

**T.C.  
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI**

**ASEPTİK MENENJİT VE KARDİT ETYOLOJİSİNDE  
ENTEROVİRUSLERİN CHIP TEKNİĞİ (MICROARRAY) İLE  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Sinan KARAKADIOĞLU**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Tamer ŞANLIDAĞ**

**MANİSA, 2007**

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimimde deneyim ve bilgilerinden yararlandığım çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Beril ÖZBAKKALOĞLU' na tez çalışmalarımıdaki yardım ve katkılarından dolayı tez danışmanım hocam Sayın Prof. Dr. Tamer ŞANLIDAĞ' a, ayrıca yetişmemde emeği geçen Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Doç. Dr. Kenan DEĞERLİ, Doç. Dr. Semra KURUTEPE, Yrd. Doç. Dr. Sinem AKÇALI, Yrd. Doç. Dr. Nuri ÖZKÜTÜK, Yrd. Doç. Dr. Talat ECEMİŞ ve Yrd. Doç. Dr. Hörü GAZİ' ye teşekkür ederim.

Ayrıca tüm asistan arkadaşlarıma ve bugünlere gelmemde emekleri olan aileme teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER

## ÖZET

## İNGİLİZCE ÖZET

1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL GİLGİLER.....	3
2.1. ENTEROVİRUSLAR.....	3
2.1.a. Sınıflama .....	3
2.1.b. Virus yapısı.....	3
2.1.c. Patogenez .....	4
2.1.d. Epidemiyoloji.....	5
2.1.e. Klinik .....	5
2.1.f. Tedavi, Kontrol ve Korunma .....	6
2.1.g. Laboratuvar tanı .....	7
2.1.g.a. Klinik biyokimya.....	7
2.1.g.b. Kültür.....	7
2.1.g.c. Seroloji.....	7
2.1.g.d. PCR.....	7
2.1.g.e. Microarray (Chip tekniği) .....	7
2.2. POLİOVİRUSLAR .....	8
2.2.a. Asemptomatik hastalık.....	8
2.2.b. Abortif (Minör hastalık).....	8
2.2.c. Paralitik olmayan poliomyelit.....	8
2.2.d. Paralitik poliomyelit (Majör hastalık).....	8
2.3. COXACKİE VE ECHO VİRUSLAR .....	9
2.3.a. Herpanjina .....	9
2.3.b. El-ağız ve ayak hastalığı.....	9
2.3.c. Pleurodini (Bornholm hastalığı) .....	10
2.3.d. Ateş ve ekzantem (Akut ateşli hastalık) .....	10
2.3.e. Viral (Aseptik) menenjit.....	10
2.3.f. Kalp hastalıkları .....	10
2.3.g. Diğer enterovirüs hastalıkları.....	11
2.4. ASEPTİK MENENJİTLER.....	11
2.4.a. Etiyoloji.....	11
2.4.b. Patogenez .....	12
2.4.c. Klinik bulgular .....	14
2.4.d. Tanı.....	16
2.4.e. Tedavi.....	17
2.5. MİYOKARDİT.....	18
2.5.a. Etiyoloji .....	18
2.5.b. Patogenez.....	20
2.5.c. Klinik bulgular .....	21
2.5.d. Tanı.....	21
2.5.e. Tedavi.....	21
2.6. PERİKARDİT.....	22
2.6.a. Etiyoloji.....	22
2.6.b. Patogenez.....	24
2.6.c. Klinik bulgular .....	24
2.6.d. Tanı .....	25
2.6.e. Tedavi .....	25

2.7. ENTEROVİRUSLARIN TANISINDA PRODECT BCS EV CHİP TEKNIĞİ (MİCROARRAY).....	25
2.7.a. Örneklerin seçimi.....	26
2.7.b. Ekstraksiyon.....	26
2.7.c. Reverse transkripsiyon.....	26
2.7.d. Amplifikasyon .....	26
2.7.e. Hibridizasyon.....	26
2.7.f. Virusun saptanması ve kolorimetrik reaksiyon.....	27
2.7.g. Sonuçların yorumlanması .....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	28
3.1. Klinik örnekler.....	28
3.2. Ekstraksiyon.....	28
3.3. Reverse transkripsiyon.....	28
3.4. Amplifikasyon.....	29
3.5. Hibridizasyon.....	29
3.6. Virusun saptanması ve kolorimetrik reaksiyon.....	29
4. BULGULAR.....	30
5. TARTIŞMA.....	34
6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	39
7-EKLER.....	40
8. KAYNAKLAR.....	42

## ÖZET

Enterovirüsler dünyada yaygın olarak bulunan patojen etkenlerdendir. İsmine tersine enterovirüsler genellikle enterik rahatsızlığa yol açmazlar fakat fekal-oral yol ile bulaşır. Kötü kanalizasyon sistemi ve kalabalık yaşam enterovirüslerin yayılmasını kolaylaştırır. İçme sularına kanalizasyon sisteminin sızması ile epidemiler oluşturabilirler. Enterovirüs infeksiyonları genellikle asemptomatik seyirli fakat soğuk algınlığından paralizik hastalığa kadar değişkenlik gösteren semptomlar görülebilir. Temel olarak virüsün sitopatik etkisi ve dokulara olan etkisindeki farklılıklar sonucunda değişik klinik tablolar ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmada 50'si aseptik menenjit veya kardit tanısı almış hastalardan ve kontrol grubunu oluşturan 50 kişiden alınan 100 klinik örnekte enterovirüsler araştırılmıştır. Hasta grubundan beyin-omurilik sıvısı (BOS) (n=40) ve kan örnekleri (n=10); kontrol grubundan ise (nörolojik sebepler nedeniyle yatan hastalar) BOS örnekleri alınmıştır. Klinik örneklerde, Chip tekniği (microarray yöntemi) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda, enterovirüslerin varlığı araştırılmıştır. Aseptik menenjit tanısı almış 2 hastanın BOS örneklerinde ve kardit tanısı almış 3 hastanın kan örneklerinde enterovirüsler saptanmıştır. Virüslerin tiplendirilmesi sonucunda bunların Enterovirüs tip 71 ve Coxackie virüs tip 16 olduğu anlaşılmıştır. Kontrol grubunda ise enterovirüs saptanmamıştır.

Sonuç olarak, enterovirüslerin saptanmasında microarray yönteminin tek bir tanısal araç ile tiplendirme olanağı sağlamasının yanı sıra duyarlı ve hızlı olması nedeni ile kullanışlı bir yöntem olduğu düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Aseptik menenjit, kardit, enterovirüsler, chip tekniği (microarray)

## **DETECTION OF ENTEROVIRUSES BY CHIP TECHNOLOGY (MICROARRAY) IN ASEPTIC MENINGITIS AND CARDITIS ETIOLOGY**

The enteroviruses are widespread human pathogens. Contrary to their name enteroviruses do not usually cause enteric disease but are transmitted by the fecal-oral route. Poor sanitation and crowded living conditions foster transmission of the viruses. Sewage contamination of water supplies can result in enterovirus epidemics. Enterovirus infections are usually asymptomatic but can cause symptoms ranging from coldlike symptoms to paralytic disease. The differences in the nature of the diseases produced enteroviruses result mainly from differences in tissue tropism and cytopathic capacity of the virus.

In this research, enterovirus search was made among 100 clinical specimens, half of which were patients that have been diagnosed as aseptic meningitis and carditis and the other half of them were control group. CSF (n=40) and blood (n=10) samples were taken from the patient group and CSF was taken from the control group (patients who were hospitalized for neurological reasons). They were all examined for enterovirus by chip technology (microarray method) in a way explained by the manufacturer. Enterovirus was found positive in the CSF specimens of two patients with aseptic meningitis and in the blood specimens of 3 patients with carditis. Typing of the enterovirus showed that these were coxsackievirus A 16 and enterovirus 71. No enteroviruses are detected in the control group.

In conclusion; as the microarray based enterovirus detection assay is sensitive, rapid and provides a single format diagnostic tool for typing, it is a useful test.

**Key words:** Aseptic meningitis, carditis, enteroviruses, chip technology (microarray)

# 1. GİRİŞ

Enterovirusların RNA' sı bütün picornavirus RNA' ları gibi, yaklaşık 30 nm çapında çok küçük ikozahedral kapsid ile sarılmıştır (1). Enteroviruslar içinde poliovirus, coxackievirus A ve B, echovirus ve enterovirus 68-72 (enterovirus 72 hepatit A virusudur) vardır (2). Enteroviruslar için rezervuar insandır (3). Enterovirusların kapsiti asite, zorlu dış şartlara ve gastrointestinal sisteme dayanıklıdır ve bu nedenle fekal-oral yol ile bulaşır, ancak isimlerinin tersine enterite sık olarak yol açmazlar (2, 4). Enterovirus infeksiyonları genellikle asemptomatik seyrederek, fakat semptomlar soğuk algınlığı ile paralizan hastalık arasında değişebilir (4). Klinik belirtilere yol açan enterovirus infeksiyonlarının seyri, karakteristik değildir ve hafif klinik belirtiler gösterir. Aynı virus tipi değişik belirtilere yol açtığı gibi, aynı belirti farklı serotipler tarafından da oluşturulabilir (3). Enteroviruslarla oluşan klinik tablolarda birçok faktör rol oynar. Bunlar virusun serotipi, sayısı, giriş yolu, dokuya olan ilgisi, hastanın yaşı, cinsi, sağlık durumu ve gebeliktir (4). Enteroviruslara karşı ana koruyucu immün yanıt antikor üretimi ile olur. Hücresel immünite koruyucu olmayabilir, ancak patogeneze rol oynayabilir. Geç enterovirus sendromlarının (miyokardit, miyozit, nefrit vs) direkt viral invazyondan çok, immüniteyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (1).

Enteroviruslar viral menenjit ve kardit etkenleri arasında ön sırada yer alırlar. Aseptik menenjit vakalarının % 80-95' inden sorumlu oldukları bilinmektedir (5). Enterovirus menenjiti açısından en duyarlı yaş grubu, önceden karşılaşmamaya bağlı bağışıklık eksikliği nedeniyle süt çocukları ve küçük çocuklardır (5). Enterovirus infeksiyonları ılıman iklim kuşağında yaz ve sonbahar döneminde, tropik ve subtropik iklim bölgelerinde yıl boyu sürer (5). Menenjitte uyumlu klinik bulguları olan, beyin omurilik sıvısında (BOS) beyaz küre bulunmayan ama enterovirus izole edilen hastalar bildirilmesine karşın, enteroviral menenjitli hastalarda hemen daima mononükleer pleositoz bulunur (5). BOS glukozu genelde normaldir, ancak bazen biraz düşük olabilir (6). Kan sayımı ve biyokimyasal incelemeler normaldir (1). Enteroviral menenjitin özgül tanısı, virusun BOS' tan doku kültüründe izolasyonuna bağlıdır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) viral kültüre seçenek olarak, tanıda en çok umut veren yöntemdir (5).

Miyokardit ise sıklıkla coxackie B virus ile oluşur ve esas olarak yenidoğanları tehdit eder. Bu infeksiyona yakalanan yenidoğanlarda ateşli bir tablo görülür ve ani gelişen, açıklanamayan bir kalp yetmezliği ortaya çıkar. Daha büyük çocuklarda ve yetişkinlerde kardiyak tutulum genellikle başlangıç semptomlarından haftalar veya aylar sonra ortaya çıkar (1). Viral miyokarditlerin patogenezi tam olarak açıklanamamıştır (7). Hücre hasarının daha çok immün bir reaksiyon sonucu geliştiği düşünülmektedir. Miyokarditli hastalarda elektrokardiyografik bulgular ortaya çıkar, fakat kan tablosunda karakteristik değişiklikler

görülmez. Perikardial sıvı veya miyokardial biyopsiden yapılan virus kültürleri pozitif bulunabilir, ancak tablonun geç başlama özelliğinden dolayı genellikle negatiftir.

Perikardit genellikle genç erişkinlerin hastalığıdır, fakat daha yaşlı bireylerde de görülebilir ve miyokard infarktüsünden ayırımı zor olabilir (1). Genel olarak kabul edilen akut perikarditlerin büyük bir kısmından virusların sorumlu olduklarıdır (7). Genellikle semptomları aynıdır, ancak perikarditte miyokard infarktüsüne oranla ateş daha yüksek ve daha uzun seyredir. Başlangıçtaki ateşli klinik tabloyu (bu tabloya döküntü de eşlik edebilir) göğüs ağrısı, perikardiyal sürtünme bulguları ve klinik olarak kötüleşme izler. EKG’de karakteristik perikardit bulguları görülür, fakat kanda uyumlu anomaliler görülmez. Perikardial sıvı kültürleri virus yönünden pozitif olabilir, ancak viral klinik tablonun oluşumu ile geç bir komplikasyon olan perikardit tablosunun arasındaki zamandan dolayı, boğaz ve dışkı kültürleri genellikle negatiftir (1). Ekokardiyografi tanıda en önemli rolü oynayan tetkiktir; perikardiyal sıvı varlığını, miktarını ve perikard kalınlığını belirlemede yardımcı olur (7).

Enteroviruslara bağlı menenjit ve kardit olgularına tüm dünyada yaygın olarak rastlanmaktadır. İnfeksiyonun özgül tanısı etkenin doku kültüründe izolasyonu ile mümkündür. Ancak bu yöntemin uygulama zorlukları ve zamana alıcı olması nedeni ile günümüzde genetik tanı yöntemleri önem kazanmıştır. Genetik tanı yöntemleri hızlı ve güvenilir sonuç vermekte ve etkenin adlandırılmasına olanak sağlamaktadır (4, 8). Ülkemizde enterovirüs infeksiyonlarının epidemiyolojisine ilişkin veriler sınırlıdır. Bu çalışmada aseptik menenjit düşünülen hastaların BOS’larında ve kardit düşünülen hastaların serumlarında ülkemizde ilk kez uygulanacak, en son teknolojik gelişme olan chip tekniği (microarray) ile enterovirusların araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca bu yöntemle beraberinde epidemiyolojik olarak yararlı olabilecek enterovirus 71 ve coxackievirus A16’da araştırılarak tiplendirilmesi sağlanmıştır. Araştırmadan elde edilen sonuçların ülkemizde enterovirüs infeksiyonlarının epidemiyolojisine ilişkin verilere katkı sağlayacağı düşünülmüştür.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. ENTEROVİRUSLAR

#### 2.1.a Sınıflama

Enteroviruslar, picornavirusların insanda hastalık yapan üç tipinden birisidir (1). Adından da anlaşılacağı gibi küçük (pico) ve ribonükleik asit (RNA) viruslarıdır. Zarfsız kapsid yapısına sahiptir. Bu aile içinde 230' dan fazla üye vardır ve aile 5 cinse ayrılmıştır, fakat bunlardan sadece enteroviruslar, rhinoviruslar ve hepatoviruslar (hepatit A virusu) insanda hastalık yapar. Bu cinsler pH 3' deki stabiliteleri, üremeleri için gereken optimum ısı ve neden oldukları hastalıklarla ayırt edilebilir (1, 8). Enteroviruslar pH 3-9 arasına, deterjanlara, kanalizasyona ve ısıya dayanıklıdır. Rhinovirusların optimum üreme ısısı ise 33°C' dir (8).

İnsanlarda enterovirusların yaklaşık 70 serotipi bulunmakta ve 3 subgruba ayrılmaktadırlar. Bunlar başlıca poliovirus, coxsackievirus ve echovirustur (1, 8). Bu virusun kapsidi kötü çevre koşullarına (kanalizasyon sistemi) oldukça dirençlidir ve bu da fekal-oral yol ile gastrointestinal sisteme girmesine olanak sağlar. Bununla beraber enterovirus enfeksiyonu gastrointestinal sistemde nadiren hastalık tablosuna yol açar. İnfeksiyonlar genellikle asemptomatik seyirlidir. Belli enterovirus serotipleri birçok farklı hastalık tablosuna yol açabilir. Benzer şekilde birçok farklı serotip aynı hastalık tablosuna yol açar. Üzerinde en çok çalışılan ve en çok bilinen, üç serotipi bulunan polioviruslardır (1, 4, 8).

Coxsackieviruslar adını ilk kez izole edildiği "Coxsackie" köyünden (New York) almıştır. Temel yapısal ve antijenik farklara göre A ve B olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır. Antijenik yapılarındaki farklılıklar ile serotipler numaralandırılmıştır (1, 4, 8).

Echovirusların (enteric cytopathic human orphan) başlangıçta klinik hastalıklarla ilişkisi olmadığı düşünülmüştür. Şimdiye kadar 32 serotipi tanımlanmıştır (1, 4, 8). 1967' den bu yana yeni izole edilen enteroviruslar numaralandırılmıştır (4, 8). Bu viruslar meninksleri tutup menenjit oluşturmaya poliovirusten daha fazla meyillidir, ancak ön boynuz hücrelerini daha az tutar (1).

