülkemizdeki herpesvirus ve EV dağılımı daha net olarak ortaya çıkacaktır. Ülkemizden bildirilen bazı çalışmalarda olduğu gibi değişik merkezlerden, ön tanı ile değil, aseptik menenjit ve ensefalitlerin ayrı ayrı bildirimleriyle bu klinik tabloların etken profilinin oranları yükselecektir. Dupuis ve arkadaşlarının⁴ New York şehrinde SSS enfeksiyonu

Tablo IV. Ülkemizde 2015 Yılı Sonuna Kadar SSS Enfeksiyonunda Viral Etiyolojik Etken Bildiren Çalışmalar

	Olgu grubu	İl, yıl	Sayı	Pozitif %	Araştırmacı
HSV1	Ensefalit	İzmir, 2006	30	17	Altuğlu ⁵
	Ensefalit	İzmir, 2005	34	29.4	Mülayim ¹¹
	Ensefalit	İzmir, 2000	21	19	Zeytinoğlu ¹⁸
	Ensefalit + HSE ile uyumlu MR	İstanbul, 2014	80	69	Sili ¹⁹
	SSS enfeksiyonu	Konya, 2014	250	3.6	Feyzioğlu ⁹
	SSS enfeksiyonu	İzmir, 2014	111	0.9	Kalfaoğlu ¹²
	Aseptik menenjit	İzmir, 2003	31	9.7	Sayiner ¹⁶
	SSS enfeksiyonu	İzmir, 2013	198	1	Soylar ¹⁷
VZV	SSS enfeksiyonu	Konya, 2014	250	1.2	Feyzioğlu ⁹
	Akut menenjit	İzmir, 2014	111	1.8	Kalfaoğlu ¹²
EBV	SSS enfeksiyonu	Konya, 2014	250	0	Feyzioğlu ⁹
	Akut menenjit	İzmir, 2014	111	1.8	Kalfaoğlu ¹²
	EBV SSSE	Antalya, 2013	170	3.6	Sağlık ¹⁴
	SSS enfeksiyonu	İzmir, 2013	20	15	Soylar ¹⁷
CMV	SSS enfeksiyonu	Konya, 2014	250	0.4	Feyzioğlu ⁹
	SSS enfeksiyonu	İzmir, 2013	46	2	Soylar ¹⁷
HHV6	SSS enfeksiyonu	Konya, 2014	250	0.4	Feyzioğlu ⁹
	Akut menenjit	İzmir, 2014	111	0.9	Kalfaoğlu ¹²
EV	Aseptik menenjit - P	Ankara, 2003	68	63	Güney ¹⁰
	SSS enfeksiyonu	İzmir, 2012	186	5.3	Çiçek ^{6,*}
	SSS enfeksiyonu	İzmir, 2014	234	5.9	Çiçek ^{7,*}
	Aseptik menenjit - P	Ankara, 2005	54	17	Özkaya ^{13,*}
	Aseptik menenjit	Mersin, 2015	50	8	Dirim ⁸
	SSS enfeksiyonu	İzmir, 2014	111	18	Kalfaoğlu ¹²
	Aseptik menenjit	İzmir, 2003	31	38.7	Sayiner ¹⁶
	SSS enfeksiyonu	İzmir, 2013	25	4	Soylar ¹⁷
ADV	ADV SSS enfeksiyonu	Antalya, 2013	253	0.4	Sağlık ¹⁵

* Hücre kültürü çalışması. SSS: Santral sinir sistemi; P: Pediatrik; HSE: Herpes simpleks ensefaliti; MR: Manyetik rezonans görüntüleme; ADV: Adenovirus.

düşünülen 2357 olguyu içeren ve iki yıl süren çalışmada en sık saptanan etkenlerden BOS EV %5.5, EBV %3.6, HSV1 ve HSV2 %2.8 ve VZV NAT %1.9 oranında saptanmıştır. Çalışmamızdaki HSV1 (%1.80), HSV2 (%0.08), VZV (%0.46) ve EV (%3.37) oranları biraz daha düşük olmakla birlikte, total etiyolojik viral etken saptama yüzdemiz benzerdir. Dupuis ve arkadaşlarının⁴ çalışmada farklı olarak iki yılda saptanan toplam viral etiyoloji %8.9 ve %14.8'dir. Finlandiya'dan %29 gibi yüksek oranda bildirilen VZV'ye bağlı SSS enfeksiyonu, dünyada yapılan diğer çalışmalarda düşük oranda bildirilmiştir²⁰. Çalışmamızda bu oran aynı şekilde düşük bulunmuştur.

