

Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonlarının Tanısında Bio-Speedy Menenjit/Ensefalit Panelinin Değerlendirilmesi

Evaluation of the Bio-Speedy Meningitis/Encephalitis Panel in the Diagnosis of Central Nervous System Infections

Osman MİRDAN¹ (ID), İmran SAĞLIK¹ (ID), Fatma Dilşad AKSOY² (ID), Uğur ÖNAL³ (ID), Cüneyt ÖZAKIN¹ (ID), Mustafa Kemal HACIMUSTAFAOĞLU² (ID), Solmaz ÇELEBİ² (ID), Harun AĞCA¹ (ID), Mehmet TEKİNSOY⁴ (ID), Beyza ENER¹ (ID)

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

¹ Bursa Uludağ University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Bursa, Türkiye.

² Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa.

² Bursa Uludağ University Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Bursa, Türkiye.

³ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

³ Bursa Uludağ University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases, Bursa, Türkiye.

⁴ Münih Teknik Üniversitesi Viroloji Enstitüsü, Münih.

⁴ Munich Technical University, Institute of Virology, Munich, Germany.

Makale Atfı: Merdan O, Sağlık İ, Aksoy FD, Önal U, Özakin C, Hacimustafaoğlu MK ve ark. Merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarının tanısında Bio-Speedy menenjit/ensefalit panelinin değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2024;58(3):270-283.

ÖZ

Merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonları doğru tanı ve tedavi sağlanamadığında ciddi sonuçlara neden olabilmektedir. Olası etiyolojik patojenlerin geniş spektrumu MSS enfeksiyonlarının tanısını zorlaştırılmaktadır. Polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] tabanlı multipleks moleküler tanı panelleri, beyin omurilik sıvısı (BOS)’ndan birçok farklı patojeni kısa sürede ve aynı anda tanımlayabilmektedir. Bu çalışmada, MSS enfeksiyonlarının tanısında yeni bir multipleks PCR testi olan Bio-Speedy Meningitis/Encephalitis RT-PCR MX-17 panelinin (Bioeksan, İstanbul, Türkiye) değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu panel, BOS örneklerinden olası MSS patojenlerinin [*Escherichia coli* K1, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, enterovirüsler (EV), herpes simpleks virüs (HSV) tip 1 ve 2, HHV-6, HHV-7, HHV-8, insan parekovirüsü (HPeV), varisella zoster virüs (VZV), sitomegalovirüs (CMV) ve *Cryptococcus gatti/neoformans*] hızlı (< 1 saat) biçimde eş zamanlı olarak tespit edilmesini amaçlamaktadır. Bu retrospektif çalışmaya MSS enfeksiyonu etkenlerinin aranması için Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Haziran 2022-Temmuz 2023 tarihleri arasında gönderilen 128 hastaya ait 128 BOS örneği dahil edilmiştir. Hastaların klinik, radyolojik ve laboratuvar verileri Hastane Bilgi Kayıt Sistemi (HBKS)’nden elde edilmiştir. BOS örnekleri ilk olarak biyokimyasal özellikleri ve hücre varlığı açısından analiz edilmiş ve Gram boyama yöntemiyle değerlendirilmiştir. Olası bakteriyel ve fungal etkenlere yönelik kültür yöntemi uygulanmıştır. FTD viral menenjit kiti (Fast Track Diagnostics Ltd, Lüksemburg) ile viral etkenler (HSV 1-2, VZV, EV, kabakulak, HPeV) araştırılmıştır. Saklanan BOS örnekleri daha sonra Bio-Speedy panelle test edilmiş, kültür ve FTD panel ile sonuçlar karşılaştırılmıştır. Hastaların klinik bulguları, mevcut diğer hastalıkları, rad-

İletişim (Correspondence): Doç. Dr. İmran Sağlık, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye. Tel (Phone): +90 (505) 561 9887, E-posta (E-mail): imransaglik@uludag.edu.tr

yolojik görüntüleme ve BOS analizleri uzman hekim görüşüne dayanarak değerlendirilmiş; mikrobiyolojik testlerle tanımlanan patojenler bu verilerle destekleniyorsa pozitif, desteklenmiyorsa klinik anlamı belirsiz (KAB) olarak yorumlanmıştır. MSS enfeksiyonu şüphesiyle BOS örneklerinde patojen varlığı araştırılan 128 hastanın 44 (%34.4)'üne MSS enfeksiyonu tanısı konulmuştur. Tüm tanı yöntemleriyle hastaların %43.2 (19/44)'inde etiyolojik patojen tespit edilmiştir. Bio-Speedy paneli hastaların %29.5 (13/44)'inde patojen tespit etmiş, bunu FTD paneli (%20.5, 9/44) ve kültür (%9.1, 4/44) izlemiştir. Kültür yöntemiyle dört bakteri tanımlanmış, bunlardan üçü Bio-Speedy paneliyle de saptanmıştır. Ek olarak, Bio-Speedy paneli kültürle tespit edilemeyen altı etiyolojik bakteri daha tanımlanmıştır. FTD paneli dokuz virüs tespit etmiş, bunlardan dördü Bio-Speedy paneliyle de tanımlanmıştır. Bio-Speedy paneli dokuz bakteri ve dört virüs olmak üzere 19 pozitif patojenin 13 [*S.pneumoniae* (n= 3), VZV (n= 3), *N.meningitidis* (n= 2), *H.influenzae* (n= 2), *L.monocytogenes* (n= 1), *E.coli* (n= 1) ve EV (n= 1)]'ünü tespit edebilmiştir. Bio-Speedy panelinin saptadığı 15 patojen [*S.pneumoniae* (n= 1), *E.coli* (n= 1), *C.gatti/neoformans* (n= 1), CMV (n= 8), HHV-6 (n= 3) ve HHV-7 (n= 1)] ise KAB olarak kabul edilmiştir. MSS enfeksiyonu olan hastalarda etken patojenleri en yüksek oranda (%29.5) Bio-Speedy paneli tespit etmiştir. MSS enfeksiyonlarında geniş kapsamlı panellerin, mümkünse birden fazla test veya yöntemin birlikte kullanılması, ayrıca sonuçların klinik ve diğer laboratuvar verileriyle birlikte yorumlanmasının tanısallık doğruluğu arttıracakı düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Bio-Speedy; multiplex PCR; menenjit; ensefalit; merkezi sinir sistemi enfeksiyonu.