#### 2.1.b Virus Yapısı

Zarfsız, ikozahedral kapsidli küçük viruslardır. Kapsitin içinde tek sarmallı (+) RNA içerirler. Genom bir mRNA' dır (1, 4, 8). Sitoplazmada replike olurlar ve çoğu sitolitik özellik gösterir (4, 8). Enteroviruslar izometrik çıplak viruslardır (4). Virus 28-30 nm çapında ve ikozahedral simetridir (4, 8). Nükleokapsid yuvarlak görünümündedir. Kapsid 60 yapısal altbirimden ve her nükleokapsid 12 kapsomerden oluşmuştur. Sıklıkla inkomplet virus görülür

ve boş kapsid şeklindedir. Virusun %29' unu nükleik asit oluşturmaktadır ve lipid içermez (8). Virus genomu linear, pozitif tek iplikçikli, tek parça enfeksiyöz RNA şeklindedir (1, 4, 8). Genom 7400 nükleotit uzunluğundadır, 3' ucunda poly (A) bölgesi ve 5' ucunda genom-ilişkili protein (VPg) vardır. Virusun %70' ini yapısal 4 major (VP1-4) ve 1 minör (VPg) protein oluşturmaktadır. X-ray difraksiyon çalışmaları sonucu moleküler yapısı açıklanmıştır. VP1-3 birbirine benzeyen 3 büyük viral proteindir ve bunlar da proteinin peptit omurgası kendi üstünde dönerek hidrojen bağları ile tutunan sekiz iplikçik deposu oluştururlar. VP1 ile hücreye bağlanır ve endositoz ile hücre içine alınır (8). Farklı hücre reseptörlerine bağlanmakla birlikte çoğu immünglobülin super gen ailesi (örneğin ICAM-1) reseptörlerine bağlanır (1, 4, 8).

Pozitif iplikçikli RNA enfeksiyöz olup direkt poliprotein sentezini sağlar, daha sonra viral proteaz tarafından bu poliprotein spesifik proteinlere ayrılır. Virionlar hücre lizisi ile serbest kalırlar. Lipid zarf olmamasından dolayı eter, kloroform ve alkol gibi eriticilere ve sodyum deoksikolata arbovirusların aksine dirençlidir. Ancak iyonizan ışınlar, formaldehit ve fenol ile inaktive olurlar. Enteroviruslar asitlere direnç ve optimal 37°C' de üremeleri ile rhinoviruslar ve diğer picornaviruslardan ayrılırlar (8).

### **2.1.c Patogenez**

Üst solunum yolları, orofarinks ve intestinal sistem enterovirusların giriş yollarıdır. Viruslar mide asidi, proteaz ve safradan etkilenmez. Viral replikasyon ilk olarak mukozalarda, tonsilla ve farinkste bulunan lenf nodlarında başlar ve virus daha sonra intestinal mukozaların altında bulunan peyer plakları lenf nodlarını enfekte eder. Primer viremide viruslar yayılarak ikinci faz viral replikasyonun oluşacağı hedef organlardaki reseptörler ile birleşirler, bunun sonucunda da semptomlar ve ikincil viremi oluşur (1, 4, 8). Poliovirus vakalarında virus merkezi sinir sistemine direkt kan-beyin bariyerini geçerek ulaşabilirse de, esas önemli yolun iskelet kaslarında çoğalan virusun periferik sinirler yoluyla merkezi sinir sistemine geçtiği kabul edilmektedir. Hastalık tablosu oluşmadan önce virus boğaz ve dışkıdan izole edilebilmektedir. Hastalık ortaya çıktıktan 3-5 gün sonra boğazdan kaybolmakla beraber, haftalarca dışkıdan izole edilebilir. Yüksek titrelerde antikor varlığında bile dışkıda virus bulunabilir. Virus hastalıktan birkaç gün öncesinden kanda mevcuttur, ancak oluşan antikorlar nedeniyle hastalık tablosu oluşuktan 1-2 gün sonra virus maskelenir (4, 8).

Poliovirusların hedef organlara ilgisi çok sınırlıdır. Medulla spinalis ön boynuz hücreleri, dorsal kök ganglionları, motor nöronlar, iskelet kas hücreleri, lenf dokuları ve az sayıda hücrede reseptörleri tanımlanmıştır. Coxackievirus ve echovirusların çok daha fazla çeşit hücre ve dokuda reseptörleri tanımlanmıştır; meydana getirdikleri hastalıklar da çok sayıdadır. Enterovirus reseptörleri merkezi sinir sistemi hücrelerinde, kalp, karaciğer,

pankreas, mukoza ve diğer dokularda mevcuttur.

Enterovirusların çoğu sitolitik etkilidir, hızlı çoğalırlar ve hedef hücrelerde direkt hasar oluştururlar. Antikorlar enteroviruslara immün cevapta temel koruma sağlar. Salgısal antikorlar orofarinks ve gastrointestinal sistemde virusun ilk olarak yerleşmesini önler ve serumda bulunan antikorlar viremi ile virusun hedef organlara ulaşmasını dolayısıyla hastalık oluşmasını engeller.

Hücrel immünite hastalıktan korunmada genellikle önemli değildir, fakat hastalığın patogenezinde rol oynayabilir. Hastalığın oluşumunda çok önemli rol oynayan T lenfositler coxackie B virusu ile oluşan miyokardit patogenezinde önemli rol oynar.

Coxackie A virusları de, poliovirus infeksiyonları gibi genellikle yetişkinlerde çocuklara göre daha şiddetli geçer. Bununla beraber coxackie B virus ve echovirusların bir kısmı (özellikle echovirus 11) özellikle infantlarda çok şiddetli seyredir. Yaş ile duyarlılığın değişmesi ve coxackievirus ve poliovirus infeksiyonlarının şiddetli geçmesi, reseptörlerin dağılımı ve sayısındaki farklılıklar veya diğer faktörler sonucuyla olabilir (1, 4, 8).

#### **2.1.d Epidemiyoloji**

Adından da anlaşıldığı gibi bu viruslar primer olarak fekal-oral yol ile yayılırlar. Asemptomatik taşıyıcılık aylarca sürebilir. Kötü kanalizasyon sistemi, kalabalık yaşam ortamları virusun yayılmasını artırır. Kanalizasyon sisteminin sulara karışması sonucunda enterovirus epidemileri ortaya çıkar. Bu hastalıklarda yaz ayı en önemli aydır (1, 4, 8). Coxackievirus ve echovirus aynı zamanda hava yolu ile de yayılabilir ve solunum yollarında infeksiyona yol açabilir.

1979' dan bu yana batı yarım kürede vahşi poliovirus izole edilmedi ve endüstrileşmiş ülkelerde eradike edildi. Buna rağmen vahşi poliovirusun yayılımını sınırlamak için hala uygun aşılama programı tüm populasyonlarda devam etmektedir. Çünkü gelişmekte olan ülkelerde binlerce vahşi poliovirus vakası görülmeye devam etmektedir (4, 8).

#### **2.1.e Klinik**

Enteroviruslar ile oluşan klinik, birçok farklı faktöre bağlıdır. Bunlar virusun serotipi, sayısı, organlara olan ilgisi, giriş yolu, hastanın yaşı, cinsiyeti, immün sistem ve gebeliktir (1, 4, 7). Enteroviruslar ile oluşan hastalıklarda inkübasyon periyodu virusa, hedef organlara ve hastanın yaşına bağlı olarak 1-35 gün arasında değişmektedir (4, 8).

Enterovirus infeksiyonları genellikle asemptomatik seyredir, fakat semptomlar soğuk algınlığından parolitik bozukluğa kadar değişebilir. İsmine tersine enteroviruslar genellikle enterik bozukluğa sebep olmazlar, fakat fekal-oral bulaşım gösterirler. Virusun sitolitik kapasitesi ve hedef organların farklılığı sonucunda enteroviruslar ile farklı hastalık tabloları

oluşur. Polioviruslar enterovirusların patogenezi için prototip ve üzerinde en çok çalışılan virustur (1, 4, 8).

### **2.1.f Tedavi, Korunma ve Kontrol**

Enterovirus infeksiyonları için spesifik antiviral tedavi yoktur. Paralitık hastalarda geri dönüşüm için destek tedavisi uygulanması çok önemlidir.

Paralitık poliyomiyelitten korunma modern tıbbın en büyük başarılarından birisidir. Buna karşın Afrika, Ortadoğu ve Asya' daki gelişmemiş ülkelerde yeterli aşılama ve korunma sağlanamamıştır.

İki tip poliovirus aşısı mevcuttur: ölü poliovirus aşısı (IPV) ve canlı zayıflatılmış oral poliovirus aşısı (OPV). Her iki poliovirus aşısı da güvenilir, ucuz ve koruyucu antikorlar oluşmasını sağlar. IPV etkinliğini 1955 yılında kanıtlamıştır, fakat son yıllarda bunun yerine kolay uygulanan, daha uzun ömürlü ve daha kapsamlı immünite oluşturan OPV kullanılmaktadır. Günümüzde yeni önerilen sistem ise yenidoğanlara IPV başlanmasının teşvik edilmesidir.

Hem ölü hem de canlı virus aşıları antikor yapımını uyarır ve merkezi sinir sistemini vahşi virusun invazyonundan korur. Ölü virus aşısı ile oluşan düşük seviyedeki antikorlar, virusun intestinal taşıyıcılığı üzerine çok az etkilidir. Oysa canlı virus aşısından sonra bağırsaklarda virusa karşı ileri derecede direnç gelişir. Bu kandaki antikor seviyesinden daha çoktur, bu da aşı virusunun sindirim kanalındaki çoğalma miktarına bağlıdır.

OPV' de insan veya hayvan kültürlerinde üretilen virusler zayıflatılır (örneğin virülansı azaltılmış). Zayıflatılmış viruslar orofarinks ve intestinal sistemde çoğalırlar, fakat sinir sistemini enfekte edemezler. Canlı aşının çok önemli bir avantajı da haftalarca dışkı ile yayılması ve yaygın kapalı temas oluşturabilmesidir. Bu da immünizasyonun yayılmasını sağlayarak aşılanmamış kişilerde immünizasyon veya aşılanmışlarda ikincil bir immünizasyon sağlar. Canlı aşının en önemli dezavantajı ise düşük bir ihtimal de olsa virülan forma dönmesi ve paralitık hastalığa yol açmasıdır. Bunun insidansı ise dört milyon dozda birdir. İmmün yetmezliği olan veya baskılanmış kişilere canlı virus aşısı yapılmamalıdır. Bu gibi durumlarda sadece IPV uygulanmalıdır. İmmünitesi sağlam kişilerde de aşya bağlı paralitık poliyomiyelit riski artmaktadır, ancak bu duyarlılık yetişkinlerde çocuklara göre çok daha fazladır.

Çocuklara OPV 2-4 ve 15' ci aylarda ve 4 ile 6 yaşlarında verilmelidir. Yeni bir görüş de, ilk iki doz IPV ile başlanmasının aşya bağlı paralitık polio hastalığını önleyebileceğidir. Bazı Avrupa ülkelerinde OPV yerine IPV uygulanmaya başlanmış ve iyi sonuçlar alınmıştır.

Coxsackievirus ve echovirus için geliştirilen aşı yoktur. Bu virusların yayılımının hijyen ve yaşam şartları düzelince azaldığı düşünülmektedir (4, 8).

## **2.1.g Laboratuvar Tanı**

### **2.1.g.a Klinik biyokimya**

Poliovirus ve enterovirus aseptik menenjitlerinde BOS' ta 25-500 lökosit/mm<sup>3</sup> görülür ve lenfosit hakimiyeti vardır (4, 8). Bakteriyel menenjitlerin aksine viral menenjitlerde BOS glukoz seviyesi genellikle normal veya hafif düşüktür. BOS protein seviyesi de normal veya hafif yüksektir (1, 4, 8).

### **2.1.g.b Kültür**

Poliovirus hastalığın ilk günlerinde hasta farinksinden ve 30 gün boyunca dışkıdan izole edilebilir, fakat nadiren BOS' tan da izole edilebilir. Bu viruslar maymun doku kültüründe iyi bir şekilde ürerler. Coxackieviruslar ve echoviruslar infeksiyon sırasında boğaz ve dışkıdan genellikle izole edilebilirler ve sıklıkla menenjitli hastaların BOS' larından da izole edilebilirler. Bununla beraber miyokarditli hastalardan virus nadiren izole edilir, çünkü infeksiyonun başlangıcından haftalar sonra semptomlar ortaya çıkar. Coxackievirus B maymun ya da insan embriyo böbrek hücrelerinde üreyebilirler. Coxackievirus A hücre kültürlerinde geç ürer, bebek fareler tanı için güvenilir bir yöntemdir (4, 8).

### **2.1.g.c Seroloji**

Enterovirus infeksiyonlarında serolojik doğrulama, spesifik immünglobülin M (IgM) saptanması ya da akut hastalık ile iyileşme dönemleri arasında dört kat antikör artışı ile olur (4, 8). Echovirus ve coxackievirusun birçok serotipi için bu yaklaşım zor olabilir, fakat poliovirus infeksiyonları için yararlı sonuçlar verir (4).

### **2.1.g.d PCR**

Bazı laboratuvarlar PCR' ı virus kültüründen daha duyarlı bildirmektedir (8). Özellikle mayıs ve ekim aylarında çalışılması ve aseptik menenjit şüpheli vakalarda BOS' un PCR ve hücre kültürü ile karşılaştırmalı çalışılmasının tanı için değerli olduğu belirtilmektedir (4).

### **2.1.g.e Microarray (chip tekniği)**

Yeni bir yöntemdir, amplifiye edilen ürünler uygun chiplere aktarılarak hibridizasyon işlemi uygulanması temeline dayanır.

## **2.2. POLIOVİRUSLAR**

Vahşi poliovirus infeksiyonları, poliovirus aşılarının başarısı sayesinde çok nadirdir. Bununla beraber aşıya bağlı poliomyelit vakaları görülebilir. İnfeksiyon riski olan, aşılanmamış az miktarda bir populasyon bulunmaktadır.

### **2.2.a Asemptomatik Hastalık**

Virus infeksiyonu orofarinks ve bağırsaklarda sınırlıdır. En az %90 oranında poliovirus infeksiyonu asemptomatik seyreder (1, 4, 8).

### **2.2.b Abortif Poliomyelit (Minör Hastalık)**

Enfekte hastaların yaklaşık %5' inde spesifik olmayan ateşli hastalık tablosu görülür. Ateş, başağrısı, kırıklık, boğaz ağrısı, kusma ortaya çıkar ve yaklaşık 3-4 gün sürer.

### **2.2.c Paralitik Olmayan Poliomyelit**

Poliovirus infeksiyonu hastaların %1-2' sinde oluşur. Bu vakalarda virus santral sinir sistemi ve meninkslere yayılmıştır, minör hastalıktaki semptomlara ek olarak sırt ve kas ağrılarına sebep olur.

### **2.2.d Paralitik Poliomyelit (Majör Hastalık)**

Poliovirus ile enfekte kişilerin % 0.1-2' sinde meydana gelir ve en ciddi formdur. Minör hastalık iyileşmeye başladıktan 3-4 gün sonra ortaya çıkar, bu nedenle bifazik hastalık tablosu oluşur. Bu hastalıkta virus medulla spinalis ön boynuz hücreleri ve beyinde motor kortekse yayılır. Poliovirus epidemileri esnasında diş çekimi, tonsillektomi ve intramuskuler enjeksiyonlar ile virus buralardan periferik sinirler yoluyla merkezi sinir sistemine gidebilmektedir, bu nedenle bu tür girişimlerin paralizye geçişi kolaylaştırdığı ileri sürülmektedir. Yine egzersiz, gebelik ve immün sistemin baskılandığı durumlar paralizinin oluşumunu arttırmaktadır.

Paralizin derecesi nöronal infeksiyon ve nöronların etkilenmesinin boyutlarına bağlıdır, bir ekstremitede az sayıda kas gruplarında paraliz yapabileceği gibi dört ekstremitede de tam paraliz yapacak kadar değişkendir. Spinal paralizilerde bir veya daha fazla ekstremitede etkilenirken, bulbar paralizilerde beraberinde kranial sinirler ve hatta solunum merkezi de tutulabilir. Görme ve işitme ile ilgili merkezler tutulmaz (4, 8).

Paralitik poliomyelitte duyu kaybı olmadan asimetric flask paraliziler oluşur (1, 4, 8). Paralitik poliomyelit tablosundan %85 oranında poliovirus tip 1 sorumludur. Tip 2-3 formları, virusun zayıflatılmış halden virulan hale değişebilmesi yüzünden aşıya bağlı hastalıktan sorumludur. Paralitik faz başladıktan birkaç gün sonra kas tutulumu en üst

seviyededir ve sonuç olarak tam iyileşme, kalıcı paraliziler veya ölüm ile sonuçlanır. İyileşmenin büyük kısmı ilk altı ay içinde olur, fakat tam iyileşme iki yıla kadar sürebilir.

Poliomiyelitli hastaların en az yarısında miyokardit bulunabilir. Bunun dışında lenfatik hiperplazi ve peyer plaklarında ülserasyonlara neden olabilir (4, 8).

Bulber poliomyelit çok daha şiddetli seyrederek ve farinks, vokal kord, solunum kaslarını tutabilir; sonuçta hastaların %75' inde ölümle sonuçlanır (1, 4, 8).

