

Panel 6 sunuları

**MERKEZİ SINIR SİSTEMİ İNFEKSİYONLARININ TANI VE İZLEMİNDE
LABORATUVAR YÖNTEMLERİNİN AKILCI KULLANIMI**

Yöneten: **Nuran SALMAN**

- Viral merkezi sinir sistemi infeksiyonlarında
tanı

A. Arzu SAYINER

- Bakteriyel merkezi sinir sistemi infeksiyonlarında
tanı

Hakan LEBLEBİCİOĞLU

- Çocuklarda bakteriyel menenjitte yaklaşım

Nuran SALMAN

VİRAL MERKEZİ SİNİR SİSTEMİ İNFEKSİYONLARINDA TANI

A.Arzu SAYINER

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İZMİR
arzu.sayiner@deu.edu.tr

ÖZET

Viral merkezi sinir sistemi infeksiyonları tanısında, hızlı ve yüksek duyarlılığa sahip amplifikasyonlu nükleik asit saptama testlerinin geliştirilmesi ile kültür ve antijen arama yöntemlerinin kullanımları azalmıştır. BOS'da polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile viral nükleik asidin saptanması, herpesvirus ve enterovirus infeksiyonlarında önerilen tanı yöntemidir. Etkene yönelik intratekal antikor yanıtının saptanması herpesvirus ve arbovirus infeksiyonlarında tanı koydurucudur. Tanı yöntemini seçerken, sonuçları yorumlarken, patogenezi, klinik özellikler ve infeksiyonun dönemi göz önüne alınmalıdır. Nükleik asit saptama ve özgül antikorları belirleme yöntemlerinin birlikte kullanımı tanı koyma olasılığını arttırmaktadır. Testlerin genellikle kullanıcı tarafından geliştiriliyor olması, standardizasyon sorunlarını da gündeme getirmektedir.

Anahtar sözcükler: ensefalit, menenjit, polimeraz zincir reaksiyonu, viral infeksiyon

SUMMARY

Diagnosis of Viral Central Nervous System Infections

The introduction of rapid and sensitive nucleic acid amplification techniques has made a major progress in the diagnosis of viral infections of the central nervous system (CNS). Polymerase chain reaction (PCR) on cerebrospinal fluid (CSF) has become the recommended method of diagnosis for enterovirus and HSV infections. Intrathecal antibody detection may also be used for the aetiological diagnosis of herpesvirus and arbovirus infections of CNS. The pathogenesis of the viral infection, the clinical features and the time of the infection should be taken into consideration for selecting a diagnostic method and evaluating its result. Combining nucleic acid amplification and CSF/serum antibody studies can increase the likelihood of detecting the infecting virus. Further improvements are still required in the standardization and reproducibility of the diagnostic assays since most are in-laboratory-developed.

Keywords: encephalitis, meningitis, polymerase chain reaction, viral infection

Merkezi sinir sistemi (MSS) infeksiyonları, hızlı gidiş göstermesi, ölüme veya ciddi kalıcı sekellere yol açabilmesi nedeniyle, hızlı tanı gerektiren hastalıkların başında gelir. Akut menenjit ve ensefalitin en sık saptanan etkeni viruslardır. Çeşitli çalışmalarda, viral menenjit ve ensefalit insidansı 10-20 / 100 000 kişi-yıl olarak saptanmıştır. Çocuklarda, özellikle bir yaş altında, olgu sayısının arttığı görülmektedir^(19,40).

Viral etkenleri belirlemedeki başarı % 20-30'lardan, günümüzde % 50-70'lere ulaşmıştır^(32,40). Bu başarıda özellikle nükleik asit saptama testlerinin kullanımı rol oynamıştır. Viral etkenlerin hızlı, duyarlı ve özgül olarak tanınması, gereksiz antibiyotik veya antiviral kullanımını, invaziv ve pahalı ek

testlerin yapılmasını önleyerek ve hastanede kalış süresini azaltarak da kazanımlar sağlamakta; epidemiyolojik bilgiler toplanabilmekte, koruyucu / tedavi edici çalışmalar yapılabilir^(25,37,43).

Klinik belirtiler genellikle inflamasyonun yeri ile ilişkili olup, etkene özgül değildir. Beyin omurilik sıvısındaki (BOS) biyokimyasal - sitolojik bulgular ise, viral etiyolojiyi öngörmeye yardımcı ancak etkenin belirlenmesinde yetersizdir.

İnfeksiyona yolaçabilecek onlarca virus arasında etkene yönelik incelemeler için önceliklerin belirlenmesinde bazı bilgilerden yararlanılabilir:

1. Epidemiyolojik bilgiler: Mevsim, yolculuk, toplumdaki prevalans, doğada yapılan etkinlikler, meslek, hayvanlarla

temas. Ilıman iklimli bölgelerde yaz aylarında sivrisineklerle bulaşan arbovirus enfeksiyonları, yaz sonu-sonbahar başında ise enterovirus enfeksiyonları artar.

2. Yaş: Yaşa göre virusların görülme sıklığı değişmektedir. Doğumdan sonraki ilk üç ayda, viral menenjit etkenlerinden HSV ve CMV sık görülürken, üç ay - üç yaş arasında, enterovirus, HSV ve HHV-6 enfeksiyonları sık görülmekte, üç ile 21 yaş arasında ise bunlara arbovirus, EBV ve influenza enfeksiyonları da eklenmektedir.
3. Bağışıklık sistemi sorunları: Transplantasyon alıcılarında ve CD4+ T hücre sayısı $100/\text{mm}^3$ 'den az olan HIV pozitiflerde, viral MSS enfeksiyonu riski artmaktadır. Etken viruslar arasında sıklıkla, CMV, VZV, HSV, EBV ve JCV yer almaktadır.
4. Fokal nörolojik semptomların varlığı: Sporadik, fokal ensefalitin en sık etkeni HSV'dir. Tipik olarak temporal $\pm$ frontal lob tutulumu saptanır. Ancak diğer viruslar da HSV ensefalitini taklit edebilir⁽⁵⁰⁾. Manyetik rezonans (MR) erken dönem değişikliklerini saptayarak, elektroensefalogram (EEG) ise temporal bölgeden köken alan periyodik yüksek ve yavaş voltajlı dalgalardan oluşan karakteristik paterni belirleyerek tanıya yardımcı olabilir (11,50).

