

**2001-2004 YILLARI ARASINDA ASEPTİK MENENJİT ÖNTANILI
PEDIATRİK OLGULARDAN İZOLE EDİLEN ENTEROVİRUS
SEROTİPLERİNİN DAĞILIMI**

**SEROTYPE DISTRIBUTION OF ENTEROVIRUSES ISOLATED FROM
PAEDIATRIC CASES PREDIAGNOSED AS ASEPTIC MENINGITIS BETWEEN
2001-2004 PERIOD**

Etem ÖZKAYA*, Gülnar UYSAL, Tunca ATA*, Mehmet ALKAN***

ÖZET: Enteroviruslar, halk sağlığı açısından ve klinik olarak büyük önem taşımakta olup, aseptik menenjitlerin en sık nedenlerindendirler. Aseptik menenjitlerle benzer klinik ve beyin omurilik sıvısı (BOS) bulguları olan çok sayıda hastalık vardır. Bu nedenle kesin tanı için bu olgulardan virusların izolasyonu ve tanımlamaları yapılmalıdır. Virolojik tanı sadece menenjit etkenlerini ayırmada değil aynı zamanda benzer klinik tablosu olan tedavi edilebilir hastalıkların ayırımını da sağladığı için önemlidir. Bu amaçla, 2001 ve 2004 yılları arasında Sosyal Sigortalar Hastanesi, Çocuk Hastalıkları ve Enfeksiyon Bölümü'nden Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Laboratuvarı'na 246 aseptik menenjit öntanılı olguya (yaş aralığı: 0-15 yıl) ait 249 örnek virus izolasyonu için gönderilmiştir. 180 gaita, 54 BOS ve 15 boğaz sürüntüsü örneği RD (rabdomiyosarkom), Hep-2 (insan epitelyoma) ve L20B (transgenik fare) hücre kültürlerine ekilerek sitopatik etki varlığı yönünden izlenmiştir. Olguların 85'inden (%34.6) toplam 95 adet enterovirus izole edilmiş ve RIVM (Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Enstitüsü, Hollanda) antiserumları kullanılarak mikronötralizasyon tekniği ile tiplendirilmiştir. Sonuç olarak en sık izole edilen enterovirus tipinin echovirus tip 30 (24 suş) ve Cocksackievirus tip B (19 suş) olduğu ve en sık izolasyon yapılan dönemlerin Temmuz-Ekim ayları arasında olduğu saptanmıştır. Bu çalışma ile Türkiye'de aseptik menenjitli hastalara ait klinik örneklerden izole edilen ve serotiplendirilen echovirus tip 25 (n:3), 18 (n:2), 14 (n:1), 13 (n:4), 11 (n:6), 9 (n:1), 6 (n:9), 5 (n:1), 4 (n:1) ve coxsackievirus tip A9 (n:1) serotipleri ilk kez rapor edilmektedir.

Anahtar sözcükler: Aseptik menenjit, coxsackievirus, echovirus, enteroviruses.

ABSTRACT: Enteroviruses have major clinical and public health importance and are one of the leading causes of aseptic meningitis. There are many diseases with similar clinical symptoms and cerebrospinal fluid (CSF) findings of aseptic

* Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji, Hücre Kültürü ve Enterovirus Laboratuvarı, Ankara.

** Sosyal Sigortalar Hastanesi, Çocuk Hastalıkları ve Enfeksiyon Bölümü, Ankara.

meningitis, thus virus isolation and identification is crucial for definitive diagnosis. Virological diagnosis is nonetheless important to distinguish between induced meningitis and other treatable causes of disease with a similar clinical picture. A total of 249 samples obtained from 246 cases (age range: 0-15 years), prediagnosed as aseptic meningitis, were sent to Virology Laboratory of Refik Saydam Hygiene Center. The patients were followed at Department of Pediatric Infectious Diseases in the Social Security Hospital, Ankara, Turkey, between 2001 and 2004. Stool (n: 180), CSF (n: 54) and throat swab (n: 15) samples have been inoculated to RD (rhabdomyosarcoma), Hep-2 (human epithelioma) and L20B (transgenic mice) cell lines, and followed up for the presence of cytopathic effects. A total of 95 enterovirus strains were isolated from 85 (34.6%) cases, and serotyped by using RIVM (National Institute of Public and the Environment, Netherlands) antisera with microneutralization method. As a result, the most frequently isolated types were found as echovirus type 30 (n: 24) and coxsackievirus type B (n: 19), which were most frequently isolated between July to October. This is the first report from Turkey for aseptic meningitis cases due to echovirus type 25 (n:3), 18 (n:2), 14 (n:1), 13 (n:4), 11 (n:6), 9 (n:1), 6 (n:9), 5 (n:1), 4 (n:1) and coxsackievirus type A9 (n:1).