Postpolio sendromu, hastaların %20-80' ininde yaşamlarının sonraki yıllarında (30-40 yıl sonra) ortaya çıkan poliomyelit sekeldir. Bu hastalarda kas erimesi ve kas atrofisi vardır, poliovirus yoktur. Bu sendromun başlangıçta etkilenen sinirlerdeki nöron kaybına bağlı olduğu düşünülmektedir (4, 8).

### **2.3. COXACKIE VE ECHOVİRUSLAR**

Birçok klinik sendroma (örneğin aseptik menenjit) coxackievirus ve echovirusun her ikisi de etken olabilir, fakat özellikle coxackievirus ile oluşan belli hastalıklar da vardır. Coxackievirus A ile oluşan hastalıklarda veziküler lezyonlar (örneğin herpanjina) bulunurken, coxsackievirus B serotipi sıklıkla miyokardit ve perikardit ile ilişkilidir (1, 4, 8). Bu viruslar aynı zamanda poliomyelit benzeri paralitik hastalık etkenidir. Hastalık sıklıkla semptomların kaybolmasıyla ya da hafif bir üst solunum yolu enfeksiyonu veya influenza benzeri tablo ile sonuçlanır (4, 8).

#### **2.3.a Herpanjina**

Uygun olmayan bir ismi vardır; çünkü herpesviruslerle bir ilişkisi yoktur. Tersine etken coxackievirus A' nın farklı tipleridir. Ateş, boğaz ağrısı, yutkunmayla ağrı, iştahsızlık ve kusma görülür. Klasik bulgu ise uvulada ve yumuşak damakta ülsere veziküler lezyonlardır. Daha az olarak lezyonlar sert damağı da etkileyebilir. Hastalık kendiliğinden geçer ve sadece semptomatik tedavi gerektirir.

#### **2.3.b El-ayak ve Ağız Hastalığı**

Enterovirusların, özellikle de coxackievirus A 16' nın etken olduğu veziküler döküntülerdir. İsmi tanımlayıcıdır; çünkü enfeksiyonda bulunan veziküler lezyonlar başlıca el, ayak, ağız ve dildedir. Hastalarda hafif derecede ateş vardır ve tablo kendini birkaç gün içinde sınırlar (1, 4, 8).

### **2.3.c Plörodini (Bornholm Hastalığı)**

Aynı zamanda “devil’s grip” olarak da bilinir. Hastalarda ani başlangıçlı ateş, tek taraflı toraks düşüklüğü ve çok fazla ağrılı olabilen plerotik göğüs ağrısı ile seyreden akut bir hastalıktır. Özellikle coxackievirus B tipleri ve echovirus 9, bazen de 4 ve 16 tipleri neden olabilir. Çocuklarda görülür, genellikle ailesel ve sporadiktir. Kas tutulumuna (miyozit) neden olabilir. Akut başlangıç, 40°C ateş, substernal ve alt kostalarda derin nefes almakla, öksürmekle ve hareketle artan ciddi ağrı mevcuttur (1, 4, 8). Bu ağrı bıçak saplanır tarzda veya iğne batması şeklinde tarif edilir. Özellikle çocuklarda, vakaların yarısında diyafram tutulmasına bağlı abdominal ağrı en önemli şikayettir. Bu ağrı omuz, boyun ve skapulaya yayılım gösterebilir (4, 8). Hastalık ortalama 4 (2-14) gün sürer. Kendiliğinden iyileşir, ancak relapslar sıktır (1, 4, 8).

### **2.3.d Ateş ve Ekzantem (Akut Ateşli Hastalık)**

Echovirus ve coxackievirus ile enfekte olan hastalarda olabilir. Erupsiyonlar genellikle makulopapuler şekildedir, fakat bazen peteşial ve hatta veziküler tipte görülebilir. Peteşial tipteki erupsiyonların mutlaka meningokoksemiden ayrımı yapılmalıdır. Enteroviral infeksiyonlu çocuklarda hastalık ve toksik tablo görülmez; meningokoksemili çocuklara göre lökositöz çok düşük düzeydedir (1, 4, 8). Coxackievirus B ve echovirusun bazı tipleri plasenta ile neonatal geçiş gösterebilir. İnfanlara bu şekilde veya başka bir yol ile geçtikleri zaman şiddetli ve yaygın hastalık tablosu oluştururlar (4, 8).

### **2.3.e Viral (Aseptik) Menenjit**

Picornavirus menenjitleri sonbahar ve yaz aylarında ortaya çıkar. Akut ateşli hastalığa baş ağrısı ve meningeal irritasyon bulgusu eşlik eder. Enterovirus menenjitinde peteşi veya döküntüler olabilir. Hastalık ensefalit ile birlikte değil veya hasta bir yaşından daha küçük infant değilse genellikle prognozu iyi seyirlidir (4, 8).

### **2.3.f Kalp Hastalıkları**

Coxackievirus B tipleri her geçen gün artan bir şekilde çocuklarda ve erişkinlerde akut selim perikardit ve miyokarditin nedeni olarak tanımlanmaktadır. Akut hastalık evresinden sonra kronik kardiovasküler hasarın kalp dokularındaki viral antijenlerin persistansı ile birlikteliği rapor edilmiştir. Doku hasarı belirgin olarak sitotoksik T hücrelerin enfekte hücreler üzerine olan etkisinden kaynaklanmaktadır. IgG tipi hipogammaglobulinemi ile birlikte gözlenir (4, 8).



### **2.3.g Diğer Enterovirus Hastalıkları**

Enterovirus 70 ve coxackievirus A24 çok bulaşıcı oküler bir hastalık olan akut hemorajik konjunktivit ile ilişkilidir. İnfeksiyon subkonjunktival kanama ve konjunktivite sebep olur. Bu hastalıkta 24 saatlik bir inkübasyon periyodu vardır ve bir iki haftada iyileşir.

Enteroviruslar solunum yolu infeksiyonları, hepatit, diyabet ve diğer bazı hastalıklara sebep olabilir. Coxackievirus A21, coxackievirus A24, echovirus 11 ve echovirus 20 üst solunum yollarında rhinovirus benzeri soğuk algınlığı semptomlarına sebep olabilir. Coxackievirus B infeksiyonu pankreasta Langerhans adacıklarını tahrip ederek insüline bağımlı diyabete sebep olabilir (4, 8)

### **2.4. ASEPTİK MENENJİTLER**

Birçok nedene bağlı olarak gelişebilen aseptik menenjit, inflamatuvar bir meninks hastalığıdır (5). BOS' un rutin inceleme, boyama ve kültürlerinde bir etkenin gösterilemediği, BOS' ta genellikle lenfositik nitelikte pleositozun ve protein artımının belirlendiği durumlar aseptik menenjit olarak tanımlanır.

Rutin bakteriyel ve fungal kültürler gibi gram boyama da negatiftir. Aseptik menenjit sendromunun tanısı zordur ( 4, 5,6, 8).

#### **2.4.a Etyoloji**

Viruslar akut septik menenjitin önde gelen sebebidir. Ayrıntılı tanısal incelemeler yapılmadığında, aseptik menenjit vakalarının yalnızca %10' unda bir etken belirlenebilmektedir. Ancak ayrıntılı epidemiyolojik ve mikrobiyolojik araştırmalarla, hastalarda %55-70' e ulaşan oranlarda viral bir etken saptanabilmektedir. Birçok virusun aseptik menenjit etkeni olabildiği bilinmektedir.

Arbovirusların neden olduğu hastalık en sık yazın geç ve sonbaharın erken döneminde görülür. Enterovirus hastalığı, echovirus ve coxackieviruslarla benzer mevsimsel patern gösterir. Kabakulak menenjiti sıklıkla kışın geç ve sonbaharın erken döneminde olmaktadır. Herpes simpleks virusunun neden olduğu menenjit sıklıkla genital herpes infeksiyonunun ilk epizodu ile ilişkilidir.

Enteroviruslar viral menenjitin ilk sıradaki nedenidir ve diğer etkenin gösterilebildiği aseptik menenjit vakalarının %80-95' inden sorumludur. Enteroviruslardan, poliovirus tip1-3, coxackievirus A1-14, 16-18, 21, 22, 24, B1-6, echovirus tip 1-9, 11-27, 29, 33 ve enterovirus 71 ile menenjit gelişebilir. Bugün için ABD' de en sık karşılaşılan tiplerin coxackievirus B5 ve echovirus 4, 6, 9, 11 olduğu bilinmektedir (5).

Enteroviruslar dünya genelinde dağılım gösterirler (5). Enterovirus infeksiyonları ılıman iklim kuşağında yaz ve sonbahar döneminde, tropik ve subtropik bölgelerde yıl boyu

görülür. Enteroviruslar karasinekler, atık su ve kanalizasyondan izole edilmiştir. İnsanların sıcak hava ve iklim koşullarındaki özensiz davranış biçimleri enterovirusların fekal-oral yayılımını artırmaktadır (4, 5, 6, 8).

Enterovirus menenjitisi açısından en duyarlı yaş grubu önceden karşılaşmamaya bağlı bağışıklık eksikliği nedeniyle süt çocukları ve küçük çocuklardır (1, 4, 5, 7). Finlandiya' da geniş bir kohort çalışmasında, viral menenjitin yıllık görülme sıklığı, yaşamın ilk yılında 100.000' de 219, 1-4 yaş arasında 100.000' de 19 olarak belirlenirken sonraki yaş gruplarında giderek azalmıştır. Bu çalışmada etkenlerin büyük çoğunluğunu enteroviruslar oluşturmaktadır. Sağlıklı bireylerde farklı enterovirus serotipleriyle birkaç kez menenjit gelişebilir. İmmün yetmezlik ve fiziksel egzersiz, enteroviral menenjite zemin hazırlayabilen etmenlerdir (5).

#### **2.4.b Patogenez**

Bütün mukozal yüzeyler viruslarla kolonize olabilir. Ancak konak, virus girişini önlemeyi amaçlayan birçok engele sahiptir. Örneğin solunum sisteminde, ince bir mukus tabakası ve yabancı parçacıkları uzaklaştırmaya çalışan bir mukosilyer hareket vardır. Bu engeller aşılsa bile, viruslar alveoler makrofajlar tarafından fagosite edilir.

Midedeki asidite çoğu virusu etkisiz duruma getirir. Mide- bağırsak sistemi enzimleri ve safra viral zarfları, kapsit proteinlerini ve lipoprotein zarları parçalar (5). Öte yandan enteroviruslar, adenoviruslar, reoviruslar, parvoviruslar gibi zarfsız, aside dirençli viruslar mide-bağırsak sisteminde çoğalm için uyum geliştirmişlerdir ( 4, 5, 6, 8).

Konağın virusla önceden karşılaşması durumunda, mide-bağırsak sistemi ve solunum sistemi mukozası salgısal IgA ile kaplanabilir. Salgısal IgA, virusu nötralize ederek tutunmasını ve ertesinde hücreye girişini engeller. Konak savunma sistemlerinden kurtulan viruslar çoğalabilir ve yayılabilir.

Virusun kan yoluyla yayılımı sonrasında merkezi sinir sistemi (MSS) infeksiyonu gelişebilir. Nörotropik virusların çoğu, başlangıçta bir ektranöral giriş yerinde çoğalır (5). Örneğin enteroviruslar tiplerine bağlı olarak, başlangıçta peritonsiller lenfatikler, peyer plakları, bağırsak lamina propriası ile vasküler ve endotelial hücrelerde çoğalabilir ( 4, 5, 6, 8). M hücreler, virusun bağırsak lümeninden lenfoid hücrelere ulaşmasına aracılık eder.

Bu ilk noktada çoğalımdan sonra viremi oluşur ve virus karaciğer, dalak, kaslar gibi damarlarca zengin dokular başta olmak üzere vücuda yayılır. Çoğalımın ulaşılan dokularda da sürmesi sonucu viremi artar. Viremi sonrasında, viral yapılar retiküloendotelial sistem (RES) tarafından ortadan kaldırılır. Temizlenme hızı virus boyutuyla doğrudan ilişkilidir. Büyük viruslar dolaşımdan daha çabuk yok edilir. Viruslar bazı hücreleri kullanarak, bu aşamada konak savunmasını etkisiz kılabilir. Örneğin kızamık, herpes ve kabakulak virusları

lökositlerde çoğalır. Böylece RES fagositozu, dolaşımdaki antikorların nötralizasyonu ve nonspesifik serum inhibitörlerinin inaktivasyonundan korunurlar.

Viruslar viremi sonrasında kan-beyin engelini (KBE) aşarak MSS' ye ulaşır. MSS' nin viruslarca tutulumu çeşitli yollarla olabilir. MSS' ye ulaşım çoğu virus için doğrudan KBE' nin temelini oluşturan serebral kapiller endotel hücreler üzerinden olur. Bazı viruslar ise, endotelyal hücre infeksiyonu olmaksızın başlangıçta glial hücreleri infekte eder. Yine bir kısım viruslar, infekte lökositler içinde serebral kapiller endotelyal hücreler arasından KBE' nin aralanmasıyla taşınabilir.

Bir diğer virus giriş yeri koroid pleksus epitelyumudur. Hamsterlerle yapılan çalışmalarda, kabakulak virusunun koroid pleksustan ependimaya ve sonrasında parankimal hücrelere ulaşımı gösterilmiştir. Kabakulak menenjitli bireylerde de koroid pleksus ve ependima hücrelerinde de viral nükleokapsitler bulunmuştur.

Viruslar MSS' ye olfaktör sinirler boyunca ulaşabilir. Hamsterlerde HSV ve togovirusların burun içine inokulasyonu ile olfaktör soğanın infeksiyonu ve olfaktör yolların kesilmesiyle infeksiyonun baskılanması gösterilmiştir. Periferik sinirler de virusların MSS' ye ulaşmasına aracılık edebilir. Bir fare çalışmasında ekstremitte kaslarına poliovirus inokulasyonu sonrasında, önce omuriliğin alt segmentinde ve beyinde virus belirlenmiştir. Sonuç, poliovirusun MSS' ye başlangıçtaki yayılımının periferik sinirlerle olduğunu düşündürür niteliktedir.

MSS' de hastalığın gelişimi, virusun duyarlı hücrelere tutunması ve girmesini, sinir sistemi içinde yayılımını ve hücresel değişikliklerin uyarılmasını gerektirir. Koroid pleksus üzerinden subaraknoid aralığa giriş sonrasında, virus BOS içinde dağılarak meningeal ve ependimal hücrelere ulaşır. Sonraki yayılım glial hücrelerin ve nöronların infeksiyonu şeklindedir. Virusler dendrit, akson ve glia gibi yapılar ve hücreler arasındaki hücre dışı boşluklar boyunca yayılabilir, glia yoluyla nöronların yoğun akson ve dendrit dallanmaları ve ağı boyunca ilerleyebilir veya inflamatuvar yanıtta yer alan hareketli lökositlerde taşınabilir. Deneysel kanıtlar virus taşınmasının her tipini desteklemektedir. Çeşitli infeksiyonlarda, viral ulaşım yollarının tümü değişik derecelerde yer alabilir.

MSS' de viral infeksiyon geliştiğinde, genellikle bir inflamatuvar hücre yanıtı ortaya çıkar. Ancak inflamatuvar hücrelerin infeksiyon alanında toplanmasına yol açan mekanizmalar ve MSS viral infeksiyonlarındaki rolleri kısmen anlaşılabilmiştir. Başlangıçtaki inflamatuvar yanıtın, immünolojik açıdan özgül olduğu ve virusa karşı duyarlanmış bir lenfosit topluluğundan oluştuğu düşünülmektedir. Bazı viral MSS infeksiyonlarında inflamatuvar bir yanıt gelişmeyebilir. Yanıt virusun kendisinden çok, konağın yaşına bağlı olabilir. Duyarlanmış lenfositler, olasılıkla diffüze olan ya da endotel hücrelerinden geçiş ile endotelyumun luminal yüzeyine taşınan özgül bir virus proteinine yanıt verirler ve

inflamatuvar sitokinler salınır. Bir çalışmada interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), enteroviral menenjitli 16 hastanın %75' inde BOS' ta belirlenebilir düzeylerde saptanmış ve coxackievirus enfeksiyonlarında, echoviruse göre daha düzenli bir üretim ve daha yüksek titreler gösterilmiştir. Ayrıca akut aseptik menenjitli hastalara ait 15 BOS örneğinin 12' sinde de BOS interlökin-6 (IL-6) düzeyleri yüksek bulunmuştur.

Aseptik menenjitli hastalarda BOS' ta diğer inflamatuvar sitokinler de çalışılmıştır. Bir çalışmada, 13' ünde enterovirusların etken olduğu kültürle kanıtlanmış aseptik menenjitli 36 hastada ve 14 kontrol bireyinde tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve IL-1 $\beta$  BOS düzeyleri ölçülmüştür. Hiçbir hastada ve kontrolde TNF- $\alpha$  aktivitesi belirlenememiştir. Öte yandan hastaların %86' sında ve 14 kontrolün ikisinde BOS IL-1 $\beta$  düzeyleri belirlenebilir düzeyde bulunmuştur. BOS IL-1 $\beta$  düzeylerinin artımı BOS beyaz küre sayılarıyla ilişkilidir.