ABSTRACT

Infections of the central nervous system (CNS) can lead to severe outcomes if not accurately diagnosed and treated. The broad spectrum of pathogens involved in CNS infections can make diagnosis challenging. Polymerase chain reaction (PCR)-based multiplex molecular diagnostic panels can rapidly and simultaneously detect multiple neuropathogens in cerebrospinal fluid (CSF). This study was aimed to assess the Bio-Speedy Meningitis/Encephalitis RT-PCR MX-17 panel (Bioeksen, İstanbul, Türkiye), a novel multiplex PCR test, in diagnosing CNS infections. The panel can detect a range of CNS pathogens simultaneously and rapidly (< 1 hour), including *Escherichia coli* K1, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, enterovirus (EV), herpes simplex virus (HSV) 1 and 2, HHV-6, HHV-7, HHV-8, human parechovirus (HPeV), varicella zoster virus (VZV), cytomegalovirus (CMV) and *Cryptococcus gatti/neoformans* in CSF samples. This retrospective study included 128 CSF samples from 128 patients sent to Bursa Uludağ University Health Application and Research Center Microbiology Laboratory between June 2022 and July 2023 to search for CNS infectious agents. Patient clinical, radiological and laboratory data were collected from the Hospital Information Record System (HIRS). Bacterial pathogens were identified through culture, while viral pathogens were detected in CSF samples using the Fast Track Diagnostics (FTD) multiplex RT-PCR panel (Fast Track Diagnostics Ltd., Luxembourg) for HSV-1, HSV-2, VZV, EV, mumps virus and HPeV. The stored CSF samples were then tested using the Bio-Speedy panel and the results were compared with those of the culture and the FTD panel. Pathogens that were detected were considered positive if they were consistent with the patient's symptoms and CSF characteristics according to infectious disease and pediatric infectious disease specialists. Pathogens detected but not supported by the patient's symptoms and CSF characteristics were classified as uncertain clinical relevance (UCR). Out of the 128 patients tested for CNS infectious agents, 44 (34.4%) were diagnosed with a CNS infection. The overall pathogen detection rate with all methods was 43.2% (19/44). The Bio-Speedy panel identified pathogens in 29.5% (13/44) of the patients, followed by the FTD panel (20.5%, 9/44) and culture (9.1%, 4/44). Four bacteria were identified with culture, three of which were also detected by the Bio-Speedy panel. Additionally, six bacteria were identified with Bio-Speedy panel, that were not identified by culture. The FTD panel identified nine viruses, four of which were also identified by Bio-Speedy. In total, the Bio-Speedy panel detected 13 of the 19 positive pathogens (nine bacteria and four viruses: [*S.pneumoniae* (n= 3), VZV (n= 3), *N.meningitidis* (n= 2), *H.influenzae* (n= 2), *L.monocytogenes* (n= 1), *E.coli* (n= 1) ve EV (n= 1)]. However, the Bio-Speedy panel identified 15 pathogens [*S.pneumoniae* (n= 1), *E.coli* (n= 1), *C.gatti/neoformans* (n= 1), CMV (n= 8), HHV-6 (n= 3) ve HHV-7 (n= 1)] considered as UCR. The Bio-Speedy identified the causative pathogens in the highest percentage (29.5%) of patients with confirmed CNS infections. Nevertheless,

test results should be interpreted based on patient characteristics to ensure appropriate patient management. Using multiple methods and multiplex tests may improve diagnostic accuracy for CNS infections.

Keywords: *Bio-Speedy; multiplex PCR, meningitis; encephalitis; central nervous system infection.*

GİRİŞ

Merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonları, etkili tedavi için hızlı ve doğru tanı gerektiren ve yaşamı tehdit eden ciddi hastalıklardır. MSS enfeksiyonlarının tanısı enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan nedenlerin örtüşen klinik bulguları nedeniyle oldukça güçtür¹. Bununla birlikte çok çeşitli patojenlerin etken olma olasılığı, hem mikrobiyologlar hem de klinisyenler için ayırıcı tanıyı zorlaştırmaktadır. Menenjit ve ensefalit en yaygın görülen MSS enfeksiyonu tablosudur ve hastaların %40 ile 60'ında özgün tanı sağlanamayabilir².

MSS enfeksiyonlarında beyin omurilik sıvısı (BOS) analizleri tanı için esastır. Ancak BOS örneğinin elde edilmesi zordur. Bazı olgularda birden fazla BOS örneğinin alınması gerekebilir. MSS enfeksiyonlarının mikrobiyolojik tanısında geleneksel yöntemler olan kültür ve mikroskopik inceleme yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler duyarlılık, özgüllük ve sonuç verme süresi açısından sınırlamalara sahiptir^{1,2}. Moleküler testler MSS enfeksiyonlarında hızlı ve duyarlı tanı sağlamlarıyla avantaj sağlamıştır.

Moleküler tanı testleri özellikle MSS enfeksiyonlarına neden olan virüslerin ve kültürde güç üreyen bakteriyel patojenlerin tanımlanmasında ciddi bir iyileşme sağlamıştır. Bu testler hastalara klinik yararlılıklarının yanında; ek test gereksinimini, hastanede kalış süresini ve tedavi maliyetini azaltma potansiyeline sahiptir. Özellikle gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu [real-time polymerase chain reaction (Rt-PCR)] yöntemi duyarlı ve güvenilir sonuç sağlama başarısı nedeniyle öne çıkmış ve birçok sağlık merkezinde yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır³.

Monopleks, multipleks veya sendromik panel şeklinde tasarlanan Rt-PCR tanı testlerinin başarı oranları kapsamına ve kullanılan teknolojiye göre değişkenlik gösterebilir. Multipleks veya sendromik paneller olası bakteriyel, viral hatta fungal patojenleri hızlı ve eş zamanlı saptama imkanı sağlayabilir. Panel testler tanı için gereken çabayı ve gereksiz tedavi uygulamalarını azaltabilir. Sonuçların kolay ve objektif olarak elde edilebilir olması bu testlerin bir diğer avantajıdır. Ancak mevcut moleküler tanı panellerinin duyarlılık, özgüllük, kapsadıkları patojenler açısından farklılıklar göstermesi ve maliyetlerinin yüksek olması olumsuz yanlarıdır. Üstelik bazı nöropatojenler (Örn.; *Treponema pallidum*, *Mycobacterium tuberculosis*, Epstein-Barr virüs ve arbovirüsler) bu testlerin saptamayı hedeflediği patojenler arasında yer almamaktadır⁴. Kullanılan tanı panelinin olası etkenleri büyük ölçüde kapsamı yalancı negatif sonuçların azaltılması açısından önem taşımaktadır. Bununla birlikte, bir patojene ait nükleik asitin BOS'ta saptanması, hastaya veya patojene bağlı olarak klinik açıdan her zaman anlamlı olmayabilir²⁻⁴.

MSS enfeksiyonlarının tanısında kullanılmak üzere tasarlanan moleküler temelli panel testlerin sayısı giderek artmaktadır. Bu testler için kapsamlı analitik ve klinik doğrulama

çalışmalarına ihtiyaç vardır. Ancak BOS örneklerinin elde edilmesinin zor olmasının yanında, kanıt oluşturabilecek pozitif örnek sayısının da oldukça sınırlı olması kapsamlı ve güvenilir analizleri zorlaştırmaktadır.

Bu çalışmada, yakın zamanda kullanıma sunulan Bio-Speedy Menenjit/Ensefalit RT-qPCR MX-17 panelinin (Bioeksen, İstanbul, Türkiye) değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (Tarih: 11 Nisan 2023 ve Karar no: 2023-7/11) onaylandı.

Çalışma Tasarımı ve Katılımcılar

Bu retrospektif çalışma, 898 yataklı Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Haziran 2022 ve Mayıs 2023 tarihleri arasındaki bir yıllık sürede MSS enfeksiyonu şüphesi olan hastalardan alınan ve olası enfeksiyon etkenlerinin saptanması için test edilen 128 BOS örneği çalışmaya dahil edildi. Her hastadan sadece bir örnek alındı. Hastaların demografik, klinik, radyolojik ve laboratuvar verileri Hastane Bilgi Yönetim Sistemi (HBYS) elektronik kayıtlarından elde edildi.