HHV6 ve özellikle subtip B ekzantem subitum primer enfeksiyonu sonrası latent kalan bir virustur²¹⁻²³. EBV gibi amplifikasyon yöntemleriyle BOS'ta saptanan ve özellikle dual enfeksiyon olarak saptanan HHV6 genomunun etiyolojik tanıdaki yeri tartışmaya açıktır. Kan hücrelerinde, beyinde ve diğer dokularda latent kalan virusların BOS'ta ve SSS'de saptanması viral etiyoloji açısından değerlendirme gerektirir. Çalışmamızda dual enfeksiyonlarda en yüksek oranda saptanan EBV, akut enfeksiyon dışında virusun latent enfeksiyonu veya reaktivasyonuna bağlı da saptanabilir. Bu durumun ortaya konulması enfeksiyonun etyolojisi açısından önemlidir. EBV, HHV6 ve VZV akut enfeksiyon etiyolojisinde ve dual enfeksiyonlarda bu bakış açısıyla değerlendirilmesi gerekir. BOS'ta lenfotropik herpes virus (EBV, HHV6, HHV7, HHV8) DNA PCR pozitif ise muhtemel ilgili herpes virusla ilişkili ensefaliti gösterir, tanı kesin değildir²⁴. HHV6 için PCR'nin duyarlılığı %95'in üzerinde olmakla birlikte, sağlıklı erişkinlerde ensefalit tanısı açısından pozitif prediktif değerinin %30 olduğu bildirilmiştir²⁵.

CMV ensefaliti sıklıkla immünkompetan olgularda değil, HIV enfekte olgularda, organ transplant alıcılarında ve konjenital CMV'li yenidoğanda izlenmektedir. CMV DNA pozitiflik saptadığımız 19 olgunun dokuzu bu kriterlere uygundu.

EV'lerden en sık bildirilen SSS enfeksiyon etkeni koksaki (A9, B1, B5 vb.) ve ekoviruslardır (5, 6, 18, 30, 70, 71 vb.)^{2,26}. Bu çalışmada EV'ler tiplendirilmemiştir. Hücre kültürü ile EV'lerin saptanmasında elde edilen pozitiflik oranları NAT ile elde edilenlere göre daha yüksek oranda bulunmuştur. Bu bulgunun hücre kültürü testlerinin yapıldığı hasta grubunun çoğunluğunun aseptik menenjit tanısı alan hastalardan oluşması nedeniyle olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda araştırılmayan ancak ülkemizde yapılan çalışmalarda Batı Nil virusu (BNV) ise, SSS ön tanılı olgularda, %0-2.7 oranında pozitif bulunmuştur²⁷⁻²⁹. Özellikle HSE ve BNV ile ilgili olgu sunumları ve hasta serileri ülkemizdeki klinik tablolar açısından yol göstericidir. Hastanemizde solid organ alıcısı bir olguda BNV meningoensefaliti saptanmıştır³⁰. Subakut sklerozan panensefalit tablosu ile başvuran olgularda bildirilen antikor indeksi pozitifliği ise %19-63.6 olarak tespit edilmiştir³¹⁻³³.

SSS enfeksiyonlarından sorumlu tüm viruslar ve özellikle herpesvirus NAT ile tanı koyan laboratuvarlar mutlaka kalite standartlarını sağlamalı ve bir yeterlilik programına katılmalıdır²⁴. Virusların SSS enfeksiyonlarındaki rolü ekstraksiyon yöntemlerinin otomasyonu, gerçek zamanlı PCR ve özellikle multipleks PCR'nin otomasyonu NAT'larda standardizasyon açısından gelişmeler ve etken olan geniş virus spektrumun yakalanması açısından avantaj sağlamaktadır.

Viruslar dışında SSS etkenlerinin ayırıcı tanısında bakterilerin yanı sıra mantar, protozoa, helmintler ve enfeksiyon dışı etiyolojiler önemlidir. Tüm mikrobiyal etkenlerin saptanmasına yönelik mikroarray gibi teknolojiler var olmakla birlikte henüz rutin tanıda yerini alamamıştır.