TANI YÖNTEMLERİ

Özgül olmayan yöntemler

- *BOS'un biyokimyasal ve sitolojik özellikleri:* Viral MSS enfeksiyonlarında BOS'ta sıklıkla pleositoz görülür. Hücre sayısı genellikle $10-1000/\text{mm}^3$ olup, çoğunlukla mononükleer hücreler baskındır. Enfeksiyonun erken dönemlerinde hücre saptanmayabileceği gibi, ilk 6-48 saat içinde nötrofil hakimiyeti görülebilir. HSV ensefalitinde eritrosit saptanabilir. Akut viral menenjitlerde, BOS protein ve glukoz düzeylerinde belirgin bir değişiklik saptanmaz. Ensefalit veya kronik enfeksiyonlarda BOS protein düzeyi (IgG artışına bağlı olarak) düşük-orta düzeyde artar^(3,15).

Özgül yöntemler

- *Virus kültürü:* BOS'tan virus izolasyonu, tanı koydurucudur. Ancak, BOS'ta virus sayısının az olması, bazı virusların üretilmemesi (ör: coxsackievirus A), virusun nötralize olması, standardizasyon sorunları gibi nedenlerle BOS kültürünün duyarlılığı (virusa ve inflamasyon yerine göre değişmekle birlikte) düşüktür. Enteroviruslara bağlı menenjit, BOS'ta virus kültürünün en başarılı olduğu enfeksiyon olup, duyarlılık % 50-70 olarak bildirilmiştir^(6,40). Etkenin, MSS dışı örneklerden (dışkı, boğaz, deri lezyonları, kan, vb) izolasyonu da tanıyı destekleyebilir. Hücre kültürünün günler sürmesi, çeşitli hücre dizileri, özel bir laboratuvar ve deneyimli personel

gerektirmesi, yöntemin kullanımını kısıtlayan faktörlerdir.

- *Viral antijenlerin saptanması:* Özellikle herpesviruslar için beyin biyopsisi veya BOS'ta antijen saptanabilir. Fokal tutulum yapan HSV ensefalitinde, beyin biyopsisinden virus kültürü ve/veya viral antijenlerin saptanması, bir dönem altın standart olarak kabul edilmesine karşın, günümüzde yerini, BOS'ta nükleik asit saptama yöntemlerine bırakmıştır^(21,27,44). AIDS hastalarında, CMV ensefaliti tanısında, BOS'taki lökositlerde pp65 antijen saptama yönteminin kullanılabileceği gösterilmiştir⁽³⁹⁾. HIV pozitiflerde, EBV kökenli lenfoma tanısında, beyin biyopsisinde viral latent membran proteinleri saptanabilir⁽²³⁾. Kuduz tanısında da beyin veya periferik sinir biyopsilerinde viral antijen arama yöntemleri kullanılmaktadır⁽⁴⁵⁾.

- *Viral antikorların saptanması:* BOS'da özgül antikorların saptanması, diğer yöntemlerin yetersiz kaldığı veya virusun BOS'tan silindiği dönemlerde (genellikle enfeksiyonun ilk bir-iki haftasından sonra) tanı koydurucu olabilir. Özellikle arbovirus enfeksiyonlarında virus, BOS ve serumda kısa süre kalmakta, MSS bulgularının ortaya çıktığı dönemde genellikle saptanamamaktadır⁽²²⁾. BOS'da özgül IgM saptanması tanı koydurucudur ve arbovirus enfeksiyonları tanısında başarıyla kullanılmaktadır^(17,34). BOS'da özgül IgG varlığının saptanması da anlamlıdır. Ancak, kan-beyin bariyerinin bozulması sonucu serumdan BOS'a IgG geçişi olabildiği için, intratekal sentezin kanıtlanması gereklidir. Bu amaçla, özgül antikorlar, eş zamanlı alınan serum ve BOS örneğinde kantitatif olarak saptanır ve birbirlerine oranlanarak elde edilen indeks değerlendirilir. Normalde BOS'daki IgG, serum kökenli olup, BOS/serum antikor oranı $1/200-1/300$ 'dür⁽²⁴⁾. MSS enfeksiyonu sırasında, intratekal antikor üretimi olmakta ve oran artmaktadır. İntratekal antikorların saptanmasına dayalı tanı, multiple skleroz (MS) gibi polispesifik immün aktivasyona yol açan nedenler veya ciddi immünsupresyon dışında güvenilir bir yöntem olarak kullanılabilir. Kullanılacak testin duyarlılığının, bu amaca uygun olması gerekir. Ticari kitlerin çoğu BOS'da kullanıma uygun değildir. Genellikle IFA temelli testler titre belirlenerek kullanılsa da, EIA temelli testlerden elde edilen OD değerlerini kullanan yöntemler de tanımlanmıştır. İndeks hesaplamada çeşitli formüller kullanılabilir^(4,23,38). Monteyne ve ark.⁽²⁸⁾, intratekal HSV antikor yanıtını saptamada çeşitli formülleri karşılaştırmışlar ve MS hastaları dışında sonuçların uyumlu olduğunu saptamışlardır.