Biri çocuk sağlığı ve hastalıkları ve biri enfeksiyon hastalıkları olmak üzere iki uzman hekim hastaların HBYS'den elde edilen özelliklerini değerlendirdi. Değerlendirme baş ağrısı, ateş, bulantı-kusma, mental durum değişikliği, fokal nörolojik defisit, nöbet, ense sertliği, döküntü, başışıklık durumu ve eşlik eden diğer hastalıklar gibi klinik bulguları içermektedir. Manyetik rezonans görüntüleme (MRG), bilgisayarlı tomografi (BT) ve elektroensefalografi (EEG) gibi tanılal görüntüleme tekniklerinde patolojik bulgu olup olmadığı incelendi. MSS görüntülemelerinde kanamayı destekleyen bulgu yoksa BOS'ta yüksek eritrosit sayısı, travmatize lomber ponksiyonla ilişkilendirildi. Ayrıca, BOS örneklerinde beyaz kan hücre sayısı [white blood cells (WBC)] artışı, bakteri varlığı, BOS/kan glukoz oranı ve protein konsantrasyonu analizleri değerlendirildi.

Menenjit ve ensefalit tanı kriterleriyle uyumlu semptomlar görülen hastaların MSS enfeksiyonu olduğu kabul edildi⁵⁻⁹. Ensefalit tanısı için 24 saatten uzun süren ve başka bir nedenle açıklanmayan zihinsel durum değişikliğiyle birlikte 72 saat içinde ateş, yeni başlayan nöbet veya fokal nörolojik bulgu, BOS'ta WBC sayısının $> 5/\text{mm}^3$ olması ve patolojik görüntüleme bulguları veya ensefalit ile uyumlu anormal EEG bulgularından en az ikisinin olması kabul edildi. Bu çalışmada, 18 yaşın altındaki hastalar çocuk olarak sınıflandırıldı. Bu hasta grubunda BOS analizi normal aralıkta olsa bile klinik değerlendirme bir MSS enfeksiyonu veya neonatal sepsisle uyumluysa MSS enfeksiyonu tanısı kondu. Yenidoğan, HIV taşıyıcısı, hematolojik bozukluğu olan, solid organ veya hematopoetik kök hücre nakli geçirmiş veya immün sistemi baskılayıcı bir tedavi gören kişiler ise immüdüşkün olarak kabul edildi.

Mikrobiyoloji laboratuvarında uygulanan özgün tanı testleriyle tanımlanan patojenler uzman hekim görüşüne dayalı olarak hastaların klinik özellikleri, görüntüleme ve diğer

laboratuvar sonuçlarıyla uyumluysa pozitif, değilse klinik anlamı belirsiz (KAB) olarak kabul edildi. Hastanın mevcut klinik bulgularına dayanan bu yaklaşım, testin daha doğru bir şekilde değerlendirilmesine olanak sağladı.

Direkt Mikroskopik İnceleme

BOS örneklerinde hücre sayımı UF-5000 akım sitometri sistemiyle (Sysmex, Japonya) yapıldı, bakteri varlığı ise Gram boyama ile değerlendirildi.

Kültür

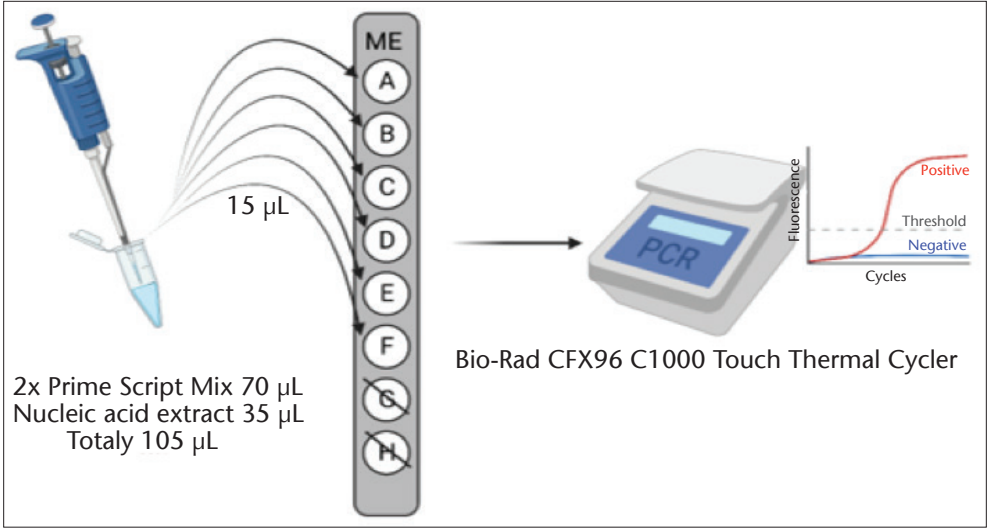
Tüm BOS örneklerinde bakteriyel ve fungal etkenlerin varlığı BD BACTEC FX40 otomatik kan kültür sistemi (BD, ABD) ile araştırıldı. Pozitif sinyal veren kültür şişelerinden boyalı mikroskopik incelemeyle ön değerlendirme ve katı besiyerlerine (kanlı agar, çikolata agar, eozin metilen mavisi ve Sabouraud dekstroz agar) ekim yapıldı; üreyen koloniler matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi [matrix-assisted laser desorption/ionisation-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)] (Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) ile tanımlandı. Negatif sinyal veren kültür şişeleri sadece kanlı agara pasajlandı. Hastalardan eş zamanlı olarak kan kültürü alındı ve aynı sistemle değerlendirildi.

FTD Viral Menenjit PCR Paneli

Tüm BOS örneklerinde herpes simpleks virüsü (HSV) 1 ve 2, kabakulak, varisella-zoster virüsü (VZV), enterovirüsler (EV) ve parekovirüs (HPeV) viral patojenlerinin nükleik asitleri Avrupa'da in vitro tanı (CE-IVD) kullanımı için onaylanmış olan Fast Track Diagnostics (FTD) multipleks RT-PCR (Fast Track Diagnostics Ltd., Lüksemburg) paneliyle haftalık olarak araştırıldı. Mikroorganizmaların nükleik asitleri, EZ1 otomatize sistemi (Qiagen, Almanya) ile EZ1 ve 2 virüs mini kiti v2.0 (Qiagen, Almanya) kullanılarak BOS'tan ekstrakte edildi. Testin amplifikasyon basamağı Rotor-Gene Q analizöründe (Qiagen, Almanya) gerçekleştirildi. Ekstraktlar Bio-Speedy paneli tarafından test edilmek üzere -80 °C'de saklandı ve analizden önce herhangi bir dondurma-çözme döngüsü uygulanmadı.

