

Bir üniversite hastanesinde bakteriyel ve viral menenjit etkenlerinin farklı PCR yöntemleri ile araştırılması

Investigation of bacterial and viral meningitis agents with different PCR methods at a university hospital

Bilge Gültepe¹, Yasemin Bayram², Hüseyin Güdücüoğlu², Aytekin Çıkman³, Mustafa Berktaş⁴

¹ Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³ Erzincan Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Bölümü, Erzincan.

⁴ Lokman Hekim Hastanesi, Van

Özet

Amaç: Menenjit, tanısının hızla konarak erken tedavi yapılması gereken komplikasyonları yüksek bir enfeksiyon hastalığıdır. Menenjitlerin çoğunda etiyoloji bilinmeden ampirik tedaviye başlanması gerekmektedir. Bu ampirik antimikrobiyal tedavi seçimi, coğrafi bölgedeki yaygın olan patojenlere, hastanın yaşına ve o bölgedeki patojenlerin antibiyotik duyarlılıklarına göre yapılmaktadır. Çalışmada, menenjit ön tanısı ile takip edilen hastaların beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinde moleküler testler kullanılarak bakteriyel ve viral etkenlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmamızda, menenjit ön tanısı ile çeşitli kliniklerden gönderilen farklı hastalara ait 100 BOS örneği incelenmiştir. Bakteriyel menenjit etkenlerinden *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* ve *Haemophilus influenzae*; NHS Meningitis Real-TM (Sacace, Italy) ve Speed-Oligo Bacterial Meningitis Test (Vircell, Spain) yöntemleri ile, aseptik menenjit etkenlerinden HSV ise; HSV I/II Typing Real-TM (Sacace, Italy) ve Attomol HSV 1,2 differentiation-DNA-LINA (Vircell, Spain) yöntemleri ile araştırılmıştır.

Bulgular: NHS Meningitis Real-TM yöntemi ile BOS örneklerinde 10 *S. pneumoniae*, 2 *N. meningitidis* ve bir *H. influenzae* tespit edilmiştir. Speed-Oligo Bacterial Meningitis yöntemi kullanılarak; 4 örnekte *S. pneumoniae* ve 1 örnekte ise *N. meningitidis* saptanmıştır. Bu yöntem ile *H. influenzae*'ya rastlanmamıştır. HSV I/II Typing Real-TM ile 5 BOS örneğinde HSV pozitifliği belirlenmiştir. Tespit edilen HSV'ün 3'ü HSV tip 2 bulunmuş, 2'si ise HSV tip 1 olarak saptanmıştır. Attomol HSV 1-2 yöntemi kullanılarak da HSV pozitifliği 3 örnekte belirlenmiştir. Bu yöntem ile belirlenen tüm HSV'ler, HSV tip 1 olarak saptanmıştır.

Sonuç: Menenjit hastalarında uygun ve yeterli antimikrobiyal tedavi için öncelikle etkenin belirlenmesi gerekmektedir. PCR gibi moleküler yöntemlerle etkenlerin erken saptanması mümkün olmaktadır. Ortamda bulunan inhibitörler, kontaminant maddeler ve DNA izolasyonundan kaynaklanan hatalar ile yöntemin standardize olmaması gibi nedenlerden kaynaklanan yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlara rağmen moleküler yöntemlerin önemini koruduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Menenjit, Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Serebrospinal Sıvı.

Abstract

Objective: Meningitis is an infectious disease with high risk of complications that must be diagnosed and treated immediately. In most of the cases, meningitis treated empirically without knowing the etiology. This empirical choice of antimicrobial treatment is made according to the common pathogens present in that particular geographic region and antibiotic susceptibility of these pathogens and age of the patient. In this study, the aim was to determine bacterial and viral meningitis agents that might be present in the CSF of patients who are followed with early diagnosis of meningitis.