Yedi yıllık rutin laboratuvar sonuçlarımız geriye dönük olarak değerlendirildiğinde SSS enfeksiyonu ön tanısıyla çalışılan NAT’larda etkenlere göre HSV1, HSV2, CMV, EBV, VZV, HHV6 ve EV için sırasıyla %1.80, %0.08, %3.28, %4.35, %0.46, %1.05 ve %3.37 pozitiflik saptanmıştır. EV hücre kültürü ile pozitiflik %6.20 bulunmuştur. Laboratuvar tanısı için istenen 3291 viral NAT’da 78 örnekte pozitiflik saptanmış ancak BOS örneklerinin hepsinde tüm çalışılan viral etkenler istenmediği için virusların arasında oran karşılaştırılması anlamlı bulunmamıştır. HSE gibi özgün klinik ve radyolojik bulguları olan viral enfeksiyonlarda HSV’nin seçilerek istenmesi daha uygun olacaktır. Ancak bu tür olgular dışında SSS enfeksiyonu klinik olarak çok ayırt edici olmadığından, mikrobiyolojik tanıda çoklu viral hatta bakteriyel etkenlerin panellerle araştırılması daha doğru sonuçlar verecektir. Rutin tanıda artık kullanıma girmiş olan viral SSS etkenleri tanı testleri daha geniş serilerle ve yapılacak prospektif çalışmalarla şimdiki bilgilerimizi pekiştirecek ve genişletecektir. Bu testlerin iyi laboratuvar uygulamaları, algoritmaları ve ülkemizde gereksinim duyacağımız test politikaları, önümüzdeki yıllarda ele alınması gereken konulardır.

KAYNAKLAR

1. Human herpesviruses, pp: 461-83. In: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA (eds), Medical Microbiology, 2013, 7th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia.
2. Tunkel AR, Beckham DJ, Tyler KL. Central nervous system infections, pp: 1183-263. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases, 2010, 7th ed. Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia.
3. Cinque P, Bossolasco S, Lundkvist A. Molecular analysis of cerebrospinal fluid in viral diseases of the central nervous system. J Clin Virol 2003; 26(1): 1-28.
4. 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: 2172-81.
5. 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(10): 669-71.
6. Çiçek C, Soylar M, Pullukçu H, Bayram N, Metin DY. Enteroviral menenjitlerin shell vial hücre kültürü yöntemiyle laboratuvar tanısı. 35. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 3-7 Kasım 2012 Aydın. Kongre Kitabı, s: 314-5, P196.
7. Çiçek C, Kalfaoğlu H, Pullukçu H, Bayram N, Metin D. Enteroviral menenjitlerin shellvial yöntemiyle laboratuvar tanısı. 36. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 12-16 Kasım 2014 Antalya. Kongre Kitabı, s: 363-4, PS-340.
8. Dirim CÇ, Ülger ST, Aslan G ve ark. Aseptik menenjit şüpheli hastalara ait BOS örneklerinde human parechovirus ve enterovirusların araştırılması. 3. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi 18-22 Kasım 2015, Antalya. Kongre Kitabı, s: 347, PS365.
9. Feyzioğlu B, Özdemir M, Yavru S, Baykan M. Merkezi sinir sistemi enfeksiyonu düşünülen olgularda herpes grubu virusların Konya bölgesinde son 3 yıldaki dağılımı. 36. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 12-26 Kasım 2014 Antalya, Kongre Kitabı. s: 369-70, PS-349.
10. 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 reactin (PCR) assay. Diagn Microb Infect Dis 2003; 47(4): 557-62.
11. Mülâyim S, Şirin H, Kocaman Sağduyu A, Zeytinoglu A, Erensoy S. Viral ensefalitlerde tanı sorunları ve prognoz. Türk Nöroloji Dergisi 2005; 04: 377-8.