Bio-Speedy Menenjit/Ensefalit Paneli

Bio-Speedy meningitis/encephalitis RT-PCR MX-17 paneli (Bioeksan, Türkiye) *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* K1, EV ve HSV 1 ve 2, HHV-6, HHV-7, HHV-8, HPeV, VZV, CMV ve *Cryptococcus gattii/neoformans* nükleik asitlerini saptayabilmektedir. Test dokuz viral, altı bakteriyel ve iki fungal ajanın nükleik asitlerinin amplifikasyonunu pozitif ve negatif kontrol kuyucuklarını da içeren şeritlerdeki kuyucuklarda gerçekleştirilmektedir (Şekil 1). Test tek bir BOS örneğinin analiz edilmesine olanak tanır ve 60 dakika içinde sonuçlar elde edilir. BOS örneklerinin ekstraktları ve kontrollerle hazırlanan PCR karışımlarıyla hedeflere yönelik amplifikasyon işlemi Bio-Rad CFX96 C1000 Touch Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, ABD) analizöründe gerçekleştirildi ve üreticinin tavsiyelerine göre döngü sınırı [cycle threshold (Ct)] ≤ 33 olan sigmoidal eğriler pozitif kabul edildi.



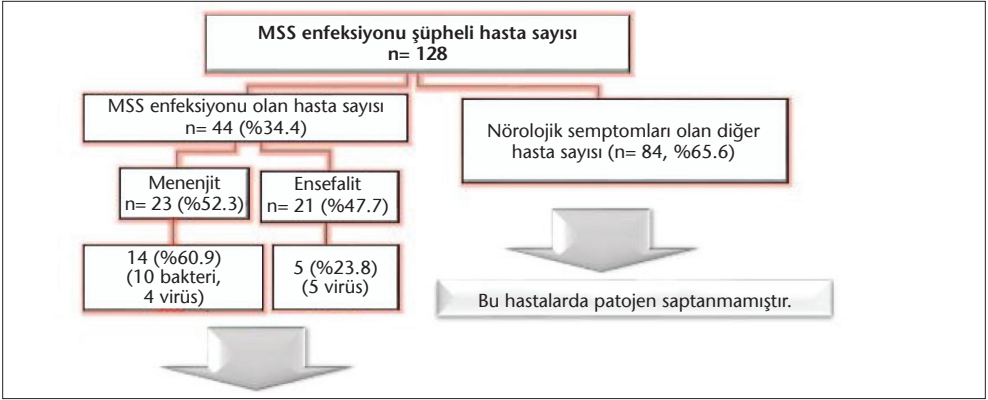
Şekil 1. Bio-Speedy menenjit/ensefalit paneli çalışma diyagramı.

Bio-Speedy panelinin sonuçları, bakteriyel ve fungal etkenler için konvansiyonel yöntemlerle (Gram boyama ve kültür), viral etkenler ise FTD multipleks RT-PCR paneli ile karşılaştırıldı.

BULGULAR

Bu çalışmada MSS enfeksiyonu olan hastaların; Bio-Speedy panelle %29 (13/44)'unda, FTD panelle %20.5 (9/44)'inde ve kültür yöntemiyle %9.1 (4/44)'inde etiyolojik patojen tanımlanmıştır.

Çalışmaya alınan hastaların cinsiyet dağılımı (erkek %52, n= 66) benzer bulunmuştur. Genel yaş ortanca değeri 22.0 (aralık 0-76 yaş) olup, çocuk yaş grubunda (n= 60, %46.9) ve ileri yaş grubunda (50-70) (n= 33, %25.8) kümelenme olduğu görülmüştür. Hasta grubunu çoğunlukla (%74.2) çocuk hastalıkları (n= 41, %32.0), nöroloji (n= 41, %32.0) ve enfeksiyon hastalıkları (n= 13, %10.2) birimlerinde tanı ve tedavisi gerçekleştirilenler oluşturmuştur. BOS örneği alındığı sırada, hastaların %34.4 (44/128)'ü ilk seçenek olarak MSS enfeksiyonuna işaret eden klinik, görüntüleme ve laboratuvar bulguları sergilemiştir. Bunların %52.3 (23/44)'ü menenjit ve %47.7 (21/44)'si ensefalit tablosuyla uyumlu bulunmuştur (Şekil 2). Hastaların %65.6 (84/128)'sında ise MSS enfeksiyonu ikinci hatta daha sonraki bir olasılık olarak düşünülmüştür. Bu grubu (n= 84) azalan sıklıkta akut nörolojik tablo ve nörolojik otoimmün hastalıklar (%42.9, n= 36), MSS dışındaki diğer viral veya bakteriyel enfeksiyonlar (solunum yolu enfeksiyonları, HIV, EBV, COVID-19 veya sepsis) (%14.3, n= 12), MSS maligniteleri (%13.1, n= 11), epilepsi (%11.9, n= 10), sistemik otoimmün hastalıklar (%10.7, n= 9) ve serebrovasküler olaylar (%7.1, n= 6) oluşturmuştur. Bu çalışmada, beklendiği gibi, bu hastaların hiçbirinde etiyolojiden sorumlu tutulan bir patojen saptanmamıştır.



Şekil 2. Kültür, FTD panel ve Bio-Speedy panelle MSS enfeksiyonu olan hastalardan menenjit olgularında 14 patojen, ensefalit olgularında beş viral patojen olmak üzere 19 etken tespit edilmiştir. Bio-Speedy paneli bunların 13'ünü saptamıştır.

BOS örneği alındığı sıradaki bulgularına göre uzman görüşüyle MSS enfeksiyonu tanısı alan hastalarda tüm testlerle %43.2 (19/44) oranında etiyolojik patojen tespit edilmiş ve bunların dağılımı Tablo I'de sunulmuştur. Bu grupta olup patojen tespit edilemeyen iki hasta (%4.5, 2/44) ölmüştür.

Menenjit olgularında (n= 23) tanımlanan 14 etiyolojik patojenden 10 (üç *S.pneumoniae*, iki *N.meningitidis*, iki *H.influenzae*, bir *L.monocytogenes*, bir *E.coli* ve bir VZV)'u Bio-Speedy paneli tarafından tanımlanabilmiştir (%43.5, 10/23). Ensefalit olgularında (n= 21) ise, beş viral patojenden üçü (iki VZV ve bir EV) Bio-Speedy paneli tarafından tanımlanabilmiştir (%14.3, 3/21). Kültür ve FTD paneli sırasıyla menenjitli hastalarda %17.4 ve %13.0, ensefalitli hastalarda ise %0.0 ve %28.6 oranlarında etiyolojik patojenleri tespit etmiştir.

Hastaların BOS örneklerinde, en yüksek ortanca WBC sayısı (699.5/mm³, aralık 13-17350) ve protein konsantrasyonu (170.0 mg/dL, aralık 36-632) beklendiği gibi menenjit olgularında saptanmıştır (Tablo II). WBC sayısı artmış örneklerin %94.7'sinde (18/19), WBC sayısı normal örneklerin ise sadece %5.3 (1/19, VZV için pozitif)'ünde etiyolojik patojenler tespit edilmiştir. BOS analizi normal olan ve VZV tespit edilen bu hastanın bir hafta önce suçiçeği enfeksiyonu geçirme öyküsü mevcuttur. Hiçbir hastada etiyolojiden sorumlu fungal etken saptanmamış ve aynı anda birden fazla viral etken tespit edilmiştir.