Virus nükleik asidinin BOS'da saptanabilir olması, intratekal antikor yanıtını belirleme yöntemlerinin kullanımını azaltmıştır. Ancak, nükleik asit testleri, genellikle enfeksiyonun ilk bir-iki haftasında olumlu iken, intratekal antikor yanıtı 10. günden sonra belirginleşir. Bu iki yöntem, enfeksiyonun dönemi de göz önüne alınarak birlikte kullanıldığında etkeni belirleme olasılığı artmaktadır⁽²³⁾.

• **Viral nükleik asitlerin saptanması:** Viral nükleik asidin, amplifikasyon temelli yöntemlerle (PCR, vb) BOS'da saptanması, viral MSS infeksiyonlarının tanısında önemli bir dönüm noktası olmuştur. HSV ve CMV ensefaliti ile enteroviral menenjit için BOS'da PCR, önerilen tanı yöntemidir^(9,23). Nükleik asit testlerinin kullanımı, atipik klinikli infeksiyonlarda etkenin saptanmasını ve virusların oluşturdıkları değişik klinik tabloların fark edilmesini sağlamıştır. Bu sayede, Mollaret menenjitinin sıklıkla HSV-2 kökenli olduğu, genital herpesik lezyonlar olmadan da HSV-2 menenjitinin gelişebileceği, VZV'ye bağlı MSS infeksiyonlarının döküntüsüz hastalarda da olabileceği anlaşılmış ve MSS infeksiyonu yapan yeni viruslar (Hendra, Nipah) belirlenmiştir^(11,23,50). HSV ensefalitinde erken tanı sayesinde başlanacak asiklovir tedavisi, prognozu önemli ölçüde etkilemektedir.

Nükleik asit testlerinde örneklerin alınması, transportu, saklanması ve nükleik asit ekstraksiyonu, önemli ve hataya açık basamaklardır. BOS, basit yapısı nedeniyle PCR'da, direkt olarak kullanılabilir. Ancak nükleik asidi konsantre eden, degrade edici enzimlerden ve amplifikasyonu engelleyici inhibitörlerden arındıran bir ekstraksiyon yöntemi, daha güvenilir ve duyarlı sonuçlar sağlar⁽¹³⁾. BOS örneklerinin % 1-10'unda inhibitörlerin varlığı saptanmıştır⁽⁴⁴⁾. Yöntem seçiminde, nükleik asidin yapısı, laboratuvarın deneyimi, kullanılacak amplifikasyon yöntemi, istenen duyarlılık, örnek miktarı, maliyet, otomatizasyon gereksinimi gibi faktörler rol oynar.

Birçok virus benzer klinik tablolar oluşturabileceği için, eş zamanlı birden fazla etkeni belirleyebilecek PCR yöntemleri tanımlanmıştır. Bu amaçla multipleks PCR veya ortak bölge öncüllerini (konsensus primerler) kullanan yöntemler geliştirilmiştir. Multipleks PCR uygulamalarına, herpesvirus ailesi⁽³⁶⁾, herpesvirus + enterovirus⁽⁸⁾, kızamık + kızamıkçık + parvovirus B19⁽²⁹⁾, arboviruslar⁽²⁰⁾ için tasarlanan testler örnek olarak verilebilir. Herpesviruslar için geliştirilmiş, ortak DNA polimeraz genini hedef alan "stair primerler" (basamaklı öncüller) kullanan ticari bir sistem bulunmaktadır⁽⁵⁾.

VİRAL MSS İNFEKSİYONLARINDA ETKENE GÖRE TANI

HERPESVİRUSLAR

Herpes simplex virus tip 1 ve 2 (HSV 1 ve 2)

Neonatal dönem dışında, sporadik fatal ensefalitin en sık nedeni HSV-1'dir. A.B.D. ve bazı Avrupa ülkelerinde HSV ensefalitinin yıllık insidansı 1-3 / 1,000,000 kişi olarak bildirilmiştir^(23,31). Viral ensefalitlerin yaklaşık % 10-20'sinden sorumludur. Antiviral tedavi yapılmazsa, mortalite >% 70 olup, normal fonksiyonları geri kazanma oranı % 2.5'dur⁽⁵⁰⁾.

Yeterli doz ve sürede uygulanan asiklovir ile tedavinin 6. ayındaki mortalitenin % 20'ye düşürülebileceği gösterilmiştir⁽⁴⁴⁾. Virus, üç klinik tablo oluşturur: neonatal HSV infeksiyonu (sıklıkla HSV-2), ensefalit (sıklıkla HSV-1), menenjit (sıklıkla HSV-2). HSV ensefalitinde fokal nekrotik tutulum, tipik olarak medial temporal ve/veya inferior frontal lobdadır. Ensefalitte BOS'da virus kültürünün başarısı % 5'i aşmadığı için, kliniğin ilk iki haftası için BOS'da PCR ile nükleik asidin, geç dönemde (10. günden sonra) ise intratekal antikorların saptanması önerilir⁽²³⁾. İntratekal özgül IgG pozitifliği 10-12. günde başlamakta, 20. günde tepe noktasına ulaşarak yıllarca devam edebilmektedir. BOS alımının zamanlaması PCR için önemlidir. BOS'un erken dönem (ilk 48-72 saat) veya tedavi sonrası geç dönem alınması, PCR negatifliğine yol açabilir. Test negatif olmasına karşın, klinik şüphenin sürdüğü olgularda, BOS alımının tekrarlanarak PCR'ın yinelenmesi ve geç dönemde intratekal antikorların araştırılması tanı koydurabilir (11,35,41).