Bir BOS inflamatuvar yanıtının gelişiminden sonra, KBE' deki değişiklikler, serum proteinleri ve immünglobulinlerin (Ig) BOS' a geçişine izin verir. Ek olarak B hücrelerinin BOS' a girişi ve plazma hücrelerine farklılaşmasıyla yerel MSS Ig yapımı gerçekleşir. İntraserebral Ig üretimi de görülür. Enfeksiyon, özgül Ig' lerin haftalarca kalıcı olabilen BOS/serum oranlarındaki artışla değerlendirilebilir. Kabakulak, HIV ve VZV menenjitlerinde MSS içinde oligoklonal IgG proteinlerinin üretimi gösterilmiştir. Kabakulak menenjitli hastalarda oligoklonal IgG düzeyleri bir yıla kadar yüksek kalabilmektedir. Bu durum viral persistans ve devam eden antijenik uyarımı düşündürür.

Virusun MSS' den temizlenmesinde sağlam bir konak bağışıklık yanıtı önemli görünmektedir. T hücre sayılarının, B hücre yanıtlarından daha önemli olduğu düşünülmektedir. Bir immün yanıt yetersizliği immünolojik tolerans, konağın bağışıklık kusurları ya da virusun immün taramadan kurtulabilme yeteneğinin sonucu olarak gelişebilir. Hücresel bağışıklığı baskılanmış hastalarda VZV, CMV, adenovirus ve kızamık virusuyla kronik enfeksiyonlar geliştiği bildirilmiştir (5).

#### **2.4.c Klinik Bulgular**

Viral veya aseptik menenjit baş ağrısı, meningeal irritasyon bulguları, Kernig ve/veya Brudzinski belirtisi, ense sertliği ile birlikte olan akut ateşli bir hastalıktır. Enteroviral menenjitli hastalarda peteşi ve deri döküntüsü olabilir. Echovirus ve coxackievirusların ikisi de viral aseptik menenjit etkenidirler (6).

Viral menenjit farklı etkenlerle gelişebildiğinden, klinik bulgular farklılıklar gösterebilir. Bazen meningeal tutulum bulguları, bazen de diğer organ tutulumlarına ait bulgular ön planda olabilir.

Enteroviruslar viral menenjitte en sık karşılaşılan etken olduğundan, meningeal enfeksiyonların, viral menenjitin genel klinik özelliklerini büyük ölçüde yansıtacağı

düşünülebilir. Ancak enterovirus tipleri arasında bile, belirgin klinik farklılıklar olabildiği de bilinmelidir.

Enteroviral menenjitte klinik bulgular konağın yaşına ve bağışıklık durumuna bağlıdır. Yenidoğan döneminde gelişen MSS infeksiyonunda ateş hemen her zaman vardır ve eşliğinde kusma, emmeme, döküntü, üst solunum yolu hastalığı bulguları görülür. Enterovirus meningoensafaliti bu dönemde yüksek morbitide ve mortalite riski taşır. Özellikle belirti ve bulguların yaşamın ilk gününde ortaya çıktığı bebeklerde morbitide ve mortalite oldukça yüksektir. Bu bebeklerde transplasental bulaşım olasılığı söz konusudur. Ensefalitle uyumlu nöbetler ve fokal nörolojik bulgular görülür. Yenidoğan döneminde enteroviral MSS hastalığına sıklıkla diğer organ sistemlerinin tutulumu eşlik eder. Hastalığın ilerlemesiyle hepatik nekroz, miyokardit ve nekrotizan enterokolit gelişebilir. Humoral bağışıklık yetersizliği yenidoğan infeksiyonunu ağırlaştırıyor olabilir.

İlk iki haftada, özellikle yenidoğan döneminden sonra karşılaşılan enteroviral menenjitte ağır hastalık ve kötü sonlanma seyrekdir. Hastalığın başlangıcı genellikle anidir. Ancak bazı hastalarda birkaç gün süreli bir akut ateşli hastalık durumu görülebilir. Hemen bütün çocuk ve erişkin hastalarda ateş vardır. Ateş 38-40.5°C arasında seyredebilir ve genellikle 5 gün sürelidir. Ateş bifazik olabilir; başlangıçta nonspesifik semptomlarla görülür, normale döner ve meningeal bulgular eşliğinde yeniden ortaya çıkar. Baş ağrısı hemen tüm hastalarda vardır. Sıklıkla şiddetlidir ve retroorbital ya da frontal yerleşimlidir. Fotofobi, bulantı ve kusma sıktır. İştahsızlık, döküntü, karın ağrısı, diyare, öksürük ve miyalji özgül olmayan diğer belirtilerdir.

Ateş, huzursuzluk ve letarji en sık karşılaşılan bulgulardır. Küçük çocuklarda fontanel kabarıklığı görülebilir. Hastalarda ense sertliği, Kerning ve Brudzinski gibi “meningeal tutulum” bulgularının genellikle var olması beklenir. Meningeal bulgular bir yaşın altındaki çocuklarda belirlenemeyebilir. Mental durum bozulabilir, ama fokal nörolojik bulgu beklenmez. Çocuklarda yüksek ateşle eş zamanlı konvülzyonlar görülebilir. Farenjit tüm nörotropik enterovirus infeksiyonları seyrinde sıklıkla gelişir.

Toplumda ekzantem, el-ayak-ağız hastalığı, herpanjina, plörodini, miyokardit, perikardit veya konjunktivit ile seyreden epidemik bir hastalık varlığı enteroviral menenjit açısından ipucu oluşturabilir. Ayrıca bazı klinik özellikler bazı enterovirus serotipleri ile ilişkilidir. Örneğin echovirus 9 menenjitinde %30-50 çocukta saçılmış biçimde makülopapüler döküntü görülebilir. Herpanjina orofarinks arka kesiminde ağrılı veziküllerle karakterizedir ve coxsackie A viruslarla görülür. Perikardit veya plörazi varlığı coxsackie B virus infeksiyonunu düşündürmelidir.

Enteroviral menenjitte hastalığın süresi genellikle bir haftadan kısadır. Çoğu hastada lomber ponksiyon sonrasında rahatlama görülmesi, olasılıkla kafa içi basınçtaki azalmaya

bağlıdır.

Humoral bağışıklığı yetersiz çocuk ve erişkinlerde, enterovirusların vücuttan temizlenmesinin başarılmasına bağlı olarak özel bir klinik durum ortaya çıkar. Agammaglobulinemik bireylerde, kronik viral menenjit veya meningoensefalit gelişebilir, yıllarca sürebilir ve sıklıkla ölümlü sonuçlanır. Bu hastaların yarısında, olasılıkla tutulan dokularda doğrudan enterovirus istilasının sonucu olarak romatolojik bir sendrom, genellikle dermatomyozit gelişebilmektedir (5).

#### 2.4.d Tanı

Menenjitte uyumlu klinik bulguları olan, BOS' ta beyaz küre bulunmayan ama enterovirus izole edilen hastalar bildirilmesine karşın, enteroviral menenjitli hastalarda hemen daima mononükleer pleositoz beklenir. BOS' taki hücre sayısı  $mm^3$ ' te birkaç ile birkaç bin arasında olabilir; genellikle 100-1000/ $mm^3$  tür. BOS' taki beyaz küre sayısı yükseldikçe, BOS' tan enterovirus izolasyonu olasılığı artar (5). İnfeksiyonun erken döneminde, BOS' ta sıklıkla nötofiller hakimdir. İzleyen 6-48 saat içinde hızla lenfosit hakimiyeti gelişir (5, 6). BOS proteininde yükselme, BOS glukoz seviyesinde azalma genellikle hafiftir (4, 5, 6, 8). Ancak her ikisi için de oldukça uç değerler bildirilmiştir (5).

Enteroviral menenjitin özgül tanısı, virusun BOS' tan doku kültüründe izolasyonuna bağlıdır. Yöntemin duyarlılığı, birçok coxackievirus A serotipinin doku kültüründe çoğalma yetersizliği ve yavru fare inokulasyonu gerektirmesi nedeniyle enteroviral serotipler için yalnızca %65-75' tir. BOS' tan izolasyondaki güçlük, enterovirusların BOS' taki düşük titreleriyle de ilişkilidir (5). Enteroviruslar için BOS' tan ortalama üreme süresi 3,7-8,2 gündür (1,5). Aseptik menenjitli bir hastada orofarinks ya da dışkıdan enterovirus izolasyonu etyolojik tanı için değerlidir (5, 6). İnfeksiyondan sonra virus boğazda 1 hafta, dışkıda haftalar boyu bulunabilir (5).

Çeşitli serotipler arasında ortak bir antijenin olmayışı ve virusun vücut sıvılarındaki düşük konsantrasyonu, enterovirus infeksiyonunun immünoassay yöntemleriyle hızlı tanısını zorlaştırır. Bununla birlikte bazı çalışmalarda poliklonal ya da monoklonal antikörlerin başarılı kullanımı bildirilmiştir. Tipe özgül IgM antikörlerin belirlenmesine yönelik testlerin özgüllüğü bugün için düşüktür. Enterovirus serotipleri için komplementer DNA nükleik asit propları geliştirilmiştir. Ancak enterovirusların menenjitli hastalardaki düşük BOS titrelerinin sonucu olarak, duyarlılıkları %33' ü aşmamaktadır (5).

BOS' ta PCR incelemesi en kullanışlı hızlı tanısal test olma yolundadır (6). PCR viral kültürüne alternatif olarak tanıda en çok umut veren yöntemdir (5). Bazı laboratuvarlar PCR' ı virus kültüründen daha duyarlı bildirmektedir (8). Özellikle mayıs ve ekim aylarında çalışılması ve aseptik menenjit şüpheli vakalarda BOS' dan PCR ve hücre kültürünün

karşılaştırmalı çalışılmasının tanı için değerli olduğu belirtilmektedir (8). Enteroviral reverse transcription-PCR (RT-PCR) bir çok klinik çalışmada test edilmiş, kültürden daha duyarlı ve enteroviral menenjit tanısında %94-100 oranında özgül bulunmuştur (5).

#### **2.4.e Tedavi**

Günümüzde enteroviruslar için özgül antiviral kemoterapi yoktur. Tedavi destekleyicidir. Etkinlikleri in vitro olarak ve hayvan modellerinde gösterilen ilaçlar, henüz klinik çalışma aşamasına ulaşamamıştır. Bu ilaçlardan pleconaril, enterovirusun protein kapsitine bağlanarak virusun tutunma ve soyunma aşamalarını etkiler. Pleconarilin toplumda dolanımı bilinen enterovirus serotipleri üzerinde geniş bir antiviral etkisi vardır. Klinik araştırmalar faz 3 döneminde olmakla birlikte, enteroviral menenjitli çocuk ve erişkin hastalardaki ön çalışmalar pleconarilin klinik yararını gösterir niteliktedir.

Günümüzde etkin bir antiviral tedavinin olmaması nedeniyle enteroviral menenjitli ağır hastalarda başka tedavi yaklaşımları uygulanmıştır. Enterovirusların konaktan temizlenmesi antikor bağımlı olduğundan, hastalara antikor verilmesi denenmiştir. Kronik enteroviral menenjitli ya da meningoensefalitli agammaglobulinemik hastalarda, doğrudan MSS' ye verilmeye de dahil olmak üzere çeşitli yollardan Ig uygulaması hastalığın duraklamasını veya düzelmesini sağlamıştır. Ağır enteroviral sepsisli ve menenjitli yenidoğanlarda intavenöz Ig (IVIG), maternal plazma ve kan değişimi uygulamalarıyla seyrek olarak başarı sağlanmıştır. Yaşamın ilk iki haftasında enteroviral enfeksiyonlu oldukları düşünülen yenidoğanlarda, standart tedavi ve standart tedaviye ek olarak IVIG kullanımını karşılaştıran tek bir randomize çalışma vardır. Ancak çalışmaya sonuç için yeterli olamayacak kadar az sayıda hasta dahil edilebilmiştir (5).

#### **2.5. MİYOKARDİT**

Miyokardit, miyokardın inflamatuvar hastalığına verilen isimdir. Enfeksiyon etkenleri ve belki de daha fazla enfeksiyona bağlı olmayan nedenlerle gelişir (7). Miyokardit coxsackie B virus ile oluşur; çocuklar ve yetişkinlerde görülür. Fakat esas olarak yenidoğanları tehdit eder. Bu enfeksiyona yakalanan yenidoğanlarda ateşli bir tablo görülür ve ani gelişen, açıklanamayan bir kalp yetmezliği ortaya çıkar. Daha büyük çocuklarda ve yetişkinlerde kardiak tutulum genellikle başlangıç semptomlarından haftalar veya aylar sonra ortaya çıkar (1). Viral miyokarditlerin patogenezi tam olarak açıklanamamıştır. Hücre hasarının daha çok immün bir reaksiyon sonucu geliştiği düşünülmektedir. Miyokarditli hastalarda elektrokardiyografik bulgular ortaya çıkar, ancak kan tablosunda karakteristik değişiklikler görülmez. Perikardial sıvı veya miyokardial biyopsiden yapılan virus kültürleri pozitif bulunabilir, fakat tablonun geç başlama özelliğinden dolayı genellikle negatiftir. Miyokardit

genellikle kendiliğinden iyileşir, ancak özellikle yenidoğanlarda aritmi ve kalp yetmezliğine neden olarak ölüme yol açabilir (7).

### **2.5.a Etyoloji**

Miyokardite neden olan etkenler tablo 1 ve 2' de gösterilmiştir. Bunlar arasında en önemlileri enteroviruslar ve coxackievirus B' dir. PCR kullanılarak yapılan çalışmalarda miyokarditli hastaların %25' inde, dilate kardiyomiyopatili hastaların %15' inde enterovirus genomuna rastlanmıştır. Daha önceki yıllarda miyokardit, difterili hastalarda en önemli ölüm nedeni olarak görülmekte idi. Benzer toksik miyokardit *Clostridium perfringens* infeksiyonlarında da rastlanmıştır. Bakteriyel miyokarditler genellikle bakteriyemi sırasında metastatik yayılım sırasında ortaya çıkmaktadır (7).



**Tablo 1. Miyokarditin İnfeksiyöz Etkenleri**

<b>Virusler</b>	<b>Bakteriler</b>	<b>Mantarlar</b>	<b>Parazitler</b>	<b>Diğerleri</b>
Coxackie A	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Candida spp</i>	<i>Trypanosoma spp</i>	<i>Myoplasma spp</i>
Coxackie B	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Aspergillus spp</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Chlamidya spp</i>
Echovirus	<i>Streptococcus pyogenes</i>		<i>Trichinella spiralis</i>	<i>Rickettsia spp</i>
Polio	<i>Neisseria meningitidis</i>			
Kabakulak	<i>Staphylococcus aureus</i>			
Kızamık	<i>Brucella spp</i>			
İnfluenza A-B	<i>Listeria monocytogenes</i>			
Kuduz	<i>Salmonella spp</i>			
Rubella				
Adenovirus				
Cytomegalovirus				
Ebstein-Barr				
Variola				
Hepatitis B				
Varicella-Zoster				

**Tablo 2. Miyokarditin İnfeksiyon Dışındaki Nedenleri (5).**

Kollajen doku hastalıkları Sistemik lupus eritematozus Skleroderma Romatoid artrit Dermatomiyozit/polimiyozit Still hastalığı
Trichotoksikoz
Feokromasitoma
Radyasyon miyokarditi
İlaca bağlı miyokardit Kokain Alkol Emetin Siklofosfamid Daunorubisin Adriyamisin
Post-partum
İlaca bağlı hipersensitive reaksiyonu Metildopa Sulfonamid Tetrasiklin
Sarkoidoz
Kawasaki hastalığı

### **2.5.b. Patogenez**

Miyokardit oluşumunda dört mekanizmadan bahsedilmektedir. Bunlar şu şekilde özetlenebilir:

- 1-İnfeksiyon etkeninin miyokard hücrelerinde direkt hasara yol açması,
- 2-Dolaşıma karışan toksin nedeni ile ortaya çıkan sitotoksik etki,
- 3-İnfeksiyon sonucu ortaya çıkan immünolojik reaksiyonun neden olduğu sitotoksite,
- 4-Gelişen inflamatuvar reaksiyon sonucu miyokard hücrelerinde ortaya çıkan nonspesifik hasar.

Viral miyokarditlerin patogenezi tam olarak açıklanamamıştır. Hücre hasarının daha çok immün bir reaksiyon sonucu geliştiği düşünülmektedir. Toksine bağlı miyokarditlerde ise sellüler protein sentezinin inhibe olduğu saptanmıştır.

Histolojik incelemede miyokarda inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve hücrelerde nükleer dejenerasyon, ödem, intersitisyel değişiklikler, fragmentasyonlarda bozukluklar görülebilir. İyileşme safhasında ise interstisyel fibrozis ve miyofibrillerde kayıp saptanır (6).