Bu çalışmada mikrobiyolojik tanıda kullanılan yöntemler karşılaştırıldığında, MSS enfeksiyonu olan hastaların BOS örneklerinin %9.1 (4/44)'inin kültürünün pozitif olduğu görülmüştür. Bio-Speedy panel, kapsamadığı *S.pyogenes* dışında, tüm kültür-pozitif bakterileri tespit edebilmiş, ek olarak kültürde üremeyen altı bakteriyi tanımlamıştır. Bu bakterilerin üçünün (*S.pneumoniae*, *N.meningitidis* ve *H.influenzae*) tespit edildiği hastalar lomber ponksiyondan önce antibiyotik tedavisi almıştır.

Tablo I. Tespit Edilen Mikroorganizmaların Hasta Tanılarına Göre Dağılımı

Yöntemler	Menenjit (n)	Ensefalit (n)	Menenjit ve Ensefalit (n)	Nörolojik Semptomlu Diğer Hastalıklar ^β (n)
Bio-Speedy panel (pozitif n= 13, KAB= 15)	<i>S.pneumoniae</i> (2)	VZV (2)	HHV-6* (1)	<i>S.pneumoniae</i> * (1)
	<i>S.pneumoniae</i> (1) ve HHV-7* (1)	Enterovirüs (1)	<i>C.gattii/</i> <i>neoformans</i> (1) ve CMV* (1)	<i>E.coli</i> * (1)
	<i>N.meningitidis</i> (2)			CMV* (6)
	<i>H.influenzae</i> (2)			HHV-6* (1)
	<i>L.monocytogenes</i> (1) ve CMV* (1)			
FTD panel (pozitif n= 9)	<i>E.coli</i> (1) ve HHV-6* (1)			
	VZV ^α (1)			
	Kabakulak ^α (3) VZV ^α (1)	VZV (3) Enterovirüs (1) HSV-2 (1)	-	-
Kültür (pozitif n= 4)	<i>S.pneumoniae</i> (1)			
	<i>N.meningitidis</i> (1)			
	<i>L.monocytogenes</i> (1)			
	<i>S.pyogenes</i> (1)			
Toplam (pozitif n= 19)	(14)	(5)	-	-

Pozitif patojenler koyu metinle vurgulanmıştır.

*: Klinik anlamı belirsiz (KAB) patojenler, ^β: Nörolojik otoimmün hastalık, solunum yolu enfeksiyonu, serebrovasküler hastalık, sistemik otoimmün hastalık, ^α: Aseptik menenjit.

VZV: Varisella zoster virüs, HSV: Herpes simpleks virüs, HHV: Human herpes virüs.

Tablo II. Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonu Olan Hastaların Beyin Omurilik Sıvısı Hücre Sayısı ve Protein Konsantrasyonu

	Menenjit (n= 23)	Ensefalit (n= 21)	Nörolojik Semptomları Olan Diğer Hastalar (n= 84)
WBC*/mm ³ ortalanca (aralık)	699.5 (13-3903)	62.0 (0-1280)	0.0 (0-450)
MNL* %	65.0 (5-96)	80.0 (0-90)	0.0 (0-95)
Protein* mg/dL ortalanca (aralık)	170.0 (36-632)	22.0 (19-1351)	31.5 (6-85)

n= Sayı, WBC: Beyaz kan hücresi, MNL: Mononükleer lökositler, *: Ortanca (aralık) değerleri sunulmuştur.

MSS enfeksiyonu olan hastalarda FTD panel dokuz viral patojeni tespit etmiş (%20.5, 9/44) ancak Bio-Speedy paneli bunlardan beşini saptayamamıştır (Tablo I ve III). Bio-Speedy panel iki örnekte VZV ve HSV-2 etkenlerini yanlış negatif olarak raporlamıştır.

Tablo III. Kullanılan Tanı Yöntemleriyle Saptanan Patojenlerin Dağılımı

	FTD Panel	Kültür	Bio-Speedy Panel	Toplam
Bakteriler				
<i>S.pneumoniae</i>	-	1	3	3
<i>N.meningitidis</i>	-	1	2	2
<i>H.influenzae</i>	-	0	2	2
<i>L.monocytogenes</i>	-	1	1	1
<i>E.coli</i> K1	-	0	1	1
<i>S.pyogenes</i>	-	1	-	1
Virüsler				
VZV	4	-	3	4
HSV-2	1	-	0	1
Enterovirüs	1	-	1	1
Kabakulak	3	-	-	3
Toplam	9	4	13	19

-: İlgili yöntem veya kit bu patojeni kapsamamaktadır. VZV: Varisella zoster virüsü, HSV-2: Herpes simpleks virüs tip 2.

Diğer üç örnekte ise, tanımlanan etkeni (kabakulak virüsü) kapsamadığından tespit edilememiştir.

Bio-Speedy panellerle 14 BOS örneğinde saptanan 15 mikroorganizma [*S.pneumoniae* (n= 1), *E.coli* (n= 1), CMV (n= 8), HHV-6 (n= 3), HHV-7 (n= 1) ve *C.gatti/neoformans* (n= 1)] KAB olarak yorumlanmıştır (Tablo I). KAB patojen saptanan 14 hastanın; dördünde MR görüntülemesinde multipl skleroz ile ilişkilendirilen demiyelinizan plaklar, üçünde se-rebrovasküler olay, ikisinde solunum yolu enfeksiyonuna bağlı febril konvülsiyon tespit edilmiştir. MSS enfeksiyonu olan iki hastada ise saptanan patojenler klinik bulgularla ilişkilendirilememiştir. Bu örneklerde ortanca WBC ve protein konsantrasyonları sırasıyla 10/mm³ (Aralık= 0-52) ve 40 mg/dL (Aralık= 19-93) olarak saptanmıştır. Diğer üç KAB mikroorganizma ise menenjitli üç hastada tanımlanan bakteriyel etkenlere eşlik etmektedir.

Bu çalışmaya dahil edilen hasta grubunda, antimikrobiyal tedavi uygulamalarının öncelikli olarak klinik bulgular, radyolojik görüntüleme ve BOS analizlerine göre yönetildiği görülmüştür. MSS enfeksiyonu düşünülen olgularda, BOS örneği alındıktan hemen sonra antimikrobiyal tedavi başlanmış ve spesifik bir etken tespit edilemese bile tedavi tamamlanmıştır. Çalışma grubunda özgün tanı testleri olarak kullanılan kültür ve FTD paneli sonuçlarının antimikrobiyal tedavi yönetimi üzerinde sınırlı bir etkisi olmuştur. Örn; MSS enfeksiyonu tanısıyla antimikrobiyal tedavi başlanan 44 hasta içinde sadece VZV ve kabakulak virüsü saptanan iki (%4.5) hastada antibakteriyel tedavi sonlandırılmıştır.

