

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI



SANTRAL SİNİR SİSTEMİ ENFEKSİYONU ÖN TANILI
HASTALARIN BEYİN OMURİLİK SIVISI ÖRNEKLERİNİN
KONVANSİYONEL VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BENAN ÖZÇELİK

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Fatma AVCIOĞLU

BOLU, MAYIS - 2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

Benan ÖZÇELİK tarafından hazırlanan “**SANTRAL SİNİR SİSTEMİ ENFEKSİYONU ÖN TANILI HASTALARIN BEYİN OMURİLİK SIVISI ÖRNEKLERİNİN KONVANSİYONEL VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir. 8/05/2023

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Fatma AVCIOĞLU
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Muhammed Güzel KURTOĞLU
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Doç. Dr. Emel ÇALIŞKAN
Düzce Üniversitesi

.....

Üye
Unvanı Adı SOYADI
Üniversitesi

.....

Üye
Unvanı Adı SOYADI
Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

1. Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
2. Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
3. Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
4. Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
5. Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin 23/05/2023 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğüne belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %18 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 134 (2021/79 Karar no) sayısı ile etik izin alınmıştır.

BENAN ÖZÇELİK

ÖZET

SANTRAL SİNİR SİSTEMİ ENFEKSİYONU ÖN TANILI HASTALARIN BEYİN OMURİLİK SIVISI ÖRNEKLERİNİN KONVANSİYONEL VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BENAN ÖZÇELİK

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. FATMA AVCIOĞLU)

BOLU, MAYIS - 2023

XIV + 63

Santral sinir sistemi enfeksiyonlarından biri olan menenjit, çeşitli mikroorganizmaların neden olduğu beyin zarlarının enflamasyonu sonucu oluşur. Menenjitin klinik tablosu hızlıca ilerleyebildiğinden dolayı ölüme ya da ciddi kalıcı sekellere yol açtığı için menenjite erken ve hızlı tanı oldukça önemlidir. Günümüzde menenjitin varlığını ortaya çıkarmak için Beyin Omurilik Sıvısının (BOS) kültürü ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) gibi spesifik yöntemler kullanılmaktadır. Bu çalışmada, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına santral sinir sistemi enfeksiyonu ön tanısı ile gönderilen 90 BOS örneği bakteriyel ve viral etkenleri tespit etmek için konvansiyonel (kültür vb) ve moleküler yöntemlerle (Multipleks PCR) incelendi. 90 adet BOS örneğinin 10'unda kültürde üreme gözlenirken, yedisinde PCR yöntemi ile bakteriyel ve viral etkenler tespit edildi. Kültür üremelerinin birinde *Acinetobacter baumannii*, birinde *Nocardia spp*, üçünde *Metisiline Duyarlı Koagulaz Negatif Stafilacoc* (MSKNS), üçünde *Metisiline Dirençli Koagulaz Negatif Stafilacoc* (MRKNS) ve kalan ikisinde *Metisiline Dirençli Stafilacoccus aureus* (MRSA) tespit edildi. PCR pozitif yedi örneğin; üçünde *S. pneumoniae* DNA'sı, üçünde HSV-1 DNA'sı ve birinde VZV DNA'sı saptandı. Kültür; bakteriyel menenjitin teşhisi ve tiplendirilmesi için altın standarttır. PCR yöntemi günümüzde kültür yöntemi ile tespit edilemeyen bakteriler, virüsler gibi menenjit etkeni mikroorganizmaların tespitinde hızlı ve güvenilir sonuç vermesinden dolayı daha çok tercih edilir olmuştur. Fakat PCR yöntemi istenen ajan için bir primer varsa bu ajanı saptayabilen bir tanı yöntemidir, aksi halde zaten istenen etken bulunamaz. Bu nedenle PCR ve kültür yönteminin bir bütün halinde hastanın klinik durumuyla beraber değerlendirilmesi kanaatindeyiz.

ANAHTAR KELİMELE: BOS, Bakteriyel menenjit, Viral menenjit, Kültür, Moleküler

ABSTRACT

EXAMINATION OF CEREBROSPINAL FLUID SAMPLES OF PATIENTS WITH A PRE-DIAGNOSED CENTRAL NERVOUS SYSTEM INFECTION BY CONVENTIONAL AND MOLECULAR METHODS

**PHD THESIS
BENAN ÖZÇELİK
BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY
GRADUATE EDUCATION INSTITUTE
(SUPERVISOR: ASSOCIATE PROFESSOR FATMA AVCIOĞLU)**

**BOLU, MAY 2023
XIV + 63**

Meningitis, an infection of the central nervous system, is caused by inflammation of the membranes of the brain caused by various microorganisms. Since the clinical picture of meningitis can progress rapidly, leading to death or serious permanent sequelae, early and rapid diagnosis is very important in meningitis. Currently, specific methods such as culture of Cerebrospinal Fluid (CSF) and Polymerase Chain Reaction (PCR) are used to confirm the presence of meningitis. In this study, 90 CSF samples sent to Bolu Abant İzzet Baysal University Training and Research Hospital Microbiology Laboratory with a preliminary diagnosis of central nervous system infection were analyzed by conventional (culture, etc.) and molecular methods (multiplex PCR) to detect bacterial and viral agents. Of the 90 CSF samples, 10 showed growth in culture, while bacterial and viral agents were detected by PCR in seven. *Acinetobacter Baumannii* was detected in one culture, *Nocardia* spp in one, Methicillin Sensitive Coagulase Negative Staphylococci (MSCNS) in three, Methicillin Resistant Coagulase Negative Staphylococci (MRCNS) in three and Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in the remaining two. Of the seven PCR positive samples, *S. pneumoniae* DNA was detected in three, HSV-1 DNA in three and VZV DNA in one. Culture is the gold standard for the diagnosis and typing of bacterial meningitis. Today, PCR method has become more preferred because it provides fast and reliable results in the detection of meningitis-causing microorganisms such as bacteria and viruses that cannot be detected by culture method. However, PCR is a diagnostic method that can detect the desired agent if there is a primer for the desired agent, otherwise the desired agent cannot be found. Therefore, we believe that PCR and culture methods should be evaluated together with the clinical condition of the patient.

KEYWORDS: CSF, Bacterial meningitis, Viral meningitis, Culture, Molecular

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO LİSTESİ	x
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xii
TEŞEKKÜR	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Beyin Anatomisi	3
2.2 Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) Fizyolojisi	4
2.3 Menenjit.....	6
2.4 Bakteriyel Menenjit	7
2.4.1 Streptococcus Pneumoniae	8
2.4.2 Neisseria Meningitidis	9
2.4.3 Haemophilus Influenzae	10
2.5 Viral Menenjit.....	11
2.5.1 Enterovirüsler	12
2.5.2 Herpes Simplex Virüs.....	13
2.5.3 Varicella-Zoster Virüs	14
2.5.4 Parechovirüs	15
2.6 Tanı Yöntemleri.....	17
2.6.1 BOS'un Görünümü.....	18
2.6.2 BOS'un hücre sayımı ve dağılımı	19
2.6.3 BOS'un boyalı mikroskopik incelenmesi.....	19
2.6.4 BOS'un biyokimyasal incelemesi	19
2.6.5 BOS kültürü.....	20
2.6.6 Bakteriyel ve Viral Menenjit Tanısında Kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1 Örneklerin Toplanması	23
3.2 Beyin Omurilik Sıvısı Araştırma Yöntemleri.....	23
3.2.1 Beyin Omurilik Sıvısı Hücre Sayım Tekniği	23
3.2.2 Beyin Omurilik Sıvısı Örneklerinde Bakteriyel Kültürün Yapılması24	
3.2.3 BOS Örneklerinin Gram Boyama Yöntemi.....	24
3.2.4 BOS PCR Yöntemi.....	26

3.2.5 Kullanılan Araç ve Gereçler	27
3.2.6 Multiplex PCR Yöntemi ile Bakteriyel Menenjit Çalışma Yöntemi	29
3.2.7 Multiplex PCR Yöntemi ile Viral Menenjit Çalışma Yöntemi	30
3.2.8 Verilerin Değerlendirilmesi	31
4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	53
7. KAYNAKLAR.....	55
8. EKLER.....	63



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Meninkslerin anatomik bölümleri.	3
Şekil 2.2. Koroid pleksus yapısı	4
Şekil 2.3. Ventrikül sistemi.....	5
Şekil 2.4. Beyin omurilik sıvısı dolanımı	6
Şekil 2.5. HPeV ile diğer pikornavirüslerin evrimsel dizilimleri, cins ve tür düzeyinde sınıflandırılmaları.....	16
Şekil 2.6. PCR'ın aşamaları.....	21
Şekil 3.1. Gram boyama yöntemi aşamaları.....	26
Şekil 3.2. Gram boyama yöntemi ile boyanmış PMNL, Gram pozitif ve Gram negatiflerin mikroskopta görünümü.....	26

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Farklı menenjit tablolarındaki BOS bulguları.....	20
Tablo 3.1. Anatolia Geneworks Bacterial Meningitis Panel (Türkiye) kit içeriği.....	28
Tablo 3.2. Anatolia Geneworks Viral Meningitis Panel (Türkiye) kit içeriği.....	28
Tablo 3.3. Bakteriyel menenjit için Real-Time PCR cihaz aşamaları.....	30
Tablo 3.4. Viral menenjit için Real-Time PCR cihaz aşamaları.....	31
Tablo 3.5. Bakteriyel menenjit İnternal Kontrol verileri değerlendirme tablosu.....	32
Tablo 3.6. Viral menenjit İnternal Kontrol verileri değerlendirme tablosu.....	33
Tablo 4.1. PMNL değerlendirilmesi.....	34
Tablo 4.2. Gram boyamada mikroorganizma/PMNL değerlendirilmesi.....	34
Tablo 4.3. Çalışmaya alınan hasta örneklerinin BOS bulguları.....	35
Tablo 4.4. Kültür ve PCR sonuçları.....	36
Tablo 4.5. BOS hücre sayımının BOS kültürü ve PCR pozitifliği üzerindeki etkileri.....	37
Tablo 4.6. Gram boyamada mikroorganizmaların BOS kültür pozitifliği üzerindeki etkileri.....	37
Tablo 4.7. Gram boyamada mikroorganizmaların BOS PCR pozitifliği üzerindeki etkileri.....	38
Tablo 4.8. Gram boyamada PMNL varlığının BOS kültür pozitifliği üzerindeki etkileri.....	38
Tablo 4.9. Gram boyamada PMNL varlığının BOS PCR pozitifliği üzerindeki etkileri.....	38
Tablo 4.10. Gram boyamada PMNL varlığı ile BOS görünümü arasındaki istatistiksel ilişki.....	39
Tablo 4.11. Hastalarımızın genel verileri.....	40
Tablo 5.1. Türkiye’de ve yurt dışında yapılan çalışmalarda kadın-erkek oranı ve yaş ortalaması.....	44
Tablo 5.2. PCR yöntemi ile viral menenjit etkeni saptayan benzer çalışmaların genel verileri.....	49

Tablo 5.3. PCR yöntemi ile bakteriyel menenjit etkeni saptayan benzer çalışmaların genel verileri.....	50
---	----



KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CMV	: Sitomegalovirüs
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksiribonükleozid Trifosfat
EBV	: Epstein-Barr Virus
E.coli	: Escherichia coli
EMB	: Eozin Metilen Blue
EV	: Enterovirüs
H. influenzae	: Haemophilus influenzae
HHV6	: Human Herpes Virüsü 6
Hib	: Haemophilus İnfluenza tip b
HIV	: Human Immunodeficiency Virüs
HPeV	: Human Parechovirus
HSV	: Herpes Simplex Virüs
LCMV	: Lenfositik Koriomenenjit Virüs
L	: Lumbar
LP	: Lomber Ponksiyon
M.O	: Mikroorganizma
Mg²⁺	: Magnezyum
MRKNS	: Metisiline Dirençli Koagulaz Negatif Stafilacoc
MRSA	: Metisiline Duyarlı Stafilacoccus Aureus
MSKNS	: Metisiline Duyarlı Koagulaz Negatif Stafilacoc
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
N. gonorrhoeae	: Neisseria gonorrhoeae
N.meningitis	: Neisseria meningitis
PCR	: Polymerase Chain Reaction – Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PMNL	: Polimorfonükleer Lökosit
RNA	: Ribonükleik asit
S. pneumoniae	: Stereptococcus Pneumoniae
SSS	: Santral Sinir Sistemi

RT	: Real Time (Gerçek Zamanlı)
UV	: Ultraviyole
VZV	: Varicella Zoster Virüs
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
ml	: Mililitre



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın oluşturulmasında, öğrencilik ve tez sürecim boyunca değerli bilgilerini, desteklerini, hayat tecrübelerini daima benimle paylaşan saygıdeğer danışman hocam; Doç.Dr.Fatma AVCIOĞLU'na, öğrencilik ve tez dönemim boyunca bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen saygıdeğer hocalarım; Prof.Dr.Muhammed Güzel KURTOĞLU, Doç.Dr.Mustafa BEHÇET ve Dr.Öğretim Üyesi Kerem YAMAN hocama teşekkürlerimi sunarım. İstatistik verilerimin hazırlanmasında güleryüzü ve pozitif enerjisiyle bilgi ve tecrübelerini paylaşan saygıdeğer hocam Dr.Öğr.Üyesi Oya KALAYCIOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım. Tez sürecim boyunca testlerin çalışılmasında, hazırlama aşamalarında bilgi ve tecrübelerini paylaşan, bana yardımcı olan laboratuvar ekip arkadaşlarım; Arzu AKBABA, Bahar ÖZDEMİR, Ercan ÖZTÜRK, Songül CANGÜL ve tüm Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmamın tamamlanmasında her konuda bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan çekinmeyen, büyük bir sabırla her an yanımda olan, desteklerini esirgemeyen Özgür ÖZCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

İyi ve kötü, hayatımın her döneminde, her anımda yanımda olan, motivasyon ve ilham kaynağım olan sevgili eşim Mesut ÖZÇELİK başta olmak üzere kızım Yağmur'um ve tüm aileme öğrencilik ve tez dönemim boyunca yanımda oldukları ve beni destekledikleri için teşekkür ederim.

Mayıs, 2023

Benan ÖZÇELİK

1. GİRİŞ

Santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları başta menenjit olmak üzere beyin absesi, ensefalit, epidural abse, ensefalomiyelit, subdural ampiyem gibi değişik klinik tablolarla seyredebilir. Menenjit, çeşitli mikroorganizmaların neden olduğu beyin zarlarının enflamasyonudur (1).

Menenjit esas olarak bir pia-araknoidit'tir. Menenjitte klinik tablonun hızlı ilerlemesi, ölüme veya ciddi kalıcı sekellere yol açtığından dolayı hızlı tanı gerektiren hastalıkların başında gelmektedir. Menenjit çeşitli mikroorganizmalar ile oluşabildiği gibi enfeksiyon dışındaki hastalıkların bir belirtisi de olabilir (2). Klinik olarak baktığımızda akut veya kronik seyirli olarak karşımıza çıkmaktadır. Menenjitin akut tablosu pürülan ve aseptik olarak da ikiye ayrılır. Akut pürülan menenjite bakteriler etki ederken, aseptik menenjite etken virüsler olarak gösterilebilir. Yapılan çalışmalarda akut menenjit olgularının %80-85 kadarından *Streptococcus pneumoniae* (*S. Pneumoniae*), *Neisseria meningitidis* (*N. Meningitidis*) ve *Haemophilus influenzae* (*H. İnfluenzae*) sorumlu tutulmuştur (3,4).

Bakteriyel menenjit, erken tanı ve tedavi olmadığı sürece yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan bir enfeksiyondur (5).

Viral menenjite neden olan virüslerin başında Enterovirüsler (EV), Herpes Simpleks Virüsü tip 1 ve tip 2 (HSV-1, HSV-2), suçiçeği, zona hastalığına neden olmasıyla bilinen Varicella Zoster Virüsü (VZV), kabakulak virüsü, Human Immunodeficiency Virüs (HIV) ve lenfositik koriomenenjit virüsleri (LCMV) gelir (6).

Viral menenjitlerin en sık nedeni Enterovirüslerdir. Enterovirüsler aseptik menenjitlerin yaklaşık %80-95'inden sorumludurlar (7,8).

Menenjit olgularında erken tanı ve tedavi son derece önemlidir. Menenjit bulguları ile gelen olgular hızla değerlendirilmelidir. Uygun antimikrobiyal tedaviye hemen başlanmalıdır. Erken tanı ve tedaviyle ölüm oranını azaltmak ve komplikasyonsuz iyileşme oranını artırmak mümkün olabilmektedir (9).

Bakteriyel menenjit şüphesi olan hastalar için altın standart tanı yöntemi bakterinin BOS'da varlığının gösterilmesidir. Bunun için rutin laboratuvarlarda genellikle BOS kültürü ve BOS Gram boyaması yapılır. Fakat kültür yöntemi ile sonuçların elde edilmesi en az iki gün sürmektedir. Hızlı sonuç vermesi, canlı bakteri varlığına ihtiyaç duymaması, yüksek duyarlılığa sahip olması sebebi ile nükleik asit temelli testler günümüzde daha çok tercih edilmektedir (10).

Aseptik menenjit etkenlerini belirlemede Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi kullanılır. Bu yöntemle başarı günümüzde %50-70'lere ulaşmıştır. Nükleik asit saptama testlerinin kullanımı başarıda etkili olmuştur (11).

Bu çalışmada, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Bölümü Laboratuvarına gönderilen ve menenjit ön tanısı ile takip edilen 90 BOS örneğinde bakteriyel ve viral etkenler üzerinde kültür ve moleküler yöntemler kullanılarak erken tanı elde edilmesi amaçlanmıştır. Bakteriyel etkenlerden; *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae* hem kültür hem moleküler yöntemi ile; viral etkenlerden; EV, PV, VZV, HSV-1, HSV-2 Multiplex Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi ile araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

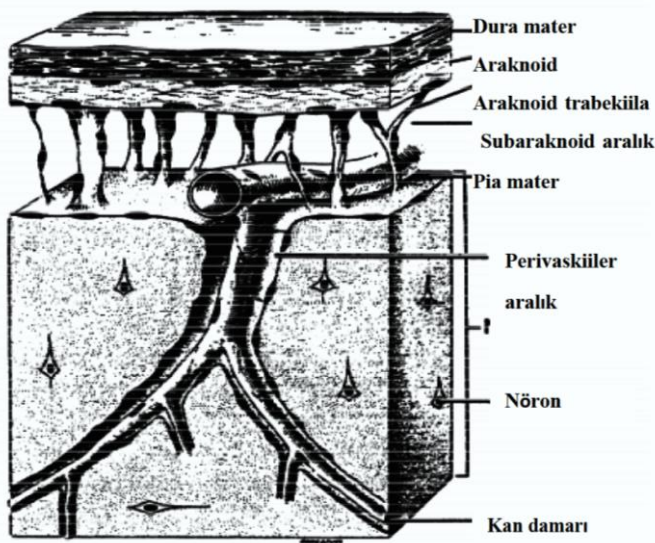
2.1 Beyin Anatomisi

Beyin iki yarım küreden oluşur. Bunlar sağ hemisfer ve sol hemisferdir. Bu hemisferler dört lobdan oluşur. Bunlar; frontal (ön), parietal (yan) occipital ve temporal loblardır. Lobların üzerinde girintiler ve çıkıntılar vardır. Girintilere “sulcus”, çıkıntılara “girus” adı verilir.

Beyin vücudumuzda tüm sinir sistemi gibi 3 kat zara sahiptir. Bunlar;

1. Duramater: En dıştaki zar olup kafatasına yapışık bir haldedir.
2. Araknoid: Ortada bulunan bu zar örümcek ağına benzer. Dura matere yapışık olup kolajen ve elastik bağ dokudan oluşur. İçinde beyin omurilik sıvısı vardır.
3. Piamater: En içteki zar olan bu yapı beyin dokusuna yapışık bir haldedir.

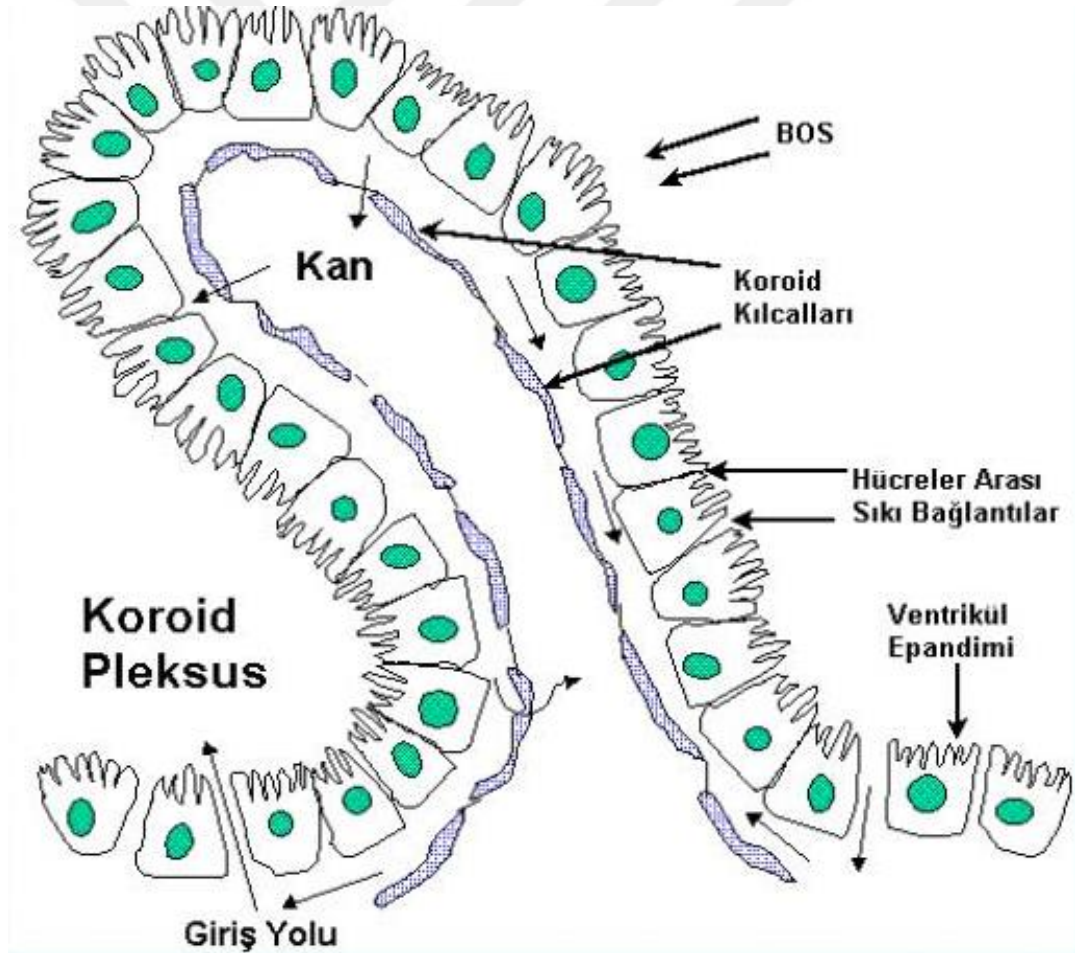
Beyni saran bu zarların arasında boşluk vardır. Kemik doku-dura mater arasındaki boşluk “epidural boşluk”, dura mater–araknoid zar arasındaki boşluk “subdural boşluk”, araknoid zar-pia mater arasındaki boşluk “subaraknoid boşluk” diye adlandırılır. Beyin omurilik sıvısı bu boşluğun içinde bulunur (3,12).