### **2.5.c Klinik Bulgular**

Miyokardit asemptomatik bir hastalık olabileceği gibi, hızla ölümlü sonuçlanan bir hastalık da olabilir. Genç bir hastada beklenmeyen bir kalp yetmezliği veya aritmi gelişmesi miyokarditi akla getirmelidir. Hastalarda ateş, halsizlik, eklem ağrıları, üst solunum yolu infeksiyonu belirtileri ve göğüs ağrısı gibi nonspesifik belirtiler olabılır. Bu hastalarda aritmi veya kalp yetmezliği gelişmesi tanıyı akla getirir. Hastalarda kardiyak enzimler yükselir, elektrokardiyografide değişiklikler ortaya çıkabilir (7).

### **2.5.d Tanı**

Miyokarditin kendine özgü belirti ve bulguları olmadığı için ancak bu hastalıktan şüphelenilmesi ile tanıya gidilir. Hastaların büyük kısmında elektrokardiyografide ST-segmenti ve T-dalgası anormallikleri dikkati çeker. Klasik olarak ST-segmentinde yükselme, T-dalgasında negatifleşme görülür. Sık rastlanılan aritmilerin başında sinüs taşikardisi gelir. Ateşle orantılı olmayan yüksek kalp hızı vardır. Buna ek olarak atrial fibrilasyon gibi diğer aritmiler de gelişebilir.

Miyokard hasarına bağlı olarak kreatinin kinaz enziminin MB fraksiyonu yükselir. Buna ek olarak çeşitli heart-reaktive antikorlar da serumda saptanabilir.

Tanıda ekokardiyografi de yardımcı olabilir. Ayrıca manyetik rezonans ve Indium-111 antimiyozin antikor sintigrafileri de bazı hastalarda tanıya yardımcı olmak için kullanılmışlardır.

Kesin tanı endomiyokard biyopsisi ile konur. Ancak hem teknik güçlük, hem de değerlendirmedeki güçlükler nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir tanı yöntemi değildir. Deneyimli ellerde ise değeri tartışılmaz.

Miyokarditlerin büyük bir kısmı infeksiyon dışı nedenlerle gelişir. Ayırıcı tanıda bunların akla getirilmesinde yarar vardır (7).

### **2.5.e Tedavi**

Etyolojisi bulunabilirse ve buna yönelik spesifik tedavi varsa uygulanır. Ancak hastaların çoğunda etken bulunmadığı için nonspesifik tedavi verilir.

Genellikle kesin yatak istirahati, aritmi ve kalp yetmezliği gelişmesi yönünden izlem önerilmektedir (7). Miyokardit kronik miyokardiyopatiye ilerleyebilir (1).

Miyokarditlerde steroid tedavisi hastalığın gidişini ağırlaştırabilir. Bu nedenle steroid tedavisi uygulanmamalıdır. American Myocarditis Trial adlı çalışmada prednizolon ve/veya siklosporin uygulanmasının iyileşmeye hiçbir etkisinin olmadığı gösterilmiştir.

İnfeksiyon dışı nedenlerle gelişen miyokarditlerde etiyolojiye yönelik tedaviler uygulanabilir (7).

## **2.6. PERİKARDİT**

Perikardit perikardın iltihabi hastalığıdır. İnfeksiyona bağlı olarak gelişebileceği gibi, çoğu kez infeksiyon dışı nedenlerle gelişir. İnfeksiyöz perikarditler arasında en önemlileri pürülan ve tüberküloz perikardittir (7). Perikardit genellikle genç erişkinlerin hastalığıdır, fakat daha yaşlı bireylerde de görülebilir ve miyokard infarktüsünden ayırımı zor olabilir (1). Genel olarak kabul edilen, akut perikarditlerin büyük bir kısmından virusların sorumlu olduklarıdır (7). Genellikle semptomları aynıdır, fakat perikarditte miyokard infarktüsüne oranla ateş daha yüksek ve daha uzun seyredir. Başlangıçtaki ateşli klinik tabloyu (bu tabloya döküntü de eşlik edebilir) ggs ağrısı, perikardiyal sürtünme bulguları ve klinik olarak kötüleşme izler. EKG' de karakteristik perikardit bulguları görülür, ancak kanda uyumlu anomaliler görülmez. Perikardial sıvı kültürleri virus yönünden pozitif olabilir, fakat viral klinik tablonun oluşumu ile geç bir komplikasyon olan perikardit tablosunun arasındaki zamandan dolayı, boğaz ve dışkı kültürleri genellikle negatiftir (1). Ekokardiyografi tanıda en önemli rolü oynayan tetkiktir. Perikardiyal sıvı varlığını, miktarını, perikard kalınlığını belirlemede yardımcı olur (7).

### **2.6.a. Etyoloji**

İnfektif perikardite neden olabilecek pek çok ajan vardır (tablo 3 ve 4). Ancak bunların çoğunda kesin tanı konulması ya çok zordur veya gerekli değildir.

Genel olarak kabul edilen akut perikarditlerin büyük bir kısmından virusların sorumlu olduklarıdır. İdiyopatik olarak sınıflandırılan perikarditlerin çoğunun, belki de tümünün viral orjinli olma olasılığı yüksektir. Antibiyotik ağı öncesi sık etken olarak görülen piyogen bakterilere bağlı perikarditlere ise oldukça nadir rastlanmaktadır. Buna karşılık *Mycobacterium tuberculosis* hala önemli bir perikardit etkeni olarak kabul edilmektedir. Özellikle gelişmekte olankelerde ve AIDS' in yaygın olduğu gelişmişkelerde bu bakteriyi perikarditli hastalarda etken olarak düşünmekte yarar vardır (7).

**Tablo 3. Perikarditin İnfeksiyöz Etkenleri**

<b>Virusler</b>	<b>Bakteriler</b>	<b>Mantarlar</b>	<b>Parazitler</b>
Coxackie A-B	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Candida spp</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
Echovirus	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Aspergillus spp</i>	<i>Entameoba histolytica</i>
Adenovirus	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus spp</i>	<i>Schistosoma spp</i>
Kabakulak	<i>Neisseria meningitis</i>	<i>Histoplazma spp</i>	
İnfluenza	<i>Haemophilus influenzae</i>		
Epstein- Barr	Gram-negatif basiller		
Cytomegalovirus	<i>Legionella spp</i>		
Varicella-Zoster	<i>Actinomyces spp</i>		
Herpes simplex	<i>Listeria monocytogenes</i>		
Hepatit B	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>		

**Tablo 4. Perikarditin İnfeksiyon Dışındaki Nedenleri**

Akut miyokard infarktüsü
Üremi
Malign hastalıklar
Radyasyon sonrası
Kardiyak cerrahi sonrası
Sarkoidoz
Kollajen doku hastalıkları
İlaça bağlı (procainamide, hydralazine)
Miksödem

## 2.6.b Patogenez

Kardiyopatik viruslar miyokard ve perikarda kan yoluyla ulaşırlar. Bu viruslar visseral ve parietal perikardda inflamasyona neden olurlar. Buna bağlı olarak efüzyon birikir. Etkene göre efüzyon seröz, seröfibrinöz veya seröanjioz olabilir. Viral perikarditler, konstrüktif perikardite ve ölüme neden olabilirler.

Bakteriler perikarda, göğüsteki bir infeksiyonun yayılması (travma, cerrahi vb), komşu organlardaki infeksiyonun yayılması (endokardit), kan yolu (bakteriyemi) veya direk inokulasyon (kesici yara, kurşun yarası vb) yolu ile ulaşırlar. Son yıllarda bakterilere bağlı pürülan perikarditlerin görülme sıklığında önemli bir azalma olmuştur. Perikarda ulaşan bakterilerin ortaya çıkardığı inflamasyon sonucu perikardda sıvı birikimi olur, bu sıvıda bol miktarda nötrofiller (pürülan) yer alır. Protein ve LDH düzeyleri yüksektir.

Tüberküloz perikardit hematojen yayılım sonrasında gelişir. Komşuluk yolu ile yayılım gelişmesi oldukça nadirdir. Başlangıçta yaygın fibrin depolanması olur (1. dönem). Bunu seröz veya seröanjioz sıvı toplanması izler (2.dönem). Üçüncü dönemde sıvı absorbe olur; perikardda kalınlaşma, granulom gelişmesi ve fibrin depolanması görülür. Son dönemde konstrüksiyon gelişir. Uygun antitüberküloz tedaviye rağmen hastaların %50' sinde konstrüksiyon görülür (7).

## 2.6.c Klinik Bulgular

Akut perikarditin belirtileri etkene göre değişebilir. Viral perikarditlerde göğüs ağrısı en önemli semptomdur. Ağrı retrosternal yerleşimli olup, omuzlara ve boyuna yayılabilir. Tipik olarak nefes almakla, yutkunmakla ve sırtüstü yatmak ile ağrı artar.

Bakteriyel perikarditlerde genellikle ağır sistemik belirti ve bulgular vardır. Hasta akut hasta görünümünde olup ateş, nefes darlığı ve göğüs ağrısı sık rastlanılan semptomlardır.

Tüberküloz perikardit daha yavaş bir seyir izler. Göğüs ağrısının yanısıra kilo kaybı, gece terlemesi, öksürük ve nefes darlığı gibi belirtiler vardır.

Perikardın klasik fizik inceleme bulgusu perikardiyal frotmandır. Üç komponentli bu frotman hastaların % 50' sinde saptanır. Hastalarda perikardiyal effüzyon fazla ise boyun venlerinde dolgunluk ve pulsus paradoksus dikkati çeker. Hastalarda kalp yetmezliği bulguları yoktur. Bazı hastalarda tamponada bağlı bulgular gelişebilir.

Hastaların yarısında elektrokardiyografide ST segmentinde yükselme görülür. Ayrıca T dalgasında negatifleşme de perikardit için tipik bir EKG bulgusudur.

Ekokardiyografi tanıda en önemli rolü oynayan tetkiktir. Perikardiyal sıvı varlığını, miktarını, perikard kalınlığını belirlemede yardımcı olur (7).

### **2.6.d. Tanı**

Tipik belirti ve bulguların olduğu hastalarda özellikle ekokardiyografinin de yardımı ile tanı konulması oldukça kolaydır. Ancak ayırıcı tanıda infeksiyon dışı nedenleri akla getirmek şarttır. Bunlar arasında önemli olanlar tabloda gösterilmiştir (Tablo 4). Dikkatli tanı değerlendirilmelerinin yapıldığı hastaların %86' sında idiyopatik perikardit tanısı konması oldukça dikkat çekicidir.

Özellikle tüberküloz perikardit düşünülen hastalarda perikard biyopsisi yapılması gereklidir. Buna ek olarak PPD, perikardiyosentez ile alınan sıvının mikrobiyolojik inceleme de dahil değerlendirilmesi ve PCR çalışması bu hastalarda tanıda yardımcı olabilir (7).

### **2.6.e Tedavi**

Yatak istirahati, ağrı kesici ilaçlar ve yakın izlem tedavinin anahtarlarıdır. Özellikle nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar semptomların gerilemesinde yararlı olmaktadır. Akut perikardit tedavisinde steroidlerin yeri yoktur.

Tüberküloz perikarditli hastalarda antitüberküloz tedaviye 3 veya 4 ajan ile başlanmalı, iki ay sonra INH veya rifampin dışındakiler kesilmeli, bu iki ajanla tedaviye 4 ay daha devam edilmelidir. Bu hastalarda konstrüktif perikardit riski çok yüksek olduğu için erken cerrahi girişim (tedavinin 4-6 haftasında perikardiektomi) uygulanmalıdır. Bu hastalarda steroid kullanımı tartışmalıdır (7).

## **2.7. ENTEROVİRUSLARIN TANISINDA PRODECT BCS EV CHIP TEKNİĞİ (MİCROARRAY)**

Bu sistemde 4 moleküler teknik uygulanır: Bunlar DNA ekstraksiyonu, revers transkripsiyon (RT), amplifikasyon ve hibridizasyondur. Bu yöntemlerle sonuçlar klinik semptomlar başlamadan önce bile doğru olarak elde edilebilmektedir. Bu çalışmada hibridizasyon tek bir chipte gerçekleşir ve chiplerde bulunan noktalarda tek sarmallı DNA problemleri ile amplifiye DNA ürünleri hibridize olur. Hibridizasyondan sonra incelenen örnekte patojenin bulunmasına bağlı olarak chipte oluşan kolorimetrik reaksiyon ile hedef DNA saptanır.

Chip yöntemi ile enteroviruslar ve çeşitli tipleri saptanabilir. Klasik yöntemlerle karşılaştırıldığında enterovirusları saptamak için 7 gün ve daha fazlasına ihtiyaç duyulmasına karşın, chip yöntemi ile pan-enterovirus (tüm enterovirusların ortak gen bölgesi) ve iki serotipi, enterovirus 71 (EV 71) ve coxsackievirus A16 (Cox A16) 6 saat veya daha kısa zamanda saptanabilir.

### **2.7.a Örneklerin seçimi**

İncelenecek örneklerin (faringeal sürüntü, nazofaringeal sürüntü, rektal sürüntü, dışkı, serum ve BOS) önce buzları çözülür ve nükleik asitlerinin ayrışması için ekstrakte edilir. Tekrarlanan çözülme dondurma işlemleri, viral DNA/RNA' da kısmi veya tam bozulmaya neden olarak yanlış negatifliğe sebep olabilir. Nükleik asidin ayrıştırılmasında, örneklerin homojen olması ve -20° de saklanması önerilmektedir.

### **2.7.b Ekstraksiyon**

Virus lizisi, spesifik lizis/binding buffer içinde inkübe edilen örneklerde proteinaz K varlığında oluşur. Daha sonra nükleik asitler kaotropik tuz varlığında lifli kuyucuğun yüzeyine bağlanır. Spesifik nükleik asitlerin bağlanmasından itibaren yıkama basamaklarıyla bağlı nükleik asitlerden tuzlar, proteinler ve diğer yabancı maddeler temizlenir.

### **2.7.c Revers Transkripsiyon ( RT )**

Revers transkripsiyon primeri ile PCR DNaz/RNaz bulunan RNA solüsyonundan karışım hazırlanır. Bu karışım 42°C' de 30 dakika ve 95°C' de 5 dakika RT reaksiyonunun tamamlanması için inkübe edilir. RNA izolasyonundaki en önemli aşama, RNA yıkımına neden olan ribonükleaz kontaminasyonunu engellemektir. RNaz etkilerini yok etmek için DEPC (diethyl pyrocarbonate) kullanılır. Bu RT ürünleri -16 ile -24°C' de amplifikasyon işlemine kadar tutulabilir.

### **2.7.d Amplifikasyon**

Her bir tüp içine DNA polimeraz eklenir. Amplifikasyon işlemi için 94°C' de 4 dakika bekletildikten sonra, 94°C' de 50 saniye, 55°C' de 50 saniye, 72 °C' de 50 saniye olmak koşuluyla 40 kez tekrarlanır ve son olarak 72 °C' de 4 dakika tutulur. Bu amplifiye ürünler 2-8°C' de kısa süreli, -16 ile -24 °C' de uzun süreli bekletilebilir.

### **2.7.e Hibridizasyon**

Üretici firmanın sağladığı hibridizasyon buffera eklenen amplifiye ürünler 99°C' de 5 dakika tutularak denatürasyon işlemi yapılır ve sonra hemen soğutulur. Üretici firmanın sağladığı chiplere bu karışım eklenir ve 50°C' de 1 saat inkübe edilir. Chipler açılır ve hibridizasyon buffer atılır. Yıkama solüsyonu ile yıkanır ve kurutulur.

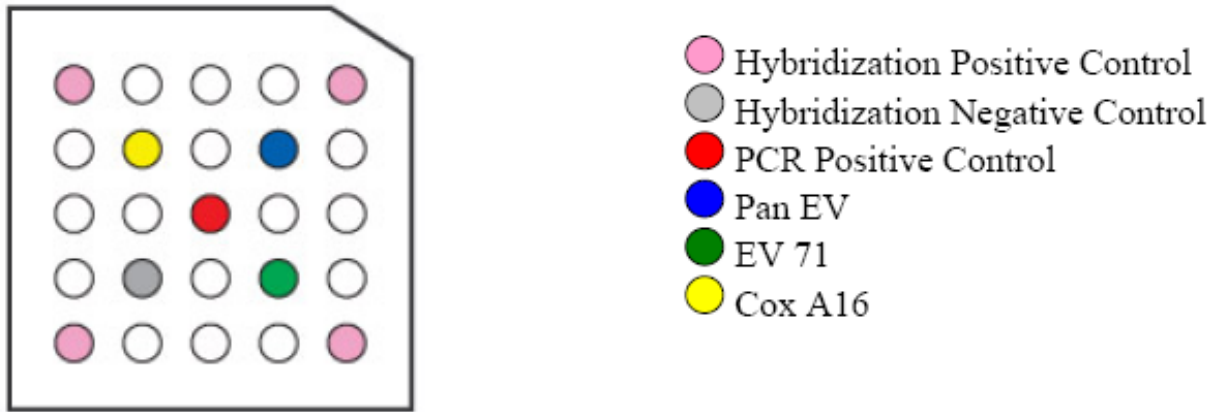


## 2.7.f Virusun Saptanması ve Kolorimetrik Reaksiyon

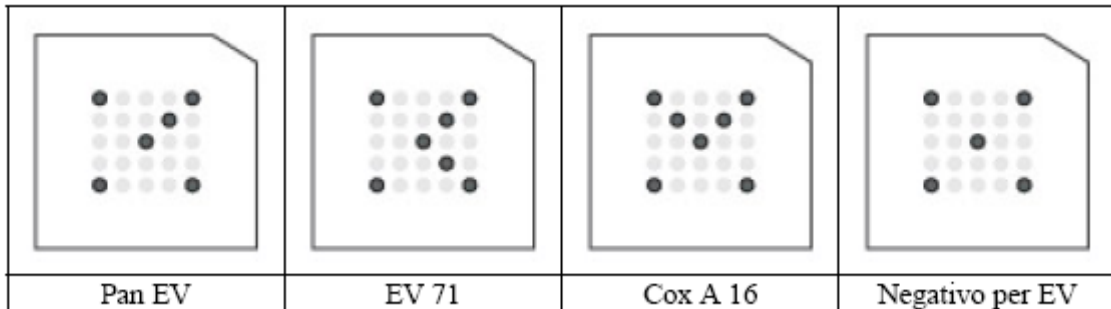
Blocking reagent eklenir ve 30 dakika oda ısısında inkübe edilir. Blocking reagent atılır ve yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkanır ve kurutulur. Yıkama solüsyonu atılır. Chiplere deteksiyon buffer eklenir. 10 dakika karanlık bir yerde oda ısısında tutulur. Deteksiyon buffer chiplerden atılır ve distile su ile chipler yıkanır ve kurumaya bırakılır. Örnekler üretici firmanın sağladığı okuyucular ile okunur.