TARTIŞMA

MSS enfeksiyonlarının tanısında yaşanan zorluklar devam etmektedir. BOS biyokimyasal analizi ve Gram boyaması gibi hızlı konvansiyonel analizler hızlı ve yol gösterici

olsa da özgün tanı için yeterli değildir. Örn; menenjit tanılı küçük çocuklarda veya immün yetmezliği olan hastalarda BOS hücre sayımı normal olabilir^{2,4,10}. MSS enfeksiyonlarında uygun tedavinin erken başlanması mortalite ve morbiditenin azaltılması için kritik önem taşımaktadır. Bu hastalara çoğunlukla üçüncü nesil sefalosporin gibi geniş spektrumlu antibiyotikler uygulanmaktadır. Ancak bu tedavi tüm MSS enfeksiyonları için etkili ya da gerekli olmayabilir⁵. Özellikle aseptik menenjit ve ensefalit tanılı hastalarda moleküler tanıda PCR yöntemiyle virüslerin aranması daha doğru bir yaklaşımdır. Hastadan elde edilebilen BOS miktarının sınırlı olduğu da göz önüne alındığında, mevcut epidemiyolojik patojenleri hedefleyen hızlı, hassas, spesifik ve kapsamlı panel testler öne çıkmaktadır. Günümüzde bu gereklilikleri karşılayan Food and Drug Administration (FDA) onaylı multipleks PCR panelleri bulunmaktadır. Ancak sınırlı sayıda olmaları ve yüksek maliyetleri, özellikle gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere tüm klinik laboratuvarlarda erişilebilirliklerini azaltmaktadır¹¹. Bu çalışmada, ülkemizde üretilen multipleks PCR temelli, CE IVD (Europe in vitro diagnosis) işaretli Bio-Speedy menenjit/ensefalit RT-qPCR MX-17 paneli, FTD viral menenjit paneli ve kültür yöntemleriyle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Bu çalışma panelin literatüre yansıyan değerlendirilmesinin yapıldığı ilk çalışmadır.

Multipleks panel testler de dahil BOS örneklerinde patojen aranan mikrobiyolojik testlerin klinik olarak bir MSS enfeksiyonu şüphesiyle istendiği varsayılmaktadır. Ancak migren, konfüzyon, ateş, strok veya nörolojik belirtilerle seyreden çeşitli patolojik süreçler test endikasyonu olabilmektedir. Mikrobiyoloji laboratuvarlarında BOS örneklerinde etiyolojik bir mikroorganizmanın arandığı süreçlerde multipl skleroz, Guillain-Barre sendromu veya postenfeksiyöz miyelit ön tanılı/tanıli hastalar yer alabilirler⁹. Bu çalışmada, test edilen BOS örneklerinin %32.0'sinin nöroloji bölümünden gelmiş olması, yine örneklerin %65.6 (84/128)'sının MSS enfeksiyonunun ikinci hatta daha sonraki bir olasılık olan hastalara ait olması dikkat çekicidir. Bu durum farklı merkezlerde de görüldüğünden, MSS enfeksiyonlarına yönelik tanı testlerinin rasyonel kullanılmasına dair önerilere ihtiyaç duyulmaktadır. Örn; Hanson ve arkadaşları⁹ ensefalit şüphesi durumunda gereksiz test uygulamalarını azaltmak amacıyla BOS WBC, protein düzeyi, yaş gibi özelliklere dayanan Reller kriterlerini geliştirmişti.

MSS enfeksiyon etkenlerinin araştırıldığı BOS örneklerinde etiyolojik ajanın tespit edilme oranı oldukça düşüktür. Çok merkezli bir çalışmada, en kapsamlı ve yaygın olarak kullanılan panellerden biri olan FilmArray Menenjit/Ensefalit (ME) panelinin pozitiflik oranı %8.7 olarak bildirilmiştir¹¹. Ülkemizde monopleks PCR testleriyle yapılan bir çalışmada %1.3 gibi çok daha düşük pozitiflik bildirilmiştir¹². Bu çalışmada, MSS enfeksiyonu şüphesi olan ve patojen araştırılması için laboratuvara gönderilen tüm BOS örneklerinde Bio-Speedy paneli %10.2 (13/128) oranında etiyolojik patojenleri saptamıştır. Bununla birlikte tüm BOS örneklerinde tüm yöntemlerle etiyolojik patojenlerin tespit oranı %14.8 (19/128)'e yükselmiştir. Test edilen hasta popülasyonunun farklı tanı gruplarını da içermesi, pozitiflik oranlarının düşmesine neden olabilir. Bu durum, sağlık kurumlarında tanı testlerinin maliyet etkin kullanılması açısından endişelere yol açabilir. Dolayısıyla, tanı testlerinin uygulanmasında uygun stratejilerin belirlenmesi ve doğru hasta grubunun

seçilmesi kritik önem taşır. Çalışma kapsamında, uzman hekim görüşüyle laboratuvara BOS örneği gönderilen hastaların %34.4 (44/128)'ünde birinci olasılık olarak MSS enfeksiyonu düşünülmüştür. Bu grup dikkate alındığında, etiyolojik patojen saptanma oranı tüm yöntemlerle %43.2'ye, Bio-Speedy paneliyle %29.5'e yükselmiştir. Patojen saptanan BOS örneklerinin tamamının (n= 19) menenjit ve ensefalit tanılı hastalara ait olması dikkat çekmiştir. Menenjit olgularında (%60.9, 14/23) ensefalit olgularına (%23.8, 5/21) kıyasla daha yüksek oranda etken patojen tespit edilmiştir ve bu sonuç önceki çalışmalarla uyumludur^{10,13}. Bu çalışma, hastanın kapsamlı klinik değerlendirmesine dayanarak test istenmesinin yararını göstermektedir. Bu yaklaşım, gereksiz testlerin önlenmesi ve maliyetlerin düşürülmesi için katkı sağlayabilir.

Bu çalışmada, bakteriyel menenjitli on hastada etiyolojik patojen tanımlanmış ancak bunların sadece üçü hem kültür hem de Bio-Speedy paneliyle saptanabilmiştir. Bio-Speedy panelinde yer almayan bir patojen (*S.pyogenes*) yalnızca kültürle tanımlanabilmiştir. Bu durum, PCR testlerinin kültür yöntemleriyle birlikte kullanılmasının önemini vurgulamaktadır. Altı patojen [*H.influenzae* (n= 2), *S.pneumoniae* (n= 2), *N.meningitidis* (n= 1) ve *E.coli* (n= 1)] ise yalnızca Bio-Speedy panelle tanımlanabilmiştir. PCR testleri kültür yöntemine kıyasla daha yüksek bir hassasiyete sahiptir. Ayrıca, kültür yöntemi menenjite neden olan bazı bakteriler için uygun üreme koşullarını sağlayamayabilir. Ek olarak, BOS alınmadan önce antibiyotik kullanımı, kültür-negatif PCR-pozitif BOS örneklerini açıklayabilir. Çalışmada, Bio-Speedy paneliyle etken saptanan altı hastadan üçüne BOS örnekleri alınmadan önce antibiyotik tedavisi uygulanmıştır. Özellikle antibiyotik kullanımının yüksek olduğu toplumlarda, kültür-negatif PCR pozitif sonuçlar daha fazla bildirilmiştir. Önceki çalışmalara benzer şekilde, bu çalışmada elde edilen bulgular kültür-negatif bakteriyel menenjit olgularının tanısında moleküler yöntemlerin kritik rolünü vurgulamaktadır¹⁴⁻¹⁶.

Bio-Speedy paneli, FTD paneliyle tespit edilen dokuz viral etkenden yalnızca dördünü saptamıştır. Sadece FTD paneli tarafından saptanan beş virüsten ikisinin (VZV ve HSV-2) yüksek Ct değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bio-Speedy panelindeki bu yanlış negatif sonuçlar, örneklerin saklanması sırasında nükleik asit kaybından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca, sadece FTD paneli tarafından saptanan diğer üç hastadaki etiyolojik etken olan kabakulak virüsü Bio-Speedy panelinde yer almamaktadır. Bu bulgu, geniş kapsamlı multipleks PCR panellerinin tanı duyarlılığını arttıracığına işaret etmektedir.