Şekil 2.1. Meninkslerin anatomik bölümleri (13)

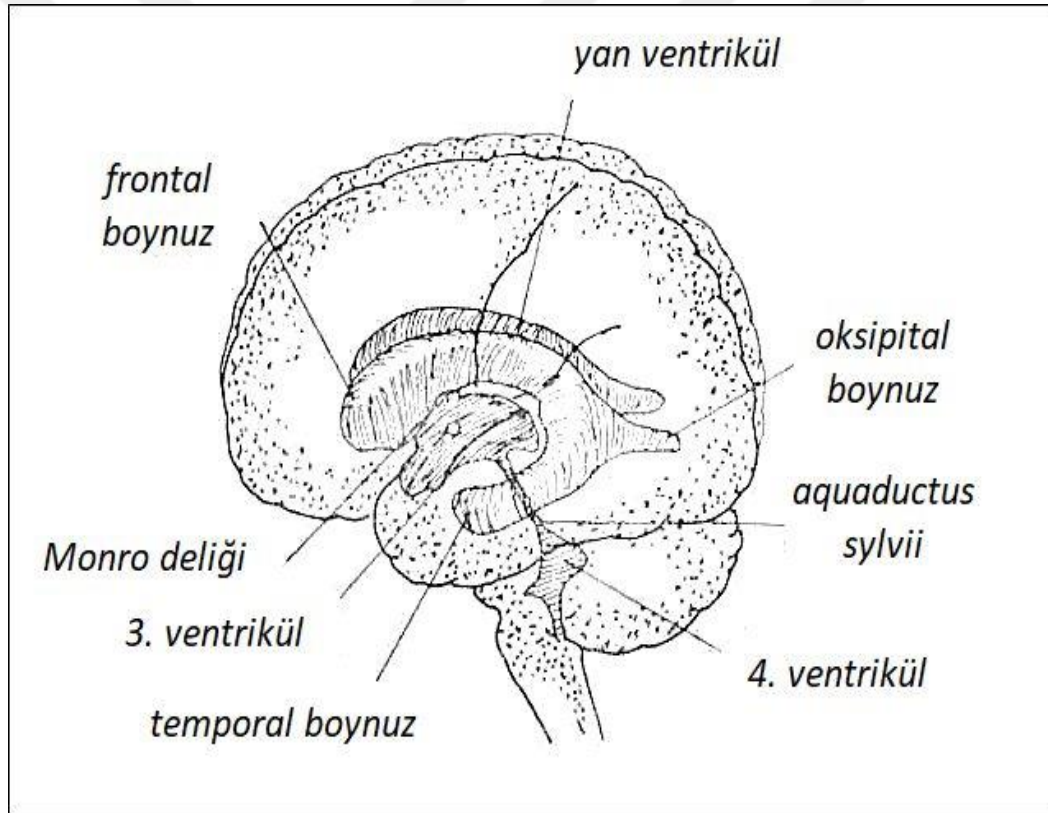
2.2 Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) Fizyolojisi

Beyin ve beyin sapının kapiller damarları, diğer kapiller damarlara oranla biraz daha farklıdır. Pia mater yüksek oranda villuslu yapıya sahiptir. Bu yapı ependimal hücrelerle kaplı boşluklar olan ventriküllerle temas halindedir. Bu yapıya koroid pleksus adı verilir. Koroid pleksus santral sinir sistemi içinde vasküler yapının en yoğun ve kanlanmanın en fazla olduğu bölgedir. Bu özelliği ile BOS yapımı en fazla burada gerçekleşir. BOS, koroid pleksus sekresyonları ile birlikte parankimal kapiller ve hücresel metabolik işlemler sonucu oluşan interstisyel sıvının karışımıdır. Başka bir deyişle BOS, plazma ultrafiltratıdır (3,7,12-14).

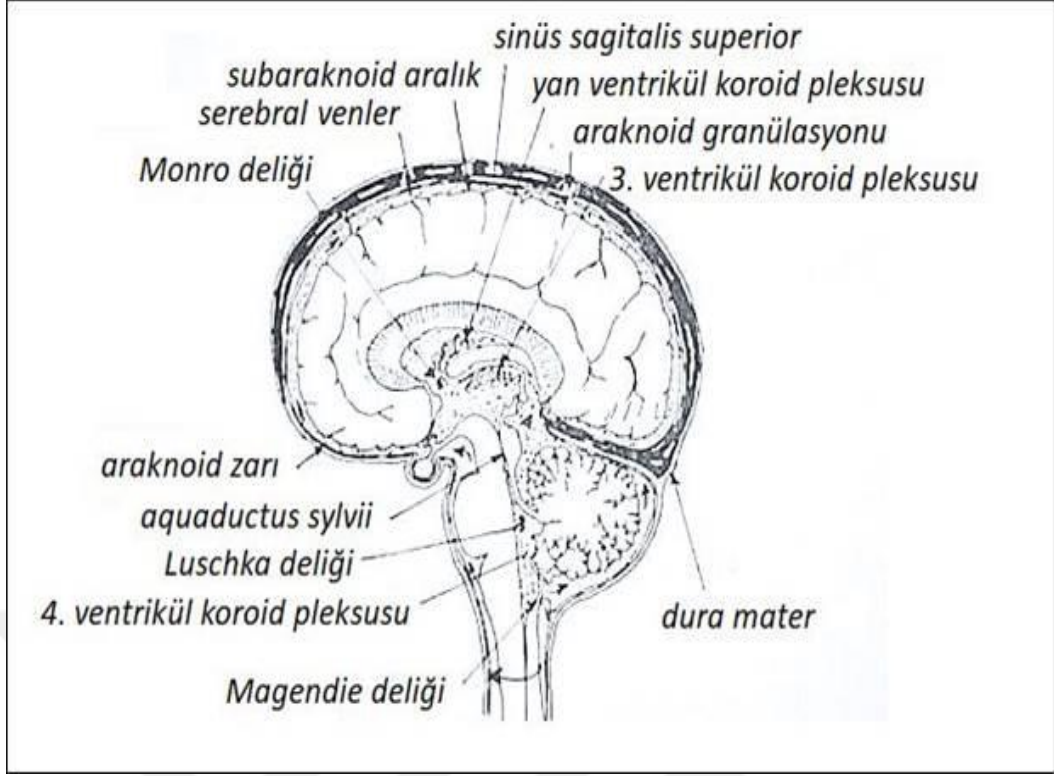


Şekil 2.2. Koroid pleksus yapısı (15)

Toplamda dört adet ventrikül vardır. Bunlardan iki tanesi yan ventriküllerdir. Yan ventriküller hemisferlerin içine sağlı sollu olarak yerleşmişlerdir. BOS'un %85'i üçüncü, dördüncü ve lateral ventriküllerde koroid pleksuslar tarafından oluşturulsa da, kalan %15'i meninksler yoluyla difüzyonla oluşturulur. Beyin omurilik sıvısı lateral karıncıkta salgılandıktan sonra ilk olarak *Monroe* denilen delikten üçüncü karıncığa ulaşır. Burdan *Aqueductus Sylvii* yoluyla dördüncü ventriküle ve ardından *Luschka* ve *Magendie* deliklerinden *Sisterna Magna*ya ulaşır. Sisterna Magna subaraknoid boşlukta devam eder. Beyin omurilik sıvısı, serebral ventrikül ve omurilik etrafındaki subaraknoid boşlukta dolaşır ve superior sagittal sinüse yol açan subaraknoid villus ile kan dolaşımına yeniden katılır. Bu döngü yaklaşık dört saatte tamamlanır (3,7,12–14).



Şekil 2.3. Ventrikül sistemi (15)



Şekil 2.4. Beyin omurilik sıvısı dolanımı (16)

Yetişkin bir birey günde ortalama 400-600 ml beyin omurilik sıvısı üretir. Herhangi bir zamanda bulunan normal beyin omurilik sıvısı miktarı yetişkinler için 100-160 ml ve yenidoğanlar için 10-60 ml'dir. Beyin omurilik sıvısının oluşumu ve geri emilimi sabit bir dinamik denge durumundadır. Beyin omurilik sıvısı oluşum hızı, normal koşullar altında genellikle sabittir ve intraventriküler basınçla ilgisi yoktur. Aksine, geri emilimi intravenriküler basınca bağlıdır. İntraventriküler basınç, 112 mmH₂O ortalama basıncına eşitse, salgılama ve geri emilim dengededir. Absorpsiyon, 68 mmH₂O'luk bir basınçta durur. Beyin omurilik sıvısı basıncındaki artış, esas olarak yeniden emilimdeki azalmadan kaynaklanır ve bazen tıkanıklıkla da ilişkilidir (3,7,12-14).

2.3 Menenjit

Santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları başta menenjit olmak üzere beyin apsesi, ensefalit, epidural apse, ensefalomiyelit, subdural ampiyem gibi değişik klinik tablolarla seyredebilir. Menenjit, çeşitli mikroorganizmaların neden olduğu beyin zarlarının enflamasyonudur (1).

Uygulanan antimikrobiyal tedavilerden iyileşmeler elde edilmiş olsa da beyin omurilik sıvısı iltihabı olarak bilinen menenjit, ciddi mortalite ve morbidite nedenidir.

Bakteriler, virüsler, mantarlar, kimyasal ajanlar, intravenöz immunglobulin gibi ilaçlar, sitokin akışını uyarırlar bu da SSS içerisinde enflamasyona neden olur (17).

Menenjit esas olarak bir pia-araknoidit'tir. Menenjitte erken ve hızlı tanı çok önemlidir. Çünkü menenjitin klinik tablosu hızlıca ilerleyebilir ve ölüme ya da ciddi kalıcı sekellere yol açabilir. Menenjite neden olan enfeksiyöz etkenler arasında başta bakteriler, virüsler, mantarlar, spiroketler, riketsiyalar, protozoalar ve helmintler gelir. Otit, sinüzit, epidural abse, kraniyal osteomyelit, beyin absesi, mastoidit, subdural abse, enfektif endokardit, bakteriyel toksinler de menenjite neden olabilen diğer enfeksiyöz durumlardır. Menenjit muhtelif mikroorganizmalar ile oluşabildiği gibi benzer biçimde enfeksiyon dışındaki rahatsızlıkların bir belirtisi de olabilir (2). Sistemik hastalıklar, bazı antimikrobiyal ajanlar, nonsteroid antienflamatuar ilaçlar, maligniteler, yumuşak metal zehirlenmesi gibi etkenler de menenjite neden olabilir (2,18,19).

2.4 Bakteriyel Menenjit

Bakteriyel menenjit, erken tanı ve tedavi olmadığı sürece yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan bir enfeksiyondur. Akut pürülan menenjitler genellikle bakteriyel etkenlidir (5). Çeşitli mikroorganizmalar akut pürülan menenjite neden olur. Bakteriyel menenjit olgularının %80-85 oranında sorumlu olan bakteriler *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* ve *H. influenzae*'dir. Fakat belli yaşlarda ve bazı olağan durumlarda bu etkenlerin görülme oranı değişir (20,21). Klinik belirti ve bulgular hastanın yaşına ve hastalığın şiddetine göre değişkenlik gösterebilir. Bakteriyel menenjite mortalite oranı %5 ile %40 arasında, sağ kalanlardaysa kalıcı sekel oranı %30 olarak belirlenmiştir (22).

Erken dönemde tanı ve tedavi, prognoz açısından önem arz ettiğinden bulgular son derece dikkatle değerlendirilmelidir (1,23). Baş ağrısı, nöbetler, nörolojik belirtiler, BOS'ta biyokimyasal ve hücresel değişikliklerin hızla geliştiği bu enfeksiyonlar, hasta tedaviye yanıt verse de sıklıkla beyin hasarı, işitme kaybı

ve öğrenme güçlüğü gibi kalıcı şekillere yol açar (3). Araştırmalar sonucunda prognozun kötü yönde etkilenmesine neden olan durumlar vardır. Bunlar arasında hastanede tedavi gören hastanın tedavisinin gecikmesi, periferik yayma sonucunda lökositöz varlığı, BOS örneğinde lökosit sayısının düşük miktarda olmasına rağmen bakteri kültüründe üreme görülmesi, düşük miktarda hemoglobin yoğunluğu, hastanın kan kültüründe bakteri üremesi, hastanın yaşı, hastanın hastaneye sevki sırasında şokta olması ya da bilincinin kapalı olması örnek verilebilir. Hastada menenjit tablosunun yanında meningoensefalit, immün yetmezlik, diyabet, endokardit, lösemi gibi diğer klinik tabloların da bulunması prognozu kötü yönde etkileyen faktörler arasındadır (20,24).

1995 yılında yapılan bir çalışmada bakteriyel menenjit olgu sayısında bir düşüş olduğu izlenmiştir. Bu düşüşün en önemli nedeni konjugat *Haemophilus influenzae tip b (Hib)* aşısının rutin bebek aşılama programına dâhil edilmesidir. Hib aşılamasından sonra bakteriyel menenjit olgu sayısı yarı yarıya azalmıştır. Aşılanmanın bir diğer etkisi olguların yaş dağılımında izlenmiştir. Hib aşılamasından önce olguların 2/3'ü ilk beş yaş içinde görülürken, günümüzde çoğunluğu erişkin yaş grubunda görülmektedir (2,25).

2.4.1 Streptococcus Pneumoniae

Streptococcus pneumoniae mum alevi şeklinde, kapsüllü, hareketsiz Gram pozitif bakterilerdir. Şekilleri kahve çekirdeğini (lanset) andırır. Mikroskopta incelendiğinde ikili halde bir dizilim gösterirler. Bu yüzden isimleri önceden *Diplococcus pneumoniae* adıyla anılmıştır (26).

Sıcaklığın 37°C (25-42°C) olması ve ortam pH'ının 7,4 civarında olması üremeleri için idealdir (27). Kanlı Agar gibi besinden zengin bir besiyerinde kültürlenirlerse 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda kolonilerin çevresinde alfa hemoliz meydana gelir. Anaerob koşullarda inkübe edildiklerinde içerdikleri 'Pnömolizin O' nedeniyle besiyerinde beta hemolizi indüklerler (28). Diğer alfa hemolitik streptokoklardan, kapsüllü ve optokine duyarlı olmalarıyla, ayrıca safra ve safra tuzlarına duyarlı olmalarıyla ayrılırlar (3).

Pnömokoklar peroksidaz ve katalaz oluşturamazlar. Bu nedenle bu maddeyi parçalayamaz, hatta bu maddenin toksik etkisine karşı yenik düşerler. Bu nedenle

üretilmek istenirse Kanlı Agar besiyeri kullanılmalıdır (27). Pnömonokoklar yapı olarak geniş kapsüle sahip oldukları için üredikleri kültürlerde mukoid yapıdaki M kolonileri yaparlar. Kapsül hyaluronik yapıda olduğu için koloniye pürüzsüz, parlak, su damlasına benzer bir görünüm vermektedir. Bu aşamadaki koloniler, suyu homojen bir şekilde bulanıklaştırır ve broth içinde gelişen çok ince granüllerden oluşan koloniler oluşturur (29).

Pnömonokoklar nazofarenksin normal florasında yer alırlar. Üst veya alt solunum yolu epitelinde hasar olmadıkça zarar görmeden varlıklarını sürdürebilirler. Üst solunum yollarının viral enfeksiyonları; fallop tüplerinde ödem ve orta kulakta negatif basınca neden olur. Bakterilerin neden olduğu orta kulak iltihabına karşı hassastır. Bu enfeksiyonun en yaygın nedeni pnömokoktur (30,31).

Bakteriyel menenjitlerin %47'sinden *S. pneumoniae* sorumlu olup yetişkin bireylerde ve çocuklarda yüksek morbidite ve mortalite ile seyretmektedir (32).

S. pneumoniae'nin neden olduğu başka enfeksiyonlar da mevcuttur. Sinüzit başlı başına bir enfeksiyon olmakla birlikte, endokardit, pnömuniye bağlı plevral ödem, sepsis ve nadir olmak üzere peritonit örnek verilebilir (32). Artan pnömokok enfeksiyonu riskinin ana nedenleri, alkolizm, yetersiz beslenme, kronik karaciğer hastalığı ve kronik böbrek hastalığı, malignite veya diyabet gibi durumlardır (33).

2.4.2 Neisseria Meningitidis

Neisseria türleri hareketsiz, spor oluşturmayan, oksidaz pozitif ve katalaz negatif olan Gram negatif diatomlardır (3). Görünümleri genellikle kahve çekirdeklerini andırır ve karşı tarafları hafif içbükey veya düzdür (34).

Meningokok polisakkarit kapsülü antifagositik olduğu için en önemli virulans faktörüdür (22).

Meningokok belirli kökenler dışında genellikle basit besiyerlerinde üremediğinden zenginleştirilmiş besiyerlerine ihtiyaç vardır. Bu nedenle Kanlı Agar, Çikolatamsı Agar, Thayer-Martin besiyeri veya zenginleştirilmiş Müller Hinton Agar besiyerine ekilirler. Ayrıca ortam sıcaklığı 35-37°C ve Ph 7,3-7,6 olmalıdır. Anaerobik bakteri üretilecekse besiyerindeki karbondioksit miktarı %3-10 içinde olmalıdır. Meningokokların bir diğer özelliği ise glikoz ve maltozu fermente ederken, laktozu ve sakarozu fermente etmemeleridir (3).

Tek doğal konakları insanlardır. İnsanlar için hastalık yapan önemli iki tür vardır. Bunlar *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*) ve *N. meningitidis*'dir. Bu iki tür dışında insanlarda hastalık etkeni olmayan birçok *Neisseria* nazofarenk florasında bulunur (22).

N. meningitidis enfeksiyonlarının klinik belirtileri değişkenlik göstermektedir. Hafif ateşle birlikte geçici bakteriyemi görülürken, kimi hastada ağır ve hızlı seyirli ölümcül hastalıklar görülebilmektedir. Tüm bunların sebebi üst solunum yoluna yerleşen meningokokların kana karışmasıdır (35).

S. pneumoniae ve *N. meningitidis*, bakteriyel menenjit vakalarının %80'ine neden olur. Üç aylıktan büyük çocuklarda daha sık görülür. Mortalite oranı %3-13'tür (33). Ayrıca menenjit salgınlarının en sık nedeni olan meningokoklar askeri birlikler, okul yurtları, cezaevleri gibi toplu yerleşim yerlerinde lokalize salgınlara neden olabilmektedir (22).

2.4.3 *Haemophilus Influenzae*

Haemophilus cinsi, Gram negatif, küçük ve hareketsiz bir kokobasildir (33,43). 0,5-2 mikrometre (μm) uzunluğunda ve 0,3-0,5 μm genişliğindedirler. Uçları yuvarlaktır. *H. influenzae* bazik fuksin ile iyi boyanır. Loeffler metilen mavisi ile beş dakika ve 1/10 karbolfuksin ile 10 dakikada boyanırlar. Bir diğer özelliği de paralel kümeler oluşturmalarıdır (29).

Kolay modifiye edilen anaeroblardır. Bu nedenle, bunlar üretilmek istenirse, kanla zenginleştirilmiş ortam tercih edilir. Ayrıca %5-10 CO₂ varlığında daha iyi çoğaldıkları gözlemlenmiştir. *H. influenzae* büyümek için hem faktör X (hematin) hem de faktör V (nikotinamid adenine dinükleotit) gerektirdiğinden, Çikolatamsı Agar bu bakterilerin ilk izolasyonu için uygun bir besiyeridir (3,36).

H. influenzae solunum yollarının normal florasında bulunur. Ayrıca menenjit, orta kulak iltihabı, üst solunum yolu enfeksiyonları, epiglotit, obstrüktif larenjit ve pnömoni gibi çocukluk çağı hastalıklarının da önemli bir nedenidir (22,29).

Hib invaziv hastalığın %54-67'si menenjittir (33). Akut pürülan menenjit etiyolojisinde önemli rol oynar. Çocuklar için özellikle önemli olan H. taşıyıcı influenza tip b altı aylıktan küçük çocuklarda nadiren görülürken, 3-5 yaş arasında

olan çocuklarda görülme sıklığı %3-5 civarındadır (22). *Hib* aşısının yaygın kullanımı ile bu enfeksiyonlar önemli ölçüde azalmıştır (26).

2.5 Viral Menenjit

Menenjit genel olarak mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyon sonucu oluşur ve genellikle virüsler enfeksiyona neden olur (6). Bakteriler, mantarlar ve protozoalar bir diğer etkenler arasında yer alır (37). Bulaşıcı olmayan etkenlerden dolayı da menenjit olabilir (38). Aseptik menenjit terimi, bakteriyel enfeksiyonun kanıtlanmadığı durumlarda kullanılır. Aseptik menenjite genellikle bir virüs neden olur (6).