## 2.7.g Sonuçların yorumlanması

Chipte bulunan dizilime göre örnekler yorumlanır. Chipte bulunan spesifik oligonükleotid prob lar hedef komplementer DNA' yı hibridizasyon işlemi ile yakalar. Hibridizasyon ve kolorimetrik reaksiyon sonrası spesifik prob lar yalnızca örnekte patojen varlığında hedefi yakalar, tam olarak birbirine uygun prob-hedef hibridizasyonu ile chipte mavi-mor renk oluşur. Hem kontrol hem patojen kuyucuklar incelenir. Testin başarılı olduğunu hibridizasyon pozitif kontrol ve PCR pozitif kontrol gösterir.



Şekil 1. ProDect BCS EV CHIP yönteminde spesifik problemlerin yerleşimi.



Şekil 2. Pozitif ve negatif sonuç görüntülerinden örnekler.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Klinik Örnekler

Bu çalışmada, 2005-2006 yıllarında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinin çeşitli kliniklerinde yatmakta olan toplam 100 kişinin BOS ve serum örnekleri çalışmaya alındı. Hasta grubunu oluşturan 50 örnek içinde, aseptik menenjit tanılı hastalardan alınan 40 BOS örneği ve kardit tanılı hastalardan alınan 10 serum örneği vardı. Kontrol grubu olarak, klinik ve laboratuvarca aseptik menenjit düşünülmeyen, bunun dışında nörolojik bir hastalığı olan, BOS şanti bulunan ve bakteriyel menenjit düşünülen 50 BOS örneği kullanıldı. Her iki çalışma grubunun demografik bilgileri Şekil 1 ve 2' de belirtilen anket formları uygulanarak toplandı. BOS örnekleri laboratuvara ulaştıkları ilk anda mikroskopik direkt baki, pandy testi, gram boyama, giemsa boyama ve bakteri kültürü yönünden incelemeye alındı. Kalan örnekler daha sonraki çalışmalar için -20°C' de saklandı. Deneysel çalışmaların tümü Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

#### 3.2. Ekstraksiyon

200µl BOS veya serum örneğine 200µl polyA içeren binding buffer ve 50µl proteinaz K ilave edildi. Karıştırıldıktan sonra 10 dakika 72°C' de benmaride bekletildi ve 100µl binding buffer eklendi. Toplama tüplerinin içine yerleştirilen filtrelili tüplere bu örnekler pipetle aktarıldı. Bir dakika 8000xg' de santrifüj edildi. Toplama tüplerinde biriken sıvı tüple birlikte atıldı. Her tüpe 500µl inhibitör removal buffer eklendi. Bir dakika 8000xg' de santrifüj edildi. Toplama tüplerinde biriken sıvı tüple birlikte atıldı. Her tüpe 450µl yıkama buffer eklendi. Bir dakika 8000xg' de santrifüj edildi. Tüpleri çıkarmadan 10 saniye maksimum hızda 13000xg' de santrifügasyon yapıldı. Toplama tüplerinde biriken sıvı tüple birlikte atıldı. Filtrelili tüpler kapaklı tüplere yerleştirildi ve her bir tüpe 50µl elusyon buffer eklendi. Bir dakika 8000xg' de santrifüj edildi. Filtrelili tüpler atıldı. Kapaklı tüplerde viral nükleik asitler elde edildi.

#### 3.3. Revers Transkripsiyon

Hazır PCR Beadler 19 µl DEPC H<sub>2</sub>O ile çözüldü. Her bir örneğe 19 µl ekleneceği için örnek sayısı kadar bead çıkarıldı. Örnek sayısı kadar 0,2 µl' lik PCR tüpleri çıkarıldı. Her tüpe 1 µl RT primer ve 30 µl nükleik asit (izole edilen nükleik asitler) ve 19 µl bead eklendi ve toplam hacim 50 µl oldu. Tüpler thermal cycler' a yerleştirildi ve program başlatıldı. Örnekler 42°C' de 30 dakika ve 95°C' de 5 dakika tutuldu.

### **3.4. Amplifikasyon**

Her örnek için 0,2 ml' lik PCR tüpleri hazırlandı. Boş bir kapaklı tüpe master miks hazırlandı. Miks her örnek için 12 µl EV miks ( PCR için gerekli tüm komponentleri içerir) ve 0,5µl DNA polimeraz içermekteydi. 12,5 µl her tüpe eşit olarak dağıtıldı. RT ürünlerinden 12,5 µl tüplere eklendi. Toplam hacim 25 µl oldu. Negatif kontrol olarak DEPC H<sub>2</sub>O kullanıldı. Tüpler thermal cyler cihazına yerleştirildi ve önceden kaydedilmiş program başlatıldı. Bir kez 94°C' de 50 saniye, 35 kez sırasıyla 94°C' de 50 saniye, 55°C' de 50 saniye ve 72°C' de 40 saniye tekrarlandı, son olarak bir kez 72°C' de 4 dakika tutularak tamamlandı. Elde edilen PCR ürünlerini kısa süreli +4°C' de uzun süreli -20°C' de saklanabilmektedir.

### **3.5. Hibridizasyon**

Hibridizasyon oven çalışmaya başlamadan önce 50°C' ye ayarlandı. Yıkama buffer oda sıcaklığına getirildi. Örnek sayısı kadar 1,5ml' lik kapaklı tüp çıkartıldı. Her tübe 490 µl hibridizasyon buffer eklendi ve üzerlerine 10 µl örnek eklenerek karıştırıldı. Tüpler kaynayan suyun içerisinde 5dk ve hemen ardından 2 dk buz içinde gömülü olarak bekletildi. Örnek sayısı kadar chip çıkartıldı ve solüsyon chiplere eklendi. Kapakları kapatılıp ve 50°C' de 1 saat bekletildi. 1 saatin sonunda chiplerdeki solüsyon boşaltılıp 500 µl yıkama buffer eklenerek 1dk beklenildi.

### **3.6. Virusun Saptanması ve Kolorimetrik Reaksiyon**

500 µl blocking buffer ile 0.25 µl streptavidin-AP örnek sayısı ile orantılı olarak falcon tüplere hazırlandı. Chiplere eklendi ve oda ısısında 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonrası solüsyon boşaltıldı ve 500 µl yıkama buffer ile 3 kez yıkandı. 500 µl deteksiyon buffer chiplere eklenip hafif çalkalanarak döküldü. 490 µl deteksiyon buffer ile 10 µl NBT/BCIP örnek sayısı kadar falcon tüplere hazırlandı (Bu solüsyon karışımı hazırlanırken falcon tüpün alüminyum folyo ile sarılması uygun olacaktır). Hazırlanan solüsyon chiplere 500 µl olacak şekilde dağıtıldı. Karanlıkta 10 dakika oda ısısında inkübe edildi. Solüsyon dökülüp distile suyla yıkandıktan sonra kurumaya bırakıldı. Kolorimetrik okuyucuda okutuldu.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya aseptik menenjit veya kardit tanısı almış hastalardan oluşan 50 (çalışma grubu) ve kontrol grubunu oluşturan 50 kişi olmak üzere 100 kişi dahil edildi. Bunların 59' u erkek 41' i kadındı. Çalışılan hastaların yaşları incelendiğinde, 1yaş altı çocuklar ile 77 yaş aralığında değişmekteydi, ortalama yaş ise 43 bulundu.

Çalışma grubunu oluşturan 50 örneğin 40 tanesini aseptik menenjit düşünülen hastalardan alınan BOS örnekleri oluştururken, 10 tanesini kardit düşünülen hastalardan alınan kan örnekleri oluşturmaktaydı. Bu örneklerden 2' si BOS ve 3' ü serum olmak üzere toplam 5 örnekte enterovirus grubuna ait etkenler saptandı (Tablo 5). Bu örneklerin iki tanesinde yalnızca pan-enterovirus, iki örnekte enterovirus tip 71 ve bir tanesinde de coxackie A virus tip 16 pozitif bulundu (Tablo 6).

**Tablo 5. Pan- enterovirus (Enterovirusların ortak gen bölgesi) Sonuçları**

	BOS	KAN	TOPLAM
Pozitif	2	3	5
Negatif	38	7	45
Toplam	40	10	50

**Tablo 6. Pan-enterovirus, Enterovirus tip 71 ve Coxackie A virus tip16 Sonuçları**

	Pan-enterovirus	Entrovirus tip 71	Coxackie A virus tip 16
BOS	2	1	-
SERUM	3	1	1
TOPLAM	5	2	1

Aseptik menenjit düşünülen 40 hastanın demografik özellikleri kendi içinde değerlendirildi. Bu hastaların yaş aralığı 1 yaş altı ile 74 yaş arasında değişmekte ve ortalama olarak 22.3 bulundu. En sık 7 hasta (%17.5) ile 1 yaş ve altı olan hasta grubu saptandı. Cinsiyet olarak incelendiğinde ise 26' sı (%65) erkek ve 14' ü (%35) kadındı. Örneklerin alındığı klinikler incelendiğinde, 18 (%45.0) örneğin pediatriyen, 13 (%32.5) örneğin infeksiyon hastalıklarından, 6 (%15.0) örneğin nörolojiden, 2 (%5.0) örneğin dahiliyeden ve 1 (%2.5) örneğin göğüs hastalıkları servisinden gönderildiği saptandı. Klinik olarak bu hastalarda meningeal irritasyon bulguları araştırıldığında, 11 (%35.5) hastada pozitif, 20

(%64.5) hastada şüpheli pozitif olarak saptanırken, kalan 9 hasta ise pediatriye yenidoğan servisi ve süt çocuğu servisinde yatan hastalardan alındığı için değerlendirilememiştir. Anamnezinde 15 gün önce geçirilmiş üst solunum yolu infeksiyonu hikayesi bulunan hastalar araştırıldığında, 29 (%72.5) hastada negatif, 11(%27.5) hastada ise pozitif bulunmuştur.

BOS örneklerinin mikrobiyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmesinde; Pandy testi 25 (%62.5) örnekte negatif, 15 (%37.5) örnekte ise pozitif bulundu. Bu örneklerin 4' ünde (%10) +1 pozitif, 3' ünde (%7.5) +2 pozitif, 4' ünde (%10) +3 pozitif, 4' ünde (%10) +4 pozitif olarak pandy testi pozitifliği saptandı. BOS örneklerinin direkt mikroskopik incelemelerinde, 23 (%57.5) örnekte lökosit gözlenirken, 17 (%42.5) örnekte ise lökosit rastlanmadı. Giemsa yöntemiyle boyama sonucunda örneklerin 9' unda (%22.5) lenfosit hakimiyeti gözlenirken, 31 örnekte (%77.5) lenfosit hakimiyeti gözlenmedi. Gram boyalı incelemede ise hiçbir örnekte bakteri veya mantar hücrelerine rastlanmadı. Ayrıca yapılan bakteri ve mantar kültürlerinde örneklerin hiçbirinde üreme saptanmadı.

Biyokimyasal incelemede, BOS glukozu 36 (%90) hastada normal, 1 (%2.5) hastada hafif düşük, 3 (%7.5) hastada düşük bulundu. BOS proteini ise 35 (%87.5) hastada normal, 2 (%5) hastada hafif yüksek ve 3 (%7.5) hastada yüksek bulundu.

Kardit ön tanısı almış 10 hastanın demografik özellikleri incelendiğinde, yaş aralığı 1 ile 71 arasında değişirken ortalama yaş 34.2 idi. Hastaların 8 (%80) tanesi erkek, 2 (%20) tanesi kadındı.

Kliniklere göre dağılımda ise hastaların 6' sı kardiyoloji kliniğinde, 4' ü de pediatri kliniğinde yatmaktaydı. Hastaların 5' inde ateş, 3' ünde burun akıntısı ve 2' sinde de döküntü saptandı. Yedi hastada göğüs ağrısı, 2 hastada takipne ve taşikardi saptandı. Yeni saptanan oskültasyon bulgusuna ise hiçbir hastada rastlanmadı. Tüm hastaların ejeksiyon fraksiyonları 15-52 arasında değişmekteydi. S<sub>3</sub> sadece 1 hastada duyuldu. Perikardiyal frotman bulgusu hiçbir hastada bulunmadı. Üç hastanın EKG' si kardit ile uyumlu iken, 7 hastanın EKG' si kardit ile uyumlu bulunmadı. Sadece 1 hastanın ekokardiyografi bulguları kardit ile uyumlu değilken, 9 hastanın sonuçları kardit ile uyumlu saptandı.

Aseptik menenjitli 40 hastadan alınan BOS örneklerinin 2 tanesinde pan-enterovirus (enterovirusların ortak gen bölgesi) pozitif bulundu. Bu iki örneğin birisinde yalnız pan-enterovirus pozitif saptandı, bu örneğin enterovirus tip 71 veya coxsackie A virus tip 16 dışında bir serotip olarak değerlendirildi, diğer örnekte enterovirus tip 71 pozitif saptandı. Bu hastalar ve örnekleri detaylı bir şekilde incelendi. Yalnız pan-enterovirus pozitif bulunan hasta nöroloji servisinde yatan, 55 yaşında bayan hasta idi. Hastanın anamnezinde 15 gün içinde üst solunum yolu infeksiyonu öyküsü yoktu, şüpheli meningeal irritasyon bulguları olan hastanın lumbal ponksiyonun ile alınan BOS örneğinin mikrobiyolojik ve biyokimyasal parametreleri araştırıldı. Pandy değeri +1 pozitif. Direkt mikroskopik incelemede lökosit

55/mm<sup>3</sup> iken, gram boyamada bakteri veya mantar hücrelerine rastlanmadı. BOS' un giemsa boyalı incelemesinde %70 mononükleer lökosit, %30 polimorfonüveli lökosit hakimiyeti görüldü. Bakteri kültüründe üreme olmadı. Örneğin biyokimyasal incelenmesinde ise protein hafif yüksek, glukoz normal bulundu. Bu olguda pan-enterovirus pozitifliğini diğer laboratuvar bulguları da desteklemiş oldu.

Enterovirus tip 71 pozitif bulunan hasta ise 66 yaşında, dahiliye servisinde yatan bayan hasta idi. Hastanın 15 gün içinde bir üst solunum yolu infeksiyonu öyküsü bulunmuyordu. Şüpheli meningeal irritasyon bulguları sebebiyle BOS örneği alınan hastanın mikrobiyolojik ve biyokimyasal parametreleri araştırıldı. Pandy değeri negatif, direkt bakısında bakteri veya mantar hücresi ve giemsa boyamada lenfosit hakimiyetine rastlanılmayan örneğin kültüründe de üreme olmadı. Biyokimyasal olarak BOS glukoz ve protein değerleri normal bulundu.

Kardit düşünülen hastalardan alınan 10 serum örneğinden birinde sadece pan-enterovirus pozitif bulunurken, bir örnekte enterovirus tip 71, bir örnekte de coxackie A virus A tip 16 pozitif bulundu. Diğer örnekler negatifti.

Yalnız pan-enterovirus pozitif bulunan hasta, pediatri servisinde yatan, 3 yaşında erkek hasta idi. Bu hastada geçirilen viral bir infeksiyonu düşündüren bulgulardan yalnızca döküntü ve solunum yolu bulgusu pozitifliği. Hastada göğüs deformitesi sebebiyle yeni saptanan oskültasyon bulgusu değerlendirilemedi. Takipne ve taşikardisi pozitif bulunan hastada, %40 ejeksiyon fraksiyonu saptandı. S<sub>3</sub> negatif ve perikardiyal frotman negatif bulundu. EKG ve ekokardiyografi kardit ile uyumlu ve kalp çapında artış saptandı.