BOS örneklerinde bir mikroorganizmaya ait nükleik asitin saptanması etiyolojide rolü olan bir patojeni gösterebilir. Ancak bazen nükleik asiti saptanan mikroorganizma hastalık tablosundan sorumlu olmayabilir. Preanalitik veya analitik hatalar, kontaminasyon da dahil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlı olarak yanlış pozitif sonuçlara yol açabilir. Birçok çalışmada multipleks PCR panellerinde yanlış pozitif veya doğrulanmamış sonuçlar bildirilmiştir^{9,11,17}. Çalışmada, Bio-Speedy paneliyle 14 BOS örneğinde tespit edilen 15 mikroorganizma KAB olarak yorumlandı. KAB olarak yorumlanan sonuçlar önceki çalışmalara göre; i) *S.pneumoniae*, *E.coli* ve *C.gattii/neoformans* için yanlış pozitiflik, ii) CMV için reaktif CMV DNA tespiti veya yanlış pozitiflik, iii) Kalıtsal kromozom entegre HHV-6 (iciHHV-6),

kliniği açıklamayan HHV-6 reaktivasyonu veya yanlış pozitifliği iv) Kalıtsal kromozoma entegre HHV-7 (iciHHV-7), kliniği açıklamayan HHV-7 reaktivasyonu veya yanlış pozitifliği olarak yorumlanabilir^{9,17-20}. *S.pneumoniae* multipleks PCR testlerinde birçok yanlış pozitif sonuçtan sorumludur^{9,11}. Bu bakterinin yalancı pozitifliğinin BOS örneğinin alınması ya da testin çalışılması esnasındaki bir kontaminasyona bağlı olabileceği gibi, hastanın solunum yollarındaki bakteri nükleik asidinin kan dolaşımıyla MSS'ye taşınması sonucu da olabileceği öne sürülmektedir¹⁶. Çalışmamızda KAB patojenlerin çoğu beklendiği gibi herpes virüstür¹⁷. CMV latent bir herpes virüstür ve genellikle immün yetmezliği olan hastalarda ensefalit tablosuna neden olabilir. Ancak akut enfeksiyon veya aktif replikasyon olmadan da düşük düzeylerde plazmada bulunabilir ve lökositler içinde BOS'a taşınabilir. Bu nedenle, BOS'ta CMV DNA saptanması sadece ensefalit göstergesi olarak yorumlanamaz. Bu hastalarda eş zamanlı olarak BOS ve plazma örneğinde CMV DNA kantitasyonu yol gösterici olabilir²¹. Çalışmada CMV çoğunlukla MSS enfeksiyonunu dışlamak amacıyla gönderilen örneklerde tespit edilmiştir. HHV-6 ve HHV-7, çocukluk çağı ateşli hastalık nedenlerindedir ve konvülsiyonlara neden olabilmektedir. HHV-6 özellikle çocuklarda altıncı hastalık sırasında BOS'ta saptanabilmektedir. Ayrıca HHV-6 konak hücre kromozomuna da entegre olabildiğinden PCR ile plazma ya da BOS'ta yüksek kopya sayılarında saptandığında bile kromozoma entegrasyon dışlanamaz. Dolayısıyla bu virüsler de ensefalit tablosuyla ilişkili olmadan BOS'ta saptanabilir. Ayırıcı tanı için klinik bulguların değerlendirilmesi, BOS ve kanda viral yükün ölçülmesi veya kromozomal entegrasyonun gösterilmesi öne çıkmaktadır¹⁷. Ayşinoğlu ve arkadaşları 2017 yılında yayımlanan geniş çaplı araştırmalarında²² tüm yaş gruplarının BOS örneklerinde %1.1 HHV-6, %3.3 CMV saptamışlardır. Törün ve arkadaşları 2021 yılında yayımlanan çok merkezli çalışmalarında²³ ensefalitli çocukların %22.0'sinde HHV-6, %10.0'unda HHV-7 ve %6.0'sında CMV tespit etmişlerdir. Son yıllarda, multipleks PCR panellerine bu virüslerin dahil edilmesi saptanma sıklıklarının artmasına katkıda bulunmuştur. Daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak bu çalışmada HHV-6 ve 7 sadece çocuk hastalarda tespit edilmiştir. Ancak bu latent viral etkenlerin klinik anlamları hakkında yeni bulgular gereklidir^{17,18}.

MSS enfeksiyonları tanısında kullanılan multipleks PCR panellerinden, özgün tedavi seçiminde kritik yarar sağlamalarının yanında gereksiz antibiyotik ve antiviral kullanımını azaltmaları beklenmektedir. Erken dönemde, etiyolojide bakteriyel ve viral patojenler ayırt edilemediğinde antibakteriyel tedavi başlansa bile, erken kesilmesini sağlama potansiyelleri konvansiyonel yöntemlere göre bir avantaj olarak görülmektedir^{4,5}. Ancak merkezimizde kültür yöntemiyle birlikte kullanılan FTD panel sonuçları antimikrobiyal protokolleri nadiren etkilemiş, sadece VZV ve kabakulak virüsü saptanan iki hastada (%4.5) antibakteriyel tedavi sonlandırılmıştır. Uygun tedavi edilmeyen MSS enfeksiyonlarının morbidite ve mortalitesinin yüksek olmasının yanı sıra, mevcut yöntemlerle hastaların sadece bir kısmında özgün tanı sağlanarak etkenin belirlenebilmesi bu durumu açıklayabilir. Bunun yanında, merkezimizde FTD panelinin örneklerin biriktirilerek haftada bir çalışılması nedeniyle sonuçların gecikmiş olması da etken olabilir. Birkaç saat içinde sonuç veren hızlı ve kapsamlı multipleks tanı panelleri hastaların yönetilmesinde zaman ve kaynak tasarrufu sağlayabilir.

Bu çalışmada, MSS enfeksiyonu olan hastaların %56.8'inde kullanılan tüm yöntemlerle herhangi bir etken tespit edilememiştir, bu durum seçilmiş olgularda patojen tanımlamaya yönelik ileri moleküler yöntemlere gereksinim olduğunu göstermektedir²⁴. Son dönemlerdeki iklim ve yaşam koşullarının değişimi, viral ensefalit çeşitliliğinin artmasına neden olmuş ve etkenlerin tanımlanmasında yeni ve ileri yöntemler önem kazanmıştır¹⁷.

Hasta sayısının düşük olması nedeniyle büyük ölçekte güvenilir sonuçlar çıkarılamamış olması bu çalışmanın önemli bir sınırlamasıdır. Ayrıca, kullanılan testler arasında bire bir uyum olmaması değerlendirme ve istatistiksel analizi zorlaştırmıştır. Bu nedenle Bio-Speedy menenjit/ensefalit RT-qPCR MX-17 paneli için çok merkezli çalışmalara gereksinim vardır.