Key words: Aseptic meningitis, coxsackievirus, echovirus, enteroviruses.

G İ R İ Ş

Tek zincirli RNA içeren enteroviruslar, oda ısısında bir kaç gün boyunca aktivitelerini koruyabilirler ve diğer pek çok virusa oranla çevresel şartlara dirençlidirler. Oluşturdukları enfeksiyonlar, klinik olarak sıklıkla bakteriyel enfeksiyonları taklit etmektedir. Primer enfeksiyondan sonra üst solunum yolundan 1-3 hafta, dışkıyla ise 6-8 hafta süreyle atılırlar. Esas bulaşma yolu fekal-oraldır¹.

Aseptik menenjitlere en çok neden olan ajanlar enteroviruslardır ve en sık neden olduğu klinik tablolar; febril hastalık, ekzantem ve enantemler, el-ayak-ağız hastalığı, santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları (aseptik menenjit, ensefalit, akut flask paralizi, plörodinya, vb), akut hemorajik konjunktivit, miyokardit, perikardit ve pnömonidir^{1,2}. Çok sayıdaki enterovirusun yıldan yıla farklı türleri enfeksiyon yapmasına rağmen bazı serotipleri diğer türlerden daha fazla olarak aseptik menenjitlerle birliktelik gösterir. Avrupa, Amerika ve Japonya'da aseptik menenjitlerden en sık izole edilen etkenlerden birisi echoviruslardır ve özellikle echovirus tip 6, 9, 11, 30 ve coxsackievirus tip B aseptik menenjitlere en sık neden olan serotiplerdir³⁻⁵.

Aseptik menenjitlerin başlıca klinik özellikleri ateş, irritabilite, baş ağrısı, ense sertliği, fotofobi, bulantı ve kusmadır. Enterovirus enfeksiyonlarının özgül tanısı için hasta örneklerinde virusun saptanması gereklidir. Günümüzde enterovirusların hasta örneklerinde saptanması için hücre kültüründe virus izolasyonu yöntemi kullanılmaktadır. Polimeraz zincir reaksiyonu gibi (PCR) hızlı moleküler tanı metodlarının yaygınlaşması, akut menenjitli hastaların tanısında son derece faydalıdır⁶⁻⁸. Enterovirusların hücre kültürü ve süt emen farelerden izolasyonu ise çok uzun yıllardan beri altın standart olarak kullanılmaktadır¹. Enfeksiyondan

etkilenmiş organlar ya da ilişkili vücut sıvılarından (örneğin, aseptik menenjitlerde BOS'ndan) izolasyonu enterovirus etiyolojisinin en güçlü kanıtıdır. Bununla birlikte, paralitik poliomyelit olgularının saptanmasında enterovirus kültürü için BOS değil gaita örneği kullanılmaktadır. Benzer olarak diğer enterovirusların tespitinde BOS ya da diğer klinik örneklerin alınamadığı durumlarda gaita kültürü yapılması son yıllarda giderek yaygınlaşmıştır⁹.