Method: In our study, 100 CSF samples, which belongs to different patients, sent from multiple clinics with early diagnosis of meningitis were analyzed. Among the bacterial meningitis agents, the presence of *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* and *Haemophilus influenzae* were investigated by NHS Meningitis Real-TM (Sacace, Italy) and Speed-Oligo Bacterial Meningitis Test (Vircell, Spain); the presence of the HSV, as one of the agents of the aseptic meningitis, was investigated by HSV I/II Typing Real-TM (Sacace, Italy) and Attomol HSV 1 - 2 differentiation-DNA-LINA (Vircell, Spain).

Results: With NHS Meningitis Real-TM method, 10 *S. pneumoniae*, two *N. meningitidis* and one *H. influenzae* identified from CSF samples. By using the Speed-Oligo Bacterial Meningitis method, *S. pneumoniae* was identified in four of the samples and only in one sample *N. meningitidis* was identified. No *H. influenzae* was identified in any of the samples with this method. With HSV I/II Typing Real-TM, HSV positivity was identified in 5 of the CSF samples and 3 of them were identified as type 2 and other 2 were identified as type 1. With the use of Attomol HSV 1 - 2 method, HSV positivity was identified in 3 samples. All the HSVs determined with the use of this method were identified as type 1.

Conclusion: For appropriate and adequate treatment of patients with meningitis, first of all the agent must be determined. With methods like PCR, it is possible to identify the agents early in the infection. Despite the wrong positive and negative results arising from the reasons like inhibitors present in the environment, contaminant materials, mistakes arising from DNA isolation steps and being unable to standardize these methods, molecular methods are thought to maintain their importance.

Keywords: Meningitis, Real Time Polymerase Chain Reaction, Cerebrospinal Fluid.

Giriş

Beyin omurilik sıvısının inflamasyonu olarak tanımlanan menenjit, antimikrobiyal tedavi yöntemlerinde elde edilen gelişmeye rağmen ciddi mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam etmektedir. Özellikle etkili tedavi

başlanmasının geciktiği hastalarda mortalite ve morbiditenin yüksek olduğu düşünüldüğünde, erken tanının diğer enfeksiyonlardan daha da önemli olduğu bilinmektedir. Çocuk yaş grubu başta olmak üzere klasik semptom ve bulgular

İletişim Bilgisi / Correspondence

Yrd. Doç. Dr. Bilge Gültepe, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

E-mail: bilgesumbul@hotmail.com

Geliş tarihi / Received: 07.07.2014 Kabul tarihi / Accepted: 16.07.2014

Çıkar Çatışması / Conflict of Interest: Yok / None

netleşmeden veya hastaların çok farklı şikayetlerle doktora başvurabilmesi menenjit tanısını geciktirmektedir (1, 2).

Menenjitlerin etiyolojik dağılımı; yaş, coğrafi farklılıklar, mevsim, popülasyonun belirli etkenlere karşı duyarlılığı, genetik yapı, sosyoekonomik koşullar ve lokal endemik faktörlere bağlı olarak önemli değişiklikler göstermektedir (3). Sosyoekonomik koşulların menenjit insidansı üzerine etkisi iyi bilinmektedir. Yoksulluk, kalabalık yaşam, sağlık hizmetlerine ulaşmadaki güçlük ve ebeveynlerin düşük eğitim düzeyi, menenjit insidansını artıran diğer önemli faktörlerdir (4). Menenjitler klinik olarak akut veya kronik seyirli olabilir. Akut pürülan menenjitler genellikle bakteriyel, akut aseptik menenjitler ise genellikle viral etkenlidir. Akut bakteriyel menenjit olgularının %80-85 kadarından *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* ve *Haemophilus influenzae* sorumlu olmasına karşın, belli yaşlarda ve bazı durumlarda etkenlerin görülme sıklığının değiştiği bilinmektedir (3, 5). Aseptik menenjitlerde ise en sık etken Enterovirus'lar olmakla birlikte, Herpes Simpleks Virus (HSV) diğer önemli virus grubunu oluşturmaktadır (6). Çalışma ile hastanemizde çocuk acil servisi başta olmak üzere çeşitli kliniklerde görülen menenjit ön tanılı hastaların BOS örneklerinde moleküler testler kullanılarak bakteriyel ve viral menenjit etkenlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Tablo 1: İki farklı yöntem ile saptanan bakteriyel menenjit etkenleri.