12. Kalfaoğlu H, Kahraman H, Pullukçu H, Çiçek C. Akut menenjit kliniği ile başvuran hastaların BOS örneklerinde viral etkenlerin erken tanısı. 36. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 12-26 Kasım 2014 Antalya. Kongre Kitabı, s: 366-7, PS-343.
13. Özkaya E, Uysal G, Atak T, Alkan M. 2001-2004 yılları arasında aseptik menenjit ön tanılı pediatrik olgulardan izole edilen enterovirus serotiplerinin dağılımı. Mikrobiyol Bul 2005; 39(1): 43-51.
14. Sağlık İ, Sarınoğlu RC, Mutlu D, Koyun M. Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Epstein-Barr virus DNA'sının araştırılması için gönderilen örneklerin değerlendirilmesi. 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi 10-13 Kasım 2013 Antalya. Kongre kitabı, s: 388, PS447.
15. Sağlık İ, Sarınoğlu RC, Mutlu D ve ark. Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Adenovirus DNA'sının araştırılması için gönderilen örneklerin değerlendirilmesi. 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi 10-13 Kasım 2013 Antalya, Kongre Kitabı, s: 397, PS467.
16. 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(S1): 410.
17. Soylar M, Altuğlu İ, Sertöz R, Aydın D, Akkoyun F, Zeytinoğlu A. Ege Üniversitesi Hastanesi'nde santral sinir sistemi enfeksiyonu olgularının beyin omurilik sıvısı örneklerinde saptanan viral etkenler. 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi 10-13 Kasım 2013 Antalya. Kongre kitabı, s: 396, P465.
18. Zeytinoğlu A, Altuğlu İ, Sayiner A ve ark. Herpes ensefalitinin beyin omurilik sıvısı örneklerinden polimeraz zincir reaksiyonu ile tanısı. FLORA 2000; 5(3): 179-82.
19. Sili U, Kaya A, Mert A; HSV Encephalitis Study Group. Herpes simplex virus encephalitis: clinical manifestations, diagnosis and outcome in 106 adult patients. J Clin Virol 2014; 60(2): 112-8.
20. Koskiniemi M, Rantalaiho T, Piiparinen H, et al. Infections of the central nervous system of suspected viral origin: A collaborative study from Finland. J Neurovirol 2001; 7(5): 400-8.
21. Daibata M, Taguchi T, Nemoto Y, Taguchi H, Miyoshi I. Inheritance of chromosomally integrated human herpesvirus 6 DNA. Blood 1999; 94(5): 1545-9.
22. Tanaka-Taya K, Sashihara J, Kurahashi H, et al. Human herpesvirus 6 (HHV-6) is transmitted from parent to child in an integrated form and characterization of cases with chromosomally integrated HHV-6 DNA. J Med Virol 2004; 73(3): 465-73.
23. Clark DA, Nacheva EP, Leong HN, et al. Transmission of integrated human herpesvirus 6 through stem cell transplantation: implications for laboratory diagnosis. J Infect Dis 2006; 193(7): 912-6.
24. Boivin G. Diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system. Herpes 2004; 11(S2): 48A-56A.
25. Rotbart HA. Aseptic and viral meningitis, pp: 284-91, In: Long SS, Pickering LK, Prober CG (eds), Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases, 2003, 2nd ed. Churchill Livingstone, New York.
26. Tavakoli NP, Wang H, Nattanmai S, Dupuis M, Fusco H, Hull R. Detection and typing of enteroviruses from CSF specimens from patients diagnosed with meningitis/encephalitis. J Clin Virol 2008; 43(2): 207-11.
27. Kahraman H, Kalfaoğlu H, Pullukçu H, Çiçek C, Taşbakan M, Sipahi OR. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile beyin omurilik sıvısında Batı Nil virüsü saptanan olguların değerlendirilmesi. 36. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 12-26 Kasım 2014 Antalya. Kongre kitabı, s: 383-4, PS-369.
28. Kuşkuçcu MA, Ergin S, Abdelkareem A, Gözün E, Midilli K. Rutin inceleme ile negatif bulunan beyin omurilik sıvısı örneklerinde Batı Nil Ateşi virüsü, Toscana virüs ve lenfositik koriomenenjit virüsünün araştırılması. 35. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kasım 2012 Aydın. Kongre Kitabı, s: 317, P203.
29. Öcal M, Önder H, Arsava EM, Alp Ş, Özkul A, Ergünay K. Ankara ilinde Batı Nil virusu köken-1 kaynaklı bir merkezi sinir sistemi enfeksiyonu olgusu. Mikrobiyol Bul 2013; 47(1): 164-72.
30. Ertılav M, Özkul A, Zeytinoğlu A, et al. Meningoencephalitis caused by West Nile virus in a renal transplant recipient. Mikrobiyol Bul 2014; 48(4): 674-82.
31. Coşgun Y, Korukluoğlu FG. SSPE (Subakut Sklerozan Panensefalit) tanısında kızamık intratekal antikor sentez indeksi sonuçlarının değerlendirilmesi. 3. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi 18-22 Kasım 2015, Antalya. Kongre kitabı, s: 373-4, PS425.
32. Şamlıoğlu P, Ünalp A, Gökçay A, Altuğlu İ, Öztürk A, Zeytinoğlu A. Yüksek BOS/serum kızamık antikor indeksi ile tanımlanan subakut sklerozan panensefalit olguları. Mikrobiyol Bul 2012; 46(4): 716-8.
33. Yeşilkaya A, Kurt Azap Ö, Arslan H, et al. Ölümcül seyreden Batı Nil virusu ensefaliti olgusu. Mikrobiyol Bul 2012; 46(3): 488-92.