EV viral menenjitin en sık nedenidir ve yaklaşık %80-95'inden sorumludur (7,8). Bebekler ve küçük çocuklar en fazla risk altındaki gruptur (39). Kabakulak, aşılanmamış popülasyonda aseptik menenjit ve ensefalitin önemli bir nedenidir, ancak aşıli popülasyonda nadirdir (40,41). Viral menenjite neden olan diğer etkenlerden HSV-1, HSV-2, Epstein-Barr Virüsü (EBV), VZV, Sitomegalovirüs (CMV), Human Herpes Virüsü 6 (HHV6)'nın neden olduğu enfeksiyonlar çeşitli nörolojik problemleri ortaya çıkabilir (42).

Konak yaşı ve bağışıklık durumunun değişkenliğine göre EV menenjitinde bulgular değişiklik gösterebilir. Yeni doğan EV enfeksiyonlarında ateş en belirgin bulgu olmasına rağmen, ateş ile beraber döküntü, kusma ve emmeme görülür. Hastalığın başlangıcı ani olup bir haftadan uzun sürebilir (43). Baş ağrısı, ateş ve ense sertliği ise HSV-2 menenjitinde en sık rastlanan klinik bulgulardır (44).

Viral menenjit tablosunda etkenin viral kültür ve boyama teknikleri ile BOS'da gösterilmesi oldukça zor ve maliyetli olduğu için BOS'un biyokimyasal analizi ile protein ve lenfosit hücrelerindeki artış viral menenjit tablosunu düşündürür (45,46). Fakat bu tablo klinik olarak belli bir süre sonrasında ortaya çıktığı için hastanın tanısında zaman kaybı yaşanmasına neden olabilir (47).

Aseptik menenjit etkenlerini belirlemede Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi kullanılır. Bu yöntemle başarı günümüzde %50-70'lere ulaşmıştır. Nükleik asit saptama testlerinin kullanımı başarıda etkili olmuştur (11).

2.5.1 Enterovirüsler

Picornaviridae ailesinin üyelerinden olan EV, RNA içeren virüslerin en küçükleri arasında yerini alır. İnsan ve bitki patojenleri içerir. Ayrıca Picornaviridae ailesinde *EV*, *Hepatovirüs*, *Rhinovirüsler*, *Aphovirüs* ve *Cardiovirüs* yer alır (48).

Poliovirüs tanımlandıktan 50 yıl sonra EV cinsi içinde sınıflandırılmıştır. Poliomyelitinin klinik ve epidemiyolojik yönlerine ilişkin ilk bulgular 19. Yüzyılın sonlarına doğru belirlenmiş olsa da Landsteiner'in hastalığı maymunlara geçirip incelemesiyle poliovirüs ile ilgili temel çalışmaların 1908 yılında başladığı söylenebilir. Öte yandan Paul ve Trask, 1930'larda hastaların ve sağlıklı taşıyıcıların dışkıında poliovirüsü izole etmiştir. Böylece poliomyeliti bir enterik enfeksiyon olarak tanımlamışlardır (49).

Poliovirüsler 1949 yılında Enders ve arkadaşları tarafından in vitro hücre kültüründe üretilen ilk virüslerdir. Bu çalışmalarla aynı zamanda modern anlamda ilk hücre kültürü doğmuş ve çalışmalar ışığında polio aşıları geliştirilmiştir (50).

EV'ler küçük, zarfsız, tek sarmallı pozitif yönelimli RNA'ya sahiplerdir. Asit, eter, kloroform ve iyonik olmayan (noniyonik) deterjanlara karşı dirençlidirler. Formaldehit, 56°C üstündeki ısılarda ve UV ışığında etkinliklerini kaybederler (50).

EV'lerin vücuda girişi ağızdan sindirim yoluyla olur. Vücuda girişinden hastalık belirtilerinin ortaya çıkışına kadar geçen süre genellikle 7-14 gün olmakla birlikte 2-35 gün arasında değişebilir. Virüs ilk olarak farinks ve sindirim sistemi lenfoid dokularında çoğalır. Buralarda viremi geliştikten sonra virüs retiküloendotelyal sisteme geri döner ve çoğalmaya devam eder. Sonuç olarak spinal kord, beyin, meninks, myokardium, cilt gibi hedef organlara giderek tutulurlar (51).

EV'ler genellikle bahar ve yaz aylarında sık görülür ve en çok çocukları etkilemektedir. Enfeksiyonların büyük bir kısmı asemptomatiktir (52).

Viral menenjitlerin en sık nedenidir. Bu tip menenjitlerde klinik bulgular konağın yaşı ve bağışıklık durumuna göre değişkenlik gösterebilir. Yenidoğan döneminde gelişen merkezi sinir sistemi enfeksiyonunda ateş sıklıkla vardır. Bunun

yanında kusma, emme güçlüğü, deri döküntüleri, üst solunum yolu enfeksiyonu bulguları eşlik eder (3,8).

2.5.2 Herpes Simplex Virüs

Herpesviridae ailesine ait HSV tarihin en eski dönemlerinden beri var olan bir virüstür. Değişik nedenlere bağlı olarak deride sinsice gelişir ve yayılım gösterirler. Fransızca ‘ciltte çıkan uçuk’ sözcüğünden alıntı olan “Herpes” kelimesi milat öncesinden beri kullanılmıştır. Bu virüsler lineer çift sarmallı DNA’ya sahip, kübik kapsidi olan zarflı virüslerdir. HSV ısıya duyarlı bir virüstür. Virüsün yarılanma ömrü 37°C’de 1,5-3 saati bulurken diğer yandan virüs enfektivitesini -70°C’de uzun süre koruyabilmektedir. Diğer zarflı virüsler gibi HSV de eter, kloroform ve alkolde kolayca etkinliğini kaybeder. Tripsin, proteaz, aminopeptidaz gibi proteolitik enzimlerin çoğuna duyarlı olmakla birlikte, pH 4-10,5 arasında, 56°C ve üstündeki sıcaklıklarda inaktive olur. Ultraviyole ışınlarına maruz kaldığında yarılanma ömrü 5-7 saniye kadardır. Formaldehitin %1’lik solüsyonu virüsü tahrip etmeye yeterlidir (31,53).

Herpesviridae ailesinin 100’den fazla üyesi vardır. Bu ailenin üyesi olup insanı etkileyen Herpes Virüsler; konak alanı, replikasyon süresi, sitotoksik özellikleri ve latentliğin daha sık meydana geldiği hücre tipi gibi dış yapı özellikleriyle üç alt gruba (alfa, beta, gama herpesviridae) ayrılmıştır (31,53).

HSV’nin primer enfeksiyonu genellikle asemptomatiktir. Önemli özelliklerinden biri insanda latent duruma geçme eğilimi ve düzensiz aralıklarla o bölgede aktive olmasıdır. HSV deri ve mukoza membranından vücuda girerek bölgesel enfeksiyon yaparlar. Konağın immun sistemi çok iyi değilse viremi oluşur. Akut herpes enfeksiyonlarının belirgin patolojik özellikleri; çok çekirdekli dev hücreler, epitel hücrelerinin balon dejenerasyonu, ödem ve fokal nekrozdur (31,53).

HSV-1 ve HSV-2 dünyada oldukça yaygındır. Sıcak ve soğukkanlı omurgalı ve omurgasız hayvanlar virüse konak olmuşlardır. Mevsimsel dağılım göstermemekle birlikte deney hayvanlarında kolayca enfeksiyon yapabilirler fakat doğal rezervuarları insandır. Virüs, enfekte olan salgıyla direkt temas yoluyla bulaşır. HSV-1 daha çok oral, HSV-2 ise daha çok genital salgılardan bulaşır. Bulaş hem belirgin hastalığı olanlardan hem de semptomu olmayan taşıyıcılardan

kaynaklı olabilir. Herpes virüsler vücut dışında uzun süre canlı kalamazlar. Bu nedenle günlük kullanılan eşyalarla bulaş riski çok düşüktür (24,31,53).

Primer HSV enfeksiyonu altı ay ile beş yaş arasında meydana gelmektedir. Erişkinlerin %80'inden fazlasının HSV ile enfekte olduğu gösterilmiştir. HSV-1 antikorlu hayatın ilk 10 yılında kazanılırken, HSV-2 ergenlikten sonra erişkinliğin erken yıllarında kazanılır (24,31,53).

HSV enfeksiyonlarının tedavisinde birçok antiviral kullanılır. Ancak kullanılan ilaçlardan hiçbiri gizli Herpes Virüsüne etki etmemektedir. Asiklovir en çok tercih edilen ve kullanılan ilaçtır. HSV-1 ve HSV-2'ye etki eder. Asiklovir, nükseden herpes vakalarında yıllarca kullanılır. Bunun yanında famsiklovir, valasiklovir de en çok kullanılan diğer antivirallerdir (24,31,53).

2.5.3 Varicella-Zoster Virüs

Herpesviridae ailesinin üyesi olan ve aynı zamanda morfolojik olarak HSV'ye benzeyen VZV, primer enfeksiyon olarak varicella (*suçiçeği, Chickenpox*), reaktifte olduğu zaman ise zona (*Herpes zoster, Shingles*) hastalığına neden olmaktadır. Bu virüsün tek doğal kaynağı insandır. Suçiçeği eski zaman dilimlerinde çiçek hastalığı ile karıştırılmaktaydı. 1796 yılında ilk kez Heberden suçiçeğinin ayrı bir hastalık olduğunu bildirdi. Ardından Steiner 1875 yılında bunun bir enfeksiyon hastalığı olduğunu bildirmiştir. 1958 yılında ise Weller varicella ve zona veziküllerinden izole edilen VZV'nin morfolojisi ve DNA moleküler ağırlıkları ile endonükleaz kalıplarının benzer olması, her iki hastalıkta aynı tip histopatolojik hücre kesecikleri ve doku kültürlerinde çok çekirdekli büyük hücreler oluşması nedeniyle, bu iki hastalığın etkenlerinin VZV olduğu göstermiştir (54,55).

Herpesvirüs ailesinin alfaherpes alt ailesinin üyesi olan VZV, çeşitli konaklarda bulunabilirler. Kendilerini kopyalama süreleri diğer gruplara oranla daha kısadır. Primer olarak ganglionlarda latent enfeksiyon oluşturdıkları için bu virüsler nörotropik virüslerdir (48,56).

Genel özellikleri ile ailenin diğer üyelerine benzeyen VZV'nin DNA'sı lineer çift sarmallı olmakla birlikte 125.000 baz çifti uzunluğa sahiptir. Lipid yapısında ve glikoprotein çıkıntılarına sahip olan zarf deterjanlara ve etere oldukça duyarlıdır.

Hücreden hücreye direkt temas ile bulaşan bu virüs plazma membranına füzyondan sonra hücrelere yapışarak yayılır. VZV diğer HSV'lerin aksine deney hayvanlarında hastalık oluşturmamaktadır (54,55).

Virüs vücuda ya üst solunum yolundan ya da konjunktiva mukozasından girer. Buralarda çoğaldıktan sonra kan dolaşımına geçerek viremiye sebep olur. Viremi genelde düşük düzeyde seyrederek geçicidir. Bu dönemde deriye lokalize olan virüs deride kutanöz ve mukozal lezyonlar oluşturur. Epitel hücrelerinde şişme ve balonlaşma görülür, doku sıvısının birikimi sonucu veziküller oluşur. Virüsün çoğalması ve yayılımı konağın humoral ve hücrel immün yanıtı ile sınırlandırılır. Virüs duyu ganglionlarında latent olarak kalır (54,55).

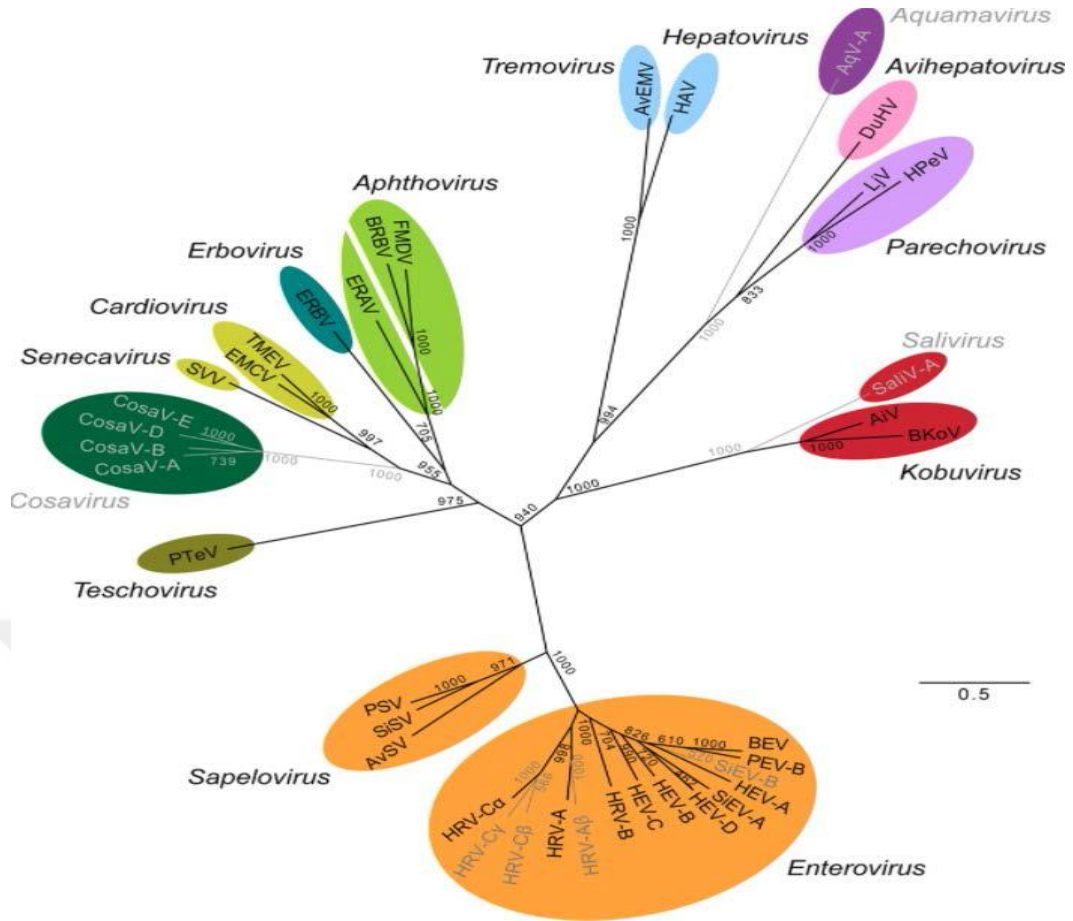
Virüsün primer enfeksiyonu suçiçeği şeklinde seyrederek ve en sık 10 yaş altı çocuklarda görülür. Tek doğal kaynağı insandır. Daha çok kış sonu ve bahar aylarında görülen VZV insandan insana enfekte hücre keseciklerinin direkt teması ve hava yolu ile bulaşarak epidemiyeye neden olmaktadır (55,57).

Tedavisinde asiklovir, valasiklovir, famsiklovir ve vidarabin kullanılmaktadır (56).

Daha çok okul çağı çocuklarda salgınlar görülürken hafif seyirli bir hastalık olduğu için korunmaya yönelik bir çalışma yapılmamıştır. Bununla birlikte çocuklarda tek doz aşı klinik olarak etkili bir bağışıklık sağlamıştır (55,57,58).

2.5.4 Parechovirüs

İnsan Parechovirüsü (HPeV), Picornavirüs ailesine aittir. Bu virüs ailesi insan ve hayvanda hastalık yaparlar. Bunlar 26 cinstir. EV ve ParaEnterococcus cinsleri insanda nörolojik hastalıklara neden olan etkenleri taşırlar. EV cinsi, 250'den fazla tanımlanmış tip içerir (59).



Şekil 2.5. HPeV ile diğer pikornavirüslerin evrimsel dizilimleri, cins ve tür düzeyinde sınıflandırılmaları (59)

Şimdiye kadar 19 HPeV alt tipi tanımlanmıştır. HPeV tip 1 ve 2 ilk olarak 1956'da Amerika Birleşik Devletleri'ndeki ishal salgını sırasında keşfedildi. Daha önceleri ‘‘Ekovirüs tip 22 ve 23’’ olarak tanımlansa da 1990'larda virüs genomunun dizi analizi bunların diğer enterovirüslerden genetik ve biyolojik olarak farklı olduğunu belirlemiştir. Bu nedenle Picornaviridae familyasında yeni cins tanımlanmıştır. Böylece *Echovirüs tip 22* ve *Echovirüs 23* yeniden adlandırılarak *HPeV tip 1* ve *HPeV tip 2* ismini almıştır (60).

İnsanlar HPeV'nin ilk konağıdır, ancak araştırmalarda, insanlar ile aynı bölgede yaşamlarını sürdüren primatlarda da bazı paraenterovirüs türleri gözlenmiştir. Bu primat türlerinden bazıları, vahşi olan Afrika maymunları (*Mandrillus sphinx*) ve güney domuz türü kuyruklu makakları (*Macaca nemestrina*) ve insanlarla yakın temas halinde yaşayan türleri içerir (61,62).

HPeV çok yaygın bir patojendir ve dünya çapında, özellikle bir yaşın altındaki çocuklarda yapılan çalışmalarda ortaya çıkmıştır (61,62). 30 yıl önce incelenen 580 adet HPeV izolatının %60 oranında bir yaş altındaki bebeklerde gözlenmesi bunu kanıtlamaktadır (61). Ulusal Enterovirüs Sürveyans Sisteminin 1983-2005 yılları arasındaki verilerine göre bir yaş altı çocuklarda HPeV-1'in %73'ünün ve HPeV-2'nin %68'inin enfeksiyona neden olduğu bildirilmektedir (62). İsveç'te yapılan ve 33 yıl süren bir çalışmada, 1000 adet elektrikli araçta sadece beş adet HPeV-2 tespit edildi (63).

Picornaviridae familyasının bir başka üyesi gibi, HPeV de esas olarak intestinum tenuede çoğalmaktadır. Fakat bulaşma fekal-oral yoluyla olur. HPeV solunum yolu salgılarında bulunabilir ve çoğalma solunum sisteminde de meydana gelir. Yayılıp enfekte olduktan sonra virüs mide-bağırsak ve üst solunum yolu ile yayılmaya devam eder. Bulaşma zamanı bilinmemekle beraber dışkıda iki hafta ile beş ay arasındadır. Solunum yollarında ise bu süre 7-21 gündür (64). HPeV genellikle dışkılama yoluyla atıldığı için dışkı örneklerinde bu virüse rastlamak mümkündür (65,66). Dışkıdan ortalama bulaşma süresinin 51 gün olduğu yapılan çalışmalarda görülmüştür, ancak bu süre çocuklarda üç aydan fazla sürmüştür (67).

Sık karşılaşılan HPeV enfeksiyonu, EV'lerin yaptığı enfeksiyona benzer. Hastaların üzerindeki etkileri genellikle hafif olmakla birlikte asemptomatiktir. İshal, HPeV-1 enfeksiyonunun en sık görülen semptomudur ve bunun devamını solunum sıkıntıları takip eder. Yapılan çalışmalarda HPeV tip 4, 5 ve 6 ile enfekte çocukların şikayetlerini ve bulgularını incelerken, çalışmada ana semptomların gastrointestinal ve solunum semptomları olduğu görüldü (68).

Günümüzde HPeV türlerine karşı etkili olan bir antiviral tedavi henüz bulunmamıştır (69). Klinik raporlar destekleyici tedavi dışında herhangi bir özgül tedavi önermemektedir (70). Dünya çapında yapılan invitro çalışmalarda HPeV-1 ve 3 tiplerinin pleconarile karşı dirençli olduğu görülmüştür (71).

2.6 Tanı Yöntemleri

Menenjit tanısı BOS'un mikrobiyolojik ve biyokimyasal incelemelerini içeren bütünsel bir yaklaşımdan oluşmaktadır. Bu incelemelerin yapılabilmesi için BOS numunesinin uygun zamanda, steril koşullarda ve doğru yerden alınması

gerekmektedir. BOS lomber ponksiyon (LP) işlemi ile Lumbar (L) 3-4 omurları arasından steril şartlarda alınır. İşlemden önce çalışılacak testlere yetecek kadar tüp hazırlanmalıdır. Testler için genelde üç ya da dört tüp gereklidir. Birinci tüp biyokimya ve serolojik testler için, ikinci tüp mikrobiyolojik analiz için, üçüncü tüp hücre sayımı için, dördüncü tüp ise ayrıntılı serolojik testler için kullanılır. LP işlemi esnasında istenmeyen travmatik durumlarla karşılaşmak kaçınılmaz ihtimaller arasında yer alabilmektedir. Travma esnasında meydana gelebilen kanama sonucunda BOS hücre sayımında yanlış yüksek beyaz küre varlığı tespit edilebilir. Ayrıca cilt flora bakterilerinin BOS ile karışması sonucunda BOS kültüründe beklenmeyen yanlış üremelerle karşılaşılabilir. İşte bu durumları engellemek için BOS'un ayrı ayrı tüplere alınması tercih edilir (72,73).

BOS alındıktan hemen sonra laboratuvara gönderilmelidir. Testler hemen çalışılmıyacaksa moleküler incelemeler dışında buzdolabında saklanmamalıdır. *N.meningitidis*, *H. influenzae* gibi menenjit etkeni olan bakteriler kuruluğa, yüksek ve düşük ısıya duyarlı hassas bakterilerdir. Buzdolabında saklandığında bakteri canlılığını yitireceği için BOS numunesi laboratuvarında kültür işlemi yapılana kadar dış ortamda tutulur (74,75). BOS sadece serolojik ve moleküler testler için buzdolabında veya -70°C'de saklanmalıdır.