Bu çalışmada, Sosyal Sigortalar Hastanesi, Çocuk Hastalıkları ve Enfeksiyon Bölümü'nde, 2001-2004 yılları arasında aseptik menenjit öntanısıyla yatırılan 246 çocuk hastaya ait örneklerden, Refik Saydam Hıfızissihha Merkezi Başkanlığı, Viroloji, Hücre Kültürü ve Enterovirus Laboratuvarı'nda izole edilen enterovirusların dağılımı ve virus izolasyonunu etkileyen faktörler değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile Türkiye'de aseptik menenjit olgularından izole edilen ve serotip tayini yapılan echovirus tip 25, 18, 14, 13, 11, 9, 6, 5, 4 ve coxsackievirus tip A9 serotipleri ilk kez rapor edilmektedir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örnekler: 2001-2004 yılları arasında Sosyal Sigortalar Hastanesi, Çocuk Hastalıkları ve Enfeksiyon Bölümü'nden, aynı zamanda "Ulusal Polio Laboratuvarı" olarak görev yapmakta olan Refik Saydam Hıfızissihha Merkezi Başkanlığı, Viroloji, Hücre Kültürü ve Enterovirus Laboratuvarı'na aseptik menenjit ön tanısıyla yıllara göre sırasıyla 58, 73, 70 ve 45 olguya ait gaita, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve boğaz sürüntüsü (BS) örnekleri virus izolasyonu için soğuk koşullarda olmasına dikkat edilerek gönderildi. Hastalardan plastik saplı steril eküvyon ile alınan boğaz sürüntü örnekleri, laboratuvara viral taşıma vasatı (VTV, penisilin-streptomisin ve %2 fetal dana serumu içeren 2 ml Eagle's Minimum Essential Medium) içine konularak gönderildi. Çalışmaya alınan örneklerde echovirus, poliovirus, coxsackievirus tip A ve tip B'lerin izolasyon ve tanımlanmaları amaçlandı. BOS örneklerine herhangi bir ön işlem uygulanmadı. BS örnekleri 5 dakika 3000 rpm/dak olacak şekilde santrifüj edildi ve üst sıvıları ekim için kullanıldı. Bu hastalardan alınan gaita örnekleri ise öncelikle bakteri, fungus ve toksik maddelerden arındırılmak için yaklaşık 20 adet minik cam boncuk içeren vidalı kapaklı 50 ml'lik santrifüj tüplerinde kloroformla (1 birim gaita, 9 birim kloroform) muamele edilip iyice karıştırıldıktan sonra santrifüj edilerek (15 dakika, 5000 rpm/dak) üst sıvıları ekim için kullanıldı.

Hücre kültürlerine ekim ve virus izolasyonu: Tüm örnekler $1-2 \times 10^4$ hücre/ml içeren EMEM (Eagle's Minimal Essential Medium) vasatının kullanıldığı tek tabaka halindeki HEp-2 (insan epitelyoma; daha çok coxsackievirus tip B ve polioviruslara, daha az olarak echoviruslara duyarlı), RD (rabdomiyosarkom; polioviruslar, echoviruslar, daha az olarak da coxsackievirus tip B'ye duyarlı) ve L20B (transgenik fare hücresi; sadece polioviruslara duyarlı) devamlı hücre kültür tüplerine ekildi ve 14 gün boyunca sitopatojenik etki (CPE) yönünden izlendi. CPE gösteren tüpler meydana gelen etkinin, virusa bağlı olduğundan emin olmak için dondurulup çözündürülerek aynı hücre kültürlerinden oluşan tüplere ikinci kez pasajları yapıldı. Üreme görülen tüplerden izole edilen enterovirus ve polioviruslar, RIVM (Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Enstitüsü, Hollanda) Enstitüsü antiserumları kullanılarak mikronötralizasyon tekniğine göre tanımlandı¹⁰. RIVM Enstitüsü antiserumları;