Sonuç olarak Bio-Speedy paneli, uzman görüşüyle MSS enfeksiyonu olduğu belirlenen hastalarda FTD ve kültürle karşılaştırıldığında daha yüksek oranda etiyolojik patojen saptamıştır. Tanı testlerinin istemlerinin hastaların klinik değerlendirmesi ve erken dönem BOS analizlerine dayalı algoritmalara göre yapılması, MSS enfeksiyonlarının yönetiminde daha doğru ve maliyet etkin bir yaklaşım sağlayabilir. Moleküler yöntemlerle tespit edilen patojenlerin klinik anlamı hasta özelliklerine göre değişebilir ve bu alanda yeni çalışmalar gereklidir.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Tarih: 11.04.2023 ve Karar No: 2023-7/11).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. GBD 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol* 2019; 18: 459-80. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30499-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30499-X)
2. McGill F, Griffiths MJ, Bonnett LJ, Geretti AM, Michael BD, Beeching NJ, et al; UK Meningitis Study Investigators. Incidence, aetiology, and sequelae of viral meningitis in UK adults: A multicentre prospective observational cohort study. *Lancet Infect Dis* 2018; 18: 992-1003. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30245-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30245-7)
3. Lakeman FD, Whitley RJ. Diagnosis of herpes simplex encephalitis: Application of polymerase chain reaction to cerebrospinal fluid from brain-biopsied patients and correlation with disease. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group. *J Infect Dis* 1995; 171: 857-63. <https://doi.org/10.1093/infdis/171.4.857>
4. Venkatesan A, Tunkel AR, Bloch KC, Luring AS, Sejvar J, Bitnun A, et al; International Encephalitis Consortium. Case definitions, diagnostic algorithms, and priorities in encephalitis: consensus statement of the international encephalitis consortium. *Clin Infect Dis* 2013; 57: 1114-28. <https://doi.org/10.1093/cid/cit458>
5. van de Beek D, Cabellos C, Dzapova O, Esposito S, Klein, M et al. ESCMID Study Group for Infections of the Brain (ESGIB) ESCMID guideline: Diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. *Clin Microbiol Infect* 2016; 22(Suppl 3): 37-62. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.01.007>
6. Albert E, Alberola J, Bosque M, Camarena JJ, Clari MÁ, Domínguez Márquez MV, et al. Missing cases of herpes simplex virus (HSV) infection of the central nervous system when the reller criteria are applied for HSV PCR testing: A multicenter study. *J Clin Microbiol* 2019; 57: e01719-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.01719-18>

7. Gilden DH, Mahalingam R, Cohrs RJ, Tyler KL. Herpesvirus infections of the nervous system. *Nat Clin Pract Neurol* 2007; 3: 82-94. <https://doi.org/10.1038/ncpneuro0401>
8. Chen CY, Chang YC, Huang CC, Lui CC, Lee KW, Huang SC. Acute flaccid paralysis in infants and young children with enterovirus 71 infection: MR imaging findings and clinical correlates. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001; 22: 200-5.
9. Ngo Nsoga MT, Pérez-Rodríguez FJ, Mamin A, L'Huillier AG, Cherkaoui A, Kaiser L, et al. Rational use of microbiological tests in the diagnosis of central nervous system infections using restrictive criteria: A retrospective study. *Microbiol Spectr* 2023; e0317922. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03179-22>
10. Granerod J, Ambrose HE, Davies NW, Clewley JP, Walsh AL, Morgan D, et al; UK Health Protection Agency (HPA) Aetiology of Encephalitis Study Group. Causes of encephalitis and differences in their clinical presentations in England: A multicentre, population-based prospective study. *Lancet Infect Dis* 2010; 10: 835-44. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70222-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70222-X)
11. Leber AL, Everhart K, Balada-Llasat JM, Cullison J, Daly J, Holt S, et al. Multicenter evaluation of BioFire FilmArray meningitis/encephalitis panel for detection of bacteria, viruses, and yeast in cerebrospinal fluid specimens. *J Clin Microbiol* 2016; 54: 2251-61. <https://doi.org/10.1128/JCM.00730-16>
12. Sarınoğlu RC, Sağlık İ, Mutlu D, Baysan ÖB, Ögünç D, Çolak D. Beyin omurilik sıvısı örneklerinden saptanan viral etkenler. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2016; 46: 152-8.
13. Glaser CA, Honarmand S, Anderson LJ, Schnurr DP, Forghani B, Cossen CK, et al. Beyond viruses: Clinical profiles and etiologies associated with encephalitis. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 1565-77. <https://doi.org/10.1086/509330>
14. Başpınar EÖ, Dayan S, Bekçibaşı M, Tekin R, Ayaz C, Devenci Ö, et al. Comparison of culture and PCR methods in the diagnosis of bacterial meningitis. *Braz J Microbiol* 2017; 48: 232-6. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.06.014>
15. Khater WS, Elabd SH. Identification of common bacterial pathogens causing meningitis in culture-negative cerebrospinal fluid samples using real-time polymerase chain reaction. *Int J Microbiol* 2016; 2016: 4197187. <https://doi.org/10.1155/2016/4197187>
16. Obaro S, Hassan-Hanga F, Medugu N, Olaosebikan R, Olanipekun G, Jibir B, et al. Comparison of bacterial culture with BioFire FilmArray multiplex PCR screening of archived cerebrospinal fluid specimens from children with suspected bacterial meningitis in Nigeria. *BMC Infect Dis* 2023; 23: 641. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08645-7>
17. Vaishnavi G, Rodrigo H. Viral meningitis and encephalitis: An update. *Curr Opin Infect Dis* 2023; 36: 177-85. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000922>
18. Komaroff AL, Pellett PE, Jacobson S. Human herpesviruses 6A and 6B in brain diseases: Association versus causation. *Clin Microbiol Rev* 2020; 34: 00143-20. <https://doi.org/10.1128/CMR.00143-20>
19. Ongrádi J, Ablashi DV, Yoshikawa T, Stercz B, Ogata M. Roseolovirus-associated encephalitis in immunocompetent and immunocompromised individuals. *J Neurovirol* 2017; 23: 1-19. <https://doi.org/10.1007/s13365-016-0473-0>
20. Prusty BK, Gulve N, Rasa S, Murovska M, Hernandez PC, Ablashi DV. Possible chromosomal and germline integration of human herpesvirus 7. *J Gen Virol* 2017; 98: 266-74. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000692>
21. Handley G, Pankow S, Bard JD, Yee R, Nigo M, Hasbun R. Distinguishing cytomegalovirus meningoencephalitis from other viral central nervous system infections. *J Clin Virol* 2021; 142: 104936. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2021.104936>
22. Zeytinoğlu A, Erensoy S, Sertöz R, Altuğlu İ, Çiçek C, Kayın M, et al. Santral sinir sistemi enfeksiyonlarında viral etiolojinin İzmir'de bir üniversite hastanesinin yedi yıllık verileri üzerinden değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2017; 51: 127-35. <https://doi.org/10.5578/mb.53825>
23. Törün SH, Kaba Ö, Yakut N, Kadayıfçı EK, Kara M, Yanartaş MS, et al. Multicenter prospective surveillance study of viral agents causing meningoencephalitis. *Sci Rep* 2021; 11: 7216. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86687-0>
24. Wilson MR, Sample HA, Zorn KC, Arevalo S, Yu G, Neuhaus J, et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis. *N Engl J Med* 2019; 380: 2327-40. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1803396>