BOS incelemesi farklı basamaklardan oluşmaktadır. İlk olarak alınan BOS'un işlem esnasında basıncı değerlendirilir. Daha sonra makroskobik olarak BOS'da renk ve bulanıklık durumu incelenir. Biyokimyasal olarak protein-glikoz düzeyleri, eritrosit-lökosit hücre sayımı ve mikrobiyolojik olarak Gram boyama, bakteriyel kültür üremesine bakılır. Ayrıca bunların dışında ayrıntılı incelemeler için moleküler ve serolojik testlere de ihtiyaç duyulur. Bütün bu değerlendirmeler sonucunda tanı; biyokimyasal test sonuçlarına, mikrobiyolojik test sonuçlarına, hastanın klinik durumuna, nörolojik ve radyolojik bulgularına göre konulur (72,73).

2.6.1 BOS'un Görünümü

Normalde BOS'un içinde hücre bulunmadığından berrak ve renksiz bir görünüme sahiptir. Lökosit sayısının mililitrede 200'ün üzerine çıkması, eritrosit sayısının 400'ün üzerinde olması, bakteri sayısının 10⁵ cfu/ml'den fazla olması, desilitrede proteinin 150 mg'ın üzerinde olması BOS'un bulanık görünümüne sebep olan ana unsurlardandır (76).

2.6.2 BOS'un hücre sayımı ve dağılımı

SSS enfeksiyonlarının tanısında ve uygun tedavi yönteminin belirlenmesinde BOS'da bulunan hücre miktarı ve hücrelerin tipi oldukça önem arz etmektedir (72,77). BOS, LP işlemi ile alındıktan sonra lökosit hücreleri 90 dakikada parçalanarak yok olduğu için zaman kaybetmeden hücre sayımı yapılması gerekir (78). BOS'un hücre sayımında; hücrenin cinsi, sayısı çok önemlidir. Normal bir insanda beklenen hücre sayısı $0-5/mm^3$ 'dür. Çocuklarda ve yetişkinlerde normal BOS'ta 0-5 arası lenfosit bulunur. Polimorfonükleer lökositler yoktur. LP sonrası BOS'ta hücre sayımı bir saat içinde yapılmalıdır. Bakteriyel ve viral menenjitte BOS'taki hücre sayısı artar. Bakteriyel menenjitte nötrofiller baskındır. Viral menenjitte hücre sayısı genellikle $50-500/mm^3$, çoğunlukla lenfositlerdir. Başlangıçta polimorfonükleer lökositler (PMNL) baskın olabilse de, 6-48 saat sonra lenfositler hakim olur (79).

2.6.3 BOS'un boyalı mikroskopik incelenmesi

Gram boyama, bakteriyel menenjite neden olan mikroorganizmaların varlığını belirlemede kullanılan yöntemlerden biridir. Hızlı, ucuz ve özgülüğü yüksek olan bir yöntemdir. Boyalı mikroskopik incelemede mikroorganizma görülme oranı %60-90'dır (36,80). BOS'un konsantrasyonuna bağlı olarak mikroorganizma görülme oranı değişkenlik gösterebilir. BOS numunesi berrak görünümdeyse santrifüj edilerek dipte kalan çökeltiden preparat hazırlanıp boyanarak incelenir. BOS bulanık bir görünümde ise santrifüj edilmeden direkt olarak preparat hazırlanıp boyanarak inceleme yapılır (72). BOS'daki bakteri sayısı arttıkça bakterinin boyalı mikroskopik incelemede görülme oranı da artmaktadır (13).

2.6.4 BOS'un biyokimyasal incelemesi

Bakteriyel menenjit tanısında BOS'un biyokimyasal incelemelerinde mutlaka protein ve glikoz miktarlarına bakılır. Normal BOS'un protein miktarı 15-45 mg/dl, glikoz miktarı 50-80 mg/dl'dir. Kan-beyin bariyer geçirgenliğinin bozulmasıyla BOS'da protein miktarı artar. Bakteriyel menenjit olgularında BOS'da protein miktarında artış görülür. BOS glikozuna bakılırken eş zamanlı olarak kan glikozuna da bakılmalıdır. Çünkü BOS glikozu kan glikozuna bağlıdır (81). Normal şartlarda BOS glikoz değeri kan şekeri değerinin %60-70'i kadardır. 0,5'ten düşük bir BOS/glikoz oranı, yenidoğanlarda 0,6'ya kıyasla bakteriyel menenjit gösterir.

Bakteriyel menenjitte BOS glukoza genellikle 40 mg/dl'nin altındadır (36). Viral menenjitte; Herpes Simpleks, kabakulak, lenfositik koriomenenjit dışında BOS glukoza genellikle normaldir (79). HSV, kabakulak ve lenfositik koriomenenjitte BOS glukoza azalabilir (82). BOS'un görünüm, baskın hücre tipi, basınç, glukoz ve protein bakımından hangi klinik tabloda ne çeşit farklılıklar içerdiği ile ilgili olarak ayrıntılı bir tablo aşağıda gösterilmiştir (Tablo 2.1) (81).

Tablo 2.1. Farklı menenjit tablolarındaki BOS bulguları (81)

	Görünüm	Baskın Hücre Tipi	Basınç (mmH₂O)	Glikoz	Protein
Bakteriyel	Bulanık	Nötrofil	Artar	Azalı	Artar
Viral	Berrak	Lenfosit	Normal	Normal	Hafif Artar
Kabakulak HSV Lenfositik Koriomenenjit	Berrak	Lenfosit	Normal	Azalabilir	Hafif Artar
Tüberküloz	Ksantokromik	Lenfosit	Artar	Azalı	Artar
Mantar	Berrak	Lenfosit	Artar	Azalı	Artar

2.6.5 BOS kültürü

BOS'un kültürü bakteriyel menenjit tanısında altın standarttır. Bu nedenle BOS bekletilmeden kültür işlemi yapılmalıdır (72). Şartlar uygun ise BOS kültürü LP işlemi sırasında hasta başında yapılırsa menenjite etken olan mikroorganizmanın üretilme olasılığı daha fazla olacaktır. Menenjit şüphesi olan her hastadan BOS kültürü için en az bir mililitre BOS örneği alınmalıdır (81). BOS alınmadan önce hastanın ampirik tedavisinin yapılması kültürde üreme durumunu ve Gram boyamada bakteri görülme olasılığını önemli ölçüde etkilerken hücre sayımındaki beyaz küre sayısını etkilememektedir (72). Alınan BOS örneği %5 Koyun Kanlı Agar, Eosin Metilen Blue (EMB) Agar, Çikolatamsı Agara ekilmelidir (81).

2.6.6 Bakteriyel ve Viral Menenjit Tanısında Kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR (Polymerase Chain Reaction, Polimeraz Zincir Reaksiyonu), DNA üzerindeki belli bölgeleri çoğaltmak için kullanılan moleküler bir tekniktir. Çalışma

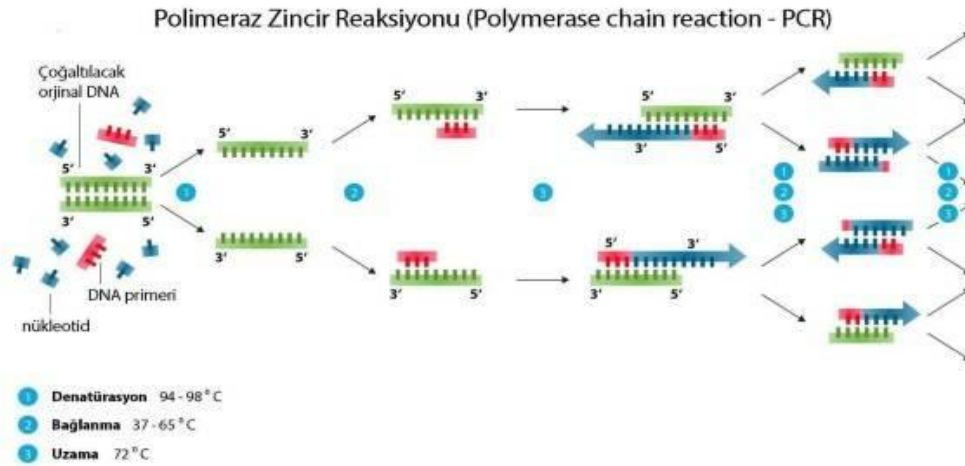
prensibi; hedef kalıp DNA üzerinde seçilmiş özgün bir veya birden fazla bölgeyi, kimyasal yollarla elde edilmiş olan oligonükleotid primerler ve saf olarak elde edilmiş Taq Polimeraz enzimleri kullanılarak invitro olarak çoğaltmasıdır (83).

PCR hassas bir tekniktir. Kopyalaması için ortamda eser miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulur. Yeterli DNA'nın bulunması ve kopyalanması analiz için gereklidir (84).

PCR'da genel olarak, DNA'nın birçok kez kopyasını oluşturabilmek için gerekli olan ortam ve malzemeler; bir kalıp DNA, DNA'dan yeni bir iplik yapmak için görevli deoksiribonükleotid (dTTP, dATP, dCTP ve dGTP), oligonükleotidler ya da yerine iki primer, DNA polimerazı ve bu enzim tarafından tanınan ve nükleotidlere katılan Magnezyum (Mg^{2+}) ve tampon çözeltisidir (85).

Bu döngüler temelde üç aşamadan oluşur (86).

- Kalıp DNA'nın denatürasyonu,
 - Hedefe uygun primerlerin bağlanması
 - DNA polimeraz enzimi ile bağlanmış olan primerlerin uzatılması
- PCR'ın aşamaları Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.6. PCR'ın aşamaları (87)

PCR'ın birçok çeşidi vardır. Bunlar;

- Asimetrik PCR,
- Allel PCR,
- Çoklu (Multiplex) PCR,

- Demirlenmiş (Anchored) PCR,
- Dijital PCR,
- Gerçek Zamanlı (Real-Time) PCR,
- Hot-start PCR,
- İmmüno PCR,
- In situ PCR,
- Koloni PCR,
- Mikro PCR,
- Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD),
- Reverse-Transkriptaz PCR (RT-PCR),
- Semikantitatif PCR,
- Ters (İnverse) PCR,
- Touch-down PCR,
- Uzun aralıklı (Long-range) PCR,
- Yuvalanmış PCR ve son olarak
- Geniş Aralıklı 16s rRNA PCR (88).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Örneklerin Toplanması

Bu araştırmada, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarında Kasım 2020-Kasım 2021 yılları arasında izlenen santral sinir sistemi enfeksiyonu öntanısı almış hastaların beyin omurilik sıvısı örnekleri ve laboratuvar sonuçları geriye dönük olarak laboratuvar bilgi kayıt sisteminden incelendi. Hastalar yaş, cinsiyet, laboratuvar bulguları ve tanı yöntemleri açısından değerlendirildi. Hastaların çalışmaya dahil edilmesi için ‘santral sinir sistemi enfeksiyonu ön tanısı’ almış olması kriteri arandı. Hastalar birer birer numaralandırılarak bütün veriler bilgisayar ortamında Excel şablonunda kaydedildi.

Hastalardan dört tüp BOS örneği alındı. Alınan beyin omurilik sıvısı örnekleri görünüm açısından değerlendirildikten sonra kültür ve PCR için hazırlandı.

Birinci tüp BOS’un biyokimyasal incelemesi için biyokimya laboratuvarına gönderildi. İkinci tüp hücre sayımı, üçüncü tüp Gram boyaması ve besiyerlerine ekim amacıyla mikrobiyoloji laboratuvarında kullanıldı. Son olan dördüncü tüp HSV 1-2, VZV, EV, *Parechovirüs*, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* ve *H. influenzae* PCR çalışması için -20°C buzdolabına kaldırıldı.

3.2 Beyin Omurilik Sıvısı Araştırma Yöntemleri

3.2.1 Beyin Omurilik Sıvısı Hücre Sayım Tekniği

Örneklerin laboratuvara ulaşmasıyla birlikte hiç vakit kaybetmeden hücre sayımları yapıldı. Hücre sayımında BOS’un bir milimetre küpte bulunan lökosit miktarı tespit edildi. Bu yöntem için Thoma lamı (Tiefe Depth Profondeur, Almanya) ve optik ışık mikroskobu (Olympus CX41, Japonya) kullanıldı. Yöntem şu şekilde gerçekleştirildi;

1. Bir lamel ile üzeri kapatılan Thoma lamına BOS numunesinden bir damla damlatıldıktan sonra, Thoma lamı mikroskop altına yerleştirildi.

2. Bir Thoma lamı üzerinde büyük bir kare içindeki lökositler, 10'luk büyütmede mikroskopik olarak sayıldı.

3. Sayımın doğru olması ve kontrol amaçlı olduğundan emin olmak için 40'luk büyütmede saymaya devam edildi.

4. Thoma lamının üst sırasındaki küçük olan karelerde sol taraftan sağ tarafa ve alt sıradayken sağ taraftan sol tarafa doğru saymaya devam edildi.

5. Yalnız küçük karelerin içindeki ve sol taraf ve üst çizgilerde bulunan hücreler sayıldı.

6. Thoma lamının sağ tarafı ve alt çizgilerdeki hücreler sayılmadı.

7. Bu yöntem uygulanarak aynı hücrelerin tekrar sayılması engellendi.

8. Hücreler sayıldıktan sonra, sayıma alınan hücre sayısı 10'la çarpılarak bir mm³ içindeki hücre sayısı miktarı bulundu (76).

3.2.2 Beyin Omurilik Sıvısı Örneklerinde Bakteriyel Kültürün Yapılması

Bir mililitreden az olan BOS örnekleri santrifüjde 4000 devirde beş dakika santfüj edildi. Üstteki sıvı döküldü ve dipte kalan çökeltiden örnek alınarak sırasıyla, %5 Koyun Kanlı Agara (RTA, Türkiye), Eozin Metilen Blue (EMB) Agara (RTA, Türkiye) ve Çikolatamsı Agara (RTA, Türkiye) ekim yapıldı. Bir mililitreden fazla olan örneklerden direkt ekim yapıldı. Ekim eldiven, bone, maske ve box ile Class II biyogüvenlik kabini içerisinde yapıldı. Çikolatamsı Agar besiyerinin hava almaması için plak çevresi parafilm ile kaplandı.

Ortamdaki kültürler, 24 ve 48 saatlik bir inkübasyon temelinde 37°C'de etüvde (Heraeus VT 6025, Hanau, Almanya) saklandı. İnkübasyonun sonunda plaklar konvansiyonel sistem kullanılarak değerlendirildi. Üreme olan plakların isimlendirme ve antibiyotik duyarlılık çalışmaları VITEK 2 Compact cihazı (Biomérieux, Fransa) ile yapılmıştır.

3.2.3 BOS Örneklerinin Gram Boyama Yöntemi

Laboratuvara gelen BOS örneklerinin kültür ekimi işlemi yapıldıktan sonra Gram boyama için temiz bir lam alındı ve lamın üstüne çok yaymadan BOS örneği damlatılarak örnekler kurumaya bırakıldı. Havada kurutulan örnekler Gram

boyaması için boyama lavabosuna alınarak boyama teline dizildi. Yöntem şu şekilde gerçekleştirildi;

1. Örneklerin üzerine ilk olarak Kristal Viyole boyası döküldü ve bir dakika beklendi.

2. Bekletilen preparatların üzerindeki boyalar dökülüp distile su ile temizlendi.

3. Daha sonra temizlenen lamaların üzerine lugol dökülerek bir dakika beklendi.

4. Bekletilen preparatların üzerindeki boya dökülüp tekrar distile su ile temizlendi.

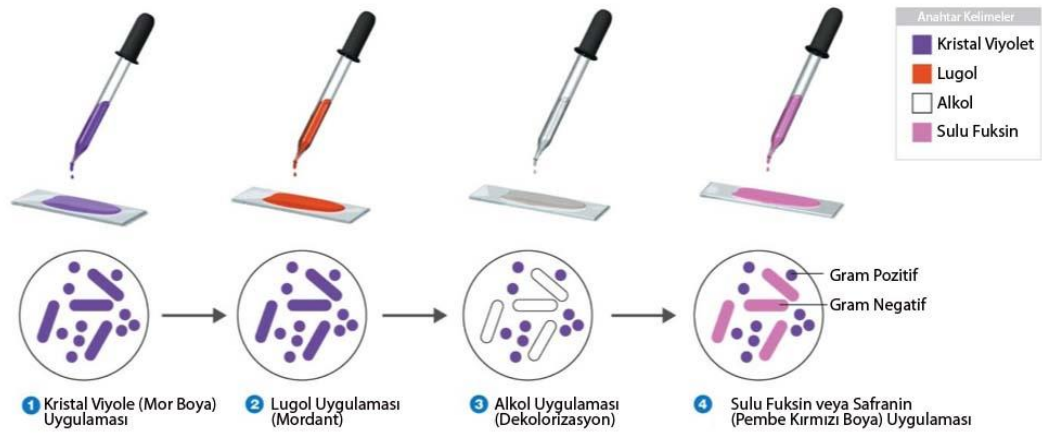
5. Preparatların üzerine %96 oranında etil alkol dökülerek 30 saniye bekletildi ve lamalar su yardımıyla yıkandı.

6. Son olarak preparatların üzerine sulu fuksin döküldü 30 saniye daha bekletildi ve lamalar su ile yıkanarak kurumaya bırakıldı.

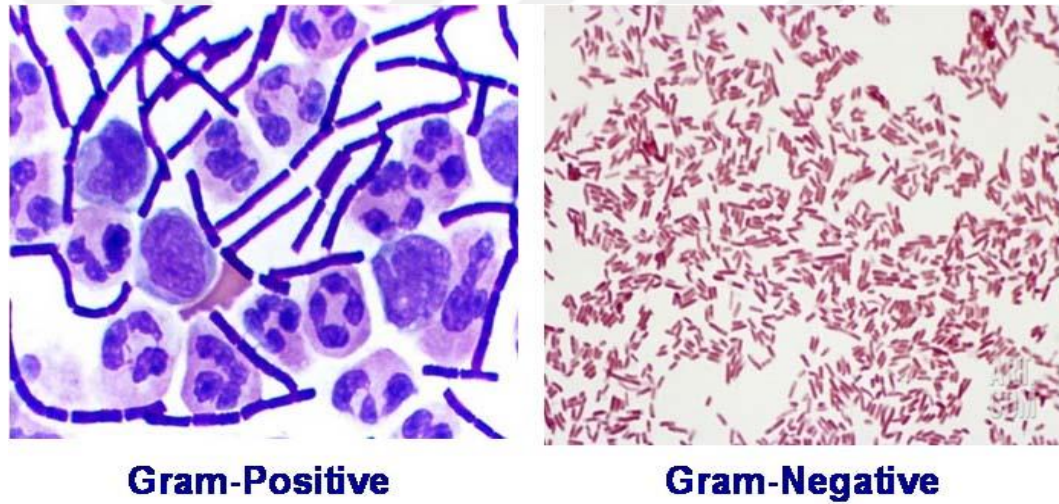
7. Havada kuruyan preparatlar mikroskopta 100'lük immersiyon objektifi ile incelendi.

8. Gram pozitif bakteriler mor renkte ve Gram negatif bakteriler pembe renkte görüldü (76,89,90).

Gram boyama aşamaları Şekil 3.1'de, boyalı preparatların mikroskopta görünümü Şekil 3.2'de gösterildi.



Şekil 3.1. Gram boyama yöntemi aşamaları (91)



Şekil 3.2. Gram boyama yöntemi ile boyanmış PMNL, Gram pozitif ve Gram negatiflerin mikroskopta görünümü (91)

Laboratuvara gelen bütün örneklerle aynı işlem yapıldı.

Gram boyama değerlendirmesinde x100 büyütmede tüm alan tarandı, PMNL ve bakteri açısından ayrıntılı olarak incelendi. Bu hücrelerin varlığı rapor haline getirildi.

3.2.4 BOS PCR Yöntemi

Bu çalışmamızda beyin omurilik sıvısında bakteriyel ve viral menenjit varlığını tespit etmek için Multiplex PCR yöntemini kullandık. Multiplex PCR kısaca özetlenirse; aynı test tüpüne birden fazla prime eklenerek tek reaksiyonla birçok DNA hedefinin çoğalmasını sağlayan bir yöntemdir. Çalışmada, Magnesia

2448 (Anatolia Geneworks, Türkiye) Real-Time PCR cihazı, Anatolia Geneworks Bacterial Meningitis Panel (Türkiye) kiti ve Anatolia Geneworks Viral Meningitis Panel (Türkiye) kitleri kullanıldı.

3.2.5 Kullanılan Araç ve Gereçler

Genel olarak kullanılan araç ve gereçler;

1. Real-Time PCR cihazı (Magesia 2448, Anatolia Geneworks, Türkiye)
2. RNA/DNA İzolasyon cihazı (Magesia 16, Anatolia Geneworks, Türkiye)
3. İnkübasyon cihazı (Dry Bath)
4. Biogüvenlik kabini (ClassIIA2, Mikrotest)
5. Derin dondurucu (Uğur)
6. Buzdolabı (Uğur)
7. Vorteks (CRV-45X, Capp)
8. Mikropipet seti (Capp Denmark, Almanya)
9. 0.2 ml'lik vida kapaklı tüp (Gen Follower, China)
10. Bir buçuk ml'lik vida kapaklı tüp (Gen Follower, China)
11. Etüv (Heraeus VT 6025, Hanau, Almanya)
12. İdentifikasyon Cihazı (VITEC 2 Compact, Biomérieux, Fransa)
13. Besiyerleri (RTA, Türkiye)
14. Öze (Beyan Lab)

Bakteriyel menenjit için gerekli kit bileşenleri;

- ❖ **PCR Master Mix:** Hot-start özellikli Taq DNA Polimeraz, PCR Tamponu, dNTP, *H. Influenzae*, *N. Meningitidis*, *S. Pneumoniae* genlerinin tümüne ve internal kontrole özgü forward ve reverse sentezlenmiş tek dizilimli nükleotitleri içerir.
- ❖ **Pozitif Kontrol:** *H. influenzae*, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* DNA'larını içerir.
- ❖ **İnternal Kontrol:** Nükleik Asit İzolasyonunu ve PCR inhibisyonunu kontrol etmek amacıyla kullanılır. Sentetik bir DNA molekülüdür. DNA izolasyonu sırasında örnek ve Proteinaz K karışımına eklenir.