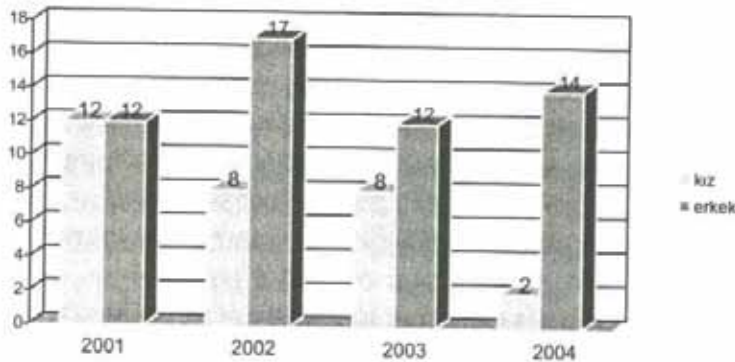
poliovirus tip 1, 2, 3'e ait antikorların karışımı (polio pool; PP), coxsackievirus tip B 1-5 serotip antikorlarının karışımı (coxsackievirus B pool; CP) ve echovirusların serotip tayini için ayrı ayrı A, B, C, D, E, F, G antiserum panelini içermektedir. Böylece toplam dokuz ayrı antiserum kullanılarak, her bir antiserumdan 96 çukurlu polistren özellikteki hücre kültürü mikrolaklarına 50 µl/çukur dağıtıldı. Virus üremesinin olduğu tüp önce dondurulup çözülürülerek ortama daha fazla virusun salınması sağlandı ve takiben 10^{-3} – 10^{-4} sulandırımı hazırlanarak, antiserum konulmuş çukurlara 50 µl/çukur dağıtıldı. 37°C'de %5 CO₂'li etüvde 2 saat bekletilerek uygun çukurlarda nötralizasyon reaksiyonunun olması sağlandı ve üzerine virusun üremiş olduğu hücre tipinden ($1-2 \times 10^4$ hücre/ml) 100 µl/çukur dağıtıldı. Tekrar 37°C'deki %5 CO₂'li etüvde bekletilerek CPE takipleri 5 gün boyunca günlük yapılarak tanımlama formlarına kaydedildi. Beşinci günün sonunda hangi çukurlarda nötralizasyon olduğuna bakılarak virusun tipi belirlendi. Kullanılan antiserumlarla tiplendirilememiş viruslar, elimizde mevcut bulunan coxsackievirus tip A antiserumları ile tekrar aynı yöntemle teste alındı.

CPE tipi, sadece HEp-2 hücrelerinde üremesi ve tiplendirme testlerinden sonuç alınamaması durumunda, adenovirüslerden şüphelenildi ve lateks aglütinasyon kiti (Adenolex, Finlandiya) ile aglütinasyona alındı. Ancak bu çalışmada sadece izole edilen enterovirüslerden bahsedildiğinden izole edilen adenovirüslara yer verilmedi.

BULGULAR

Sosyal Sigortalar Hastanesi, Çocuk Hastalıkları ve Enfeksiyon Bölümü'ne başvuran ve yaşları 0-15 yıl (ortanca: 6 yıl) arasında değişen hastaların yakınmaları genel olarak ateş, kusma, başağrısı ve daha az olarak da ishaldir. Hastaneye başvurular Nisan-Aralık ayları arasında yapılmış, ancak Haziran-Ekim ayları arasında yoğunlaşmıştır. Fizik incelemede olguların hemen tümünün bilincinin açık ve koopere olduğu belirlenmiş, hastanede yatış sürelerinin ortalama 7 gün (5-11 gün) olduğu izlenmiştir. Tüm olguların genel durumu iyi seyretmiş ve komplikasyon gözlenmemiştir.

Enterovirus izole edilen olguların yıllara ve cinsiyete göre dağılımları Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1: Enterovirus izole edilen olguların yıllara göre cinsiyet dağılımları.

2001, 2002, 2003 ve 2004 yıllarında Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Viroloji Laboratuvarı'na gönderilen aseptik menenjit öntanılı olgulara ait 180 adet gaita, 54 BOS ve 15 BS örneği çalışmaya alınmış, gaita örneklerinden %43.3, BOS örneklerinden %16.6 ve boğaz sürüntüsü (BS) örneklerinden %53.3 oranında enterovirus izolasyonu yapılmıştır (Tablo I).

Tablo I: Aseptik Menenjit Öntanılı Olgulara Ait Örneklerin Enterovirus Pozitiflik Oranları

Yıllar	Olgu sayısı	Enterovirus pozitif olgular (%)	Enterovirus pozitif örnekler (n: 249)		
			Dışkı (n:180)	BOS (n:54)	BS (n:15)
2001	58	24 (41.4)	23/52	0/14	–
2002	73	25 (34.2)	23/69	0/15	–
2003	70	20 (28.6)	17/19	1/4	7/13
2004	45	16 (35.6)	15/40	8/21	1/2
Toplam	246	85 (34.6)	78 (43.3)	9 (16.6)	8 (53.3)

İzole edilen enterovirusların serotipleri Tablo II'de, aylara göre dağılımları ise Şekil 2'de verilmiştir.