BOS'da HSV DNA PCR yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü > % 95 olarak saptanmıştır^(21,23). HSV 1 ve 2'nin, benzer tablolar oluşturabilmeleri nedeniyle birlikte aranmaları önerilir. PCR'da hedef olarak değişik genom bölgeleri (timidin kinaz, DNA polimeraz, gpB gpC, gpG, gpD, vb) kullanılabilir (11,44). Tanıda PCR kullanımı ile HSV-1/2'nin beyin sapı ensefaliti, miyelit, Bell paralizi, multifokal / diffüz ensefalit yapabileceği ve HSV-2'nin, benign karakterli Mollaret menenjitinin en sık nedeni olduğu gösterilmiştir⁽⁴¹⁾. HSV-2, genellikle primer genital infeksiyon sırasında MSS tutulumu yapmakla birlikte, genital lezyonu olmayan bireylerde de menajite yol açabilmektedir. HSV menenjitleri, viral menenjitlerin % 1-3'ünü oluşturur. HSV ensefalitlerinin 1/5'de kliniğin hafif ve yavaş gidişli olabileceği, bu durumun sıklıkla bağışık sistem sorunu (kortikosteroid kullanımı, HIV infeksiyonu) bulunan hastalarda görüldüğü bildirilmiştir (9,12,14).

BOS'da HSV DNA'nın varlığı HSV'ye bağlı MSS infeksiyonu tanısı koydurur. Ancak bağışık sistemi baskılanmış bireylerde, özellikle düşük miktarlarda HSV DNA varlığı, her zaman hastalığın kanıtı olmayabilir. Viral DNA kantitasyonunun tanıda yol gösterici olabileceği düşünülmektedir⁽¹⁾. BOS HSV DNA miktarı ile hastalığın ciddiyeti ve prognozu arasındaki ilişkiye dair çelişkili raporlar bulunmaktadır⁽⁴⁴⁾. Kantitasyonun klinik anlamı henüz tartışmalı olmakla birlikte, özellikle "real-time PCR" ile hassas ve hızlı kantitasyon yapılabilmesi, bu konuda gereksinim duyulan bilgi birikimini sağlayabilir. Kantitatif testler tedavi başarısının izleminde de kullanılabilir. BOS'da HSV DNA, asiklovir tedavisinin başlamasından sonra bir hafta kadar pozitif kalabilmektedir⁽¹¹⁾. Tedaviye karşın HSV DNA pozitifliğinin devam etmesi, kötü prognozla ilişkili bulunmuştur⁽³¹⁾.

Pleositozun saptanmadığı, BOS protein düzeyinin normal

olduğu durumlarda HSV'ye bağlı MSS infeksiyonu olasılığı zayıftır. HSV DNA PCR testinin gereksiz kullanımını önlemek için test öncesi bu parametrelerin değerlendirilmesi önerilmişse de, "normal" BOS'da da herpesviruslar saptanabilir^(11,23,44).

Varicella zoster virus (VZV)

Suçiçegine bağlı en sık görülen MSS komplikasyonu, bağışık yanıt sonucu gelişen serebellar ataksidir (1/4000 olgu). Menenjit ve ensefalit nadir olup, zonada, suçiçegine göre daha sıktır. Deri döküntüleri olmadan da görülebilir⁽²³⁾.

Finlandiya'da yapılan bir çalışmada, mikrobiyolojik tanı konabilen çocukluk çağı ensefalitlerinde, VZV, en sık saptanan etken olmuştur⁽¹⁹⁾. Bağışık sistemi baskılanmış hastalarda, ensefalit, menenjit, miyelit, vaskulit yapabilir. AIDS olgularında görülme sıklığı % 1-4'dür⁽²³⁾. Güçlü antiretroviral tedavi (HAART) ile VZV infeksiyonlarının sıklığı ve ciddiyetinin azaldığı saptanmıştır. BOS'tan virus izolasyonu nadiren mümkün olup, olasılık, zonaya bağlı nörolojik komplikasyonlarda ve immunsupresif hastalarda daha fazladır. Antijen saptama testlerinin duyarlılığı, deri lezyonlarında > % 90 olmasına rağmen, BOS'da yetersizdir. Tanıda BOS'da PCR ve intratekal antikorların saptanması önerilmektedir. HIV pozitif hastalarda BOS VZV DNA pozitifliğinin izlenmesi ile tedaviye verilen yanıt ve prognozun ilişkili olduğu saptanmıştır. AIDS olgularında MSS semptomları olmadan da BOS'ta VZV DNA pozitifliği bildirilmiştir^(10,23,41).

Intratekal antikorlar nörolojik bulguların başlamasından beş altı gün sonra saptanabilir. Bazı olgularda VZV ve HSV antikorlarının birlikte saptanması, çapraz reaksiyon, anamnestic yanıt veya poliklonal aktivasyon olarak kabul edilmişse de, BOS'da her iki virus DNA'sının pozitif bulunabilmesi, ikili infeksiyon veya viral reaktivasyon olasılığını desteklemektedir⁽²³⁾.

BOS ve aurikular vezikül sıvısında VZV DNA'nın saptanması ile virusun, fasiyal paralizilere ve Ramsey Hunt sendromuna yol açabildiği gösterilmiştir⁽⁴¹⁾.

Cytomegalovirus (CMV)

CMV, sağlıklı kişilerde nadir olarak ensefalite yol açar. Ancak immunsupresif hastalarda sinir sistemi tutulumları (ensefalit, meningoensefalit, meningoradikülit, miyelit, poliradikülit, periferik nöropati) sık görülür. Otopside, AIDS olgularının % 10-30'unda, transplant alıcılarının % 2'sinde, CMV'ye bağlı MSS infeksiyonu saptanmıştır⁽²⁾.