Bakteriyel menenjit için kullanılan kit içerikleri Tablo 3.1'de özetlendi.

Tablo 3.1. Anatolia Geneworks Bacterial Meningitis Panel (Türkiye) kit içeriği

Bileşen	İçerik	100 Reaksiyon	50 Reaksiyon	25 Reaksiyon
1	dH ₂ O	1000 µl	1000 µl	500 µl
2	PCR Master Mix	1650 µl	825 µl	413 µl
3	İnternal Kontrol	550 µl	275 µl	138 µl
4	Pozitif Kontrol	88 µl	44 µl	22 µl

*µl=Mikrolitre

Viral menenjit için gerekli kit bileşenleri;

- ❖ **PCR Master Mix 1:** Hot-start özellikli Taq DNA Polimeraz, Real-Time PCR Tamponu HSV-1, HSV-2 ve VZV virüs genlerinin tümüne özgü forward ve reverse sentezlenmiş kısa ve tek iplikli nükleotitleri içerir.
- ❖ **PCR Master Mix 2:** Hot-start özelliğinde Taq Polimeraz, Real-Time PCR Tamponu, *Enterovirüs* ve *Parechovirüs* genlerinin tümüne özgü forward ve reverse sentezlenmiş kısa ve tek iplikli nükleotitleri içerir.
- ❖ **Pozitif Kontrol 1:** HSV-1, HSV-2 ve VZV DNA'larını içerir.
- ❖ **Pozitif Kontrol 2:** *Enterovirüs* ve *Parechovirüs* RNA'larını içerir.
- ❖ **İnternal Kontrol:** Nükleik Asit İzolasyonunu ve PCR inhibisyonunu kontrol etmek amacıyla kullanılır. Sentetik bir DNA molekülüdür. DNA izolasyonu sırasında örnek ve Proteinaz K karışımına eklenir.

Viral menenjit için kullanılan kit içerikleri Tablo 3.2'te özetlendi.

Tablo 3.2. Anatolia Geneworks Viral Meningitis Panel (Türkiye) kit içeriği

Bileşen	İçerik	100 Reaksiyon	50 Reaksiyon	25 Reaksiyon
1	dH ₂ O	1000 µl	1000 µl	500 µl
2	PCR Master Mix 1	1650 µl	825 µl	413 µl
3	PCR Master Mix 2	1650 µl	825 µl	413 µl
4	İnternal Kontrol	550 µl	275 µl	138 µl
5	Pozitif Kontrol 1	88 µl	44 µl	22 µl
6	Pozitif Kontrol 2	88 µl	44 µl	22 µl

* µl = Mikrolitre

3.2.6 Multiplex PCR Yöntemi ile Bakteriyel Menenjit Çalışma Yöntemi

Bakteriyel menenjit için şu aşamalar gerçekleştirildi;

1. Laboratuvara gelen, -20°C’de muhafaza edilen BOS örnekleri bakteriyel menenjit çalışılması için kabine alınarak, ortam ısısında çözünene kadar bekletildi.
2. Bir buçuk mililitrelik eppendorfların kapaklarına ayrı ayrı her hastaya ait numara yazıldı.
3. Eppendorf tüpleri tek tek açıldı ve tüplerin içine 110 µl Lizozim ve 110 µl BOS örneği eklendi ve kısaca vortekslendi.
4. Vortekslenen eppendorflar inkübasyon işlemi için Dry Bath inkübatör cihazına konularak 37°C’de 30 dakika bekletildi.
5. İnkübatör cihazından alınan eppendorflar DNA izalasyon işlemi için tekrar kabin içine alındı.
6. Başka bir eppendorfun içine 40 µl Proteinaz K, beş mikrolitre İnternal kontrol eklendi.
7. İzalasyon işlemi için her hastaya sample cup kullanıldı.
8. Eppendorfta hazırlanan solüsyondan sample cupa 45 µl ve 200 µl inkübasyon işleminden elde edilen BOS örneği konuldu.
9. Kısaca vortekslendi ve DNA izolasyonu için Magnesia16 (Anatolia Geneworks, Türkiye) Nükleik Asit İzolasyon cihazına yüklenerek prosedüre uygun program başlatıldı.
10. İzolasyon işlemi sonunda sample cup içinde 60 µl DNA elde edildi.
11. 0.2 ml’lik PCR tüplerine Anatolia Geneworks Bosphore Bacterial Meningitis Panel kiti ile hazırlanan PCR miksinden 15 µl, izolasyon sonucu elde edilen DNA’lardan 10 µl bırakıldı.
12. DNA ve miksten oluşan tüplerin kapağı kapatıldı.
13. Hava kabarcığı kalmaması için kısaca santrifüj edildi.

14. Tüpler Magnesia 2448 (Anatolia Geneworks, Türkiye) Real-Time PCR cihazına yüklenerek Anatolia Geneworks Bosphore Bacterial Meningitis protokolünde program başlatıldı.

Anatolia Geneworks Bosphore Bacterial Meningitis Panel kit termal prosedürü, Taq Polimerazın aktivasyonu için bir ilk denatürasyon, iki aşamalı amplikasyon döngüleri ve son bir inkübasyondan oluşur. Elde edilen veriler amplikasyon döngüsünün ikinci aşamasında toplanır.

Aşamalar Tablo 3.3’de özetlendi.

Tablo 3.3. Bakteriyel menenjit için Real-Time PCR cihaz aşamaları

Aşama	Sıcaklık	Zaman	Döngü
İlk Denatürasyon	95	14:30 dk	1 Döngü
Denatürasyon	97	00:30 dk	50 Döngü
Bağlanma ve sentez (Floresans veri alma)	53	01:30 dk	
İnkübasyon	32	01:00 dk	1 Döngü

3.2.7 Multiplex PCR Yöntemi ile Viral Menenjit Çalışma Yöntemi

Viral menenjit için şu aşamalar gerçekleştirildi;

1. Viral menenjit için BOS örnekleri DNA izolasyon işlemine hazırlanması için kabine alındı.
2. Hasta için hazırlanan eppendorfun içine 10 µl Carrier RNA, 20 µl Proteinaz K ve beş mikrolitre İnternal Kontrol eklendi ve kısaca vortekslendi.
3. Vortekslenen sıvıdan izolasyon işlemi için hazırlanan sample cupa 35 µl, 200 µl BOS örneği ile eklendi.
4. Karışması için tekrar vortekslendi. DNA izolasyonu için Magnesia16 (Anatolia Geneworks, Türkiye) DNA izolasyon cihazına yüklenerek prosedüre uygun program başlatıldı.
5. İzolasyon işlemi sonunda sample cup içinde 60 µl DNA elde edildi.
6. İki ayrı 0.2 ml’lik PCR tüpü hazırlandı.

7. Tüplere Anatolia Geneworks Bosphore Viral Meningitis Mix-1 ve Mix-2'den ayrı ayrı 15 µl bırakıldı.

8. İzolasyon sonucu elde edilen DNA'lardan 10'ar µl bırakıldı ve kapakları kapatılarak hava kabarcığı kalmaması için kısaca santrifüj edildi.

9. Tüpler Magnesia 2448 (Anatolia Geneworks, Türkiye) Real-Time PCR cihazına yüklenerek Anatolia Geneworks Bosphore Viral Meningitis protokolünde program başlatıldı.

Anatolia Geneworks Bosphore Viral Meningitis Panel Kit Taq DNA Polimerazın aktivasyonu için bir inkübasyon, ilk denatürasyon, iki aşamalı amplikasyon döngüleri ve son bir inkübasyondan oluşur. Veriler, amplikasyon döngüsünün ikinci aşamasında toplanır.

Aşamalar Tablo 3.4'de özetlendi.

Tablo 3.4. Viral menenjit için Real-Time PCR cihaz aşamaları

Aşamalar	Derece	Zaman	Döngü
İnkübasyon	50	30:00 dk	1 Döngü
İlk denatürasyon	95	14:30 dk	1 Döngü
Denatürasyon	97	00:30 dk	50 Döngü
Bağlanma ve sentez (Floresans Veri Alma)	58	01:30 dk	
İnkübasyon	32	01:00 dk	1 Döngü

3.2.8 Verilerin Değerlendirilmesi

Bakteriyel ve viral menenjit İnternal Kontrol verileri Tablo 3.5 ve 3.6'dan yararlanılarak değerlendirildi.

Tablo 3.5. Bakteriyel menenjit İnternal Kontrol verileri değerlendirme tablosu

H. İnfluenzae (FAM)	N. Menengitidis (HEX)	S. Pneumoniae (Texas RED)	İnternal Kontrol (Cy5)	Anlamı
+	-	-	+/-	Örnek <i>H. influenza</i> pozitif
-	+	-	+/-	Örnek <i>N. menengitidis</i> pozitif
-	-	+	+/-	Örnek <i>S. pneumoniae</i> pozitif
-	-	-	+	Örnek negatif
+	+	-	+/-	Örnek <i>H. influenzae N. menengitidis</i> pozitif
-	+	+	+/-	Örnek <i>N. menengitidis S. pneumoniae</i> pozitif
+	-	+	+/-	Örnek <i>H. influenzae S. pneumoniae</i> pozitif
+	+	+	+/-	Örnek <i>H. influenzae N. menengitidis S. pneumoniae</i> pozitif
-	-	-	-	Test tekrarlanmalı!

Tablo 3.6. Viral menenejit İnternal Kontrol verileri değerlendirme tablosu

1.tüp	HSV-1 (FAM)	HSV-2 (Cy5)	VZV (HEX)	İnternal Kontrol (Texas RED)	Anlamı
	+	-	-	+/-	Örnek HSV-1 pozitif
	-	+	-	+/-	Örnek HSV-2 pozitif
	-	-	+	+/-	Örnek VZV pozitif
	+	+	-	+/-	Örnek HSV-1 ve HSV-2 pozitif
	+	-	+	+/-	Örnek HSV-1 ve VZV pozitif
	-	+	+	+/-	Örnek HSV-2 ve VZV pozitif
	+	+	+	+/-	Örnek HSV-1, HSV-2 ve VZV pozitif
	-	-	-	+	Örnek negatif
	-	-	-	-	Test tekrarlanmalı !
	Enterovirüs (FAM)	Parechovirüs (HEX)	İnternal Kontrol (Texas RED)		Anlamı
2.tüp	+	-	+/-		Örnek <i>Enterovirüs</i> pozitif
	-	+	+/-		Örnek <i>Parechovirüs</i> pozitif
	+	+	+/-		Örnek <i>Enterovirüs</i> ve <i>Parechovirüs</i> pozitif
	-	-	+		Örnek negatif
	-	-	-		Test tekrarlanmalı!

90 BOS örneğinin tamamına yukarıdaki işlemler uygulandı.

4. BULGULAR

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında Kasım 2020-Aralık 2021 yılları arasında santral sinir sistemi enfeksiyonu ön tanılı 90 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan hastaların 38'i (%42,2) kadın ve 52'si (%57,8) erkekti. 90 hastanın yaşları 0-86 arasında olarak bulundu. Hastaların yaş ortalaması $35,4 \pm 28,4$ olarak tespit edildi.

Gram boyaması yapılan 90 BOS örneğinin 11'inde (%12,2) baskın hücre tipi Polimorfonükleer Lökosit (PMNL) olarak bulundu. Geriye kalan 79 örnekte (%87,8) PMNL gözlenmedi. PMNL varlığı/yokluğu ve PMNL değerlendirilmesi Tablo 4.1'te özetlendi.

Tablo 4.1. PMNL Değerlendirilmesi

	Vaka Grubu N Sayı
PMNL varlığı	11
PMNL yokluğu	79

Mikroorganizmaya rastlanan örneklerin beşinde bol miktarda PMNL, dördünde orta miktarda PMNL, birinde her alanda 3-4 adet PMNL ve kalan birinde her alanda 1-2 adet PMNL gözlemlendi. Gram boyamada mikroorganizma/PMNL değerlendirilmesi Tablo 4.2'de özetlendi.

Tablo 4.2. Gram boyamada mikroorganizma/PMNL değerlendirilmesi

	PMNL			
	Her alanda bol PMNL	Her alanda orta PMNL	Her alanda 3-4 PMNL	Her alanda 1-2 PMNL
Mikroorganizma varlığı	5	4	1	1

Çalışmaya dahil edilen 90 BOS örneğinin 82'sinin (%91,2) görünümü berrak, dördünün görünümü (%4,4) hafif bulanık, kalan dördünün görünümü (%4,4) ise bulanık idi.

Hücre sayımı yapılan 90 BOS örneğinin 79'unda hücre sayımı 0-100/mm³, dokuzunda hücre sayımı 101-500/mm³, birinde hücre sayımı 501-1000/mm³ ve

kalan birinde hücre sayımı $>1000/\text{mm}^3$ olarak bulundu. BOS bulguları, görünüm, Gram boyamada görülen mikroorganizma varlığı/yokluğu, mm^3 'te bulunan hücre sayımı ve PMNL varlığı/yokluğu açısından kısaca Tablo 4.3'te gösterildi.

Tablo 4.3. Çalışmaya alınan hasta örneklerinin BOS bulguları

BOS Bulguları	Vaka grubu N (Sayı)	Vaka Grubu N (%)
Görünüm		
Berrak	82	%91,2
Hafif Bulanık	4	%4,4
Bulanık	4	%4,4
Gram boyamada m.o varlığı	9	%10
Gram boyamada m.o yokluğu	81	%90
Hücre sayısı/mm^3		
0-100	79	%87,8
101-500	9	%10
501-1000	1	%1,1
>1001	1	%1,1
Hakim hücre tipi		
PMNL varlığı	11	%12,2
PMNL yokluğu	79	%87,8

*M.O: Mikroorganizma

Bu çalışmada çalışmaya alınan 90 BOS örneğinin kültürlerinden 10 (%11,5) örnekte üreme saptandı ve kalan 80 (%88,9) BOS örneğinde üreme saptanmadı. Üremesi olan hastaların kültürlerinin birinde *Acinetobacter baumannii*, birinde *Nocardia spp*, üçünde *Metisiline Duyarlı Koagulaz Negatif Stafilococ* (MSKNS), üçünde *Metisiline Dirençli Koagulaz Negatif Stafilococ* (MRKNS) ve kalan ikisinde *Metisiline Dirençli Stafilococcus Aureus* (MRSA) üredi.

Çalışmamıza alınan 90 BOS örneğin yedi (%6,3) örnekte PCR pozitifliği saptanırken kalan 83 (%93,7) BOS örneğinde PCR negatif olarak saptandı. PCR pozitifliği olan yedi örnekte üç adet (%3,3) *S. pneumoniae* DNA'sı, üç adet (%3,3) HSV-1 DNA'sı ve bir adet (%1,1) VZV DNA'sı saptandı. Ayrıca PCR pozitif sonucu HSV-1 DNA'sı saptanan bir hastanın aynı zamanda kültür sonucunda MRKNS saptandı. Kültür ve PCR'ın negatif ve pozitif sonuçları Tablo 4.4'te gösterildi.

Tablo 4.4. Kültür ve PCR sonuçları

	Vaka grubu sayı	Vaka grubu %
Kültür Sonuç		
Üreme Var	10	%11,1
Üreme Yok	80	%88,9
PCR Sonuç		
Nükleik asit Saptandı	7	%6,3
Nükleik asit Saptanmadı	83	%93,7
Bakteriyel Menenjit		
<i>S. pneumoniae</i>	3	%3,3
<i>N. meningitidis</i>	0	0
<i>H. influenzae</i>	0	0
Viral Menenjit		
HSV-1	3	%3,3
VZV	1	%1,1
HSV-2	0	0
EV	0	0
<i>Parechovirüs</i>	0	0

BOS kültür üremesi olan 10 hastanın altısının beyaz hücre sayısında artış gözlemlendi. Hücre sayısı artışı olan altı hastanın beşinde 101-500/mm³ arasında belirlendi. Kalan bir hastada >1000/mm³ olarak belirlendi. BOS kültür üremesi olan 10 hastanın dördünün beyaz hücre sayısı 0-100/mm³ arası olarak belirlendi. Yedi

BOS PCR pozitif hastaya ait BOS örneğinin birinde hücre sayısı 501-1000/mm³ olarak belirlendi. İstatiksel olarak, yüksek oranda BOS hücre sayımı, kültür pozitifliği üzerinde önemli bir etkiye sahipti (p<0,001). BOS hücre sayımını BOS kültürü ve PCR pozitifliği bakımından karşılaştırılması Tablo 4.5’de gösterildi.

Tablo 4.5. BOS hücre sayımının BOS kültürü ve PCR pozitifliği üzerindeki etkileri

	Pozitif sayısı	Hücre sayımı				P ^a
		0-100/mm ³	101-500/mm ³	501-1000/mm ³	>1000/mm ³	
KÜLTÜR	10	4	5		1	<0,001
PCR	7	6		1		<0,001

Gram boyaması yapılan 90 BOS örneğinin dokuzunda (%10) mikroorganizma gözlemlendi. Kültür üremesi olan 10 örneğin dokuzunda Gram boyamada mikroorganizma gözlenirken kalan bir örnekte Gram boyamada mikroorganizma gözlenmedi. Bu nedenle, Gram boyamada mikroorganizmaların varlığı ile kültür ortamının pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki kuruldu (p<0,001). PCR pozitif yedi hastanın yedisinde Gram boyamada mikroorganizma gözlenmedi. Gram boyamada mikroorganizma varlığı ile PCR pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki kurulamadı (p=1,000). Gram boyamada mikroorganizmaların BOS kültür ve PCR pozitifliği üzerindeki etkileri Tablo 4.6 ve 4.7’de gösterildi.

Tablo 4.6. Gram boyamada mikroorganizmaların BOS kültür pozitifliği üzerindeki etkileri

	MO YOK (n=81)	MO VAR (n=9)	P ^a
Kültür Sonuç			<0,001
Üreme Yok	80 (%98,8)	0 (%0,0)	
Üreme Var	1 (%1,2)	9 (%100,0)	

*MO: Mikroorganizma

Tablo 4.7. Gram boyamada mikroorganizmaların BOS PCR pozitifliği üzerindeki etkileri

	MO YOK (n=81)	MO VAR (n=9)	P ^a
Bakteriyel Menenjit			1,000
<i>S.pneumoniae</i>	3 (%3,7)	0 (%0,0)	
Viral Menenjit			1,000
VZV	1 (%1,2)	0 (%0,0)	
HSV-1	3 (%3,7)	0 (%0,0)	

Gram boyaması yapılan 90 BOS örneğinin 11'inde (%12,2) PMNL varlığı gözlemlendi. BOS kültüründe üreme olan 10 örneğin dokuzunda PMNL varlığı gözlenirken kalan bir örnekte PMNL varlığı gözlenmedi. Bu nedenle, Gram boyamada PMNL varlığı ile kültür ortamının pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki kuruldu ($p<0,001$). PCR pozitif yedi örneğin ikisinde Gram boyamada PMNL varlığı gözlenirken kalan beş örnekte Gram boyamada PMNL varlığı gözlenmedi. Bu nedenle Gram boyamada PMNL varlığı ile PCR pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki kurulamadı ($p=1,000$). Gram boyamada PMNL varlığının BOS kültür ve PCR pozitifliği üzerindeki etkileri Tablo 4.8 ve 4.9'da özetlendi.

Tablo 4.8. Gram boyamada PMNL varlığının BOS kültür pozitifliği üzerindeki etkileri

	PMNL YOK (n=79)	PMNL VAR (n=11)	P ^a
Kültür Sonuç			<0,001
Üreme Yok	78 (%98,7)	2 (%18,2)	
Üreme Var	1 (%1,3)	9 (%81,8)	

Tablo 4.9. Gram boyamada PMNL varlığının BOS PCR pozitifliği üzerindeki etkileri

	PMNL YOK (n=79)	PMNL VAR (n=11)	P ^a
Bakteriyel Menenjit			1,000
<i>S.pneumoniae</i>	3 (%3,8)	0 (%0,0)	
Viral Menenjit			0,072
VZV	0 (%0,0)	1 (%9,1)	
HSV-1	2 (%2,5)	1 (%9,1)	

Gram boyamada PMNL varlığı değerlendirilen 11 hastanın BOS görünümüleri değerlendirildi. Değerlendirilen 11 hastanın beşi berrak görünümde, üçü bulanık görünümde ve kalan üçü de hafif bulanık görünümde idi. Bu nedenle, Gram boyamada PMNL varlığı ile BOS görünümü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki kuruldu ($p<0,001$). Gram boyamada PMNL varlığı ile BOS görünümü arasındaki istatistiksel ilişki Tablo 4.10’da özetlendi.

Tablo 4.10. Gram boyamada PMNL varlığı ile BOS görünümü arasındaki istatistiksel ilişki

	PMNL YOK (n=79)	PMNL VAR (n=11)	P ^a
Görünüş			<0,001
Berrak	77 (%97,5)	5 (%45,5)	
Bulanık	1 (%1,3)	3 (%27,3)	
Hafif Bulanık	1 (%1,3)	3 (%27,3)	

Çalışmamızdaki hastaların her biri numaralandırılarak bilgisayar ortamında Excel programına kaydedildi. Kültür ve PCR pozitif sonuç saptanan numaralandırılmış hastalar Tablo 4.11’de özetlendi.