Tablo II: İzole Edilen Enterovirus Serotiplerinin Yıllara Göre Dağılımları

Yıllar	Echovirus serotipleri											Coxsackie virus tipleri			Toplam
	E4	E5	E6	E9	E11	E13	E14	E18	E25	E30	Echo*	CA9	CB	NPEV**	
2001	1	–	2	1	1	1	–	2	1	4	4	–	3	3	23
2002	–	1	4	–	3	3	–	–	1	11	1	–	–	1	25
2003	–	–	3	–	–	–	1	–	1	–	–	1	10	5	21
2004	–	–	–	–	2	–	–	–	–	9	1	–	6	8	26
Toplam	1	1	9	1	6	4	1	2	3	24	6	1	19	17	95

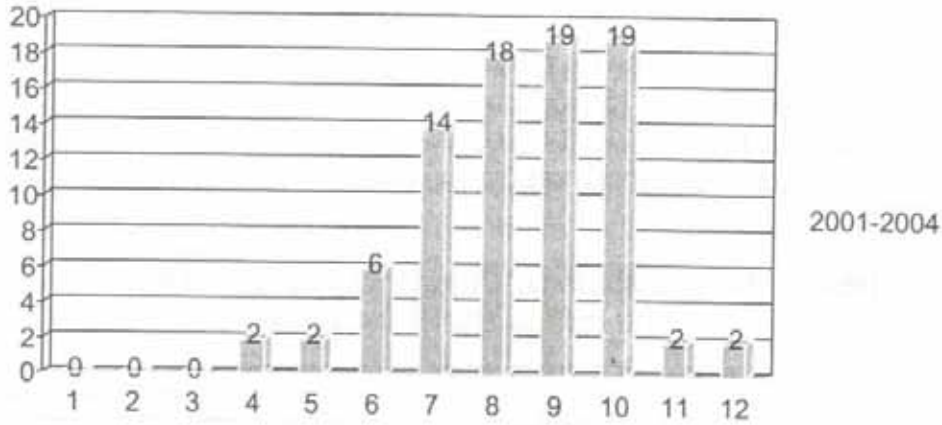
* Serotip tayini yapılamamış echoviruslar

** NPEV (Non-polio enterovirus): Mevcut antiserumlarla poliovirus olmadığı gösterilmiş fakat tiplendirilememiş enteroviruslar.

Görüldüğü gibi en fazla saptanan enterovirus tipleri; echovirus tip 30 (n:24) ve coxsackievirus tip B (n:19) olup, enterovirusların izolasyon sıklığı özellikle yaz aylarında (Temmuz-Ekim) artmaktadır.

TARTIŞMA

Halk sağlığı açısından ve klinik olarak enterovirusların büyük bir önemi vardır. Tüm bilinen enterovirus serotiplerinin üremesi için kullanılabilen tek bir hücre kültürü yoktur. Bütün enterovirusların izolasyon olasılığını en yüksek düzeyde sağlamak için



Şekil 2: İzole edilen enterovirüslerin aylara göre dağılımları.

genellikle hücre kültürlerinin kombinasyonları kullanılmaktadır. Çoğu coxsackievirus tip A serotipi RD hücrelerinde ürettiği halde klinik örneklerden izolasyon genellikle başarısızdır. Günümüzde enterovirüslerin izolasyonu için hangi hücre kombinasyonlarının kullanılması gerektiği konusunda uzlaşmaya varılmış bir ortak uygulama yoktur. Uygun koşullarda pozitif bir enterovirus izolasyonunu birkaç gün içinde rapor etmek mümkündür, ancak muhtemel etkenin tanısı için çoğunlukla 14 günden daha fazla bir süre gerekmektedir¹⁰. Hatta aynı örnekte birden fazla virusun bulunduğu durumlarda daha uzun sürelere gereksinim olmaktadır. Enteroviral enfeksiyonların hızlı tanısında PCR yöntemi, hücre kültürüne göre çok daha çabuk sonuç verilebilmesi nedeniyle uygun bir yöntem olmakla birlikte, enterovirüslerin PCR gibi yöntemlerle serotiplendirilememesi bugün için başlıca problemdir. Hücre kültüründe enterovirüslerin izolasyonu ve mikronötralizasyon yöntemi ile serotiplendirilmesi sayıları 66'nın üzerinde olan enterovirüslerin tiplendirilmesinde uzun yıllardır standart olarak kullanılan bugün için tek yöntemdir.

