



Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonlarında Karar Verme Süreçleri

Dr. Hatice TÜRK DAĞI
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD
KONYA

XXXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi
Antalya

Sunum planı

- Örnek alma, taşıma ve saklama
- Red kriterleri
- Mikrobiyolojik inceleme
 - Makroskobik inceleme
 - Hücre sayımı
 - Santrifüj
 - Mikroskobik yöntemler
 - Antijen testi
 - Kültür
 - Antikor testi
 - Moleküler yöntemler
- Panik değer bildirimini

Santral sinir sistemi enfeksiyonları

- Enfeksiyon süresine göre
 - Akut
 - Subakut
 - Kronik
- Enfeksiyon yerine göre
 - Menenjit
 - Ensefalit
 - Miyelit
 - Parankimin fokal enfeksiyonları
 - Subdural ampiyem
 - Epidural apse
 - Şant enfeksiyonları vb olarak sınıflandırılır

Sık görülen etkenlerin yaş gruplarına göre dağılımı

Yenidoğan-2 ay altı	2 ay-genç erişkin	Erişkin	60 yaş üstü
<i>S. agalactiae</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
<i>E. coli</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>L. monocytogenes</i>
<i>L. monocytogenes</i>	<i>H. influenzae</i> tip b	<i>H. influenzae</i> (tip b dışı)	Gram negatif basiller
<i>N. meningitidis</i>	Virüsler (öz. enterovirüsler)	Virüsler	
HSV			
<i>Candida</i> spp.			

Türkiye verisi: Çocuklarda bakteriyel menenjit etkenleri

- 2005-2006, 408 örnek, 243 PCR pozitif:
 - %56.5 *N.meningitidis*
 - %22.5 *S.pneumoniae*
 - %20.5 Hib
- 2013-2014, 665 örnek, 94 PCR pozitif:
 - %90.4 *N.meningitidis*
 - %9.6 *S.pneumoniae*
 - %0 Hib

- Selçuk Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji (yayınlanmamış veri)
- 07.2013-11.2016
- 531 örnek multipleks PCR ile çalışılmış
- 63 örnek pozitif (%11)

Bakteriler	Sayı	Virüsler	Sayı
<i>S.pneumoniae</i>	24	Enterovirus	23
<i>N.meningitidis</i>	6	HSV-1	8
Hib	0	VZV	1
		Parechovirus	1
		HSV-2	0
		Kabakulak	0
Toplam	30	Toplam	33