Tablo 4.11. Hastalarımızın genel verileri

Hasta no	Kültür sonuç	Bakteriyel Menenjit Sonuç	Viral Menenjit Sonuç	Görünüm	Hücre Sayısı	M.O varlığı	PMNL varlığı
1	-	S.Pneumoniae	-	Berrak	501-1000 (960)	-	-
2	-	S.Pneumoniae	-	Berrak	0-100 (0)	-	-
3	-	S.Pneumoniae	-	Berrak	0-100 (0)	-	-
4	-	-	HSV-1	Berrak	0-100 (0)	-	-
5	MRKNS	-	HSV-1	Berrak	0-100 (0)	-	-
6	-	-	HSV-1	Berrak	0-100 (30)	-	(+)
7	-	-	VZV	Bulanık	0-100 (40)	-	(+)
8	Acinetobacter baumannii	-	-	Hafif Bulanık	101-500 (480)	(+)	(+)
9	Nocardia spp	-	-	Bulanık	>1000 (3200)	-	(+)
10	MSKNS (Stafilacoccus Epidermidis)	-	-	Berrak	0-100 (20)	(+)	(+)
11	MSKNS (Stafilacoccus Epidermidis)	-	-	Hafif Bulanık	101-500 (280)	(+)	(+)
12	MSKNS	-	-	Berrak	101-500 (300)	(+)	(+)
13	MRKNS (Stafilacoccus Hemoliticus)	-	-	Berrak	0-100 (0)	(+)	(+)
14	MRKNS	-	-	Berrak	101-500 (490)	(+)	(+)
15	MRSA	-	-	Hafif Bulanık	0-100 (0)	(+)	(+)
16	MRSA	-	-	Hafif Bulanık	101-500 (220)	(+)	(+)

Tablo 4.10'a bakıldığında bir, iki ve üç numaralı hastaların Multiplex PCR yöntemiyle yapılan bakteriyel ve viral menenjit etkenlerinin tespiti sonucunda

S.pneumoniae DNA'sı saptandı. Her üç hastanın da BOS görünümüleri berrak; kültür sonuçları negatif; Gram boyamada mikroorganizma ve PMNL varlığı tespit edilemedi. Bir numaralı hastanın hücre sayımı sonucu 501-1000/mm³ bulunurken, iki ve üç numaralı hastaların hücre sayımı sonucu 0-100/mm³ arasında bulundu.

Dört, beş ve altı numaralı hastaların Multiplex PCR yöntemiyle yapılan bakteriyel ve viral menenjit etkenlerinin tespiti sonucunda HSV-1 DNA'sı saptandı. Üç hastanın BOS görünümüleri berrak, hücre sayısı sonuçları 0-100/mm³ olarak bulundu. Altı numaralı hastada Gram boyamada PMNL varlığı tespit edildi. Dört ve altı numaralı hastaların kültür sonucu negatif iken, beş numaralı hastanın kültüründe MRKNS üredi.

Yedi numaralı hastanın Multiplex PCR yöntemiyle yapılan bakteriyel ve viral menenjit etkenlerinin tespiti sonucunda VZV DNA'sı saptandı. Hastanın BOS görünümü bulanık; kültür sonucu negatif; Gram boyamada PMNL varlığı tespit edildi. Hastanın hücre sayımı sonucu 0-100/mm³ arasında bulundu.

8,9,10,11,12,13,14,15,16 numaralı hastaların sadece bakteriyel kültür sonucunda etken mikroorganizma tespit edilirken, PCR yöntemi ile herhangi bir mikroorganizma tespit edilmedi. Hastaların BOS görünümü sırasıyla; hafif bulanık, bulanık, berrak, hafif bulanık, berrak, berrak, berrak, hafif bulanık, hafif bulanık şeklindeydi. Hücre sayısı sonucu sırasıyla; 101-500 /mm³, >1000/mm³, 0-100/mm³, 101-500/mm³, 101-500/mm³, 0-100/mm³, 101-500/mm³, 0-100/mm³, 101-500/mm³ arasında bulundu. Dokuz numaralı hasta hariç diğerlerinde Gram boyamada mikroorganizma varlığı tespit edildi. Bütün hastalarda Gram boyamada PMNL varlığı tespit edildi. Hastaların kültür sonuçları sırasıyla; *Acinetobacter baumannii*, *Nocardia spp*, *Stafilacoccus Epidermidis* (MSKNS), *Stafilacoccus Epidermidis* (MSKNS), MSKNS, *Stafilacoccus Hemoliticus* (MRKNS), MRKNS, MRSA ve MRSA olarak tespit edildi.

5. TARTIŞMA

Menenjitler; santral sinir sisteminin çeşitli bakteriyel ve viral etkenlerle oluşan merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarıdır (76).

Tanı ve tedavideki en ufak gecikmeler, tedavideki başarısızlıklar, sekel ve mortalitenin artmasına yol açmaktadır (90). Bu nedenle hastalığın tanısının en kısa sürede ve hızlı bir şekilde ortaya konulması ve erken tedaviye başlanması ortaya çıkacak sorunları önlemede yardımcı olmaktadır (89).

Menenjite çok çeşitli bakteriyel ve viral etkenler neden olabilir. Bu çeşitliliği etkileyen en önemli faktörlerden birisi de hastanın yaşıdır. Yetişkinlerde görülen bakteriyel menenjitten %80-85 oranından *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* ve *H. influenzae* bakterileri sorumlu tutulurken, viral menenjit olgularının çoğundan *Enterovirüs* sorumlu tutulmuştur (7). Bir aydan büyük çocuklarda görülen en sık bakteriyel menenjit etkenleri; *S.pneumoniae* ve *N. meningitidis* iken yenidoğan döneminde *L. monocytogenes*, *Escherichia coli* (*E.coli*) ve Grup B Streptokok'tur (92,93). Yenidoğan ve çocukluk çağında en sık görülen viral menenjit etkeni *Enterovirüs*lerdir (94,95).

Belli yaş ve bazı durumlarda etkenlerin görülme sıklığı ve çeşidi değişmektedir (7). Kafa travmasına bağlı BOS kaçağı varlığı, orak hücreli anemi, diabetes mellitus, nefrotik sendrom gibi durumlarda *S.pneumoniae* daha çok etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Dalağın alınmış olması, kalabalık yaşam koşullarında ise olası etken *N.meningitidis* olarak görülür. İmmün yetmezlik durumlarında *L.monocytogenes* etken olarak görülebilir. Orak hücreli anemi, dalağın alınmış olması, hastada HIV varlığında daha çok *H.influenzae* etken olarak görülür (92).

Çalışmamıza dahil edilen 90 BOS örneğinin 52'si (%57,8) erkek, 38'i (%42,2) kadın olarak bulunmuştur. Çalışmamızda yaş ortalaması $35,4 \pm 28,4$ olarak saptanmıştır. Abuhandan ve arkadaşları, 2010-2011 tarihleri arasında menenjitli 92 çocuk olguyu incelediklerinde bunların 50'sinin (%54,3) erkek, 42'sinin (%45,7) kadın ve yaş ortalamasının $4,2 \pm 4,1$ olduğunu bildirmişlerdir (96). Yamazhan ve arkadaşları, 1995-2003 yılları arasında akut pürülan menenjit tanısı ile hastaneye başvuran 94 olguyu incelediklerinde 67'sinin (%71,3) erkek, 47'sinin (%28,7) kadın olduğunu ve bu hastaların yaş ortalamasının 38,12 olduğunu bildirmişlerdir

(24). Taşkesen ve arkadaşları, 2006-2007 yılları arasında MSS enfeksiyonu tanısı konmuş 73 hastanın 51'sinin (%69,8) erkek, 22'sinin (%30,2) kadın olduğunu ve yaş ortalamasının $4,7 \pm 3,7$ olduğunu bildirmişlerdir (97). Çelik ve arkadaşları, 1995-2002 yılları arasında menenjit tanısı almış 121 hastayı incelediklerinde bunların 73'ünün (%60,3) erkek, 48'inin (%39,7) kadın olduğunu ve yaş ortalamasının $36,6 \pm 18,5$ olduğunu bildirmişlerdir (98). Pişkin ve arkadaşları, 1998-2004 yılları arasında SSS enfeksiyonlu 244 hastayı incelediklerinde bunların 133'ünün (%54,5) erkek, 111'inin (%45,5) kadın olduğunu ve yaş ortalamasının 41,1 olduğunu bildirmişlerdir (99). Altunay ve arkadaşları, 1990-1993 yılları arasında menenjit tanısı alarak hastaneye yatan 32 hastanın 30'unun (%96) erkek, ikisinin (%4) kadın olduğunu ve yaş ortalamasının 21,5 olduğunu bildirmişlerdir (100). Arslan M'nin 2011-2013 yıllarında Mersin'de yaptığı çalışmada bakteriyel menenjit şüpheli 137 hastanın 87'sinin (%63,5) erkek, 50'sinin (%36,5) kadın olduğunu ve yaş ortalamasının $38,6 \pm 16,7$ olduğunu bildirmiştir (101).

Yurtdışında yapılan benzer çalışmalara baktığımızda Kore'de Cho ve arkadaşları, 1996-2005 yılları arasında incelediği 400 hastanın 231'inin (%57,5) erkek, 169'unun (%42,5) kadın olduğunu ve yaş ortalamasının 0-18 olduğunu bildirmişlerdir (102). Brezilya'da Silva ve arkadaşları 2005-2008 yılları arasında 168 hastanın 107'sinin (%63,7) erkek, 60'ının (%35,7) kadın olduğunu kalan 1 hastanın kayıt dışı olduğunu ve 168 hastanın yaş ortalamasının $22,48 \pm 18,7$ olduğunu bildirmişlerdir (103). Amerika'da Thigpen ve arkadaşları, 1998-2007 yılları arasında 3188 olguyu incelediklerinde bunların 1623'ünün (%50,9) erkek, 1565'inin (%49,1) kadın olduğunu bildirmişlerdir (104). Yemen'de Abdulrab ve arkadaşları 2006-2007 yılları arasında inceledikleri 112 olgunun 67'sinin (%59,5) erkek, 45'inin (%40,5) kadın olarak bildirmişlerdir (105). Bangladeş'te Gurley ve arkadaşları, 2003-2005 yılları arasında bakteriyel menenjit şüpheli 189 hastanın 136'sının (%72) erkek, 53'ünün (%28) kadın olduğunu ve yaş ortalamasının 19,5 olduğunu bildirmişlerdir (106). Hindistan'da Mani ve arkadaşları, 1996-2005 yılları arasında inceledikleri 385 hastanın 288'inin (%76,1) erkek, 97'sinin (%23,9) kadın olduğunu bildirmişlerdir (107). Tüm dünyada yapılan çalışmalarda hastalığa yakalanma oranının kadınlara göre erkeklerde daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. Benzer çalışmaların çoğunda erkek hasta sayısı kadın hasta sayısına oranla daha fazla bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da erkek hasta sayısı kadın hasta sayısından

daha fazla bulunmuştur. Örnek verilen çalışmalar ayrıca Tablo 5.1’de gösterilmiştir.

Tablo 5.1. Türkiye’de ve yurt dışında yapılan çalışmalarda kadın-erkek oranı ve yaş ortalaması

KAYNAK	YIL	OLGU SAYISI	KADIN ERKEK SAYISI	KADIN ERKEK ORANI	YAŞ ORTALAMASI
Altunay ve ark. (100)	1990-1993	32	30 E 2 K	%96 E %4 K	21,5
Çelik ve ark. (98)	1995-2002	121	73 E 48 K	%60,3 E %39,7 K	36,6±18,5
Yamazhan ve ark. (24)	1995-2003	94	67 E 42 K	%71,3 E %28,7 K	38,12
Pişkin ve ark. (99)	1998-2004	244	133 E 111 K	%54,5 E %45,5 K	41,1
Mani ve ark. (107)	1996-2005	385	288 E 97 K	%76,1 E %23,9 K	VY
Cho ve ark. (102)	1996-2005	400	231 E 169 K	%57,5 E %42,5 K	0-18
Gurley ve ark. (106)	2003-2005	189	136 E 53 K	%72 E %28 K	VY
Thigpen ve ark. (104)	1998-2007	3188	1623 E 1565 K	%50,9 E %49,1 K	VY
Taşkesen ve ark. (97)	2006-2007	73	51 E 22 K	%69,8 E %30,2 K	4,7±3,7
Abdulrab ve ark. (105)	2006-2007	112	67 E 45 K	%59,5 E %49,5 K	VY
Silva ve ark. (103)	2005-2008	168	107 E 60 K (1 KAYIT DIŞI)	%63,7 E %35,7 K	22,48 ± 18,7
Abuhandan ve ark. (96)	2010-2011	92	50 E 42 K	%54,3 E %45,7 K	4,2±4,1
Arslan M. (101)	2011-2013	137	87 E 50 K	%63,5 E %36,5 K	38,6±16,7

*VY: Veri Yok

Tablo 5.1’de de görüldüğü gibi Türkiye’de ve diğer ülkelerde yapılan çalışmalara bakıldığında yaş aralıkları çok değişkendir. Bunun sebebi olarak değerlendirmeye alınan hasta gruplarının farklı yaş aralıklarında (yetişkin grup, çocuk grubu) olması düşünülebilir. Bizim çalışmamızda da (35,4±28,4) hem çocuk yaş grubu hem de yetişkin yaş grubundaki hastaların değerlendirmeye alınmasından dolayı çalışmamızın yaş ortalamasının geniş aralıkta olduğu görülmüştür.

Hastaların hastaneye başvuru sırasındaki semptom ve bulgular arasında genel olarak bulantı, kusma, baş ağrısı, ense sertliği, ateş ve bilinç bozukluğu vardır (7). Hastalarımızın hastaneye başvuru sırasındaki semptom ve bulgulara bakıldığında genel olarak klasik triad olan ateş, ense sertliği ve bilinç bozukluğu gözlemlenmiştir. Türkiyede yapılan çalışmalarda Köse ve arkadaşları (108) inceledikleri 45 olguda klasik triad oranını %65,9, Altunay ve arkadaşları (100) inceledikleri 32 hastada bu oranı %63,6 oranında bulduklarını belirtmişlerdir. Yabancı kaynaklar incelendiğinde; Attia ve arkadaşları (6), 139 olguyu inceledikleri bir çalışmalarında klasik triad oranını %99, Van de Beek ve arkadaşları (109) 301 olguyu inceledikleri bir çalışmada bu oranı %44, Weisfelt ve arkadaşları (110) 352 olguyu inceledikleri çalışmalarında bu oranı %59, Hussein ve arkadaşları (111) 100 olguyu inceledikleri bir çalışmalarında bu oranı %66 olarak bulduklarını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda hasta kayıtlarındaki yetersizlikten dolayı kesin bir oran verilememiştir.

Normal beyin omurilik sıvısı steril ve berraktır. BOS'un bulanık görülmesinin ana nedeni, 200'den fazla beyaz kan hücresi, mililitrede 400'den fazla kırmızı kan hücresi veya mikroorganizma ve/veya BOS'ta yüksek miktarda protein bulunmasıdır. Normal BOS'ta PMNL görülmez. Bakteriyel menenjit vakalarının %90'ında PMNL baskınlığı vardır (76).

Çalışmamıza dâhil olan 90 BOS örneğinin 82'si (%91,2) berrak, dördü (%4,4) hafif bulanık, dördü (%4,4) bulanık görünümde idi. Türkiye’de yapılan diğer çalışmalar BOS görünümü açısından değerlendirildiğinde; Sünbül ve arkadaşları (112) inceledikleri 130 olgunun %19'unu berrak, %14'ünü hafif bulanık ve %67'sini bulanık görünümde saptamışlardır. Çelik ve arkadaşlarının (98) inceledikleri 121 olgunun %21,3'ü berrak, %8'i hafif bulanık ve %70,7'si bulanık görünüm olarak saptamışlardır. Yurtdışı kaynakları incelendiğinde Hussein ve arkadaşları (111) 100 olgudan %87'sini bulanık görünüm olarak incelemişlerdir.

Yapılan çalışmalara göre bizim çalışmamızda bulanık görünüm oranının çok düşük olduğu görülmüştür. Bunun sebebi olarak bizim çalışmamızda bakteriyel menenjit görülme oranının daha az olması söylenebilir.

Bu çalışmamızda BOS'daki hücre sayısını 0-100/mm³ arası, 101-500/mm³ arası, 501- 1000/mm³ arası ve >1000/mm³ olacak şekilde sınıflara ayırdık. Örneklerimizin %87,8 'inde hücre sayısı 0- 100/mm³; %9 unda 101-500/mm³; %1,1 inde 501-1000/mm³ ve kalan %1,1 inde >1000/mm³ olarak bulundu. Türkiye'de yapılan çalışmalarda; Ödemiş E.'nin (113) 2009-2012 yılında akut bakteriyel menenjit tanısı almış, takip ve tedavisi yapılan 57 hastayı retrospektif olarak incelediği çalışmasında %17,67 oranında hücre sayısını >1000/mm³ olarak saptadığını belirtmiştir. Yurtdışı çalışmaları hücre sayısı açısından incelendiğinde Durand ve arkadaşları (114) %87 oranında; Hussein ve arkadaşları (111) %93,73 oranında hücre sayısını >1000/mm³ olarak saptamışlardır. Yapılan çalışmalardaki oranlar bizim çalışmamızdan farklı bulunmuştur. Farklılıkların sebebi olarak çalışmaya dahil edilen hastaların klinik özellikleri (menenjit kesin tanısı almış olgular olması gibi) ve çalışma süreleri öngörülmüştür.

Menenjitte, BOS basıncı yükselir, genellikle yüksek bir hücre yoğunluğu ile, PMNL baskındır, protein seviyeleri yükselir ve BOS kan şekerinin eşzamanlı kan şekere oranı <2/3 olmalıdır (7). Bu amaç için; BOS örneklerinin ve sitolojinin mikroskopik incelemesi, beyin omurilik sıvısı örneklerinin biyokimyasal olarak analizi ve Gram boyama, çok sık kullanılan ve özgül olmayan tanı yöntemleridir. Bu yöntemler; hastanın menenjit olduğu, eğer menenjit ise bakteri veya virüslerden kaynaklanmış olabileceğine dair bilimsel bir tahminde bulunulmasına ve olası bir neden tespit edilene kadar klinisyenin erken tedaviye yönlendirilmesine yardımcı olur.

BOS'un mikroskopik olarak incelenmesi bize klinik tablo hakkında ön bilgi verir. Mikroskopik inceleme bir ön bulgu olmakla birlikte mutlaka tecrübeli kişiler tarafından değerlendirilmelidir. Kesin tanı BOS kültürünün yapılmasıyla konur fakat en iyi şartlarda bile kültürlerde bakteri üretilme ihtimali %50-75 arasındadır (7,101).

Bizim çalışmamızda Gram boyama yöntemi ile %10 örnekte mikroorganizma varlığı tespit edilmiştir. Türkiye'de yapılan benzer çalışmalar incelendiğinde

Toprak ve arkadaşları (115) 2012-2013 yıllarında menenjit ön tanısı almış 100 BOS örneğinin %21'inde Gram boyama yöntemi ile mikroorganizma saptadıklarını belirtmişlerdir. Yarpuzlu ve arkadaşları (116) inceledikleri 137 olguda %6,5 oranında Gram boyama yöntemi ile mikroorganizma saptamışlardır. Yurtdışı kaynakları incelendiğinde; Failace ve arkadaşları (117) %63,3 oranında, De Gans ve arkadaşları (78) %74 oranında, Chakrabarti ve arkadaşları (118) %6,7 oranında ve Aronin ve arkadaşları (119) %64 oranında Gram boyama yöntemi ile mikroorganizma saptadıklarını belirtmişlerdir. Yapılan diğer çalışmalar mikroorganizma görülme oranları açısından incelendiğinde bu oranların farklı olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalardaki oran farklılıklarının asıl nedenlerinin çalışmaya dahil edilen örnek sayısının farklı olması ve bakteriyel menenjit etkeni görülme oranlarının değişken olmasına bağlı olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda Gram boyaması yöntemi ile tespit edilen mikroorganizmaların, kültür ile belirlenen ajanlarla uyumlu olduğu görülmüştür.

Çalışmamıza dahil olan 90 BOS örneğinde kültür ile %11,1 oranında etken saptanmıştır. Kültür pozitif olan numuneler etken mikroorganizma bakımından incelendiğinde en çok menenjit etkeni olarak karşımıza çıkan *N.meningitidis*, *S.pneumoniae*, *H.influenzae* gibi bakterilerin olmadığı görülmüştür. Çalışmamızda saptanan etkenlerin yüzde 60'ı KNS'dir. Şant enfeksiyonlarında KNS en sık neden olan etkenlerdendir. Bu hastalar incelendiğinde hastalarda şant takılı olduğu belirlenmiş ve çalışmamızın verileriyle uyumluluk gösterdiği anlaşılmıştır. Diğer çalışmalar kültür ile menenjit etkeni izole edebilme oranı açısından incelendiğinde; Pişkin ve arkadaşları (99) inceledikleri 244 olgudan %17,3 oranında kültürde menenjit etkeni izole ettiklerini bildirmişlerdir. Çelik ve arkadaşları (98) 121 olguyu inceledikleri çalışmalarında bu oranı %87,2 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Yamazhan ve arkadaşları (24) menenjit tanısı ile hastaneye başvuran 94 olguda bu oranı %43,6 olarak bulmuşlardır. Sünbül ve arkadaşları (112) menenjit tanısı ile izlenen 130 olguyu retrospektif olarak değerlendirdikleri çalışmalarında bu oranı %48 olarak belirlemişlerdir. Taşkesen ve arkadaşları (97) merkezi sinir sistemi enfeksiyonu ön tanısı almış 73 olguyu inceledikleri çalışmalarında bu oranı %5,5 bulmuşlardır. Güçlü ve arkadaşları (120) 2000-2003 yılları arasında menenjit şüphesi ile laboratuvara gönderilen 889 BOS örneğini inceledikleri çalışmalarında bu oranı %8,6 olarak saptadıklarını belirtmişlerdir.

Yurtdışı kaynakları incelendiğinde Meyer ve arkadaşları (121) yaptıkları bir çalışmada bu oranı %82, Silva ve arkadaşları (103) %28, Durand ve arkadaşları (114) %71, Aronin ve arkadaşları (119) %77, Welinder ve arkadaşları (122) %52,7, Sarookhani ve arkadaşları (123) %36, De Gans ve arkadaşları (78) %78, Chakrabarti ve arkadaşları (118) %19,8, Hussein ve arkadaşları (111) %64, Saha ve arkadaşları (124) %71,3 oranında, Chiba ve arkadaşları (125) %48,2 oranında saptamışlardır. Çalışmalar ayrıntılı olarak incelendiğinde; Çelik ve arkadaşlarının (98) çalışmalarında menenjit kesin tanısı almış 121 hastayı retrospektif olarak incelemiş oldukları görülmüştür. Bu sebepten dolayı da kültür pozitiflik oranının (%87,2) diğer çalışmalara göre daha fazla olabileceği kanaatine varılmıştır. Taşkesen ve arkadaşları (97) ise bizim çalışmamıza benzer olarak merkezi sinir sistemi enfeksiyonu ön tanısı almış olan hastaları incelemiş ve kültür pozitifliği oranı %5,5 olarak bulmuşlardır.

