

Yenidoğan Dışı Menenjit Şüpheli Hastalarda Bakteriyel Menenjit Etkenlerinin Klasik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması[§]

Mehmet YARYÜZLÜ*, Gönül ASLAN**, Mahmut ÜLGER***, Seda TEZCAN ÜLGER*,
Gürol EMEKDAŞ****, Necdet KUYUCU*****, Ali KAYA*****

*Mersin Halk Sağlığı Laboratuvarı, Mersin

**Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin

***Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin

****Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

*****Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin

*****Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin

ÖZ

Amaç: Pürülan menenjit olgularının büyük kısmından *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Neisseria meningitidis* sorumludur. Bu çalışmada, hastanemizde izole edilen yenidoğan dışı bakteriyel menenjit etkeni olan bu bakterilerin tanımlanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi'nin çeşitli kliniklerinde yenidoğan dışı menenjit şüpheli 137 hastanın Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) örnekleri dâhil edildi. Örneklerin Gram boyamaları, hücre sayımı ve klasik kültürleri yapıldı. Kültürde üreyen suşların serotiplendirmeleri yapıldı. Bu bakteriyel etkenlerin hızlı tanısı için BOS örneklerine polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve Lateks Agglütinasyon Testi (LAT) uygulandı.

Bulgular: Hastaların 87 (%63.5)'si erkek ve 50 (%36.5)'si kadındı. Gram boyama ile BOS örneklerinde beş Gram pozitif diplokok saptandı. Örneklerin dördünde (%2.9) kültür pozitifliği (içünde *S. pneumoniae*, birinde *H. influenzae*), 18 (%13.1)'inde PZR pozitifliği ve 17 (%12.4)'sinde LAT pozitifliği belirlendi. Bu üç yöntem ile bakteriyel menenjit tanısı alan hasta sayısı 19 (%13.8) olarak belirlendi. *S. pneumoniae* suşlarının serotipleri 6A/B, 23F ve 8 olarak, *H. influenzae* suşunun serotipi ise tip b olarak belirlendi.

Sonuç: Bakteri izolasyonu ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi açısından kültür vazgeçilmez bir yöntem olsa da özellikle öncesinde antibiyotik kullanan hastalarda moleküler yöntemler ve LAT'in kültürle beraber kullanılması bakteriyel menenjitin hızlı tanısında oldukça yararlı olacaktır.

Anahtar kelimeler: Akut bakteriyel menenjit, kültür, polimeraz zincir reaksiyonu, lateks agglütinasyon testi

ABSTRACT

Investigation of Bacterial Meningitis Agents from Patients with Suspicion of Non-Neonatal Meningitis by Conventional and Molecular Methods

Objective: In the most of purulent meningitis cases *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* and *Neisseria meningitidis* are responsible. In this study we aimed to identify our these non-neonatal bacterial meningitis agents isolated in our hospital.

Material and Methods: Cerebrospinal fluid (CSF) specimens of 137 suspected cases of non-neonatal meningitis from various clinics of Mersin University Health Research and Application Center were included in this study. CSF specimens were subjected to Gram staining, cell count and conventional cultures. Serotyping of the strains isolated from culture was done. For the rapid diagnosis of these bacterial agents polymerase chain reaction (PCR) and latex agglutination test (LAT) were performed with the CSF specimens.

Results: The study population consisted of 87 (63.5%) male, and 50 (36.5%) female patients. Five gram positive diplococci were detected by Gram stain from CSF specimens. Culture was positive in four (2.9%) specimens (*S. pneumoniae* in 3, and *H. influenzae* in 1), PCR was positive in 18 (13.1%) and LAT was positive in 17 (12.4%) specimens. With these three methods 19 (13.8%) patients were diagnosed as bacterial meningitis. Serotypes of *S. pneumoniae* isolates were identified as 6A/B, 23F and 8; and serotype of *H. influenzae* isolates as type b.

Conclusion: Though culture is indispensable for the bacterial isolation and determination of antibiotic sensitivity; however, usage of molecular methods and LAT with culture would be very useful for rapid diagnosis of bacterial meningitis especially in patients with prior antibiotic usage.

Keywords: Acute bacterial meningitis, culture, polymerase chain reaction, latex agglutination test

Alındığı tarih: 17.02.2017

Kabul tarihi: 16.10.2017

Yazışma adresi: Gönül Aslan, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin

e-posta: drgaslan@gmail.com

[§] Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda tıpta uzmanlık tezi olarak hazırlanmış ve Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından [Proje No: BAP-TF TTB (MY) 2010-4 TU] desteklenmiştir.