Örnek alma, taşıma ve saklama

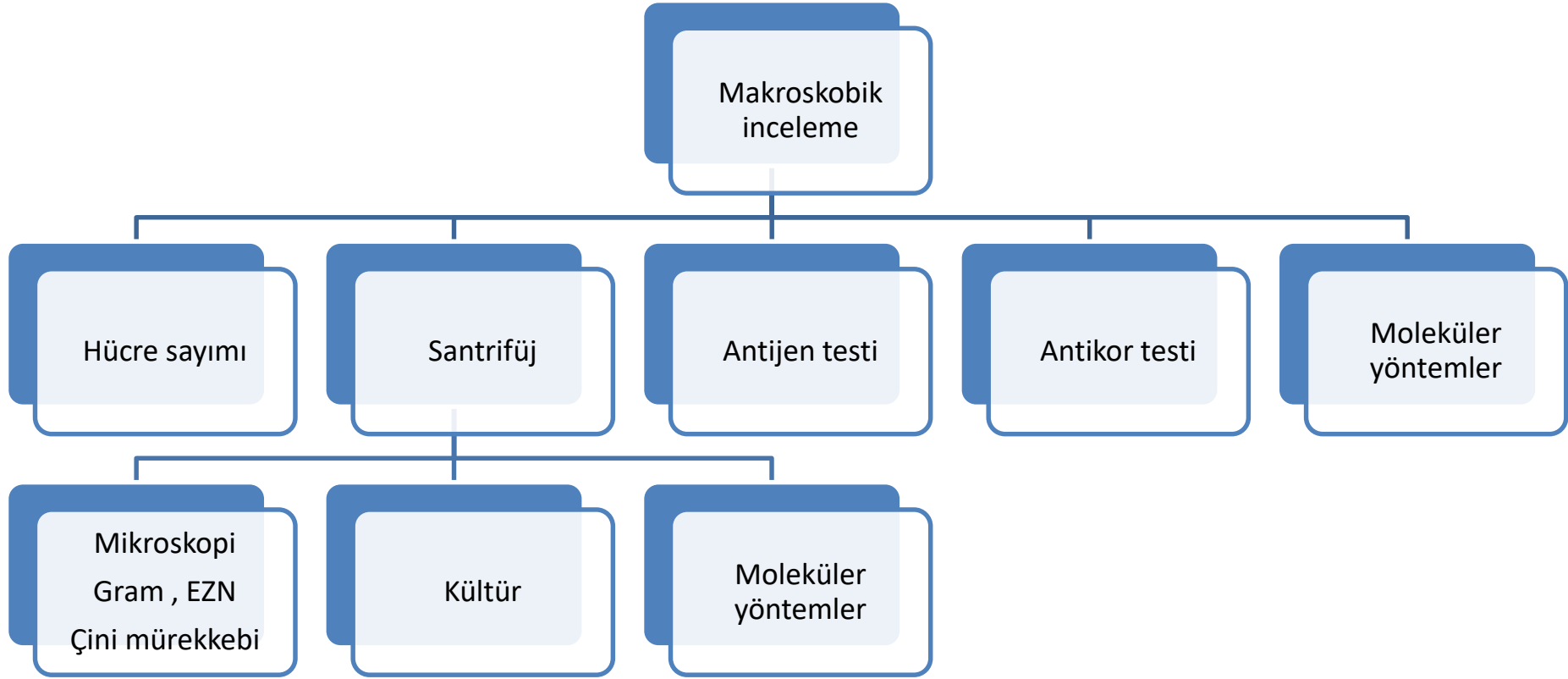
Örnek alma yöntemi	Taşıma kabı	Örnek miktarı	Taşıma süresi/ısı
Lomber ponksiyon	Steril tüp	Bakteriler için ≥ 1 mL	≤ 15 dk, oda ısı
		Mantarlar için ≥ 2 mL	
		Mikobakteriler için ≥ 5 mL	
		Virüsler için ≥ 1 mL	≤ 24 saat, oda ısı
		Parazitler için ≥ 1 mL	≤ 2 saat, oda ısı

Red kriterleri

- BOS örnekleri uygun olmayan şartlarda gelse de asla reddedilmemeli, işleme alınmalıdır
 - Ancak kontaminasyon açısından klinisyen hekim uyarılmalıdır