CMV, hücre kültüründe yavaş (1-8 hafta) ürer. Neonatal dönem dışında BOS'tan izolasyonu çok nadirdir. HIV pozitiflerde, poliradikülopatili veya pleositozun eşlik ettiği MSS infeksiyonlarında, BOS'tan izolasyon şansı daha fazladır⁽²³⁾. AIDS hastalarında, BOS lökositlerinde pp65 antijenin saptanmasının duyarlılık ve özgüllüğü > % 90 olarak bildirilmiştir⁽³⁹⁾. Immunsupresif hastalarda, referans tanı yöntemi, BOS'ta CMV DNA'nın saptanmasıdır. CMV DNA

kantitasyonu ile klinik ve prognoz arasındaki ilişki araştırılmaktadır⁽²³⁾.

Epstein-Barr virus (EBV)

İnfeksiyöz mononukleozaya bağlı MSS komplikasyonları (miyelit, meningoensefalit, menenjit, kraniyal / periferik nöropatiler, Guillain-Barre sendromu), olguların % 1'inde görülmekte ve EBV DNA BOS'ta saptanabilmektedir⁽⁴⁹⁾. MSS infeksiyonu, infeksiyöz mononukleoz dışında da gelişebilir.

BOS'ta viral DNA, seropozitif sağlıklı bireylerde bulunmamaktadır. Ancak başka etkenlere bağlı MSS infeksiyonları sırasında saptanabilmesi, EBV'nin subklinik reaktivasyonu ile açıklanmaktadır. BOS'da EBV DNA kantitasyonunun, hastalığı reaktivasyondan ayırmada kullanılabileceği ileri sürülmüştür⁽⁴⁹⁾.

EBV, AIDS başta olmak üzere, immunsupresif hastalarda MSS lenfomasına yol açmaktadır. Terminal dönem AIDS'de, EBV'ye bağlı lenfoma sıklığı % 5-10'dur. Söz konusu olgularda, BOS'ta EBV DNA varlığı % 100'e varan duyarlılıkla, bir tümör göstergesi olarak kullanılmaktadır⁽¹¹⁾. Testin, radyolojik bulgular ortaya çıkmadan önce pozitifleşebildiği gösterilmiştir. Ancak, lenfoması olmayan ve izlemde lenfoma gelişmeyen olgularda da BOS'ta EBV DNA saptanabilmekte, bunun klinik anlamı bilinmemektedir. Kantitatif bir çalışmada, bu tür olgulardaki BOS EBV DNA düzeyinin düşük (10^2 - 10^3 kopya/ml) olduğu saptanmış, bunun lenfoma dışı MSS infeksiyonu veya EBV reaktivasyonu ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür⁽¹⁾. EBV'ye bağlı lenfomanın diğer bir tanı yöntemi, beyin biyopsisi ile alınan tümör hücrelerinde EBV antijenlerinin (latent membran proteinlerin) gösterilmesidir⁽²³⁾. Intratekal antikor sentezi ise sınırlı sayıda olguda gösterilmiştir.

Human herpes virus 6, 7 ve 8 (HHV-6, 7 ve 8)

HHV-6, febril ve febril olmayan konvülsiyon, menenjit ve ensefalite neden olabilmektedir. BOS'ta HHV-6 DNA'sı, bir yaş altı febril konvülsiyonlu çocukların % 50'sinden fazlasında saptanabilmektedir⁽⁴¹⁾. Virus, özellikle üç yaş altı sağlıklı çocuklarda, MSS'de kalıcı olarak bulunmakta ve asemptomatik bireylerde de BOS'ta saptanabilmektedir⁽¹⁾. Bu nedenle BOS'ta viral DNA varlığının klinik anlamı şüphelidir. Az sayıda olguda ölüm veya nörolojik sekel bildirilmiştir. HHV-6, mononükleer hücrelerden izole edilebilir ancak BOS'tan izolasyonu bildirilmemiştir. Beyin biyopsisinde immunohistokimyasal yöntemlerle viral antijenler saptanabilir⁽²³⁾.

HHV-7 ve 8'in nörolojik infeksiyonlardaki rolü tam olarak bilinmemekle birlikte, HHV-7 DNA'sı ekzanem subitum ve ensefalitli çocukların serum ve BOS'larında gösterilmiştir. HHV-8, bağışık sistemi baskılanmış ensefalitli hastalarda saptanmıştır⁽⁴¹⁾.

ENTEROVİRUSLAR

Enteroviruslar, beş tür altında gruplanan 60'dan fazla serotip içerir ve tüm dünyada, aseptik menenjitin en sık nedenidir. Etiyolojinin belirlendiği aseptik menenjit olgularının % 85-95'inden polio-dışı enteroviruslar sorumludur⁽⁴⁰⁾. Türkiye'de yapılmış iki ayrı çalışmada, çocukluk çağı akut aseptik menenjitlerinde, enteroviruslar % 38 ve % 63 oranında etken olarak saptanmışlardır^(16,42).

Enteroviruslar, ılıman iklimlerde, yaz ve sonbahar aylarında daha sık görülürler. Her bir enterovirus sezonunda toplumda bir iki serotip dolaşmaktadır. Baskın serotipler, toplumdaki duyarlı popülasyonun çoğalma hızına bağlı olarak değişen periyodlarla salgınlar oluştururlar. Enteroviral menenjitlerde endemik patern gösteren (her yıl infeksiyon oluşturan) serotipler, özellikle bir yaş altı çocuklarda sık saptanır. Sıklıkla menenjit yapan polio-dışı enteroviruslar, coxsackie B2, B5, echovirus 4, 6, 9, 11, 16, 30, enterovirus 70, 71'dir⁽⁴⁰⁾. Poliovirusa bağlı menenjit, klinik olarak diğer enteroviruslardan ayrılmaz. Enterovirus 71, polio benzeri epidemik paralitik hastalık oluşturabilir. Türkiye'de, 1999 yılında, Antalya ve Ankara'da echovirus 30'a bağlı salgınlar saptanmıştır⁽³³⁾.