Virüsler aseptik menenjitlerin en sık nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır (5). Kabakulak virüsü, kabakulak aşısının düzenli olarak uygulanmadığı bölgelerde görülen en sık viral ajandır. Ülkemizde rutin aşı takviminde kabakulak aşısı zorunlu olarak bulunmaktadır (126). Aşının düzenli olarak uygulandığı bölgelerde ise *Enterovirüsler* görülen en sık viral etken olarak karşımıza çıkmaktadır. İkinci en sık görülen ajan ise HSV'dir (57,109).

Çalışmamızda Multiplex PCR yöntemi kullanılarak viral menenjitte, üç hastada (%3,3) HSV-1 DNA'sı, bir hastada (%1,1) VZV DNA'sı olmak üzere toplam dört adet viral etken saptanmıştır. Türkiye'de yapılan çalışmalara bakıldığında Akkaya ve arkadaşları (128) 2014 yılında menenjit ön tanısı almış 200 BOS örneğinin 13'ünde EV, 10'unda HSV-1 tespit etmişlerdir. Gültepe ve arkadaşları (20) menenjit ön tanısı almış 100 BOS örneğinin beşinde HSV saptamışlardır. Çiçek ve arkadaşları (129) 2012-2014 yılları arasında santral sinir sistemi enfeksiyonu ön tanılı 111 BOS örneğinin 25'ini EV, üçünü HSV olarak saptamıştır. Soylar ve arkadaşları (21) 2012 yılında santral sinir sistemi enfeksiyonu ön tanılı 289 BOS örneğinin ikisinde HSV, birinde EV saptamıştır. Yurtdışı kaynakları incelendiğinde Read ve arkadaşları (130) İngiltere'de inceledikleri 1683 BOS örneğinin 21'inde EV, 33'ünde HSV-2, 25'inde HSV-1, 28'inde ise VZV saptamışlardır. Gaeta ve arkadaşları (131) Roma'da inceledikleri 146 hastanın 12'sinde HSV-1, dördünde HSV-2 tespit etmiştir. Vidal ve arkadaşları (132)

Brezilya’da 460 BOS örneği incelemişler ve bunların 49’unda EV, 46’sında HSV tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Tüm dünyada yapılan çalışmalara bakıldığında en çok tespit edilen viral etkenler *Enterovirüsler* ve HSV tip 1 ve 2 olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalara benzer şekilde en çok tespit edilen viral etken HSV tip 1 olmuştur. Benzer çalışmaların genel verileri Tablo 5.2’de özetlenmiştir.

Tablo.5.2. PCR yöntemi ile viral menenjit etkeni saptayan benzer çalışmaların genel verileri

	YER	YIL	SAY I	YÖNTE M	SAPTANAN ETKENLER		
KAYNAK					EV	HSV 1-2	VZV
Vidal ve ark (132)	BREZİLYA	VY	460	PCR	49	46	
Gaeta ve ark (131)	ROMA	2005-2007	146	PCR		12 HSV-1 4 HSV-2	
Read ve ark (130)	İNGİLTERE	2000-2008	1683	PCR	21	25 HSV-1 33 HSV-2	28
Gültepe ve ark (20)	VY	2009-2010	100	PCR		5 HSV	
Soylar ve ark (21)	İZMİR	2012	289	PCR	1	2 HSV	
Çiçek ve ark (129)	VY	2012-2014	111	PCR	25	3 HSV	
Akkaya ve ark (128)	VY	2014	200	PCR	13	10 HSV	

*VY: Veri Yok

Çalışmamızda Multiplex PCR yöntemi kullanılarak bakteriyel menenjitte üç hastada (%3.3) *S. pneumoniae* saptanmıştır. Bakteriyel menenjitin PCR yöntemiyle saptanması açısından diğer çalışmalar incelendiğinde, Chiba ve arkadaşları (125) %72 oranında bakteriyel etken tespit etmiş olup, bu etkenlerin %45,2’sini *H. influenzae*, %21,4’ünü *S. pneumoniae* olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Failace ve arkadaşları (117) %73,6 oranında bakteriyel etken tespit etmiş olup, bu etkenlerin %63,1’ini *N. meningitidis*, %5,2’sini *S. pneumoniae*, %5,3’ünü *H. influenzae* olarak bildirmişlerdir. Saha ve arkadaşları (124) %28,7, Chakrabarti ve arkadaşları (118) %19,5 oranında bakteriyel menenjit etkenini PCR yöntemi ile saptadıklarını bildirmişlerdir. Papavasileiou ve arkadaşları (133) yaptıkları çalışmada %12,5 *S. pneumoniae*, %71,4 *N. meningitidis* tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Saruta ve arkadaşları (134) yaptıkları bir çalışmada %12,9 *H.influenzae*, %12,8 *S. pneumoniae* tespit ettiklerini belirtmişlerdir.

Türkiye’de yapılan çalışmalara bakıldığında Yıldırım ve arkadaşları (135) %68 oranında etken tespit etmiş olup bu etkenlerin %39,2’sini *N. meningitidis*, %1,7 *S. pneumoniae* ve %1.07’sini *H. influenzae* olarak saptadıklarını belirtmişlerdir. Gültepe ve arkadaşları (20) %10 *S. pneumoniae*, %2 *N. meningitidis* ve %1 *H. influenzae* saptadıklarını bildirmişlerdir. Arslan M. (101) kendi yaptığı çalışmasında %57,8 *S. pneumoniae*, %1,7 *N. meningitidis* saptadığını belirtmiştir. Yapılan çalışmalarda farklı oranlarda bakteriyel menenjit etkeni tespit edildiği görülmüştür. Bunun sebebi olarak örnek sayılarının farklı olması ve klinik özelliklerinin (menenjit kesin tanısı almış olgular) farklılığı düşünülmüştür. Benzer çalışmaların genel verileri Tablo 5.3’te özetlenmiştir.

Tablo 5.3. PCR yöntemi ile bakteriyel menenjit etkeni saptayan benzer çalışmaların genel verileri

	YER	YIL	SAYI	YÖNTEM	SAPTANAN ETKENLER		
KAYNAK					S.P	N.M	H.I
Saruta ve ark(134)	TOKYO	VY	62	PCR	%12.8	-	%12.9
Yıldırım ve ark (135)	ANKARA	12 AY	28	PCR	%1.7	%39.2	%1.07
Failace ve ark(117)	BREZİLYA	18 AY	182	PCR	%5.2	%63.1	%5.3
Arslan M(101)	İSTANBUL	2000-2006	171	PCR	%57.8	%1.7	-
Chiba ve ark(125)	JAPONYA	2005-2007	168	PCR	%21.4	-	%45.2
Papavasilei ou ve ark (133)	YUNANİSTAN	2000-2008	1833	PCR	%12.5	%71.4	-
Gültepe ve ark(20)	VY	2009-2010	100	PCR	%10	%2	%1

*S.P: Streptococcus Pneumoniae

*N.M: Neisseria Meningitidis

*H.I: Haemophilus Influenzae

*VY: Veri Yok

Çalışmamızda kültür sonucunun pozitif, PCR sonucunun negatif olduğu bir örneğe rastlanmamıştır. Diğer çalışmalara bakıldığında Türkiye’de Yıldırım ve arkadaşları (135) çalışmalarında kültür pozitif, PCR negatif bir örneğin olmadığını bildirmişlerdir. Yurtdışı kaynaklarında Chiba ve arkadaşları (125), Sarookhani ve

arkadaşları (123), kültür pozitif, PCR negatif örneğin bulunmadığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda bakteriyel menenjit etkenlerini saptamak için hem konvansiyonel hem de moleküler yöntemlerden yararlanılmıştır. Çalıştığımız üç hastanın PCR testlerinde *S.pneumoniae* tespit edilmiştir. Aynı hastaların kültürlerinde üreme saptanmamıştır. Hastaların dosyaları incelendiğinde, LP öncesinde ampirik tedavi öyküsü olduğu belirlenmiştir. Örneklerin kültürlerinde üreme saptanmamasının nedeni 48 saat öncesi yapılan antibiyotik tedavisine bağlı olabileceği düşünülmüştür. Ceyhan ve arkadaşları (136) 2005-2006 yılları arasında akut bakteriyel menenjit tanısı almış 408 BOS örneğini hem konvansiyonel hem moleküler yöntemlerle incelemişlerdir. Multiplex PCR yöntemi ile 243 örnekte bakteriyel menenjit etkeni saptamışlardır. Bu örneklerin 111'inde kültür üremesinin olmadığını fakat PCR yöntemi ile bu etkenlerin varlığını göstermişlerdir. BOS kültüründe üreme saptanmayan hastaların LP öncesinde ampirik tedavi öyküsü olduğunu vurgulamışlardır. Yurtdışında yapılan bir çalışmada Nhantumbo ve arkadaşları (137) 369 BOS örneği incelemiş, 193'ünde PCR yöntemi ile akut bakteriyel menenjit etkeni saptamışlardır. Saptanan örnekler incelendiğinde bunların 27'sinin kültüründe üreme görülürken geri kalanlarında sadece PCR yöntemi ile bu etkenleri tespit etmişlerdir. Burada hastalara LP yapılmadan önce antibiyotik kullanımının kültür üremesini etkilemesine rağmen kültür yöntemi ile gözden kaçan bu etkenlerin PCR yöntemi ile tespit edilebileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda menenjit düşünülen hastalara tanı koymada kültür yönteminin yanı sıra PCR yönteminin de önemi vurgulanmıştır.

Menenjiti belirlemede PCR yöntemi ekonomik açıdan kültür ve Gram boyama yönteminden pahalıdır. Fakat hızlı bir yöntem oluşu, canlı bakteriye ihtiyaç duyulmaması, risk taşıyan hastaların erken tanısı ve kültür sonucu negatif LP öncesi ampirik olarak antibiyotik tedavisi almış olan bütün hastalara uygulanabilmesi açısından günümüzde diğer yöntemlere kıyasla daha avantajlı bir yöntem olmuştur.

PCR ile görülen etkenlere bakıldığında gerçekte PCR, istenen ajan için bir primer varsa bu ajani saptayabilen bir tanı yöntemidir, aksi halde istenen etken bulunamaz. Kültürel yöntemlerle karşılaştırılmaz. Bizim çalışmamızda da kültür yöntemi ile KNS, MRSA, *Acinetobacter baumannii* ve *Nocardia spp.*

mikroorganizmaları tespit edilmiş olup, PCR yöntemi ile bu etkenlerin primeri olmadığı için saptanamamıştır. PCR yönteminin sağladığı avantajlı durumların yanında kültür yönteminin de kullanılması gerektiği burada anlaşılmıştır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Menenjitte erken tanı ve tedavi önemli olmakla birlikte ateş, bulantı, kusma, bilinç değişikliği bulgusu olan hastalarda menenjitten şüphelenilmeli ve LP uygulanarak vakit kaybetmeden BOS incelenmelidir. Tanıda mikroskopi ve kültür altın standarttır. Hızlı tanı ve tedavi için moleküler yöntemlerin kullanımı giderek artmaktadır. Antibiyotik tedavisinin menenjit etkeni mikroorganizmaya doğru doz ve sürede uygulanması hastada oluşabilecek olası sekellerin önlenmesinde önemlidir.

Yapılan çalışmalarda menenjite neden olan bakteriyel patojenlerin izolasyonu ve tanımlanmasında kültürler altın standart olarak kabul edilse de, etken mikroorganizmanın üretilmesi için beklenilmesi gereken süre en az 48 saat olup, bakterinin üreyeceği de kesin değildir. Menenjit olguları klinik açıdan acil tedavi başlanması gereken durumlardan olduğu için genellikle bu hastalara ampirik olarak antibiyotik tedavisi başlanmaktadır. Doğal olarak antibiyotik tedavisi almış olan hastaların BOS örneklerinde kültürde bakteriyel etkenin üretilmesi güç olmakta olup hızlı tanı yöntemlerinin gereksinimini ortaya çıkarmaktadır.

Çalışmamızda beyin omurilik sıvısı örneklerinin kültür ve PCR sonuçlarını incelediğimizde; 90 hastadan alınan 10 (%11,1) BOS kültüründe üreme saptandı ve kalan 80 (%88,9) örnekte üreme saptanmadı. 90 BOS örneğinin yedisinde (%6,3) PCR pozitif, kalan 83 örnekte (%93,7) PCR negatif saptandı. Yedi PCR pozitif örneğin üçünde *S. pneumoniae* DNA'sı, üçünde HSV-1 DNA'sı, kalan bir örnekte VZV DNA'sı saptandı. Aynı mikroorganizmanın bakteriyel kültür yöntemiyle üretilmesi ve beraberinde PCR yöntemi ile nükleik asitinin saptanmaması gibi tezat durumlarla karşılaşılmadı. Örneklerin 74'ünde kültürde bakteri üremesi yoktu ve aynı zamanda PCR'da mikroorganizma saptanmadı. BOS'ta hücre sayımında artış görülmesi, Gram boyamada mikroorganizma varlığı, klinisyene ön bilgi vermek açısından kültür üreme süresini beklemeden büyük avantaj sağladığı anlaşılmaktadır.

Sonuç olarak, günümüzde kültür; bakteriyel menenjitin teşhisi ve tiplendirilmesi için altın standarttır. Öte yandan viral menenjit etkenlerinin

belirlenmesinde ise hücre kültürü yönteminin pahalı ve zaman alıcı olması bu yöntemlerin daha az kullanılmasının nedenidir.

Moleküler bir yöntem olan PCR tanı ve hızlı tiplendirme için etkin bir yöntemdir. Daha hızlı PCR sonuçları; etkili tedaviye erken başlanmasını sağlar ve hastada oluşabilecek kötü prognozlu komplikasyonları azaltır. PCR tekniğinin viral menenjit etkenlerini saptamada pratik ve hızlı olması gibi avantajları nedeniyle günümüzde kültür yöntemiyle beraber kullanılması gerektiği düşüncesindeyiz.

Çalışmamızın kısıtlılıkları; çalışmamızda hastaların hastaneye başvuru sırasındaki semptom ve bulgulara ait veriler hasta kayıtlarındaki yetersizlikten dolayı çalışmaya alınamamıştır. Aynı sebeplerden ötürü BOS biyokimyasal tetkik sonuçları da çalışmaya alınamamıştır.

Virolojik etkenleri belirlemede kullanılan hücre kültürü yöntemi laboratuvar ortam şartları uygun olmadığından ve yüksek maliyet gerektirdiğinden dolayı çalışmamızda elde ettiğimiz veriler bu yöntem ile desteklenememiştir.

Çalışmamızın süresi kısıtlı olduğundan 12 ayda gelen numune sayısı çalışmaya alınmıştır.

7. KAYNAKLAR

(Bu tez çalışmasında Vancouver atıf sistemi kullanılmıştır.)

1. Çelebi G. Bakteriyel-viral menenjit ayırımında erken dönemde serum prokalsitonin ve akut faz yanıtlarının değeri. 2001
2. Uzun Ö, Ünal S. Güncel Bilgiler Işığında İnfeksiyon Hastalıkları II. Bilim Tıp Yayınevi, Ankara. 2002;602.
3. Karakartal G, Altay G, Arısoy ES. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. In: Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, editors. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2002. p. 985–1018.
4. Şen İ. Çocuk ve yetişkin hastaların kan kültürlerinden izole edilen çoklu dirençli *Escherichia coli* kökenlerinin virülans gen varlığı ve filogenetik grup bakımından karşılaştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2018.
5. Kılıç I, Altuğlu I, Çiçek C, Pullukçu H, Bayram N, Sirin H, et al. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonu Etkeni Enterovirusların RT-PCR ve Hücre KültürYöntemleri ile Saptanması. Mikrobiyol Bul 2011;45(3):468–77.
6. Attia J, Hatala R, Cook DJ, Wong JG. The rational clinical examination. Does this adult patient have acute meningitis? JAMA 1999 Jul 14;282(2):175–81.
7. Modlin JF. Principles and Practice of Infectious Diseases. Elsevier C. Philadelphia; 2005. 2148–61 p.
8. Sawyer MH. Enterovirus infections: Diagnosis and treatment. Pediatr Infect Dis J. 1999;18(12):1033–40.
9. Punar M, Özsüt H, Eraksoy H, Çalangu S. Erişkin Akut Bakteriyel Menenjitinde Başlangıçta Çekilen Kranial Bilgisayarlı Tomografinin Değeri. Klimik Derg. 2000;2(13):61–4.
10. Amin M, Ghaderpanah M, Navidifar T. Detection of *Haemophilus influenzae* type b, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae* and *Neisseria meningitidis* in CSF specimens of children suspicious of Meningitis in Ahvaz, Iran. Kaohsiung J Med Sci. 2016 Oct;32(10):501–6.
11. Jarrin I, Sellier P, Lopes A, Morgand M, Makovec T, Delcey V, et al. Etiologies and management of aseptic meningitis in patients admitted to an Internal Medicine Department. Med (United States). 2016;95(2):1–9.
12. Greenlee JE. Nervous System Complications of Systemic Viral Infections. Amin Neurol Gen Med Fifth Ed. 2014;857–83.
13. Gray LD, Fedorko DP. Laboratory diagnosis of bacterial meningitis. Clin Microbiol Rev. 1992;5(2):130–45.
14. Betts, Robert F.; Chapman, Stanley W.; Penn RL. Reese and Betts' A Practical Approach to Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: (LWW), Lippincott Williams ve Wilkins; 2002. 173–204 p.
15. Marian CD. The Human Brain Coloring Book. Marian CD AB, editor. 1985.

16. N. Gökem Şirin, Gülşen Akman-Demir, Sara Zarko Bahar EA. Sinir Sisteminin Kısa Anatomisi
17. Wubbel L, McCracken GH. Management of bacterial meningitis: 1998. Vol. 19, Pediatrics in review / American Academy of Pediatrics. Pediatr Rev; 1998. p. 78–84.
18. Wilke A, Söyletir G DM. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002. 985–1006 p.
19. Walter R. Wilson - Merle A. Sande. Current İnfeksiyon Hastalıkları Tanı ve Tedavi 2. Dündar İ.H., editor. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2004. 65–85 p.
20. Gültepe B, Bayram Y, Güdücüoğlu H, Çıkman A, Berktaş M. Investigation of Bacterial and Viral Meningitis Agents with Different PCR Methods at a University Hospital. Abant Med J. 2015;4(2):125–9.
21. Soylar M, Altuğlu İ, Sertöz R, Aydın D, Akkoyun F, Zeytinoğlu A. Ege Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran santral sinir sistemi enfeksiyonu olgularında saptanan viral etkenler. Ege J Med. 2014 Jun 1;53(2):65–70.
22. Atat E, Hastal E, Dal A. Akut bakteriyel menenjitler. 2008;(61):151–64.
23. Şahin M. 1993-1996 yılları arasında kliniğimize yatırılan akut bakteriyel menenjit vakalarının retrospektif incelenmesi. 1997;
24. Yamazhan T, Arda B, Taflbakan M, Gökengin D, Ulusoy S, Serter D. Akut Pürülan Menenjitli 94 Olgunun Analizi. Klimik Derg. 2004;2(17):95–8.
25. Özyürek S, Yaylı G, Kazgöl N, Selçuk S. 311 menenjit olgusunun retrospektif olarak incelenmesi. Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg. 1991;21:29–36.
26. Richard A. Harvey Strohl Rouse Fisher. Lippincott's Illustrated Reviews [Internet]. Nobel Tıp. 2006.
27. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 1993.
28. C.Özkuyumcu. Hacettepe Mikrobiyoloji Serisi 1 Klinik Bakteriyoloji El Kitabı [Internet]. Güneş Tıp. 2009.
29. Cengiz AT. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Prof. Dr. Şemsettin Ustaçelebi, editor. Güneş Tıp Kitabevleri. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 1999. p. 579–88.
30. Scott Giebink G. The pathogenesis of pneumococcal otitis media in chinchillas and the efficacy of vaccination in prophylaxis. Rev Infect Dis. 1981;3(2):342–52.
31. Klein JO. Otitis Media. Clin Infect Dis. 1990;19:823–33.
32. Spellerberg B, Brandt C. Streptococcus. In: Manual of Clinical Microbiology. Washington, DC, USA: ASM Press; 2015. p. 412–29.
33. Levinson W. Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji [Internet]. Şener B, Esen B, editors. Vol. 14, Güneş Tıp Kitabevleri. San Francisco, California; 2008. 106–118 p.
34. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji (Uygulama Konuları İle) Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. İzmir: Barış Yayınları Fakülte Kitabevi; 1986. 317–346 p. Available from: <https://www.nadirkıtap.com/klinik-mikrobiyoloji-uygulama-konulari-ile-ozel-bakteriyoloji-ve-bakteri-enfeksiyonlari-hakki-bilgehan-kitap19804952.html>
35. Patrick R. Murray , Michael A. Pfaller , Marie Lousie Landry , James H. Jorgensen EJB. Klinik Mikrobiyoloji Murray 2 cilt [Internet]. 9th ed. Prof. Dr. Ahmet Celal Başustaoglu ,

- Prof. Dr. Ayhan Kubar , Prof. Dr. Mehmet Tanyüksel PDŞTY, editor. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2009. 601–620 p.
36. Tunkel AR, Scheld WM. Acute meningitis. In: Mandell G, Douglas R, Bennett J, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. New York; 2005. p. 1083–126.
 37. Ginsberg L. Difficult and recurrent meningitis. *Neurol Pract.* 2004;75(1).
 38. Logan SAE, MacMahon E. Viral meningitis. *Bmj.* 2008;336(7634):36–40.
 39. Rantakallio P, Leskinen M, von Wendt L. Incidence and prognosis of central nervous system infections in a birth cohort of 12 000 children. *Scand J Infect Dis.* 1986;18(4):287–94.
 40. Cherry J, Demmler-harrison G, Kaplan SL, Steinbach WJ, Hotez P. Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases, 8th Edition 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2019. 497–505 p.
 41. Gershon, Anne A., Hotez Peter J. KSL. Krugman's Infectious Diseases of Children [Internet]. 11th ed. Gershon AA, Hotez PJ KS, editor. Philadelphia: Mosby; 2003. 391–401 p.
 42. Rotbart HA. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases [Internet]. 4th ed. Long SS, Pickering LK PC, editor. New York: Elsevier; 2003. 284–91 p. Available from: <https://www.twirpx.com/file/2380714/>
 43. Davison KL, Ramsay ME. The epidemiology of acute meningitis in children in England and Wales. *Arch Dis Child.* 2003;88(8):662–4.
 44. Viallon A, Zeni F, Lambert C, Pozzetto B, Tardy B, Venet C, et al. High sensitivity and specificity of serum procalcitonin levels in adults with bacterial meningitis. *Clin Infect Dis.* 1999;28(6):1313–6.
 45. Wang YJ, Chiua NC, Ho CS, Chia H. Comparison of Childhood Aseptic Meningitis with Bacterial Meningitis in a Tertiary Childrens Hospital of Taiwan. *J Meningitis.* 2015;01(01):1–5.
 46. Demİroğlu YZ, Ad KM, Hekimliği A. Toplum Kökenli Menenjit/Meningoensefalitler : Beş Yılın Retrospektif Değerlendirilmesi. *Türkiye Klin J Med Sci.* 2010;30(1):218.
 47. Davies NWS, Brown LJ, Gonde J, Irish D, Robinson RO, Swan A V., et al. Factors influencing PCR detection of viruses in cerebrospinal fluid of patients with suspected CNS infections. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2005;76(1):82–7.
 48. virology. RR-F, 1996 undefined. The viruses and their replication. ci.nii.ac.jp
 49. Virology ME-, 1996 U. polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. ci.nii.ac.jp
 50. A.C. O. Medikal Viroloji. Ankara Üniversitesi Eczac Fakültesi Yayınları. 1994;2(40):381–406.
 51. RR Rueckert. The Viruses and Their Replication. Lippincott-Raven Publ 1996;1(18):609–54.
 52. Özçolpan G. Enterovirüslerin Saptanmasında Hücre Kültürü Yöntemi ve RT-PCR Yöntemlerinin Karşılaştırılması. 2019;
 53. Whitley RJ, Kimberlin DW. Herpes Simplex Viruses. *Clin Infect Dis.* 2016;26(3):541–53.