Enterovirüslara bağlı aseptik menenjitlerde, etken virusun BOS'da bulunma süresi klinik belirtiler ortaya çıktıktan sonra ilk bir haftalık dönemdir ve gaita ile birlikte virusun atılım süresi ise 3-5 haftalık dönemdir. Bu nedenle virusun izole edilmesi ve tanımlanabilmesi için örneklerin (BOS, gaita ve boğaz sürüntüsü) hastada semptomlar başladıktan sonra -özellikle BOS örneklerinin- ilk bir hafta içinde alınması gerekmektedir. Ayrıca örnekler alındıktan sonra laboratuvara ilk bir kaç gün içerisinde, mümkünse aynı gün ve soğuk koşullarda (4°C) muhafaza edilerek gönderilmelidir. Bizim çalışmamızda aseptik menenjit öntanı 246 çocuk olgunun 85'inden (%34.6) enterovirus izolasyonu yapılmıştır. Ancak aseptik menenjite neden olabilecek diğer etkenlerin de (kabakulak, herpes simpleks tip 1-2, arboviruslar, herpes grubu diğer viruslar) bu örneklerde araştırılması etiyolojik etkenlerin gösterilmesi açısından gereklidir.

Enterovirus izolasyonunu takiben serotiplendirme, tipe özgül hiperimmün antiserum panelleri ile enfektivitenin nötralizasyonu ile yapılmaktadır¹⁰. Bu amaçla kullanılan LBM (Lim Benyesh-Melnick) serum paneli 42 farklı enterovirus serotipine karşı antiserum içeren 8 serum havuzundan (A-H) oluşmaktadır. Bizim

laboratuvarımızda kullandığımız panel ise, RIVM (Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Enstitüsü, Hollanda) Enstitüsü tarafından geliştirilmiştir ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından Ulusal Polio Laboratuvarları'nda standart reaktiflerin kullanılması amacıyla dağıtılmaktadır. Hücre kültür sistemleri kullanılarak virusların izolasyonu ve tiplendirilmeleri zahmetli, zaman alıcı çalışmalardır ve ayrıca donanımlı bir laboratuvar ve deneyimli personel gerektirmektedir. Son zamanlarda uygulamadaki güçlükler nedeniyle bu çalışmayı yapan laboratuvar sayısı giderek azalmaktadır. Günümüzde serotiplendirme, araştırma ve referans laboratuvarları tarafından yapılmaktadır ve şüpheli paralitik poliomyelit olgularında polioviruslar ile polio-dışı enterovirus enfeksiyonlarının ayırımında büyük önem taşımaktadır.

Enteroviruslar arasında özellikle echovirusların (tip 1-9, 11-27, 29-34) ve daha az olarak diğer tip enterovirusların (coxsackievirus tip B 1-6) aseptik menenjitlerle birlikteliği ve periyodik olarak özellikle bazı türlerinin aseptik menenjit salgınları yaptıkları bilinmektedir. Örneğin, Amerika'da izole edilen enteroviruslara bakıldığında sıklık sırasına göre serotipler; echovirus 11, echovirus 9, coxsackievirus B5, echovirus 30, 4 ve 6, coxsackievirus B5, B4, B3 ve A9, echovirus 3, 7, 5 ve 24, coxsackievirus B1'dir⁴. Ülkemizde yapılmış çalışmalarda echovirus tip 30'a bağlı bir aseptik menenjit salgını saptanmış ve toplam 36 olgudan virus izole edilmiştir. Aynı çalışmada bir olgudan echovirus tip 6 izole edildiği rapor edilmiştir¹¹⁻¹³. Diğer bir çalışmada ise 68 BOS örneğinin 36'sından echovirus tip 30 ve coxsackievirus tip B serotipleri izole edilmiştir⁸. Çalışmamızda en sık saptanan enterovirus tiplerinin, 24 suş ile echovirus tip 30 ve 19 suş ile coxsackievirus tip B olduğu ve bunları echovirus tip 6 ve 11'in izlediği görülmüştür. Buna karşın 6 echovirus suşu ile 17 polio-dışı enterovirus suşu serotiplendirilememiştir.