Enteroviral menenjitte klinik, yaş ve immunsupresyon ile ilişkilidir. Yenidoğan döneminde mortalite % 10, morbidite % 70'e kadar çıkabilir. Büyük çocuk ve erişkinlerde genellikle sekel bırakmadan iyileşir. Agamma- veya hipogammaglobulinemili olgularda, kronik menenjit veya meningoensefalit ile giden persistan enterovirus infeksiyonu gelişebilir. Hastalık yıllar sürer ve genellikle fatal sonuçlanır. Kemik iliği transplantasyonu sonrası erken dönemde, mortalite ile sonuçlanabilen enterovirus infeksiyonları bildirilmiştir⁽⁴⁰⁾.

Enterovirus menenjitini tanısında, BOS'dan yapılan hücre kültürünün duyarlılığı % 50-70'dir^(6,40). BOS dışı örneklerde (boğaz sürüntüsü ve dışkı) üreme olması, dolaylı tanı konmasını sağlar. Ancak, enteroviruslar, sıklıkla MSS dışı infeksiyonlar oluşturdukları ve infeksiyondan sonra virus saçımı haftalarca devam edebildiği için BOS dışı materyalde virusun saptanmasının tanısız değeri zayıftır. Enterovirus menenjitinde BOS'taki virus miktarı 10–1000 TCID₅₀ /ml kadar düşük olabilir ve kültürde üreme günler sürebilir⁽⁴⁰⁾. İzole edilen virusun serotiplendirilmesinde "altın standart", Lim ve Benyesh-Melnick (LBM) havuz antikorlarının kullanımı ile yapılan nötralizasyon testidir⁽⁴⁰⁾.

BOS'ta enterovirus RT-PCR testinin duyarlılık ve özgüllüğü >% 90'dır. Pan-enterovirus nükleik asit saptama testlerinde hedef olarak korunmuş diziler içeren bölgeler (sıklıkla 5'NTR) kullanılmaktadır⁽⁴⁸⁾. Moleküler tiplendirme, genellikle, kültürde izole edilen virus ile yapılmakla birlikte, direkt hasta örneğinden yapılmasına ilişkin çalışmalar da bulunmaktadır. Bu amaçla, değişken VP1, VP2 bölgelerine yönelik dejenere primerlerle yapılan PCR ürünlerinin dizi

analizi kullanılmaktadır. Serotipe özgü primerler de geliştirilmiştir.

BOS'da veya serumda özgül antikorların saptanması, çok sayıda serotip bulunması nedeniyle sorunludur⁽⁴⁰⁾.

ARBOVİRUSLAR

Artropodların bulaştırdığı onlarca virus, ensefalite yol açan önemli bir grubu oluşturmaktadır. Vektör ve rezervuara bağlı olarak, dünya üzerindeki dağılımları coğrafi ve mevsimsel farklılıklar göstermektedir. Hepsi RNA virusudur. Bunlardan Batı Nil virusu, Toscana virus ve Orta Avrupa ensefalit virusu, Avrupa ve Orta Doğu'da bulunmaları nedeniyle Türkiye açısından önem taşımaktadır^(46,47). Öte yandan, günümüz koşullarında, virusların doğal coğrafi alanları dışında da saptanabildiği hatırlanmalıdır (ör: Batı Nil virusunun New York'ta salgın yapması) .

Batı Nil virusu

Virus, kuş-sivrisinek-kuş döngüsü sırasında, sivrisinekler tarafından insanlara bulaştırılır. İnsidans, özellikle yaz sonu ve sonbaharda artmaktadır. İnfekte bireylerin 1/150'sinde nörolojik hastalık (genellikle menenjit veya ensefalit) gelişir. Özellikle 50 yaşın üzerinde, hastalık şiddetli seyretmekte ve ölüm riski artmaktadır⁽⁷⁾.

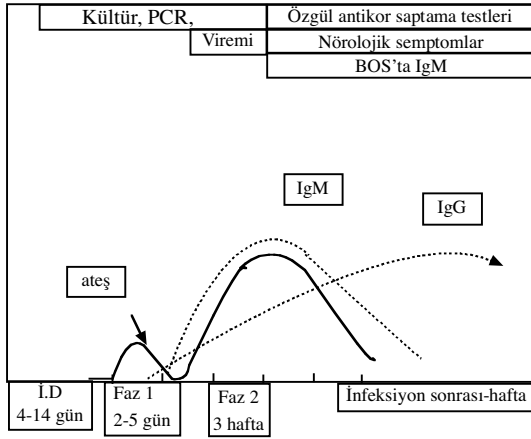
Viral tanıda en etkin yol, serum veya BOS'da özgül IgM antikorlarının saptanmasıdır. Flaviviruslar arasındaki antijenik benzerlik nedeniyle, pozitif sonucun özgüllüğünün, nötralizasyon testi ile doğrulanması önerilir. İnfeksiyonun ilk haftasında IgM negatif saptanabilir, konvalesan dönemde tekrarı gerekir. Serumdaki IgM pozitifliği, bazı olgularda aylarca devam edebilmektedir^(7,26). Virus, BOS ve serumda kısa süre kalmakta, semptomların geliştiği dönemde genellikle saptanamamaktadır. New York salgınında, viral nükleik asit BOS örneklerinin % 55'inde, serum örneklerinin ise % 14'ünde gösterilebilmiştir⁽²²⁾. Kültür ve antijen arama testleri ise düşük duyarlılık nedeniyle kullanılmamaktadır.