GİRİŞ

Menenjit, pia ve araknoid boşlukların enflamasyonudur⁽¹⁾. Erken tanı ve etkin tedavi mortalite ve morbiditeyi önemli oranda düşürmektedir. Çok farklı etkenler leptomeningeal enflamasyona neden olabilmekle birlikte, gerek morbiditesi gerekse mortalitesi nedeni ile akla ilk gelmesi gereken etkenler bakterilerdir. Pürülan menenjit olgularının büyük kısmından *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Neisseria meningitidis* sorumludur⁽²⁾. Bakteriye menenjit etkenleri coğrafik bölge ve yaşa göre değişebilmektedir⁽¹⁾. Konjuge *H. influenzae* tip b (Hib) ve pnömokok aşılarının rutin aşı takvimine girdiği ülkelerde akut bakteriyel menenjitin epidemiyolojik profilinde büyük değişiklikler olmuştur⁽³⁾.

Menenjitin klasik bulguları olan ateş, baş ağrısı, ense sertliği, mental değişiklikler, nöbetler ve kusma yetişkin hastaların yarısından fazlasında gözlenmekle beraber, özellikle yenidoğan, yaşlı ve immün yetmezlikli hastalarda nonspesifik belirtiler gözlenebilmektedir⁽⁴⁾. Bakteriye menenjitte gözlenen en sık bulgu ateştir. Özellikle ateş öyküsü varlığında peteşiyel, purpurik döküntüleri olan hastalarda ilk düşünülmesi gereken tanı akut bakteriyel menenjittir⁽⁵⁾.

Bakteriyel menenjit tanısında; lomber ponksiyonla alınan Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) örneğinin incelenmesi, etkenin izolasyonu ve antibiyotik duyarlılığı için gereklidir⁽¹⁾. BOS'da toplam hücre sayımı ve hücre tipi diğer analiz sonuçları değerlendirilerek enflamasyonun tipi (viral, bakteriyel, vb.) hakkında fikir sahibi olunabilir⁽⁶⁾. Bakteriye menenjitte Gram boyamanın duyarlılığı %50-90 arasında değişmekle birlikte, kültürün yapılamadığı durumlarda erken tedavi için oldukça yararlıdır. Kültür yöntemi, bakteriyel menenjit tanısında etkenin antibiyotik duyarlılığının belirlenmesine ve uygun tedaviye olanak sağlamasından dolayı altın standarttır.

Ancak antibiyotik kullanılmış hastalarda duyarlılığı düşmektedir⁽⁷⁾. Bakteriye menenjitin etiyolojik tanısı bir saatten daha kısa sürede sonuçlanan Lateks Aglutinasyon Testi (LAT) ile mümkün olabilmektedir⁽⁸⁾. Bu test bakteriyel menenjitin hızlı tanısında %50-100 arasında değişen duyarlılığa sahiptir. Öncesinde antibiyotik kullanımından etkilenmediği için kültür ve Gram boyama sonucu negatif olan hastalarda kullanılabilir⁽⁹⁾. Kültür genellikle 24-48 saat sonra sonuçlanabilmekle beraber, bazen bakteri yoğunluğunun azlığından dolayı üreme daha da uzayabilmektedir. Son zamanlarda bakteriyel menenjitin hızlı ve doğru tanısında polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) tabanlı birçok test geliştirilmiştir⁽¹⁰⁾. Bakteriye menenjitin hızlı tanısında kullanılan PZR özellikle antibiyotik tedavisinden dolayı kültürün duyarlılığının düştüğü durumlarda oldukça yararlıdır. Ancak PZR'nin kontaminasyondan etkilenmesi en büyük sorundur⁽¹¹⁾.

Bu çalışmada, hastanemizde yenidoğan dışı bakteriyel menenjit etkenlerinden *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis*'in klasik ve moleküler yöntemlerle tanımlanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilimsel Araştırmaları Değerlendirme Komisyonu'nun 02.03.2011 tarih ve 2011/45 sayılı kararı ile Etik Kurul Onayını almıştır.

Çalışmaya, Mart 2011-Ocak 2013 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Yenidoğan Dışı kliniklerinden Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na bakteriyel menenjit şüphesi ile gönderilen 137 BOS örneği dâhil edildi.