Çalışmamızda enterovirus izolasyonunun yaz aylarında yoğunlaşması, enterovirusların tipik özelliğini yansıtmaktadır. Cinsiyet dağılımına bakıldığında ise erkek/kız oranımız 2/1'dir. Yapılmış çalışmalarda erkek/kız oranı, 1.3/1-1.5/1 arasında değişmektedir¹. Örnekler çocuk kliniğinde yatan olgulara ait olduğu için hastaların tümü 15 yaş altındadır, ancak enteroviruslar erişkin yaş grubunda da benzer klinik tablolara sebep olabilmektedir.

Diğer çalışmalara bakıldığında; Schumacher ve arkadaşları¹⁴ gaita ve BOS örneklerinden sırasıyla %74 ve %24 oranlarında enterovirus izole etmişlerdir. Japonya'da yapılan bir çalışmada ise, 282 gaita ve 925 BOS örneğinin sırasıyla %21'i ve %69'undan enterovirus izolasyonu yapılmıştır⁵. Bu çalışmalarla kıyaslandığında bizim çalışmamızdaki BOS'dan izolasyon oranının (%16.6) daha düşük olduğu, ancak gaita örneklerinden izolasyon oranının (%43.3) diğer çalışmalara benzer olduğu görülmektedir. Özellikle 2001 ve 2002 yıllarında laboratuvara gönderilen BOS örneklerinden enterovirus izole edilmemiştir. Bu durum muhtemelen hastaneye ilk başvuruda alınan BOS örneklerinin öncelikle biyokimyasal ve bakteriyel analizlerinin yapılması için geçen süre ve genellikle oda ısısı koşulları nedeniyle örnekte zaten çok az olan virusların inaktive olmasına bağlıdır. 2004 yılında BOS'dan izolasyon oranının artmasının sebebi, örneklerin alındıktan sonra soğuk koşullarda saklanma ve gönderilme duyarlılığı nedeniyledir. 2004 yılında 6 olguya ait hem gaita hem de BOS örneklerinde aynı etken saptanmıştır. Gelen örneklerle

bakıldığında BOS örnek sayılarının da az olduğu ve genellikle gaita örneklerinin tercih edildiği görülmektedir.

Boğaz sürüntüsü örneklerinin de diğer örneklerin alınamadığı durumlarda enterovirus izolasyonu için kullanılabilecek bir örnek türü olabileceği görülmektedir. Ancak aseptik menenjit şüpheli olgulardan ve bu olgulara ait örneklerden özellikle enterovirus olmak üzere diğer virusların da izolasyon oranını etkileyen pek çok faktör vardır. Aseptik menenjitlerin hem çocuk yaş grubunda hem de yetişkinlerde en sık etkeni olan enterovirusların sıklığı bölgelere ve yıllara göre değişkenlik gösterebildiği gibi, olguların doğru saptanması, örneklerin alınma zamanı, alındıktan sonra laboratuvara ulaşma süresi ve laboratuvara gönderilme koşulları son derece büyük önem taşımaktadır. Bununla birlikte laboratuvarında kullanılan hücrelerin duyarlılıkları da, diğer tüm viruslarda olduğu gibi klinik örneklerden enterovirus izolasyonunu etkileyen laboratuvardaki en önemli faktördür. Kullanmakta olduğumuz hücrelerin duyarlılık testleri düzenli olarak yapılmaktadır. 1999 yılında Antalya'daki aseptik menenjit salgınında alınan BOS örneklerinin alındıktan sonra hemen dondurulması ve örneklerin toplanması tamamlandıktan sonra laboratuvara donmuş halde gönderilmesi nedeniyle alınan 11 BOS örneğinin 9'undan echovirus tip 30 izole edilmesi, örnek alınması ve gönderilme koşullarının, sonucun üzerine olan etkisini çok açık bir şekilde göstermektedir^{11,13}.