	SP	HI	NM
NHS Meningitis Real-TM	10	2	1
Speed-Oligo Bacterial Meningitis Test	4	1	-

SP: *S. pneumoniae*, HI: *H. influenzae*, NM: *N. meningitidis*.

Materyal ve Metod

Hastanemizde Aralık 2009 - Aralık 2010 tarihleri arasında çeşitli kliniklerde menenjit ön tanısı ile takip edilen hastalar çalışmaya dâhil edilmiştir. Menenjit ön tanısı belirlenirken hastanın takip edildiği klinikler ile görüşüldü ve

dosyaları incelenerek anemnez ve fizik muayene bulguları değerlendirilmiştir. Bu hastalardan steril şartlar altında BOS örnekleri alınmıştır. Alınan BOS örnekleri hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırıldıktan sonra 3000 devirde, 10 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra ise otomatize sistem olan EZ1 cihazı (Qiagen, Almanya) kullanılarak nükleik asit izolasyon işlemi uygulanmıştır.

Bakteriyel menenjit etkenlerinden *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis* varlığı NHS Meningitis Real-TM (Sacace, İtalya) ve Speed-Oligo Bacterial Meningitis Test (Vircell, İspanya) yöntemleri ile araştırılmıştır. HSV varlığı ise iki farklı yöntem olan HSV I/II Typing Real-TM (Sacace, İtalya) ve Attomol HSV 1, 2 differentiation-DNA-LINA (Vircell, İspanya) ile araştırılmıştır. Çalışma prosedürleri ve sonuçların yorumlanması üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapılmıştır.

Tablo 2: İki farklı yöntem ile saptanan viral menenjit etkenleri.

	HSV tip-1	HSV tip-2
HSV I/II Typing Real-TM	2	3
Attomol HSV 1,2 differentiation-DNA-LINA	3	-

Bulgular

Menenjit ön tanısı ile gönderilen 100 hastaya ait BOS örneği incelenmiştir. Hastaların 43'ü kadın, 57'si erkek ve yaş aralığı ise 0-85 arasında bulunmuştur. Çalışmada 19 hastaya ait BOS örneğinde en az bir mikroorganizma saptanmıştır.

NHS Meningitis Real-TM yöntemi ile *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis* varlığı araştırılmıştır. İncelen BOS örneklerinde 10 (%10) *S. pneumoniae*, 2 (%2) *N. meningitidis* ve bir (%1) *H. influenzae* izole edilmiştir. Bu yöntem ile bir hastada hem *S. pneumoniae* hem de *N. meningitidis* tespit edilmiştir. *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis* varlığı belirlemek için aynı zamanda Speed-Oligo Bacterial Meningitis Test yöntemi kullanılmış; 4 örnekte *S. pneumoniae* ve 1



örnekte ise *N. meningitidis* izole edilmiştir. Bu yöntem ile *H. influenzae* saptanmamıştır (Tablo 1).