Steril tüp içerisine alınan BOS örnekleri laboratuvara ulaştığında hızlıca Gram boyama, hücre

sayımı ve kültürleri yapıldı. Hücre sayımında BOS'un bir milimetre küpündeki lökosit miktarı belirlendi. Gelen örneklerde BOS miktarı yeterli ise 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek konsantrasyon işlemi uygulandı. Üst kısım atıldıktan sonra tüpün dibinde kalan kısımdan Gram boyama, hücre sayımı ve bakteriyolojik kültür yapıldı. Hücre sayımı için Thoma lamı kullanıldı. Kültür için BOS örnekleri %5 koyun kanlı, çikolata ve Eozin Metilen Blue agara inoküle edildi. Örneklerin geri kalan kısmı moleküler analizlerde kullanılmak üzere steril ependorfa alınarak -80°C'de saklandı. Ekim yapılan petri-ler 24-48 saat süreyle 37°C'de hem aerob ortamda hem de %5 CO₂'li ortamda inkübe edildi⁽¹²⁾. Üreme olan kültürlerdeki şüpheli koloniler klasik yöntemler [koloni morfolojisi, Gram boyama, oksidaz, X ve V faktör, katalaz, optokin (5 µg) duyarlılık, safrada erime testleri^(13,14)] ile tanımlandı.

Kültürde üreyen *H. influenzae* suşlarının serotiplendirmesi "Antiseraset" (Denka Seiken™, Japonya; Lot: 135086) kiti ile kapsüller polisakarit antijenlerini araştırmak suretiyle, spesifik antiserumlar kullanılarak lam aglütinasyon yöntemiyle yapılırken, *S. pneumoniae* suşlarının serotiplendirmesi; Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nda, bulaşıcı hastalıklar sürveyansı çalışması dâhilinde yapıldı. *S. pneumoniae* suşlarının penisilin duyarlılığının belirlenmesinde E-test yöntemi kullanıldı⁽¹⁵⁾.

BOS örneklerinden lateks aglütinasyon testi "Slidex Meningite-Kit 5" (BioMérieux, Lyon, Fransa; Ref. 58 803) kiti ile çalışıldı. Bu kit *H. influenzae* tip b, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* A, *N. meningitidis* B/*Escherichia coli* K1, *N. meningitidis* C antijen ekstrelerini içermektedir.

Çalışmaya dâhil edilen BOS örneklerinden DNA ekstraksiyonu "High Pure PCR Template Preparation Kit" (Roche 11 796 828 001)'i kullanılarak üretici firma önerileri doğrultusunda

gerçekleştirildi. Elde edilen DNA'ların amplifikasyonu için multipleks PCR prensibi ile çalışan "Speed-Oligo Bacterial Meningitis" (Vircell, İspanya; Ref: SPC003) kiti kullanıldı. Bu kit *S. pneumoniae* için *lytA*, *H. influenzae* için *bexA* ve *N. meningitidis* için *ctrA* genlerine spesifik oligonükleotidler içermektedir.

Çalışmada *S. pneumoniae* ATCC 49619, *H. influenzae* ATCC 33391 ve *N. meningitidis* ATCC 13077 grup B standart suşları kullanıldı.

BULGULAR

Menenjit şüpheli 137 hastanın 87 (%63.5)'si erkek ve 50 (%36.5)'si kadın hastadan oluşmaktadır. Hastaların yaşları bir ay-83 yaş aralığında olup yaş ortalamaları 18.4 olarak bulundu. Hastaların 79 (%57.7)'u çocuk yaş grubunda (bir ay-18 yaş) iken, 58 (%42.3)'i erişkin yaş grubunda (19-83 yaş) idi.

Çalışmaya dâhil edilen hastaların 18 (%94.7)'inde ateş, 15 (%78.9)'inde baş ağrısı, 15 (%78.9)'inde meninks irritasyon bulguları ve 12 (%63.2)'sinde bulantı-kusmanın olduğu belirlendi (Tablo 1). Hastaların beşinin BOS örneğinde Gram boyama ile etken mikroorganizma (beş Gram pozitif diplokok) saptandı. Kültür yöntemi ile örneklerin üçünde *S. pneumoniae*, birinde *H. influenzae* izole edildi. Bu izolatların dışında 7 (%5.1) koagülaz negatif stafilokok, 4 (%2.92) *Serratia marcescens*, 2 (%1.46) *Staphylococcus aureus*, 2 (%1.46) *Acinetobacter baumannii* ve 2 (%1.46) *Pseudomonas aeruginosa* izolatu kültürde üretilmiş, ancak bu oldular çalışmaya dâhil edilmemiştir.