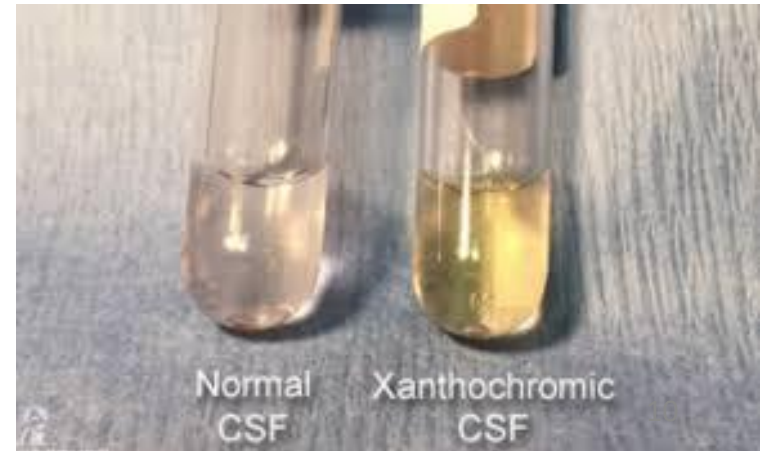
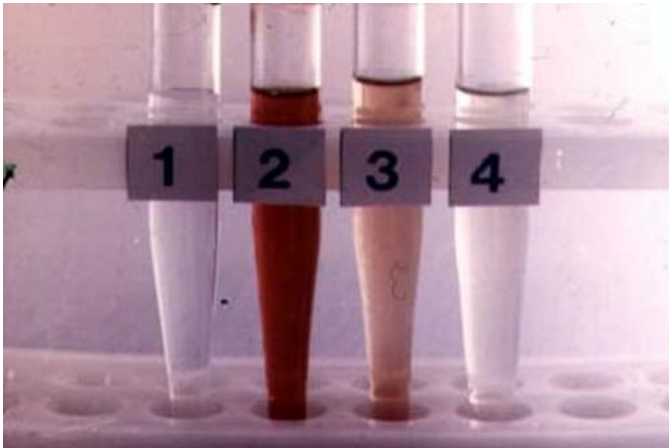


İş akış şeması



Makroskobik inceleme

- Beyin omurilik sıvısının
 - rengi, bulanıklığı, kanlı olup olmadığı kontrol edilip kaydedilmelidir
- Bazı tüberküloz menenjit olgularında
 - tipik bir 'örümcek ağı' görünümü olabilir



Hücre sayımı

- Santrifüj edilmemiş örneklerden yapılır

	Hücre sayısı (mm ³)	Hücre tipi
Normal değerler	<15	MNL
Bakteri menenjitisi	>1000	PNL
Mantar menenjitisi	1000-5000	MNL
Virüs menenjitisi	10-1000	MNL/PNL
Tüberküloz menenjitisi	<1000	MNL

Santrifüj

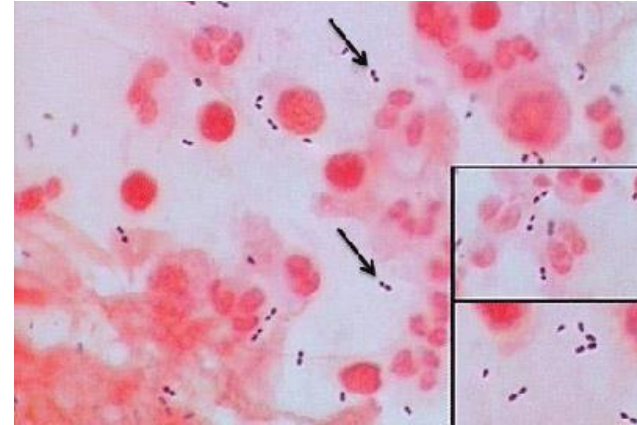
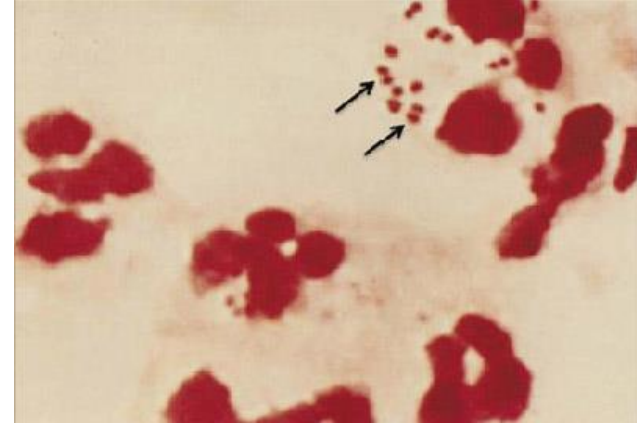
- Eğer BOS 1 mL'den fazla ise
 - Boyama ve kültür işlemleri için 1500xg'de 5-10 dakika
 - Mikobakteri türleri için 3000xg'de 15-20 dakika yapılmalıdır
- BOS örneği 1 mL'den az ise sitosantrifüj yapılmalıdır