54. Arvin AM. Varicella-zoster virus. Clin Microbiol Rev 1996 Jul;9(3):361–81.
55. Baysal B Tİ. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2th ed. AW T, Söyletir G DM, editors. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2002. 1186–91 p.
56. Gershon AA, Gershon MD. Pathogenesis and Current Approaches to Control of Varicella-Zoster Virus Infections. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2013 Oct;26(4):728–43. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00052-13>
57. Azap A, Kurt H. Varisella Zoster Virus İnfeksiyonları. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 2001;4(54):357–70.
58. Çolak D MD. Moleküler, Klinik ve Tanısal Mikrobiyoloji. Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S, editor. Güneş Tıp Kitabevleri; 2004. 203–9 p.
59. Lauber C, Gorbalenya AE. Toward Genetics-Based Virus Taxonomy: Comparative Analysis of a Genetics-Based Classification and the Taxonomy of Picornaviruses. J Virol. 2012;86(7):3905–15.
60. Zuckerman AJ, Banatvala JE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P. Principles and Practice of Clinical Virology: Sixth Edition. Princ Pract Clin Virol Sixth Ed. 2009 Mar 16;1–1014.
61. Oberste MS, Feeroz MM, Maher K, Nix WA, Engel GA, Hasan KM, et al. Characterizing the Picornavirus Landscape among Synanthropic Nonhuman Primates in Bangladesh, 2007 to 2008. J Virol. 2013;87(1):558–71.
62. Oberste MS, Feeroz MM, Maher K, Nix WA, Engel GA, Begum S, et al. Naturally Acquired Picornavirus Infections in Primates at the Dhaka Zoo. J Virol. 2013;87(1):572–80.
63. Ehrnst A, Eriksson M. Echovirus type 23 observed as a nosocomial infection in infants. Scand J Infect Dis. 1996;28(2):205–6.
64. Harvala H, Simmonds P. Human parechoviruses: Biology, epidemiology and clinical significance. J Clin Virol. 2009;45(1):1–9.
65. Verboon-Macielek MA, Groenendaal F, Hahn CD, Hellmann J, Van Loon AM, Boivin G, et al. Human parechovirus causes encephalitis with white matter injury in neonates. Ann Neurol. 2008;64(3):266–73.
66. Shoji K, Komuro H, Miyata I, Miyairi I, Saitoh A. Dermatologic Manifestations of Human Parechovirus Type 3 Infection in Neonates and Infants. Pediatr Infect Dis J. 2013;32(3):233–6.
67. Zhao X, Shi Y, Xia Y. Genome analysis revealed novel genotypes and recombination of the human parechoviruses prevalent in children in Eastern China. Gut Pathog. 2016;8(1):1–6.
68. Pajkrt D, Benschop KSM, Westerhuis B, Molenkamp R, Spanjerberg L, Wolthers KC. Clinical characteristics of human parechoviruses 4-6 infections in young children. Pediatr Infect Dis J. 2009;28(11):1008–10.
69. Stanway G, Kalkkinen N, Roivainen M, Ghazi F, Khan M, Smyth M, et al. Molecular and biological characteristics of echovirus 22, a representative of a new picornavirus group. J Virol. 1994;68(12):8232–8.
70. Khatami A, McMullan BJ, Webber M, Stewart P, Francis S, Timmers KJ, et al. Sepsis-like disease in infants due to human parechovirus type 3 during an outbreak in Australia. Clin Infect Dis. 2015;60(2):228–36.
71. ÖK E. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Eğitim Kitabı. Günalp A, Yılmaz YA PA, editor. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları; 2003. 226–229 p.

72. Tülek N, Tanyel E. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonlarına Genel Bakış. In: Topçu W, Söyletir G, Doğanay M, editors. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. p. 1375–90.
73. Bema K, Bonsu Mbc, Marvin B, Harper M. Accuracy and test characteristics of ancillary test of cerebrospinal fluid. Blackwell Publ. 2005;12(4):303–9.
74. Bilgiler G. Neisseria.
75. Bilgiler G. Haemophilus. :1–5.
76. Kanra G, Ceyhan M, Kara A. Menenjit II: Klinik bulgular ve tani. Çocuk Sağlığı ve Hast Derg. 2003;46(2):128–38.
77. Tunkel AR. Approach to the patients with central nervous system infection. In: Mandel L, Bennett J, Dolin R, editors. Principles and Practices of Infectious Diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005. p. 1079–83.
78. De Gans, J., De Beek V. MD. Dexamethasone in Adults With Bacterial Meningitis. N Engl J Med. 1997;347(20):1769–75.
79. Tunkel A, Scheld W. Acute meningitis. In: Mandell G, Bennett J, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 959–97.
80. Dunbar S, Eason R, Musher D, Clarridge J. Microscopic examination and broth culture of cerebrospinal fluid in diagnosis of meningitis. J Clin Microbiol. 1998;36(6):1617–20.
81. Kanra G. Bakteriyel Menenjitler. In: Kanra G, Akalın H, editors. Enfeksiyon Hastalıkları Akut Bakteriyel Enfeksiyonlara Yaklaşım. Ankara: Güneş Kitabevi; 1993. p. 44–65.
82. Sa M. Bakteriyel menenjit etkenlerinin araştırılması. 2011;
83. N. C. Molecular Biology Of The Cell. In: Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. WP, editor. Annals of Botany. New York; 2003. p. 401–5.
84. Garibyan L, Avashia N. Polymerase chain reaction. J Invest Dermatol 2013;133(3):1–4.
85. Cilloni D, Petiti J, Rosso V, Andreani G, Dragani M, Fava C, et al. Digital PCR in myeloid malignancies: Ready to replace quantitative PCR? Int J Mol Sci. 2019;20(9).
86. Dixon M, Sha S, Stefil M, McDonald M. Is it Time to Say Goodbye to Culture and Sensitivity? The Case for Culture-independent Urology. Urology. 2020 Feb 1;136:112–8.
87. PCR Available from: https://en.wikipedia.org/wiki/File:Polymerase_chain_reaction.svg
88. Akman C, Er A, Tokat E, Doluoğlu ÖG, Kizilkan Y, Özden C, et al. ÜCD Güncelleme Serileri. Moleküler Tıp Özel Sayısı. 2020;2(9):1–36.
89. Özkozacı T, Ozantürk NC, L SH, Sönmez EÖ, Akici N, Lu N, et al. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Kliniğinde Mayıs 2002-Mayıs 2007 Tarihleri Arasında Takip Edilen Akut Bakteriyel Menenjit Olgularının Akut Komplikasyon Gelişimi Açısından Değerlendirilmesi. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastan Tıp Derg. 2010;50(3):133–42.
90. M.Hacımustafaoğlu. Bakteriyel Menenjitlerde Tanı ve Tanıda Sorunlar. Ankem Derg. 2008;22(2):166–70.
91. Gram Boyama Nasıl Yapılır [Internet]. Available from: <https://www.tech-worm.com/gram->

92. Prober C, Srinivas N, Mathew R. Central Nervous System Infections. In: Kliegman R, Stanton B, St. Geme J, Schor N, editors. Nelson Textbook Of Pediatrics. 20th ed. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2016. p. 2936–48.
93. Berardi A, Lugli L, Rossi C, China MC, Vellani G, Contiero R, et al. Neonatal bacterial meningitis. *Minerva Pediatr.* 2010;62(3 Suppl 1):51–4.
94. Garcia G, McCracken G. Acute bacterial meningitis beyond the neonatal period. In: Long S, Pickering L, Prober C, editors. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. 4th ed. Edinburgh: Elsevier Saunders; 2012. p. 272–9.
95. Romeo J. Aseptic and viral meningitis. In: Long S, Pickering L, Prober C, editors. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. 4th ed. Edinburgh: Elsevier Saunders; 2012. p. 292–7.
96. Abuhandan M. Meningitis in children: Analysis of 92 cases. *Dicle Med J / Dicle Tıp Derg.* 2013;40(1):15–20.
97. Taşkesen M, Taş AM. Çocuklarda Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonları. *Dicle Tıp Derg.* 2007;2(34):123–6.
98. Çelik İ., Özden M., Kılıçoğlu A., Demirdağ K. KSS. Yüz Yirmi Bir Menenjit Olgusunun Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. *Klimik Derg.* 2003;1(16):11–4.
99. Pişkin N, Yalçı A., Aydemir H., Gürbüz Y., Tüntüncü E. TR. İkiyüz kırkdört Erişkin Santral Sinir Sistemi İnfeksiyonu Olgusunun Değerlendirilmesi. *Flora.* 2004;1(3):119–24.
100. Altunay H., Keskin K., Çavuşoğlu Ş. YOŞ. Nontüberküloz Bakteriyel Menenjit Olgularının Beyin- Omurilik Sıvısında Lateks Aglutinasyon Yöntemiyle Bakteriyel Antijenlerin Aranmasının Tanı Değeri. *Klimik Derg.* 1993;2(6):72–5.
101. Arslan Oktar M. Kliniğimizde Son Altı Yıldır İzlenen Menenjit Olgularının Değerlendirilmesi. 2019;(92):117–22.
102. Cho HK, Lee H, Kang JH, Kim KN, Kim DS, Kim YK, et al. The causative organisms of bacterial meningitis in Korean children in 1996-2005. *J Korean Med Sci.* 2010;25(6):895–9.
103. Andriano da Silva W, Macêdo A, Gomes L, Carneiro L A, L. F. Epidemiological profile of acute bacterial meningitis in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2010;43(4):455–7.
104. Thigpen MC, Whitney CG, Messonnier NE, Zell ER, Lynfield R, Hadler JL, et al. Bacterial Meningitis in the United States, 1998–2007. *N Engl J Med.* 2011;364(21):2016–25.
105. Abdulrab A, Algobaty F, Salem AK, Mohammed YAK. Acute bacterial meningitis in adults: A hospital based study in Yemen. *Jpn J Infect Dis.* 2010;63(2):128–31.
106. Gurley ES, Hossain MJ, Montgomery SP, Petersen LR, Sejvar JJ, Mayer LW, et al. Etiologies of bacterial meningitis in bangladesh: Results from a hospital-based study. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;81(3):475–83.
107. Mani R, Pradhan S, Nagarathna S, Wasiulla R, Chandramuki A. Bacteriological Profile of Community Acquired Acute Bacterial Meningitis: a Ten-Year Retrospective Study in a Tertiary Neurocare Centre in South India. *Indian J Med Microbiol* 2007;25(2):108–14.
108. Köse Ş, Göl B, Atalay S, Akkoçlu G. Evaluation of five-year meningitis cases in Tepecik training and research hospital İzmir,Turkey. *Klimik Derg.* 2013;26(2):54–7.

109. Van De Beek D, De Gans J, McIntyre P, Prasad K. Steroids in adults with acute bacterial meningitis: A systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2004;4(3):139–43.
110. Weisfelt M, De Gans J, Van Der Poll T, Van De Beek D. Pneumococcal meningitis in adults: New approaches to management and prevention. *Lancet Neurol.* 2006;5(4):332–42.
111. Hussein AS, Shafran SD. Acute Bacterial Meningitis in Childhood. *Lancet.* 1976;79(6):701.
112. Sünbül M, Esen Ş, Eroğlu C, Barut Ş, Pekbay A LH. Meninjitli 130 olgunun retrospektif değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Derg* 1999;13(3):303–8.
113. Ödemiş Başpınar E. Bakteriyel menenjit tanısında bos kültürü ve bos pcr yöntemlerinin karşılaştırılması. 2013;
114. Marlene L. Durand, M.D. SBC. Durand1993. *N Engl J Med.* 1993;328(1):21–8.
115. Toprak S, Can K, Çalışkan R, Şengöz G, Habip Z, Tokuç E, et al. Determination of Bacterial Meningitis Agents by Culture and PCR in Patients Diagnosed with Meningitis. *Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg.* 2019;49(4):191–6.
116. Yarpuzlu M, Aslan G, Ülger M, Tezcan Ülger S, Emekdaş G, Kuyucu N, et al. Investigation of Bacterial Meningitis Agents from Patients with Suspicion of Non-Neonatal Meningitis by Conventional and Molecular Methods. *Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg.* 2017;47(4):205–12.
117. Failace L, Wagner M, Chesky M, Scalco R, Jobim LF. Simultaneous detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus* sp. by polymerase chain reaction for the diagnosis of bacterial meningitis. *Arq Neuropsiquiatr.* 2005;63(4):920–4.
118. Chakrabarti P, Das BK, Kapil A. Application of 16S rDNA based seminested PCR for diagnosis of acute bacterial meningitis. *Indian J Med Res.* 2009;129(2):182–8.
119. Aronin SI, Peduzzi P, Quagliarello VJ. Adverse Clinical Outcome and Effect of Antibiotic Timing. *Ann Intern Med.* 1998;129:862–9.
120. Güçlü AÜ, Kiliç A, Küçükkaraaslan A, Baysallar M, Doğancı L. Beyin omurilik sıvılarından izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *Gulhane Med J.* 2005;47(3):204–8.
121. Meyer CN, Samuelsson IS, Galle M, Bangsberg JM. Adult bacterial meningitis: aetiology, penicillin susceptibility, risk factors, prognostic factors and guidelines for empirical antibiotic treatment. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10(8):709–17.
122. Welinder-Olsson C, Dotevall L, Hogevis H, Jungnelius R, Trollfors B, Wahl M, et al. Comparison of broad-range bacterial PCR and culture of cerebrospinal fluid for diagnosis of community-acquired bacterial meningitis. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13(9):879–86.
123. Sarokhaani M. of of. :14–21.
124. Saha SK, Darmstadt GL, Yamanaka N, Billal DS, Nasreen T, Islam M, et al. Rapid diagnosis of pneumococcal meningitis: Implications for treatment and measuring disease burden. *Pediatr Infect Dis J.* 2005;24(12):1093–8.
125. Chiba N, Murayama SY, Morozumi M, Nakayama E, Okada T, Iwata S, 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.
126. Sağlık Bakanlığı 2021-2022 Aşı Takvimi

127. Jandus P. Aseptic meningitis. *Pediatr Immunol A Case-Based Collect with MCQs*. 2019;2:545–51.
128. Akkaya O, Güvenç Hİ, Güzelant A, Kaya M, Yüksekaya Ş, Opuş A, et al. Investigation of the Causative Agents of Meningitis By Real-Time PCR Method. *Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg*. 2017;47(3):131–7.
129. Çiçek C., Pullukçu H., Kalfaoğlu H., Kahraman H. USE. Akut Menenjit Kliniği ile Başvuran Hastaların BOS Örneklerinde Viral Etkenlerin Erken Tanısı. *Flora [Internet]*. 2015;20(4):174–81.
130. Read SJ, Kurtz JB. Laboratory diagnosis of common herpesvirus infections of the central nervous system by a multiplex PCR assay. *J Clin Microbiol*. 2001;39(12):4426–32.
131. Gaeta A, Verzaro S, Cristina LM, Mancini C, Nazzari C. Diagnosis of neurological herpesvirus infections: Real time PCR in cerebral spinal fluid analysis. *New Microbiol*. 2009;32(4):333–40.
132. Vidal LRR, de Almeida SM, de Messias-Reason IJ, Nogueira MB, Debur M do C, Pessa LFC, et al. Enterovirus and herpesviridae family as etiologic agents of lymphomonocytary meningitis, Southern Brazil. *Arq Neuropsiquiatr*. 2011;69(3):475–81.
133. Papavasileiou K, Papavasileiou E, Tzanakaki G, Voyatzi A, Kremastinou J, Chatzipanagiotou S. Acute bacterial meningitis cases diagnosed by culture and PCR in a children's hospital throughout a 9-year period (2000-2008) in Athens, Greece. *Mol Diagnosis Ther*. 2011;15(2):109–13.
134. Saruta K, Matsunaga T, Kono M, Hoshina S, Kanemoto S, Sakai O, et al. Simultaneous detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* by nested PCR amplification from cerebrospinal fluid samples. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1997;19(2):151–7.
135. Yıldırım İ, Ceyhan M, Uygun S, Seçmeer G. Bakteriyel Menenjit Vakalarında *Neisseria Meningitidis*, *Haemophilus İnfluenza* Tip B ve *Streptococcus Pneumoniae*'nin Çok Katmanlı, Eş Zamanlı, Tek-Tüp PCR Yöntemiyle Tespiti. 2. Uludağ Pediatr Kış Kongresi. 1971;173.
136. Ceyhan M, Yıldırım I, Balmer P, Borrow R, Dikici B, Turgut M, et al. A prospective study of etiology of childhood acute bacterial meningitis, Turkey. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(7):1089–96.
137. Nhantumbo AA, Cantarelli VV, Caireão J, Munguambe AM, Comé CE, Do Carmo Pinto G, et al. Frequency of pathogenic paediatric bacterial meningitis in Mozambique: The critical role of multiplex real-time polymerase chain reaction to estimate the burden of disease. *Elsevier*. 2018;10(9):1–17.

8. EKLER

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU ONAYI
BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY CLINICAL RESEARCHES ETHICS COMMITTEE APPROVAL

Sayı : 134

30.3.2021

Konu: Kararlar

BAŞVURU BİLGİLERİ (APPLICATION INFORMATION)	ARAŞTIRMANIN ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonu Ön Tanılı Hastaların Beyin Omurilik Sıvısı Örneklerinin Konvansiyonel ve Moleküler Yöntemlerle İncelenmesi.
	ARAŞTIRMANIN İNGİLİZCE ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Examination of Cerebrospinal Fluid Samples of Patients With a Pre-Diagnosed Central Nervous System Infection by Conventional and Molecular Methods.
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (PRINCIPAL INVESTIGATOR)	Dr. Öğr. Üyesi Fatma AVCIOĞLU
	DİĞER ARAŞTIRMACILAR (OTHER INVESTIGATORS)	Sağlık Teknikeri Benan ÖZÇELİK
	ARAŞTIRMA MERKEZİ (RESEARCH CENTER)	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

KARAR (DECISION)	Karar no (Decision No): 2021/79	Tarih (Date) 16.03.2021
	Dr. Öğr. Üyesi Fatma AVCIOĞLU'nun sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma dosyası ve ilgili belgelerin incelenmesi sonucunda araştırmanın gerçekleştirilmesinde etik yönden sakıncası olmadığına mevcudun oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

Üyeler	Uzmanlık alanı	Kurumu	İmza
Prof. Dr. Mehmet Hayri ERKOL (Başkan)	Genel Cerrahi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç. Dr. Erkan KILINÇ (Başkan Yardımcısı)	Fizyoloji	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Prof. Dr. Mehmet Hamid BOZTAŞ (Üye)	Ruh Sağlığı Hastalıkları	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç. Dr. Akif Hakan KURT (Üye)	Farmakoloji	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç. Dr. Ahmet YÜKSEL (Üye)	Kalp Damar Cerrahisi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç. Dr. Hamit YOLDAŞ (Üye)	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Oya KALAYCIOĞLU (Bildirimden Sorumlu Üye)	Biyoistatistik	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Makbule TOKUR KESGİN (Üye)	Hemşirelik	BAİBÜ Sağlık Bilimleri Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Abdulgani KAYMAZ (Üye)	Göz Hastalıkları	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Kübra DEĞİRMENCI (Üye)	Protetik Diş Tedavisi	BAİBÜ Diş Hekimliği Fakültesi	
Dr. Hatice Selen SÖYLEMEZ (Üye)	Farmakolog/Eczacı	Özel Eczane (BOLU)	
Av. Huri Hülya GÜNEŞ COŞKUN (Üye)	Hukukçu	Özel Hukuk Bürosu (BOLU)	
Ramazan KAYNARPINAR (Sivil-Üye)	Esnaf	Serbest Meslek (BOLU)	