Kültür pozitif dört hastanın üçünde, (3 Gram pozitif diplokok) Gram boyama ile de BOS'da etken mikroorganizma belirlenirken, kültürde üreyen bir *H. influenzae* suşu BOS'da Gram boyama ile belirlenemedi. Kültürde izole edilen *H. influenzae* suşunun serotipi tip b, *S. pneumoniae* suşlarının serotipleri ise 6A/B, 23F ve 8 olarak

Tablo 1. Hastalara ait demografik bulgular ve laboratuvar sonuçları.

Cinsiyet (n:19)	Erkek/Kadın 12/7	
Ortalama yaş (n:19)	9 ay-68 yaş ortalama: 23.9 Çocuk: 7 %36.8 Erişkin: 12 %63.2	
Klinik bulgu (n:19)	Ateş	18 olguda %94.7
	Baş ağrısı	15 olguda %78.9
	Meninks irritasyon bulguları	15 olguda %78.9
	Bulantı-kusma	12 olguda %63.2
	Antibiyotik kullanma öyküsü	13 olguda %68.4
Altta yatan hastalık	8 olguda %42.1	
Laboratuvar (n:19)	BOS/Kan glukoz değeri	<0.6, 15 olguda %78.9
	BOS protein	>450 mg/L, 13 olguda %68.4
	BOS lökosit sayımı ortalama	2169/mm ³ (17 olguda %89.5 PNL ağırlıklı)
	Gram boyama	5 olguda Gram pozitif diplokok
	Kültür	3 olguda <i>Streptococcus pneumoniae</i> Serotipler 6A/B, E-test MİK 0.50 µg/ml 23F, E-test MİK 1.50 µg/ml 8, E-test MİK 0.06 µg/ml 1 olguda <i>Haemophilus influenzae</i> Serotip b
	LAT	17 olguda pozitif 16 olguda <i>Streptococcus pneumoniae</i> 1 olguda <i>Haemophilus influenzae</i>
	PZR	18 olguda pozitif 16 olguda <i>Streptococcus pneumoniae</i> 2 olguda <i>Haemophilus influenzae</i>
Sonuç	16 olgu %84.2 tedavi ile şifa 2 olgu %10.5 nörolojik sekel 1 olgu %5.3 tedavinin ilk günü	

LAT: Lateks Aglutinasyon Testi, PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu, BOS: Beyin Omurilik Sıvısı, PNL: Polimorf Hüvelil Lökosit

belirlendi. Serotip 6A/B ve 23F suşlarının penisilin E-test MİK değerleri sırasıyla 0.50 µg/ml ve 1.50 µg/ml dirençli olarak belirlenirken, serotip 8 suşunun MİK değeri 0.06 µg/ml duyarlı olarak belirlendi.

LAT ile 17 (%12.4) hastada bakteriyel menenjit etkeni belirlendi. Bu hastaların 16 (%11.7)'si *S. pneumoniae*, 1'i (%0.7) *H. influenzae* olarak tanımlandı. PZR ile 18 (%13.1) hastanın sonucu bakteriyel menenjit; bunların 16 (%11.7)'si *S. pneumoniae*, 2'si (%1.4) *H. influenzae* olarak tanımlandı. LAT ve PZR ile hiçbir hastada *N. meningitidis* saptanmadı.

Gram boyama, kültür, LAT ve PZR yöntemlerinden herhangi biri ile pozitif 19 hastaya bakteriyel menenjit tanısı konuldu. Üç hastada tüm

yöntemlerle, iki hastada Gram boyama, LAT ve PZR yöntemleriyle, 11 hastada LAT ve PZR yöntemleriyle, bir hastada kültür ve PZR yöntemleriyle, bir hastada yalnızca LAT ile ve bir hastada da yalnızca PZR yöntemiyle pozitif sonuç elde edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Bakteriyel menenjit tanısı alan 19 hastanın Gram boyama, kültür, lateks aglutinasyon testi ve polimeraz zincir reaksiyonu sonuçlarının karşılaştırılması.