CSF Test	N	Sensitivity	Specificity	Positive Predictive Value	Negative Predictive Value
Xpert 2mL un-centrifuged CSF	107	28% (5/18)	100% (89/89)	100% (5/5)	87% (89/102)
Xpert centrifuged CSF	95	72% (13/18)	100% (77/77)	100% (13/13)	94% (77/82)
Culture	80	71% (12/17)	100% (63/63)	100% (12/12)	93% (63/68)
AFB Smear by Microscopy	107	22% (4/18)	100% (89/89)	100% (4/4)	86% (89/103)

- Bahr NC, et al. Improved diagnostic sensitivity for tuberculous meningitis with Xpert(®) MTB/RIF of centrifuged CSF. Int J Tuberc Lung Dis 2015; 19(10):1209-15.

Gram boyama

- Gram boyama 30 dk içinde yapılmalı ve sonuç bildirilmelidir
- Gram boyamada
 - Lökosit varlığı ve türü
 - Mikroorganizma varlığı
 - Gram boyanma özelliği
 - Morfolojisi değerlendirilmelidir

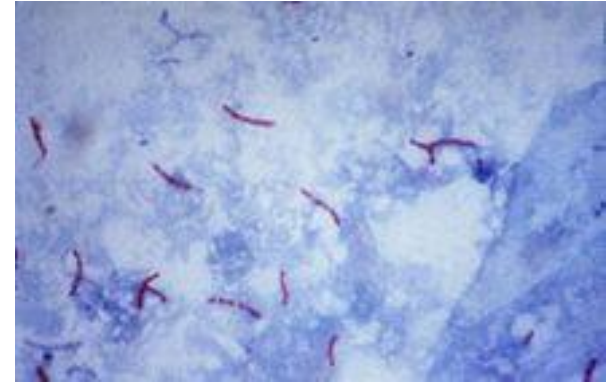


Gram boyama

- Duyarlılık- %75-90, Özgüllük- >%97
- Özellikle antibiyotik tedavisi alanlarda kültür negatif olduğu zaman değeri artmaktadır
- Kültür negatif hastaların %45'inde
- Antibiyotik almış hastaların %65'inde
 - Gram boyamada bakteri görülmüştür
- Antibiyotik kullanımını duyarlılığı sadece %2 azaltmıştır

EZN boyama

- Tüberküloz menenjit şüphesinde duyarlılığı düşük olmasına rağmen aside dirençli boyama yapılmalıdır
- Duyarlılık ortalama %25

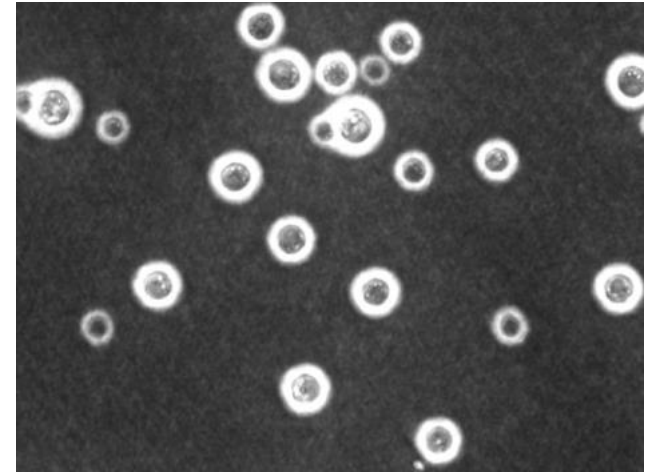


- Erdem H, et al. The microbiological diagnosis of tuberculous meningitis: results of Haydarpasa-1 study. Clin Microbiol Infect 2014;20(10):O600-8.
- Bahr NC, et al. Improved diagnostic sensitivity for tuberculous meningitis with Xpert(®) MTB/RIF of centrifuged CSF. Int J Tuberc Lung Dis 2015;19(10):1209-15.