Coxackie A virus tip 16 pozitif saptanan hasta, geçirilmiş viral infeksiyonu düşündüren bulgu olarak, sadece ateş ve solunum yolu infeksiyonu yakınması olan kardiyoloji servisinde yatan 52 yaşında bir erkek hastaydı. Göğüs ağrısı saptanan hastanın taşikardi ve takipnesi bulunmazken ejeksiyon fraksiyonu %15 bulundu. Yeni saptanan oskültasyon bulgusuna rastlanılmadı. S<sub>3</sub> pozitif ve perikardiyal frotman negatif bulundu. EKG ve ekokardiyografisi kardit ile uyumlu iken, kalp çapında artış saptandı.

Enterovirus tip 71 pozitif bulunan hasta, geçirilmiş viral infeksiyonu düşündüren bulgu olarak ateş, burun akıntısı ve solunum yolu bulgusu olan, pediatri servisinde yatan 27 günlük bayan hasta idi. Takipne ve taşikardisi olan hastanın yeni saptanan oskültasyon bulgusuna rastlanmadı. Ejeksiyon fraksiyonu %50 olan hastada S<sub>3</sub> negatif bulundu. Perikardiyal frotmanı bulunmayan hastanın EKG'si kardit ile uyumlu bulunmazken, ekokardiyografisi kardit ile uyumlu bulundu.

Kontrol grubunda, bakteriyel menenjitli hastalar, nörolojik sebeplerle BOS alınan hastalar ve BOS şanti bulunan hastaların örnekleri kullanıldı. Bu hastaların da demografik özellikleri incelendi. Kontrol grubunu oluşturan 50 hastanın 35' i (%70) nöroloji kliniğinde,

8' i (%16) pediatri ve 7' si de (%14) infeksiyon hastalıkları kliniğinde yatmaktaydı. Hastaların 25' i (%50) erkek, 25' i de (%50) kadındı. Yaşları 1 yaş altı ile 77 arasında değişirken ortalama yaş 43 idi. Hastaların klinik özellikleri araştırıldığında, 50 (%100) hastada 15 gün içinde bir üst solunum yolu infeksiyonu öyküsüne rastlanılmadı. Bu hastaların meningeal irritasyon bulguları incelendiğinde, 7' sinde (%16.7) pozitif, 35' inde ise (%83.3) negatifti. Sekiz hasta yenidoğan ve süt çocuğu servislerinde yatan hastalar olduğu için değerlendirmeye alınmadı.

Kontrol grubunun mikrobiyolojik ve biyokimyasal incelemeleri de aynı zamanda araştırıldı. Pandu değeri 34 (%68) örnekte negatif, 16 (%32) örnekte pozitif bulundu. Bu örneklerin 2 (%4) tanesi +1 pozitif, 2 (%4) tanesi +2 pozitif, 1 (%2) tanesi +3 pozitif, 11 (%22) tanesinde +4 pozitif saptandı.

Direkt mikroskopik incelemelerinde ise 14 (%28) örnekte lökosit gözlenirken, 36 (%72) örnekte lökosit gözlenmedi. BOS örneklerinin gram boyalı incelemelerinde 45 (% 90) örnekte bakteri görülmezken, 5 (%10) örnekte bakteri görüldü. Beraberinde yapılan giemsa boyamalarında ise 50 (%100) örneğin hiçbirinde lenfosit hakimiyetine rastlanılmadı.

Kontrol olarak kullanılan örneklerin kültürlerinin 45' inde (%90) üreme saptanmazken, 5 (%10) örnekte üreme saptandı.

Biyokimyasal parametreler araştırıldığında, BOS proteini 41 hastada normal (%82), 9 (%18) hastada ise yüksek bulundu. BOS glukoza ise 41 (%82) hastada normal, 2 (%4) hastada hafif düşük, 7 (%14) hastada ise düşük saptandı. Kontrol grubundaki meningeal irritasyon bulgusu pozitif bulunan örneklerin direkt bakışında hepsinde 1000' den fazla lökosit görüldü ve 5 örnekte üreme saptandı, kalan 2 örnekte ise üreme olmaması ponksiyon öncesi antibiyotik kullanımına bağlandı.

## 5.TARTIŞMA

Enteroviruslar Picornaviridae ailesinin enterovirus grubunda yer alırlar. Enteroviruslar poliovirus, echovirus ve coxackievirus A ve B ile enteroviruslar 68-71 olmak üzere gruplara ayrılırlar. İnfeksiyonların çoğu asemptomatik olmasına rağmen, bu viruslar polio, ensefalit, menenjit, miyokardit, perikardit, endokardit, plörodini, pankreatit, neonatal infeksiyonlar, herpanjina, el-ayak ve ağız hastalığı, akut hemorajik konjunktivit, gastroenterit, üst solunum yolu hastalıkları, pnömoni ve ateşli döküntülü veya döküntüsüz hastalık gibi birçok hastalığa sebep olur (9).

Enteroviruslar tüm dünyada yaygın olarak bulunurlar. İnsan bilinen tek rezervuardır. Ilıman iklimlerde, yaz ve sonbahar aylarında daha sık görülürler. Her bir enterovirus sezonunda toplumda sadece 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, coxackie B2, B5, echovirus 4, 6, 9, 11, 16, 30, enterovirus 70, 71' dir. Poliovirusa bağlı menenjit, klinik olarak diğer enteroviruslardan ayrılamaz. Çeşitli coxackie ve echovirus serotiplerine bağlı sporadik flask motor paraliziler bildirilmiştir. Enterovirus 71, polio benzeri epidemik parolitik hastalık oluşturabilmektedir. Türkiyede 1999 yılında Antalya ve Ankara' da echovirus 30' a bağlı salgınlar saptanmıştır (10).

Enteroviruslar hücre kültüründe üretilebilirler. Kültür yönteminin duyarlılığı %50-70' dir. MSS infeksiyonu tanısında, BOS' un yanı sıra dışkı ve boğaz sürüntüsü kültürleri de yapılmaktadır. BOS dışı örneklerde üreme olması dolaylı tanı konmasını sağlar. Ancak infeksiyondan sonra bu odaklardan virus yayılımı haftalarca devam ettiği için, pozitif sonuç geçirilmiş bir infeksiyona bağlı olabilir. Enterovirus menenjitinde BOS' taki virus miktarı 10-1000 TCID<sub>50</sub>/ml kadar düşük olabilir. Bu durumda kültürde üremenin saptanması gecikmektedir (ortalama 3-8 gün) (10).

Coxackieviruslar hastalığın ilk günlerinde kandan ve boğaz çalkantı suyundan, daha sonraları ise 2-3 hafta süreyle dışkıdan elde edilebilirler. Coxackievirus A21 infeksiyonlarında burun sekresyonunda bol miktarda virus bulunmaktadır. Aseptik menenjitlerde virus BOS ve dışkıdan izole edilebilir, yapılacak işlem aynen poliomyelit virusunde olduğu gibidir. Coxackievirus A24' e bağlı hemorajik konjunktivit olgularında inceleme materyali konjunktiva, boğaz sürüntüsü ve dışkıdır (11).

Bu materyaller doku kültürü ve yavru farelere inoküle edilir. Doku kültürlerinde sitopatik değişiklikler 5-14. günlerde belirir. Yavru farelerde ise paralizi ve diğer hastalık belirtileri coxackievirus A grubu viruslarda 3-8, coxackievirus B grubundakilerde ise 5-14.



günlerde ortaya çıkarlar. Üreyen virusların idantifikasyonu farelerde oluşan lezyonların histopatolojik olarak incelenmesi ve immünolojik yöntemlerle olasıdır. Nötralizan antikorlar erken olarak belirirler. Bu antikorlar infeksiyonu yapan virus tipine özgüdür ve infeksiyondan sonra kanda yıllarca varlıklarını sürdürürler (11).

Echovirus infeksiyonlarının klinik olarak tanısının çok güç olduğu ve kesin etyolojik tanının ancak iyi örgütlenmiş bir virus laboratuvarıyla mümkün olabileceği görülmektedir. Bununla beraber bazı durumlarda bu infeksiyonların varlığı tahmin edilebilir. Örneğin yazın görülen aseptik menenjit salgınlarında veya yine yaz mevsiminde rastlanılan ve özellikle çocuklar arasında ateş ve döküntülerle karakterize epidemilerde ya da bir prematüre veya yenidoğanlar kliniğinde izlenen çok sayıdaki nonbakteriyel diyare olgularında echovirusların etken olabilecekleri düşünülür. Bu gibi durumlarda hastalardan alınacak boğaz çalkantısı, dışkı ve BOS gibi klinik materyalden virus izolasyonu ve identifikasyonu şarttır. Echovirus 9 ve 16 gibi bazı tiplerin yaptıkları infeksiyonlarda erken olarak alınacak kan örneklerinden de virus izole edilebilmektedir (11).

Serolojik tanı biraz güçtür. Çeşitli enterovirus antijenlerinin kullanılması gerekmektedir. Hücre kültürlerinde echovirus şüphesi veren bir etken üretildiğinde bunun çeşitli antiserumlarla karşılaştırılması ve hangi serumla nötralize olduğuna bakılarak tipinin saptanması gereklidir. Birkaç tiple olan karışık infeksiyonlarda agar altındaki maymun böbrek hücrelerinden yapılmış doku kültürü tabakasında oluşacak plakların farklı karakterleriyle tanıya gidilmektedir (11).

Enterovirus epidemileri sırasında sağlıklı kontrollerde de %7,5 oranında virus varlığı gösterilmiştir. Bu nedenle virus izolasyonunun önceden geçirilmiş bir infeksiyonu yansıtması olasılığından da söz edilmektedir. Bu nedenle izole edilen suş için tanıyı doğrulamada akut ve konvalesan serolojik testler kullanılabilir (12). Yine BOS dışı viral kültürlerin, enteroviral MSS infeksiyonunun belirlenmesinde yararlı olamadığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Johnson ve ark. larının yaptıkları bir çalışmada enteroviruslar akut bir hastalık nedeniyle hastaneye yatırılan ve BOS kültüründe üreme olmayan süt çocuklarıyla, BOS' tan enterovirus izole edilen süt çocuklarında BOS dışı yerlerden benzer oranlarda izole edilmiştir (13).

Enterovirusların saptanması ve serotiplendirilmesi genellikle konvansiyonel olarak immünolojik yöntemlerle yapılmasına rağmen, birçok klinik örnekte enterovirus yüzey antijenlerine karşı sınırlı sayıda antikor gelişmesi gibi nedenlerle enterovirusların laboratuvar tanısında güçlüklerle karşılaşmaktadır. Kültür günümüzde altın standart olarak görülmesine karşın uzun zaman alması, pahalı, zor ve pratik olmaması sebebiyle klinik laboratuvarlarda kullanışı sınırlıdır.

Son yıllarda daha hızlı tanı amacıyla DNA chip' lerinden yararlanılan yeni teknikler geliştirilmiştir. Chipteki küçük bir yüzeye DNA fragmanları uygulanarak, bir

mikroorganizmaya ait genlerin PCR ürünleri veya baz dizisi bilinmeyen mikroorganizmanın tüm genom fragmanı taşıyıcı bir yüzeye bağlanarak transkripsiyon analizinde veya genom karşılaştırılmalarında kullanılmaktadır. Bu yöntemin avantajı, amplifiye edilen baz dizilerinin kompleks yapılarını çözebilmesidir. Yüzlerce veya binlerce mikrobiyal hedef için DNA problu chipler hazırlandığında infeksiyon hastalıklarının tanısı kolaylaşacaktır. DNA chipleri sadece tanı opsiyonlarını arttırmakla kalmayıp, aynı zamanda tedavinin düzenlenmesinde de katkıda bulunabilir (14).

Biz de çalışmamızda bu yeni geliştirilen DNA chip teknolojisini kullanarak aseptik menenjit ve kardit etyolojisinde enterovirusları ayrıca enterovirus tip 71 ve coxackie A virus tip 16 serotiplerini araştırdık. Aseptik menenjit için 40 BOS örneği ve kardit için 10 serum örneği, hasta grubu olarak çalışıldı. Kontrol grubu olarakta 50 BOS örneği çalışıldı. Çalışma grubuna ait BOS örneklerinden 2 (%5) tanesinde enterovirus saptanmış olup, bunlardan birisi enterovirus tip 71 olarak tiplendirilmesi yapılmıştır. Aynı şekilde serum örneklerinden 3 (%30) tanesinde enterovirus saptanmış, bir örnek enterovirus tip 71 ve bir örnekte coxackie A virus tip 16 olarak tiplendirilmiştir. Bulgularımızı karşılaştırmak amacıyla literatüre baktığımızda, çok yeni bir yöntem olduğu için bizim çalışma grubumuzda daha önce bu yöntemle yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Yaptığımız çalışmaya benzer bir araştırmada Chen ve ark. ları, (15) el-ayak ve ağız hastalığı kanıtlanmış olan veya şüphelenilen 144 hasta örneğinde microarray ile enterovirus araştırmışlar. Multiplex reverse transcription-PCR ile microarray yöntemini birlikte kullanarak bu yöntemin duyarlılığını, tanısal doğruluğunu ve enterovirus tip 71 ve coxackie A virus tip 16 ayırımını incelemişlerdir. Çalışmada tanısal doğruluk oranını enterovirus tip 71 için %92.0, coxackie A virus tip 16 için %95.8 bulmuşlardır. Enterovirus tip 71 veya coxackie A virus tip 16 olmayan diğer enteroviruslar için ise bu oranı %92.0 bulmuşlardır. Tüm örnekleri beraberinde real-time PCR ile analiz etmişler ve microarray yöntemini alternatif tanıda enterovirus tip 71 ve coxackie A virus tip16 için yüksek duyarlılık göstermesi sebebiyle yararlı bulmuşlardır.

Boriskin ve ark.larının (16) yaptığı bir çalışmada ise menenjit ve ensefalit etkeni olan 13 viral etken 60 klinik örnekte microarray yöntemi ile araştırılmış, 23 örnekte (%38) echovirus, dört örnekte (%6) herpes simpleks tip 2, dört örnekte (%6) varicella zoster virus, bir örnekte (%1.7) herpesvirus 7, bir örnekte (%1.7) herpesvirus 6A, iki örnekte (%3.3) herpesvirus 6B, üç örnekte (%5) Epstein Barr virus, bir örnekte (%1.7) polyomavirus JC ve iki örnekte de (%3.3) cytomegalovirus olmak üzere toplam 41 örnekte (%68.3) pozitif sonuç bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada kullanılan chip herpes simpleks tip 1, polyomavirus BK, kabakulak ve kızamık virusleri problemlerini de içermektedir. Bu 13 virus için; beraberinde viruse spesifik PCR çalışması sonucunda 3 örnekte microarray yöntemiyle yanlış negatif

sonuç bulunmuştur. On beş örnek ise doğru negatif sonuç vermiştir. Altın standart test olarak viruse spesifik PCR kullanılması sonucunda duyarlılık %93, özgüllük %100, negatif prediktif değer %100 ve pozitif prediktif değer %83 bulunmuştur. Bu çalışmalar sonucunda microarray yönteminin virusların saptanmasında özgül bir yöntem olduğu ve birçok viral etkenin sebep olduğu santral sinir sistemi infeksiyonlarının tanısının tek bir tanısıl cihazla sağlanabildiği görülmüştür.

Korimbocus ve ark. larının (17) yaptığı çalışmada; santral sinir sisteminin viral infeksiyonlarında herpesvirus, enterovirus ve flavivirusler DNA microarray teknolojisi ile araştırılmıştır. Bu yöntemle tek bir chipte herpesvirusler identifiye edilmiş, herpes simpleks tip 1 (HSV 1), HSV 2 ve cytomegalovirus, enterovirusların tüm serotipleri ve 5 flavivirus tiplendirilmesi de başarı ile yapılmıştır.

Türkiye’ de Özkaya ve ark.ları (18) yaptıkları çalışmada, 1999 yılında haziran ve eylül ayları boyunca Ankara ve Antalya’ da echovirus 30’ un sebep olduğu aseptik menenjitli 176 vaka ortaya çıkmıştır. Bu hastaların klinik ve laboratuvar bulguları ile viral menenjit oldukları saptanmıştır. Toplam 86 hastanın BOS ve dışkı örneklerinden enterovirus için kültür yapılmıştır. Toplam 38 (%44) hastadan echovirus tip 30 saptanmıştır. Bu rapor Türkiyede echovirus tip 30 ile oluşan aseptik menenjit hakkındaki tek epidemiyolojik bilgidir.