Gram boyama	Kültür	LAT	PZR	N
+	+	+	+	3
+	-	+	+	2
-	-	+	+	11
-	+	-	+	1
-	-	+	-	1
-	-	-	+	1
Toplam				19

LAT: Lateks aglutinasyon testi, PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

Hastalara ait demografik bulgular ve laboratuvar sonuçları Tablo 1’de özetlenmiştir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, yenidoğan dışı bakteriyel menenjit etkenlerinin (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis*) hızlı ve doğru bir şekilde saptanması ve bölgemizdeki bu bakteriyel menenjit etkenlerinin epidemiyolojik verilerinin oluşturulması amaçlandı.

Menenjit genellikle ateş, baş ağrısı, bulantı, kusma, bilinç değişikliği ve ense sertliği yakınmaları ile başlamaktadır⁽¹⁶⁾. Çalışmamızda, bakteriyel menenjit tanısı alan hastaların en sık semptomu literatürle^(17,18) uyumlu olarak ateş, ardından ise meninks irritasyon bulguları ve baş ağrısı olarak bulundu.

Bakteriyel menenjitlerde BOS lökosit sayısı çeşitli çalışmalarda, 906-9455/mm³ arasında bildirilmiş^(3,16,17,19), Gurley ve ark.⁽¹⁷⁾ ise bu lökositlerin %80’ini PNL olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda, hastalarımızın BOS lökosit sayılarının ortalaması 2169/mm³, lökosit tipi değerlendirmesinde ise %89.5’inin PNL ağırlıklı lökositlerden oluştuğunu belirlendi.

Gram boyama ile bakteriyel menenjit tanısı %60-90 oranında konulabilmektedir. Öncesinde antibiyotik kullanımı ile bu oran %20’lere kadar düşmektedir⁽⁹⁾. Çeşitli çalışmalara %4.1⁽²⁰⁾, %40.4⁽²¹⁾, %65.7⁽²²⁾ gibi çok farklı oranlarda tanıya katkısı bildirilmiştir. Çalışmamızda, 19 hastanın 5 (%26.3)’ünde Gram boyama ile mikroorganizma belirlenmiştir. Gram boyamada mikroorganizma belirleme oranımızın düşük olma nedenini; önceden kullanılmış antibiyotik tedavisinden dolayı, BOS’daki bakteri yoğunluğunun azlığından kaynaklı veya laboratuvara gelen örnek miktarının azlığından kaynaklı santifüj edilemeden preperat hazırlanmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Ulusal ve uluslararası çeşitli araştırmalarda *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* izolasyon sayıları Tablo 3’te verilmiştir.

Tablo 3. Çeşitli araştırmalarda *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* izolasyon sayıları.

	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
Gurley ve ark. ⁽¹⁷⁾	136 (%18)	23 (%3)	25 (%3)
Kuti ve ark. ⁽²³⁾	2 (%3.5)	23 (%40.4)	28 (%49.1)
Çelik ve ark. ⁽¹⁹⁾	17 (%22.7)	41 (%54.7)	-
Ceyhan ve ark. ⁽²⁴⁾	138 (%56.5)	55 (%22.5)	50 (%20.5)
Mevcut çalışma	-	3 (%2.2)	1 (%0.7)

Ceyhan ve ark.⁽²⁴⁾’nın çok merkezli çalışmalarında, 7 coğrafik bölgede, Akdeniz bölgesi haricinde, en çok görülen akut bakteriyel menenjit etkeninin *N. meningitidis* olduğu, Akdeniz bölgesinde ise *S. pneumoniae*’nin en sık izole edilen etken olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmadaki epidemiyolojik verilerin çalışmamızla uyumlu olduğu belirlendi. Çalışmamızda, en sık etken olarak *S. pneumoniae*, daha sonra *H. influenzae* saptandı. Hiçbir hastamıza *N. meningitidis* saptanamadı. Sonuç olarak yurtdışı ve yurt içi çalışmaların birçoğu ile çalışmamızda bulduğumuz bakteriyel menenjit etkenlerinin uyumlu olduğunu, ancak etkenlerin bölgesel olarak da değişebildiğini söylemek olasıdır.