Toscana virus ve orta Avrupa ensefalit virusu

Toscana virus, tatarcık humması viruslarından olup, nörotrop özellik gösterir. Özellikle yaz aylarında, çocuk ve erişkinlerde menenjit ve hafif seyirli ensefalite yol açar. İtalya, İspanya, Portekiz ve Kıbrıs'tan olgular bildirilmiştir. Tanı, diğer arboviruslarda olduğu gibi BOS ve serumda özgül antikorların saptanması ve BOS'ta viral nükleik asidin gösterilmesi ile konur⁽⁴⁷⁾.

Orta Avrupa ensefalit virusu, kene ile bulaşan flaviviruslardan biridir. İnsidans aşılınmamış bireylerde 50/100,000 olarak bildirilmiştir. İnfekte olguların 1/250-300'ünde MSS tutulumu gelişmektedir. Hastalık bifazik karakterlidir, nörolojik semptomlar ikinci fazda ortaya çıkar (Şekil). Virus kültürü ve nükleik asit saptama testleri, hastalığın

viremik fazında başarılı olurken, nörolojik semptomların ortaya çıktığı ikinci fazda özgül antikorlar bulunur. Hastalığın 10.gününden itibaren BOS'ta viral antikorlar saptanabilmektedir⁽¹⁷⁾.



Şekil : Kene ile bulaşan ensefalit viruslarında bifazik klinik (İ.D: inkübasyon dönemi)⁽¹⁷⁾

KAYNAKLAR

1. Aberle SW, Puchhammer-Stöckl E: Diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system, J Clin Virol 2002;25:S79-85.
2. Arribas RJ, Stroch AG, Clifford BD, Tselis CA: Cytomegalovirus encephalitis, Ann Intern Med 1996;125:577-87.
3. Bale JF: Diagnosis and management of viral encephalitis, Infect Med 1998;15:547-56.
4. Blennow K, Fredman P, Wallin A et al: Formulas for the quantitation of intrathecal IgG production. Their validity in the presence of blood-brain barrier damage and their utility in multiple sclerosis, J Neurol Sci 1994;121:90-6.
5. Bouquillon C, Dewilde A, Andreoletti L et al: Simultaneous detection of 6 human herpesviruses in cerebrospinal fluid and aqueous fluid by a single PCR using stair primers, J Med Virol 2000;62:349-53.
6. Buck GE, Wiesemann M, Stewart L: Comparison of mixed cell culture containing genetically engineered BGMK and CaCo-2 cells (Super E-mix) with RT-PCR and conventional cell culture for the diagnosis of enterovirus meningitis, J Clin Virol 2002;25:S13-8.
7. Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ: West Nile virus, Lancet Infect Dis 2002;2:519-29.
8. Casas I, Pozo F, Trallero G et al: Viral diagnosis of neurological infection by RT multiplex PCR: A search for entero- and herpesviruses in a prospective study, J Med Virol 1999;57:145-51.
9. Cinque P, Bossolasco S, Lundkvist A: Molecular analysis of cerebrospinal fluid in viral diseases of the central nervous system, J Clin Virol 2003; 26:1-28.
10. Cinque P, Bossolasco S, Vago L et al. Varicella-zoster virus (VZV) DNA in cerebrospinal fluid of patients infected with human immuno-

deficiency virus: VZV disease of the central nervous system or subclinical reactivation of VZV infection? Clin Infect Dis 1997;25:634-9.

11. Cinque P, Cleator GM, Weber T, Monteyne P, Sindic CJ, van Loon AM: The role of laboratory investigation in the diagnosis and management of patients with suspected herpes simplex encephalitis: a consensus report, J Neurol Neurosurg Psychiatry 1996;61:339-45.
12. Domingues RB, Tsanacis AMC, Pannuti CS, Mayo MS, Lakeman FD: Evaluation of the range of clinical presentations of herpes simplex encephalitis by using polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid samples, Clin Infect Dis 1997;25: 86-91.
13. Fahle GA, Fischer SH: Comparison of six commercial DNA extraction kits for recovery of cytomegalovirus DNA from spiked human specimens, J Clin Microbiol 2000;38:3860-3.
14. Fodor PA, Levin MJ, Weinberg A et al: Atypical herpes simplex virus encephalitis diagnosed by PCR amplification of viral DNA from CSF, Neurology 1998;51:554-9.
15. Griffin DE: Encephalitis, myelitis, neuritis, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infective Diseases, 5. baskı" kitabında s.1011, Churchill Livingstone, Philadelphia (2000).
16. Guney C, Ozkaya E, Yapar M, Gumus I, Kubar A, Doganci L: Laboratory diagnosis of enteroviral infections of the central nervous system by using a nested RT-polymerase chain reaction (PCR) assay, Diagn Microbiol Infect Dis 2003;47(4):557-62.
17. Holzmann H: Diagnosis of tick-borne encephalitis, Vaccine 2003;21: S1/36-40.
18. Hosoya M, Sato M, Honzumi K et al: Application of polymerase chain reaction and subsequent phylogenetic analysis to the diagnosis of enteroviral infection in the central nervous system, J Clin Virol 2002;25:S27-38.
19. Koskiniemi M, Korppi M, Mustonen K et al: Epidemiology of encephalitis in children. A prospect ve multicentre study, Eur J Pediatr 1997;156:541-5.
20. Kuno G: Universal diagnostic RT-PCR protocol for arboviruses, J Virol Methods 1998;72:27-41.
21. Lakeman FD, Whitley RJ and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group: Diagnosis of herpes simplex encephalitis: Application of polymerase chain reaction to cerebrospinal fluid from brain-biopsied patients and correlation with disease, J Infect Dis 1994;171:857-63.
22. Lanciotti RS, Kerst AJ, Nasci RS et al: Rapid detection of West Nile virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay, J Clin Microbiol 2000;38:4066-71.
23. Linde A, Klapper PE, Monteyne P et al: Specific diagnostic methods for herpesvirus infections of the central nervous system: A consensus review by the European Union Concerted Action on Virus Meningitis and Encephalitis, Clin Diagn Virol 1997;8:83-104.
24. Link H, Muller R: Immunoglobulins in multiple sclerosis and infections of the nervous system, Arch Neurol 1971;25:326-44.
25. Marshall GS, Hauck MA, Buck G, Rabalais GP: Potential cost savings through rapid diagnosis of enteroviral meningitis, Pediatr Infect Dis J 1997;16:1086-7.