Çini mürekkebi

- *Cryptococcus neoformans* menenjitinden şüphe ediliyorsa yapılmalıdır

- Duyarlılık % 86-94.4
- Özgüllük %96.1



- Dollo I et al. Retrospective study of neuromeningeal cryptococcosis in patients infected with HIV in the infectious diseases unit of university hospital of Casablanca, Morocco. J Mycol Med 2016; S1156-5233(16)30129-9.
- Kammalac Ngouana T, et al. Cryptococcal meningitis in Yaoundé (Cameroon) HIV infected patients: Diagnosis, frequency and Cryptococcus neoformans isolates susceptibility study to fluconazole. J Mycol Med 2015;25(1):11-6.

Antijen testi

- Bakteriyel menenjit olgularında BOS'ta hızlı antijen tarama testlerinin rutin olarak yapılması önerilmemektedir
 - BOS alınmadan önce antibiyotik tedavisi almış
 - Gram boyama ve kültür sonucu negatif olan hastalarda yararlı olabilir

Antijen testi

- Kriptokok antijen testi SSS enfeksiyonları tanısı için yaygın olarak kullanılmaktadır
 - Şüpheli kriptokoksik menenjit olgularında
 - İmmün sistemi baskılanmış hastalarda yapılmalıdır
- Yüksek antijen titresi (>1:1024) antifungal tedavi başarısızlığı ile ilişkilidir

Kültür

Etken mikroorganizmalar	Besiyeleri	İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı
		Sıcaklık	Ortam	Süre	
Herhangi bir bakteri	Koyun kanlı agar	35-37°C	%5-10 CO ₂	72 saat	Günlük
	Çikolata Agar				
	Kan kültürü şişesi (otomatize sistem)		5-7 gün	Otomatik cihaz tarafından yapılır	
Mikobakteriler	Löwenstein-Jensen	35-37°C	Aerop ortam	6 hafta	Günlük
	Sıvı besiyeri (otomatize sistem)			Otomatik cihaz tarafından yapılır	
Mantarlar	Sabouraud-dekstroz agar	26-30°C	3-4 hafta*	Günlük	
	Beyin-kalp infüzyon agar	35-37°C			

(*) Bazı dimorfik mantarlarda bu süre 6 haftaya kadar uzayabilir.

Kültür

Akut bakteriyel menenjitte BOS kültürü pozitiflik oranları

- Çalışmaya (%67-85) ve bakteriye göre değişmekte
 - *H.influenzae*- %96
 - *S.pneumoniae*- %87
 - *N.meningitidis*- %82 (%13 olan çalışma da var)
- Pozitiflik oranları antibiyotik alanlarda daha düşük
 - %66 - 62
 - %88 - 70

Olgu

- 27 yaşında erkek hasta
- CT çekilmiş
- Ön tanı: Beyin sapı ensefaliti
- LP kontrendike
- Ne yapalım???

Kültür

- Bakteriyel menenjit olgularında mutlaka kan kültürü de yapılmalıdır

Pathogen	Blood culture
<i>Haemophilus influenzae</i>	25–90
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	60–90
<i>Neisseria meningitidis</i>	40–60
<i>Listeria monocytogenes</i>	10–75
<i>Streptococcus agalactiae</i>	80–85
<i>Streptococcus pyogenes</i>	60–65
<i>Streptococcus suis</i>	50
<i>Staphylococcus aureus</i>	75–100