Yine Türkiye’ de yapılan bir çalışmada Güney ve ark.ları (19) tarafından 1999-2002 yılları arasında aseptik menenjit şüpheli 68 pediatrik hastanın BOS’ ları incelenmiştir. Bu örnekler hem hücre kültürüne ekilmiş, hem de RT-PCR uygulanmıştır. Bu 68 örneğin 36 (%52) tanesinde kültür yöntemi ile enterovirus pozitif saptanmıştır. 43 (%63) örnekte ise RT-PCR ile pozitif bulunmuştur. Onbeş örnekte 2 yöntemle farklı sonuçlar bulunmuştur. Onbir örnek RT-PCR ile pozitif bulunurken kültürde üreme olmamıştır. Kültürde izole edilen örneklerden 30’ u echovirus 30, 5’ i coxackievirus tip B olarak tiplendirilirken bir izolasyon ise nötralizasyon testi ile tiplendirilememiştir. RT-PCR daha duyarlı ve daha hızlı olduğundan enterovirus menenjitinin tanısında kültür yönteminden daha üstün bulunmuştur.

ABD’ de 2006 yılında yayınlanan en son enterovirus raporunda, 2002-2004 yıllarında birleşik devletlerde genellikle aseptik menenjit ile ilişkili olan echovirus 9 ve echovirus 30, enterovirus infeksiyonlarında en yaygın serotip olarak rapor edilmiştir. 2002-2004 yılları boyunca toplam 24 laboratuvar da 4123 enterovirus saptanmıştır. Serotipleri saptamada 7 laboratuvar genom sekansını kullanmış, 17 laboratuvar ise klasik antijen arama testini (nötralizasyon testi ve ya immünflorasan yöntem) kullanmıştır. Rapor edilen enterovirusların 3630 tanesinin (%88) serotiplendirilmesi yapılmış, 493 tanesinin (%12) ise saptanamamıştır. Birleşik devletlerde saptanan enterovirusların yarıdan fazlasını echovirus 9 ve 30 oluşturmuştur. En sık enterovirus saptanan örnek ise bilinen toplam 3932 örneğin 2483 tanesi (%63.1) olan BOS bulunmuş, bunu da sırasıyla 562 (%14.3) ile solunum örnekleri ve 517

(%13.1) ile dışkı veya rektal sürüntü örnekleri takip etmiştir. Hastaların yaş aralığını incelendiğinde 1 aylıktan küçük ve 95 yaşı arasında (ortalama 7 yaş) bulmuşlardır. Yaşları bilinen toplam 3481 enterovirus saptanan hastanın 953' ünü (%27.4) 1 yaş altı çocuklar oluşturmuştur. Mevsimsel olarak bilinen toplam 4115 örneğin 2983 tanesi (%72.5) haziran-ekim aylarında saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada birleşik devletlerdeki eyaletlerde saptanan enterovirus serotipleride araştırılmıştır (20).

Çalışmamızda aseptik menenjit düşünülen 40 hastanın BOS örneğinden 2 (%5) tanesinde enterovirus pozitif bulunmuştur. Bunlar pan-enterovirus ve enterovirus tip 71'dir. Bu oran yukarıda tartışılan literatür bilgilerine göre oldukça düşük bir orandır.

Aseptik menenjit, özellikle infeksiyon hastalıkları kliniğinde sık karşılaşılan bir durumdur. Hastalığın tanısı sıklıkla kliniğine göre konulur ve yine sıklıkla bakteriyel menenjit ekarte edilene kadar antibiyotik tedavisi uygulanır. Buna karşın, miyokardit ve perikardit gibi viral etkenlerin ön planda olduğu hastalık tablosu sık karşılaşılan bir durum değildir ve tanı genellikle klinik, EKG ve ekokardiyografi ile konur.

Yaptığımız çalışmada dikkati çeken bulguların başında, kardit ön tanılı hastaların etiyojisinde enterovirusların %30 gibi yüksek oranda gözlenmesidir. Yaptığımız tiplendirme sonucunda, bunlar enterovirus tip 71 ve coxackie A virus tip 16 olarak tanımlanmıştır. Çalışmamızda coxackie A virusun kardit etkeni olarak saptanması literatür de ender bulgular arasında yerini almıştır. ABD' de 1997 ile 1999 arasında poliovirus dışı enteroviruslar araştırılmıştır. Yüzde 37.6 ile en fazla aseptik menenjitli hastalar rapor edilmiştir. Kardit ve paralitik hastalığı olanların oranı ise %0.2' dir (21).

Ahn ve ark. larının (22) yaptığı bir çalışmada coxackievirus B serotiplerinin yenidoğmuş farelerin kalplerine etkileri incelenmiştir. Tüm 6 serotip benzer derecede kardiyotoksik etki göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre tüm 6 serotip sonunda hücre ölümüne yol açan irreversibl toksik kardiyomyopatik etkilidir. Bu sonuçlar serotipler arasındaki farklılıkların coxackievirus B'nin sebep olduğu kardiyomyopatide önemli bir faktör olmadığı gösterilmiştir.

Litaretürde chip yöntemiyle yapılan araştırmalar incelendiğinde, chip yönteminin enteroviruslar dışında influenza A virusu, hepatit B virusu, human papilloma virus, adenovirus gibi virusların yanı sıra *Mycobacterium tuberculosis*, *Campylobacter spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichiae coli*, *Haemophilus influenza*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* gibi çeşitli bakteriler, *Candida* ve *Aspergillus* gibi mantarlar ve protozoonların saptanmasında kullanılabilir bir yöntem olduğu belirtilmektedir ( 23-38).

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuç olarak chip yöntemiyle yapılan araştırmalarda bu yöntem enterovirus araştırılmasında hızlı, güvenilir ve duyarlı bir olarak belirtilmesine rağmen, araştırmamızda 40 aseptik menenjit ön tanılı hastadan alınan BOS örneğinden sadece 2 (%5) tanesinde enterovirus saptanmıştır. Bu literatür bilgilerine göre düşük bir orandır. Aynı şekilde kardit düşünölen 10 hastadan alınan kan örneğinin 3' ünde (%30) üreme olması da beklenenden yüksek bir oran olarak değerlendirilmiştir. Chip yönteminin duyarlılığını ve özgüllüğünü değerlendirebilmemiz için gerekli olan, aynı örneklerin altın standart olarak kullanılan viral kültür yöntemiyle de çalışılması gerekliliğini, araştırmamızdaki bir eksiklik olarak değerlendirmekteyiz. Bu nedenle enterovirusların tanısında chip tekniğinin kullanılabilirliğinin gösterilebilmesi açısından, bu yöntemin gerek araştırmalarda gerekse rutinde referans bir yöntemle birlikte kullanılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

**7. EKLER**  
**ASEPTİK MENENJİT HASTA BİLGİ FORMU**

ANKET FORMU

Adı Soyadı:

Yaş:

Cinsiyet:

Telefon:

Adres:

Materyalin alındığı hastane:

Gönderen klinik:

15 gün içinde ÜSYE hikayesi Evet:..... Hayır:.....

Kafa içi basınç artış bulguları;

Ense sertliği Var:..... Yok:.....

Kerning bulgusu Var:..... Yok:.....

Brudjenski bulgusu Var:..... Yok:.....

Nöropatolojik bulgular Var:..... Yok:.....

Laboratuvar sonuçları;

BOS proteini Normal:..... Hafif yüksek:.... Yüksek:.....

BOS glukozu Normal:..... Hafif düşük:..... Düşük:.....

Kan lenfosit hakimiyeti Evet:..... Hayır:.....

Pandy Negatif:.... +:..... ++:..... +++:..... ++++:.....

BOS direkt bakısında hücre var mı Evet:...../mm<sup>3</sup> Hayır:.....

Gram boyamada bakteri veya mantar görüldü mü Evet:..... Hayır:.....

Gymsa boyamada lenfosit hakimiyeti var mı Evet:..... Hayır:.....

Kültürde üreme oldu mu Evet:..... Hayır:.....

## KARDİT HASTA BİLGİ FORMU

### ANKET FORMU

Adı Soyadı:

Yaş:

Cinsiyet:

Telefon:

Adres:

Materyalin alındığı hastane:

Gönderen klinik:

Geçirilen viral infeksiyonu düşündüren bulgular;

Ateş

Var:.....

Yok:.....

İshal

Var:.....

Yok:.....

Burun akıntısı

Var:.....

Yok:.....

Döküntü

Var:.....

Yok:.....

Solunum yolu bulgusu

Var:.....

Yok:.....

Göğüs ağrısı

Var:.....

Yok:.....

Takipne

Var:.....

Yok:.....

Taşikardi

Var:.....

Yok:.....

Yeni saptanan kardiyolojik oskultasyon bulgusu

Var:.....

Yok:.....

Ejeksiyon fraksiyonu

Var:.....

Yok:.....

S<sub>3</sub>

Var:.....

Yok:.....

Perikardiyal frotman

Var:.....

Yok:.....

EKG kardit ile uyumlumu

Evet:.....

Hayır:.....

Ekokardiografi kardit ile uyumlumu

Evet:.....

Hayır:.....

Kalp çapında artış varmı

Evet:.....

Hayır:.....

Kan tablosunda lenfosit hakimiyeti

Evet:.....

Hayır:.....

Düzenli kullandığı ilaç varmı

Evet:.....

Hayır:.....

Evet ise bunlar nelerdir:.....

## 7. KAYNAKLAR

1. Drew WL. Enterovirüsler. Wilson WR, Sande AM (editörler), Dündar İH (çeviri editörü). Enfeksiyon Hastalıkları Tanı ve Tedavi Kitabında. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2004. s. 371-6.
2. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Mikrobiyoloji 2000 kitabında. 1. baskı. İzmir: Asya Tıp Yayıncılık; 1998. s. 280- 5.
3. Tıbbi Mikrobiyoloji. Kayser HF, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM (editörler). Küçüker MA, Tümbay E, Anđ Ö, Erturan Z (çeviri editörleri). 9. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2002. s. 441-4.
4. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA (editörler). Medical Microbiology kitabında. Third edition. 1998. s. 450-8.
5. Arısoy ES. Santral sinir sistemi enfeksiyonları. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (editörler). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi kitabında. 2. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2002. s. 1007-13.
6. Mcgee ZA. Santral sinir sistemi enfeksiyonları. Wilson WR, Sande AM (editörler), Dündar İH (çeviri editörü). Enfeksiyon Hastalıkları Tanı ve Tedavi kitabında. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2004.s. 73-6.
7. Akalın HE. Kardiyovasküler enfeksiyonlar. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (editörler). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi kitabında. 2. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2002. s. 728-31.
8. Günaydın M. Enteroviruslar. Ustaçelebi Ş (editör). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji kitabında. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. s. 901-12.
9. Yarkın F. Deri ve mukoz membranlarda enfeksiyon oluşturan virüsler. Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S (editörler). Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji kitabında. Ankara: Güneş kitabevi; 2004. s. 145-174.
10. Sayın A. Merkezi sinir sisteminde hastalık oluşturan viruslar ve enfeksiyonları. Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S (editörler). Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji kitabında. Ankara: Güneş kitabevi; 2004. s. 259-272.
11. Serter D. Virus, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları kitabında. 1. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1997.s. 236-9.
12. Connolly KJ, Hammer SM. The acute aseptic meningitis syndrome. Infect Dis Clin North Am 1990; 4: 599-622.
13. Johnson GM, McAbee GA, Seaton ED, Lipson SM. Suspect value of non-CSF viral cultures in the diagnosis of enteroviral CNS infection in young infants. Dev Med Child Neurol 1992; 34: 876-84.



14. Özerol İH. Amplifikasyon ürünlerinin tespit edilmesi. Durmaz R (editör). Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji kitabında. 1. baskı. Malatya: 2001. s. 66-7.
15. Chen TC, Chen GW, Hsiung CA, Yang JY, Shih SR, Lai YK, Juang JL. Combining multiplex reverse transcription-PCR and a diagnostic microarray to detect and differentiate enterovirus 71 and coxsackievirus A16. *J Clin Microbiol* 2006; 44 (6): 2212-9.
16. Boriskin YS, Rice PS, Stabler RA, Hinds J, Al-Ghusein H, Vass K, Butcher PD. DNA microarrays for virus detection in cases of central nervous system infection. *J Clin Microbiol* 2004; 42 (12):5811-8.
17. Korimbocus J, Scaramozzino N, Lacroix B, Crance JM, Garin D, Vernet G. DNA probe array for the simultaneous identification of herpesviruses, enteroviruses, and flaviviruses. *J Clin Microbiol* 2005; 43(8): 3779-87.
18. Ozkaya E, Hizel K, Uysal G, Akman S, Terzioğlu S and Kuyucu N. An outbreak of aseptic meningitis due to echovirus type 30 in two cities of Turkey. *Eur J Epidemiol* 2003; 18(8): 823-6.
19. 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-polimeyrase chain reaction (PCR) assay. *Diagn Microbiol Infec Dis* 2003; 47(4): 557-62.
20. Enterovirus Surveillance- United States 2002-2004. Centers for Disease Control and Prevention. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2006; 55(06):153-6.
21. Enterovirus Surveillance- United States 1997-1999. Centers for Disease Control and Prevention. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2000; 49(40): 913-6.
22. Ahn J, Joo CH, Seo I, Kim DH, Kim YK, Lee H. All CVB serotypes and clinical isolates induce irreversible cytopathic effects in primary cardiomyocytes. *J Med Virol.* 2005; 75(2): 290-4.
23. Lodes MJ, Suci D, Elliott M, Stover AG, Ross M, Caraballo M, Dix K, Crye J, Webby RJ, Lyon WJ, Danley DL and McShea A. Use of semiconductor-based oligonucleotide microarrays for influenza A virus subtype identification and sequencing. *J Clin Microbiol* 2006; 44(4):1209-18.
24. Caoili JC, Mayorova A, Sikes D, Hickman L, Plikaytis BB, Shinnick TM. Evaluation of the TB-Biochip oligonucleotide microarray system for rapid detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 2006; 44(7): 2378-81.
25. Kawaguchi K, Kaneko S, Honda M, Kawai HF, Shiota Y, Kobayashi K. Detection of hepatitis B virus DNA in sera from patients with chronic hepatitis B virus infection by DNA microarray method. *J Clin Microbiol* 2003;41(4): 1701-4.

26. Fukushima M, Kakinuma K, Hayashi H, Nagai H, Ito K, Kawaguchi R. Detection and identification of *Mycobacterium* species isolates by DNA microarray. *J Clin Microbiol* 2003; 41(6): 2605-15.
27. Volokhov D, Chizhikov V, Chumakov K, Rasooly A. Microarray-based identification of thermophilic *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C. upsaliensis*. *J Clin Microbiol* 2003; 41(9): 4071-80.
28. Sengupta S, Onodera K, Lai A, Melcher U. Molecular detection and identification of influenza viruses by oligonucleotide microarray hybridization. *J Clin Microbiol* 2003; 41(10): 4542-50.
29. Lovmar L, Fock C, Espinoza F, Bucardo F, Syvanen AC, and Bondeson K. Microarrays for genotyping human group A rotavirus by multiplex capture and type-specific primer extension. *J Clin Microbiol* 2003; 41(11): 5153-8.
30. Sergeev N, Volokhov D, Chizhikov V, Rasooly A. Simultaneous analysis of multiple staphylococcal enterotoxin genes by an oligonucleotide microarray assay. *J Clin Microbiol* 2004; 42(5): 2134-43.
31. Klaassen CH, Prinsen CF, de Valk HA, Horrevorts AM, Jeunink MA, Thunnissen FB. DNA microarray format for detection and subtyping of human papillomavirus. *J Clin Microbiol* 2004; 42(5): 2152-60.
32. Lin B, Vora GJ, Thach D, Walter E, Metzgar D, Tibbetts C, and Stenger DA. Use of oligonucleotide microarrays for rapid detection and serotyping of acute respiratory disease-associated adenoviruses. *J Clin Microbiol* 2004; 42(7): 3232-9.
33. Wang Z, Vora GJ, Stenger DA. Detection and genotyping of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Giardia lamblia*, and *Cryptosporidium parvum* by oligonucleotide microarray. *J Clin Microbiol* 2004; 42(7): 3262-71.
34. Oh TJ, Kim CJ, Woo SK, Kim TS, Jeong DJ, Kim MS, Lee S, Cho HS, An S. Development and clinical evaluation of a highly sensitive DNA microarray for detection and genotyping of human papillomaviruses. *J Clin Microbiol* 2004; 42(7): 3272-80.
35. Roth SB, Jalava J, Ruuskanen O, Ruohola A, Nikkari S. Use of an oligonucleotide array for laboratory diagnosis of bacteria responsible for acute upper respiratory infections. *J Clin Microbiol* 2004; 42(9): 4268-74.
36. Yu X, Susa M, Knabbe C, Schmid RD, Bachmann TT. Development and validation of a diagnostic DNA microarray to detect quinolone-resistant *Escherichia coli* among clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2004; 42(9): 4083-91.
37. Gryadunov D, Mikhailovich V, Lapa S, Roudinskii N, Donnikov M, Pan'kov S, Markova O, Kuz'min A, Chernousova L, Skotnikova O, Moroz A, Zasedatelev A, Mirzabekov A.

Evaluation of hybridisation on oligonucleotide microarrays for analysis of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(7): 531-9.

- 38.** Leinberger DM, Schumacher U, Autenrieth IB, Bachmann TT. Development of a DNA microarray for detection and identification of fungal pathogens involved in invasive mycoses. *J Clin Microbiol* 2005; 43(10): 4943-53.