Çalışmada NHS Meningitis Real-TM ile *S. pneumoniae* tespit edilen 6 BOS örneğinde Speed-Oligo Bacterial Meningitis Test yöntemi negatif sonuç vermiştir. NHS Meningitis Real-TM ile hem *S. pneumoniae* hem de *N. meningitidis* belirlendiği örnekte Speed-Oligo Bacterial Meningitis Test yöntemi sadece *S. pneumoniae*'yi belirlemiştir. Ayrıca Speed-Oligo Bacterial Meningitis Test yöntemi ile bir örnekte *S. pneumoniae* belirlenirken, NHS Meningitis Real-TM ile aynı BOS örneğinde araştırılan mikroorganizmalardan herhangi biri tespit edilmemiştir. Bir BOS örneğinde ise NHS Meningitis Real-TM ile *S. pneumoniae* belirlenirken, Speed-Oligo Bacterial Meningitis Test yöntemi ile *N. meningitidis* bulunmuştur. HSV varlığı; HSV I/II Typing Real-TM ile araştırılmış ve 5 (%5) BOS örneğinde HSV pozitifliği saptanmıştır. Tespit edilen HSV'ün 3 (% 3)'ü HSV tip-2 bulunmuş, 2 (%2)'si ise HSV tip-1 olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda HSV varlığını belirlemek için Attomol HSV 1,2 differentiation-DNA-LINA yöntemi kullanılmış ve 3(%3) örnekte HSV belirlenmiştir. Bu yöntem ile belirlenen tüm HSV'ler, HSV tip 1 olarak saptanmıştır (Tablo 2).

Sadece bir BOS örneğinde hem HSV I/II Typing Real-TM yöntemi hem de Attomol HSV 1-2 yöntemi ile HSV tip 1 pozitif bulunmuştur. HSV I/II Typing Real-TM yöntemi ile HSV pozitif bulunan 4 BOS örneğinde ise Attomol HSV 1,2 differentiation-DNA-LINA yöntemi negatif sonuç vermiştir.

Tartışma

Son yıllarda geliştirilen aşılarda ve antimikrobiyal tedavi protokollerine rağmen menenjitler, yüksek morbidite ve mortalitesi ile bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (7). Çok farklı etkenlerin menenjite neden olduğu bilinmektedir. Bakteriler morbidite ve mortalitesi ile en önemli etkenlerdir. Ayrıca virüslerde menenjite neden olan diğer önemli mikroorganizmalardır (1). Akut bakteriyel menenjit tanısında, BOS kültürü altın standart kabul edilmektedir. Ancak bu durum sıklıkla

hastaların uzun dönem ampirik tedavi almalarına sebep olmaktadır (8). Bakterilerin hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanması için son zamanlarda PCR tabanlı yöntemler geliştirilmiştir (9). Yüksek duyarlılığa sahip olan bu yöntemler ile bakteri yükünün miktarı hesaplanabilmekte ve antibiyotik kullanılması durumunda mikroorganizma gösterilebilmektedir (10, 11). Tedavi edilmediğinde bakteriyel menenjitin prognozu kötüleşirken, viral menenjitler genellikle spontan olarak iyileşebilmektedir (12). Ancak yüksek mortalite ve morbiditeye yola açan HSV'ye bağlı menenjitlerde erken tanı önem taşımaktadır. HSV'de asiklovir kullanılmadan mortalite ve morbidite oranları yüksek bildirilmektedir (13, 14). Nükleik asit saptama tekniklerinin kullanıma girmesi ile viral etkenleri belirlemedeki başarı da önemli oranlarda artmıştır. Viral etkenlerin hızlı, duyarlı ve özgül olarak tanınması, gereksiz antibiyotik veya antiviral kullanımını, invaziv ve pahalı ek testlerin yapılmasını önlemekte ve hastanede kalış süresini azaltmaktadır. Nükleik asit saptama teknikleri ile ayrıca epidemiyolojik bilgiler toplanarak koruyucu ve tedavi edici çalışmalar yapılabilmektedir (15).