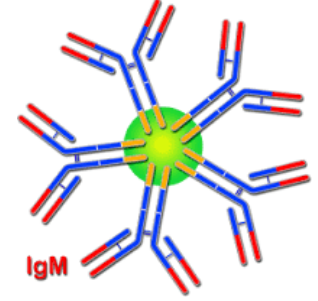


Kültür

- Tüberküloz menenjitte BOS kültürü üreme oranları
 - %13-80
- BOS miktarı ve test tekrarı arttıkça duyarlılık artmaktadır

- Baron EJ, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). Clin Infect Dis 2013;57:485-8.
- Marx GE, Chan ED. Tuberculous meningitis: diagnosis and treatment overview. Tuberculosis research and treatment 2011; doi:10.1155/2011/798764.
- Güneş A, et al. Clinical, radiological and laboratory findings in 185 children with tuberculous meningitis at a single centre and relationship with the stage of the disease. Ital J Pediatr 2015;41:75.

Antikor testi



- Viral enfeksiyonlarda IgM saptanması özgül tanıyı destekler
 - Bati Nil virüsü
- BOS antikor indeksinin belirlenmesi
 - İntratekal antikor üretimini göstermesi açısından önemlidir
 - Lyme nöroborrelyoz (Erken evrede %70, geç evrede %100)
 - SSPE

Moleküler yöntemler

- Düşünülen etken için
 - Mikroskopik incelemede bakteri görülmezse
 - Klinik şüpheyeye rağmen diğer testlerle negatif sonuçlar alınıyorsa
 - Hasta immünkompromize ise

PCR yapılmalıdır

Moleküler yöntemler

- Yanlış negatif sonuçlar
 - İnhibisyon (eritrosit vb)
 - Mikroorganizma sayısının az olması
 - Örnek miktarının yetersiz olması
 - Uygun olmayan hedef seçimi
- Tek bir negatif PCR sonucu tanıyı ekarte ettirmez
 - Klinik bulgular devam ediyorsa yeni örnekle test tekrarlanmalıdır

Moleküler yöntemler

- Akut bakteriyel menenjit hastalarında PCR'in rutin kullanımını önerilmektedir
 - Duyarlılık %87-100
 - Özgüllük %98-100
- Tüberküloz menenjit olgularında ise kültüre ek olarak önerilmektedir
 - Duyarlılık %46-66
 - Özgüllük %97-99

Moleküler yöntemler

- Viral enfeksiyonlarda
 - PCR en sık tercih edilen testtir
 - HSV ensefaliti tanısında beyin dokusu kültürüne eşdeğerdir
- Paraziter enfeksiyonlardan
 - Sadece serebral toksoplazmozda rutinde önerilmektedir
- Mantar enfeksiyonlarından
 - Kriptokokkoz ve aspergilloz şüphesinde rutin yöntemlere ek olarak yapılabilir

BOS'ta çalışılan FDA onaylı moleküler testler

Firma Adı	Test Adı	Organizma	Yöntem
Cepheid	Xpert EV Assay	Enteroviruses	Real-time PCR
bioMeriuex	NucliSENS EasyQ Enterovirus assay	Enteroviruses	NASBA
Focus Diagnostics	Simplexa HSV-1&2	HSV-1 HSV-2	Real-time PCR
BioFire Diagnostics	FilmArray Meningitis/Encephalitis panel	<i>E. coli K1</i> <i>H. influenzae</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>N. meningitidis</i> <i>S. agalactiae</i> <i>S. pneumoniae</i> CMV, HSV-1, HSV-2 VZV, HHV-6, enterovirus human parechovirus <i>C. neoformans/gattii</i>	Multiplex PCR followed by solid array

Panik değer



- BOS'ta saptanan her türlü pozitiflik panik deęerdir
 - Mikroskopik bulgular
 - Antijen testi pozitiflięi
 - Moleküler test pozitiflięi
 - Antikor test pozitiflięi
 - Kültürde reme
- Klinięe telefonla ve hastane/laboratuvar bilgi sistemleri ile bildirilmelidir



TEŞEKKÜRLER