26. Martin DA, Muth DA, Brown T et al: Standardization of immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assays for routine diagnosis of arboviral infections, *J Clin Microbiol* 2000;38:1823-6.
27. Mitchell PS, Espy MJ, Smith TF et al: Laboratory diagnosis of central nervous system infections with herpes simplex virus by PCR performed with cerebrospinal fluid specimens, *J Clin Microbiol* 1997;35:2873-7.
28. Monteyne P, Albert F, Weissbrich B: The detection of intrathecal synthesis of anti-herpes simplex IgG antibodies: Comparison between an antigen-mediated immunoblotting technique and antibody index calculations, *J Med Virol* 1997;53:324-31.
29. Mosquera Mdel M, de Ory F, Moreno M, Echevarria JE: Simultaneous detection of measles virus, rubella virus, and parvovirus B19 by using multiplex PCR, *J Clin Microbiol* 2002;40:111-6.
30. Muir P, Kammerer U, Korn K et al: Molecular typing of enteroviruses: Current status and future requirements, *Clin Microbiol Rev* 1998;11:202-27.
31. Najioullah F, Bosshard S, Thouvenot D et al: Diagnosis and surveillance of herpes simplex virus infection of the central nervous system, *J Med Virol* 2000;61:468-73.
32. Nowak DA, Boehmer R, Fuchs H-H: A retrospective clinical, laboratory and outcome analysis in 43 cases of acute aseptic meningitis, *Eur J Neurol* 2003;10:271-80.
33. Ozkaya E, Hizel K, Uysal G et al: An outbreak of aseptic meningitis due to echovirus type 30 in two cities of Turkey, *Eur J Epidemiol* 2003;18:823-6.
34. Petersen LR, Marfin AA: West Nile virus: A primer for the clinician, *Ann Intern Med* 2002;137:173-9.
35. Puchhammer-Stöckl E, Prestler E, Croy C et al: Screening for possible failure of herpes simplex virus PCR in cerebrospinal fluid for the diagnosis of herpes simplex encephalitis, *J Med Virol* 2001;64:531-6.
36. Quereda C, Corral I, Laguna F et al: Diagnostic utility of a multiplex herpesvirus PCR assay performed with cerebrospinal fluid from human immunodeficiency virus-infected patients with neurological disorders, *J Clin Microbiol* 2000;38:3061-7.
37. Ramers C, Billman G, Hartin M, Ho S, Sawyer MH: Impact of a diagnostic cerebrospinal fluid enterovirus polymerase chain reaction test on patient management, *JAMA* 2000;283:2680-5.
38. Reiber H, Lange P: Quantification of virus-specific antibodies in cerebrospinal fluid and serum: sensitive and specific detection of antibody synthesis in brain, *Clin Chem* 1991;37:1153-60.
39. Revello MG, Percivalle E, Sarasini A et al: Diagnosis of human cytomegalovirus infection of the nervous system by pp65 detection in polymorphonuclear leukocytes of cerebrospinal fluid from AIDS patients, *J Infect Dis* 1994;170:1275-9.
40. Rotbart HA: Viral meningitis, *Semin Neurol* 2000; 20(3):277-92.
41. Sauerbrei A, Wutzler P: Laboratory diagnosis of central nervous system infections caused by herpesviruses, *J Clin Virol* 2002;25:S45-51.
42. Sayiner AA, Oktem IMA, Ergani A, Ergon C, Kurul S, Abacioglu YH: Detection of herpes simplex virus DNA and enterovirus RNA in cerebrospinal fluid using PCR and microplate or strip hybridization assay (abstract), *Clin Microbiol Infect* 2003;9(Suppl 1):410.
43. Stellrecht KA, Harding I, Woron AM, Lepow ML, Venezia RA: The impact of an enteroviral RT-PCR assay on the diagnosis of aseptic meningitis and patient management, *J Clin Virol* 2002;25:S19-26.
44. Tang Y, Mitchell PS, Espy MJ, Smith TS, Persing DH: Molecular diagnosis of herpes simplex virus infections in the central system, *J Clin Microbiol* 1999;37:2127-36.
45. Trimachi CV: Rabies, "Specter S, Hodinka RL, Young SA (eds): Clinical Virology Manual" kitabında s.338-55, ASM Press, Washington (2000).
46. Tsai TF, Chandler LJ: Arboviruses. "Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover JC (eds): Manual of Clinical Microbiology, 8. baskı" kitabında s.1553-69, ASM Press, Washington (2003).
47. Valassina M, Cusi MG, Valensin PE: A Mediterranean arbovirus: The Toscana virus, *J Neurovirol* 2003;9:577-83.
48. Verstrepen WA, Bruynseels P, Mertens AH: Evaluation of a rapid real-time RT-PCR assay for detection of enterovirus RNA in cerebrospinal fluid specimens, *J Clin Virol* 2002;25:S39-43.
49. Weinberg A, Shaobing L, Palmer M, Tyler KL: Quantitative CSF PCR in Epstein-Barr virus infections of the central nervous system, *Ann Neurol* 2002;52:543-8.
50. Whitley RJ, Gnann JW: Viral encephalitis: familiar infections and emerging pathogens, *Lancet* 2002;359:507-14.