Menenjite neden olan bakterilerin sıklığı, bölgeler arasında farklılıklar gösterebilmektedir. Batı ülkelerinde, yetişkinlerde *S. pneumoniae*, yenidoğanlarda ve küçük çocuklarda ise, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis* en sık menenjite neden olan etkenlerdir (16). Van de Beek ve ark. toplum kökenli akut bakteriyel menenjit hastalarını irdelemiş ve en sık rastlanan patojenleri *S. pneumoniae* (% 51) ve *N. meningitidis* (% 37) olarak belirlemişlerdir (17). Ülkemizde de benzer şekilde *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* ve *H. influenzae* ile sıklıkla karşılaşmaktadır (18, 19). Özdemir ve ark. dokuz yıl içinde takip ettikleri akut bakteriyel menenjitli hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri ile etken dağılımların değerlendirmişlerdir. Menenjitli hastalarda etken dağılımı incelendiğinde *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis* için sırasıyla; %27, %11 ve %11 oranlarında bildirilmiştir (20). Benzer şekilde Pehlivanoglu ve ark. yaklaşık 15 yıllık bir dönemde *S. pneumoniae*'yi en sık izole edilen bakteri olarak saptamışlardır (21). Başka



bir çalışmada ise Buzgan ve ark. 204 bakteriyel menenjit olgusu ile yaptıkları çalışmada BOS kültüründe *S. pneumoniae* %13.4, *N. meningitidis* %7.5 oranında bildirmişlerdir (22). Birçok çalışmada pnömokokların en sık etken olduğu bilinmekle birlikte, menenjit etkenlerinin bölgelere göre farklılıklar gösterdiği çalışmalar da bulunmaktadır. Yunanistan'da 2000-2008 yılları arasında Papavasileiou ve ark. 1833 hastada bakteriyel menenjit etkenlerini araştırmıştır. Bu hastaların 289'u menenjit tanısı almıştır. Menenjit tanısı alan hastaların 56'sı (%19,37) PCR ile etken belirlenerek bakteriyel menenjit tanısı konmuştur. Çalışmalarında en fazla belirledikleri mikroorganizma *N. meningitidis* serogrup B (% 71.4) olmuştur. Daha sonra sırasıyla; tiplendirilemeyen *S. pneumoniae* (%12.5), *Streptococcus* spp. (%7.1), tiplendirilemeyen *H. influenzae* 2 (%3.6) ve *S. pneumoniae* serotip 3 (%1.8), *S. pneumoniae* serotip 18C (%1.8) ve *Streptococcus* grup B (%1.8) olarak belirlemişlerdir (23). Çalışmamızda 100 BOS örneği incelenmiş; NHS Meningitis Real-TM yöntemi ile 10 *S. pneumoniae*, 2 *N. meningitidis* ve bir *H. influenzae* belirlenirken, Speed-Oligo Bacterial Meningitis Test yöntemi ile 4 *S. pneumoniae* ve bir *N. meningitidis* izole edilmiştir. Bu yöntem ile *H. influenzae* saptanmamıştır.

Aseptik menenjitlerin en sık nedeni virüslerdir (24). Kabakulak aşısının rutin uygulanmadığı yörelerde kabakulak virusu en sık tespit edilen viral ajanken, aşının rutin olduğu ülkelerde enterovirusler ile sıklıkla karşılaşmaktadır (1, 25). HSV ise diğer önemli viral menenjit etkenleridir (15).

İngiltere'de PCR yöntemi ile viral etkenlerin araştırıldığı bir çalışmada 1683 BOS örneği incelenmiş; 33 hastada HSV-2, 25 hastada ise HSV-1 saptanmıştır. Yetişkin kadın hastalarda aseptik menenjit belirtilerinin daha yoğun olduğu ve bu hastaların BOS-PCR'ında en sık tespit edilen virüsün HSV-2 olduğu bildirilmiştir (26). Gaeta ve ark. 146 hastaya ait BOS örneğinde, birkaç insan herpes virüs varlığını (VZV, HSV, EBV, HHV ve CMV) PCR ile araştırmıştır. Çalışmada 16 hasta örneğinde HSV tespit edilmiş ve yapılan tiplendirmede örneklerin 12'si HSV-1, 4'ü ise HSV-2 olarak