Çalışmamız, Türkiye'de aseptik menenjit olgularından daha önceden bildirilen echovirus tip 30 ve 6'ya ek olarak ilk kez rapor edilen ülkemiz için yeni 10 enterovirus serotipinin bildirilmesi ve daha geniş bir çalışma grubu içermesi nedeniyle önem taşımaktadır. Aseptik menenjit olgularında etiyolojik ajanın saptanmasının hem gereksiz antibiyotik kullanımını önlemesi hem de ülkemizde enterovirusların serotip dağılımlarının anlaşılabilmesi ve aseptik menenjitlerdeki sıklığına dair bir fikir vermesi nedeniyle önemli olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Rotbart HA: Meningitis and encephalitis, p. 271-291. In: Rotbart HA (ed), Human Enterovirus Infections. 1995, American Society for Microbiology, Washington DC.
2. Grandien M, Forsgren M, Ehrnst A: Enteroviruses, p. 279-297. In: Lennette EH, Lennette DA, Lennette ET (eds), Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections. 1995, 7th ed. American Public Health Association, Washington DC.
3. Reinjets R, Pohle M, Vieth U, et al: Community-wide outbreak of enteroviral illness caused by echovirus 30: A cross-sectional survey and a case-control study. *Pediatr Infect Dis J* 1999, 18: 104-108.
4. National Center for Infectious Diseases, CDC: Enterovirus Surveillance – United States, 1997-1999. *MMWR* 2000, 49: 913-916.
5. A nationwide epidemic of aseptic meningitis due to echovirus 30 in Japan, 1997-1998. *IASR* 1998, 19: <http://idsc.nih.gov/iasr/19/222/tpc222.html>.
6. Glimaker M, Johansson B, Olcen P, Ehrnst A, Forsgren M: Detection of enteroviral RNA by polymerase chain reaction in cerebrospinal fluid from patients with aseptic meningitis. *Scand J Infect Dis* 1995, 25: 547-557.
7. Chambon M, Bailly JL, Beugnot A, et al : An outbreak due to echovirus type 30 in a neonatal unit in France in 1997: Usefulness of PCR diagnosis. *J Hosp Infect* 1999, 43: 63-68.

8. Guney C, Özkaya E, Yapar M, Gumus I, Kubar A, Doganci L: Laboratory diagnosis of enteroviral infections of the central nervous system by using a nested RT-polymerase chain reaction (PCR) assay. *Diag Microbiol Infect Dis* 2003, 47: 557-562.
9. Takao S, Komazawa Y, Fukuda S, Shimazu Y, Noda M, Tokumoto S: Duration of echovirus 30 excretion in stools from patients with aseptic meningitis. *Jpn J Infect Dis* 2000; 53: 132-133.
10. World Health Organization: Expanded Programme on Immunization. Manual for the Virological Investigation of Polio. WHO Document WHO/EPI/GEN/97.01. 1997, Geneva.
11. Özkaya E, Hizel K, Uysal G, Akman S, Terzioğlu S, Kuyucu N: An outbreak of aseptic meningitis due to echovirus type 30 in two cities of Turkey. *Eur J Epidemiol* 2003, 18: 823-826.
12. Uysal G, Özkaya E, Güven A: Echovirus 30 outbreak of aseptic meningitis in Turkey. *Pediatr Infect Dis J* 2000, 19: 490.
13. Akman S, Özkaya E, Çolak D, Daloğlu H: A hospital outbreak of aseptic meningitis due to echovirus type 30 in Antalya, Turkey. *Türk J Pediatr* 2002, 44: 237-239.
14. Schumacher JD, Chuard C, Renevey F, Matter L, Regamey C: Outbreak of echovirus 30 meningitis in Switzerland. *Scand J Infect Dis* 1999, 31: 539-542.