bulunmuştur (27). Brezilya'da yapılan çalışmada menenjit tanısı alan 460 hastaya ait BOS örneği, PCR metodu ile analiz edilmiştir. Örneklerin %12.3'ü pozitif bulunmuştur. PCR ile belirlenen virüslerin %10'u HSV olarak bildirilmiştir (28).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda da HSV önemli menenjit etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Demiroğlu ve ark. toplum kökenli menenjit ve meningoensefalit olgularını inceledikleri bir çalışmada 51 hastanın 2'sinde BOS PCR ile HSV-DNA tip 1 izole etmiştir (29). Çalışmamızda incelenen 100 BOS örneğinde; HSV I/II Typing Real-TM yöntemi ile 5 örnekte HSV pozitif bulunmuştur. Tespit edilen HSV'ün 3'ü HSV tip 2, 2 örnekte ise HSV tip 1 olarak saptanmıştır. HSV varlığını belirlemek için HSV I/II Typing Real-TM yöntemi dışında Attomol HSV 1,2 differentiation-DNA-LINA yöntemi kullanılmış ve 3 örnekte HSV pozitif bulunmuştur. Bu yöntem ile belirlenen tüm HSV'ler, HSV tip 1 olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak menenjit; gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Bu hastalarda mortalite ve morbiditeyi azaltmak için erken tanı ve tedavi çok önemlidir. Bu nedenle menenjit şüpheli hastalarda, PCR gibi moleküler yöntemlerle etkenlerin erken saptanması mümkün olmaktadır. Ortamda bulunan inhibitörler, kontaminant maddeler ve DNA izolasyonundan kaynaklanan hatalar ile yöntemin standardize olmaması gibi nedenlerden kaynaklanan yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlara rağmen moleküler yöntemlerin önemini koruduğu düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Kanra G, Ceyhan M, Kara A. Menenjit I: etiopatogenez. Çocuk Sağlığı ve Hast Derg 2003; 46(1): 57-66.
2. Celik N, Tanir G, Aydemir C, Tuygun N, Zorlu P. Differential diagnosis of bacterial and viral meningitis in childhood acute meningitis: a statistical model. Mikrobiyol Bul. 2007; 41(1): 63-9.
3. Karakartal G, Altay G, Arısoy ES, Doğanay M. Menenjitler: Topçu-Willke A, Söyletir G, Doğanay M (editörler), Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi: 985-1018, 2002.



4. Coşkun D, Göktaş P, Özyürek S, Dağ Z. Akut pürülan, viral ve tüberküloz menenjitlerde prognoz ile prognoza etki eden faktörlerin değerlendirilmesi. *Flora* 1997; 3:188-94.
5. Şen S, Vardar F. Acute Bacterial Meningitis. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2011;7(4):20-7.
6. Bamberger DM. Diagnosis, initial management, and prevention of meningitis. *Am Fam Physician* 2010; 82(12): 1491-8.
7. Duman Y, Yakupoğulları Y, Tekerekoğlu MS, Güçlüer N, Otlu B. Bir üniversite hastanesi laboratuvarında beyin omurilik sıvısında izole edilen mikroorganizmaların üç yıllık geriye dönük analizi. *Dicle Tıp Derg* 2012; 39 (1): 70-4.
8. Furyk JS, Swann O, Molyneux E. Systematic review: neonatal meningitis in the developing world. *Trop Med Int Health* 2011; 16(6): 672-9.
9. Brouwer MC, Tunkel AR, van de Beek D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23(3): 467-92.
10. Durand ML, Calderwood SB, Weber DJ, Miller SI, Southwick FS, Caviness VS Jr, Swartz MN. Acute bacterial meningitis in adults. A review of 493 episodes. *N Engl J Med*. 1993;328(1):21-8.
11. Kim KS. New diagnostic and therapeutic options in bacterial meningitis in infants and children. *Minerva Pediatr* 2009; 61(5): 531-48.
12. Chadwick DR. Viral meningitis. *Br Med Bul* 2006; 75-76:1-14.
13. Jerome KR, Ashley RL. Herpes simplex viruses and Herpes B virus. pp: 1291-1303, In: Murray PR. (ed), *Manuel of Clinical Microbiology*. 2003, 8th ed. vol. 2. ASM Press, Washington DC.
14. Çolak D, Mutlu D. Herpes grubu viruslar. pp:113-44. In: Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S. (Eds), *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji*. 2004. Güneş Kitabevi, Ankara.
15. Sayiner AA. Viral merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarında tanı. *ANKEM Derg* 2005; 19(Ek 2): 130-6.
16. Saez-Llorens X, McCracken GH. Acute bacterial meningitis beyond the neonatal period, pp: 284-91. In: Long SS, Pickering LK, Prober CG (eds). *Principles and practice of pediatric infectious diseases*. 2008, 3th ed. Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia.
17. Van de Beek D, de Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma JB, Vermeulen M: Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med* 2004; 351(18): 1849-59.
18. Turhan V, Acar A, Kılıç A, Budak S, Oncül O, Haznedaroğlu T, Görenek L. Meningococemia and meningitis due to *Neisseria meningitidis* W135 developed in two cases vaccinated with bivalent (A/C) meningococcal vaccine. *Mikrobiyol Bul*. 2010;44(3):473-8.
19. Aktaş F, Altoparlak U, Celebi S, Erol S. Etiological agents in bacterial meningitis and cerebrospinal fluid shunt infections and their antibiotic susceptibilities. *Mikrobiyol Bul* 2005; 39(1): 9-16.
20. Özdemir H, Tapsız A, Çiftçi E, İnce E, Doğru Ü: Çocuklarda akut bakteriyel menenjit. *Çocuk Enf Derg* 2010; 4(1): 9-14.
21. Pehlivanoğlu F, Kart Yaşar K, Şengöz G. Beyin omurilik sıvısından izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg* 2011; 25(1): 1-5.
22. Buzgan T, Karahocagil MK, Irmak H, Binici İ, Karsen H, Akdeniz H. Retrospective evaluation of two hundred and four bacterial meningitis cases. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2010; 30(5):1675-82.
23. Papavasileiou K, Papavasileiou E, Tzanakaki G, Voyatzis A, Kremastinou J, Chatzipanagiotou S: Acute bacterial meningitis cases diagnosed by culture and PCR in a children's hospital throughout a 9-Year period (2000-2008) in Athens, Greece. *Mol Diagn Ther* 2011; 15(2): 109-13.
24. Kılıç I, Altuğlu I, Çiçek C, Pullukçu H, Bayram N, Sirin H, Erensoy S. Identification of enteroviruses from central nervous system infections by RT-PCR and cell culture methods. *Mikrobiyol Bul*. 2011 Jul;45(3):468-77.
25. Lee BE, Davies HD. Aseptic meningitis. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20(3): 272-7.
26. Read ST, Kurtz JB. Laboratory diagnosis of common viral infections of the central nervous system by using a single multiplex PCR screening assay. *J Clin Microbiol* 1999; 37(5): 1352-5.
27. Gaeta A, Verzaro S, Cristina LM, Mancini C, Nazzari C: Diagnosis of neurological Herpesvirus infections: real time PCR in cerebral spinal fluid analysis. *New Microbiol* 2009;32(4):333-40.
28. Vidal LR, Almeida SM, Messias-Reason IJ, Nogueira MB, Debur Mdo C, Pessa LF, Pereira LA, Rotta I, Takahashi GR, Silveira CS, Araújo JM, Raboni SM. Enterovirus and herpesviridae family as etiologic agents of lymphomonocytary meningitis, Southern Brazil. *Arq Neuropsiquiatr*. 2011 Jun;69(3):475-81.
29. Demiroğlu YZ, Turunç T, Alışkan H, Çolakoğlu Ş, Erdoğan AF, Arslan H. Community acquired meningitis/meningoencephalitis: retrospective evaluation of five years. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2010; 30(1):218-26.