S. pneumoniae’nin beş yaş altı çocuklarda akut bakteriyel menenjite neden olan en yaygın etken olduğu bildirilmektedir⁽²⁵⁾. Yedi valanlı konjuge pnömokok aşısının kullanımından önce beş yaş altı çocuklarda serotip 6A, 6B, 19F ve 23F, erişkinlerde serotip 3 ve 23F en sık invaziv hastalık nedeni olarak bildirilirken, aşılama sonrası ise bunların yerini serotip 19A, 6C, 11A, 15A ve 15B/C almış ve menenjitli hastalarda özellikler 19A ve 22F’de artış saptanmıştır⁽²⁶⁾. Yıldırım ve ark.⁽²⁷⁾ yaptıkları çalışmada, invaziv hastalığa yol açma potansiyeli en yüksek olan serotipleri 3, 7F, 18C, 19A, 22F ve 33F olarak bildirmişlerdir. Aslan ve ark.⁽²⁸⁾’nın 1440 sağlıklı çocukta yaptıkları çalışmada iki suşu yüksek düzeyde

dirençli olmak üzere 26 suşta penisilin direnci saptanmıştır. En sık rastlanan serotipleri ise sırasıyla 6, 19, 1, 23, 20 ve 17 bulmuşlardır. Penisilin dirençli suşları ise serotip 20, 23, 14, 6 ve 19 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda, BOS'dan izole edilen üç pnömokok suşu serotip 6A/B, 23F ve 8 olarak belirlendi. İnvaziv pnömokok hastalığına neden olan suşlara bakıldığında serotip 8 dışındaki diğer iki suşun (serotip 6A/B ve 23F) literatürle uygunluk gösterdiği belirlendi. Bölgemizde ve dünyada yapılan çalışmalarla karşılaştırdığımızda, serotip 6A/B ve 23F'de görülen direncin ve serotip 8'deki duyarlılığın uyumlu olduğu görülmektedir. Çalışmamızda, izole edilen serotip 6A/B ve 23F bölgemizde Aslan ve ark.⁽²⁸⁾ tarafından yapılan çalışmadaki en sık görülen serotipler arasında yer alırken, bu serotiplerdeki penisilin direnci ile çalışmamızdaki direnç durumunun uyumlu olduğu gözlenmektedir.

LAT ile BOS'da canlı olmayan bakteriler belirlenebildiği için öncesinde antibiyotik tedavisi alan kültür negatif hastalarda bu yöntem bakteriyel antijenlerin belirlenmesi için kullanışlıdır⁽²⁹⁾. En yaygın olan bakteriyel menenjit etkenlerinin antijenlerinin belirlenmesinde LAT'ın duyarlılığının %50-100 arasında değiştiği bildirilmektedir⁽⁸⁾. Yadhav⁽²⁹⁾ yaptığı çalışmaya beş yaş altı klinik şüpheli 100 çocuğu dâhil etmiş, akut bakteriyel menenjit tanısı alan olguların (n=24) 21 (%87.5)'inin kültür ile, 17 (%70.8)'sinin Gram boyama ile, sekizinin (%33.3) LAT ile pozitif olduğunu, Gram boyama ve LAT'ın birlikte değerlendirildiğinde, olguların %85'inin tespit edildiğini belirtmiştir. Yine Hindistan'da beş yaş altı klinik şüpheli 100 çocuğun dâhil edildiği başka bir çalışmada, 31 olguya akut bakteriyel menenjit tanısı konulduğu, bunların 15 (%48.3)'inin kültür ile 22 (%70.9)'sinin Gram boyama ile ve 17 (%54.8)'sinin LAT ile pozitif olduğu bildirilmiştir⁽³⁰⁾. Hacimustafaoğlu ve ark.⁽³¹⁾ 40 pürülan menenjitli hastadan 14 (%35)'ünde kültür pozitifliği, 21 (%52.5)'inde LAT pozitifli-

ği, kültür pozitif 14 hastanın 8'inde LAT pozitifliği gözlendiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda, LAT ile 17 (%12.4) hastaya bakteriyel menenjit tanısı konuldu. Kültürde üreyen üç *S. pneumoniae* suşu LAT ile pozitifken, bir *H. influenzae* suşu LAT ile negatif bulundu.

Bakteriyel menenjit tanısında altın standart yöntem kültür olmasına rağmen, tanı konmadan başlanan antimikrobiyal tedavi yöntemin duyarlılığını düşürmektedir⁽²⁴⁾. Moleküler testler tedavi alan hastalarda dâhil olmak üzere akut bakteriyel menenjit etkeni bakterilerin tanımlanmasını anlamlı bir şekilde artırmaktadır⁽²⁵⁾. Wu ve ark.⁽³²⁾'nin kültür, Gram boyama ve PZR yöntemlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında %17.7 kültür pozitifliği, %25.1 PZR pozitifliği belirlemişlerdir. PZR'nin duyarlılığını %95 ve özgüllüğünü %90 olarak bildirilmiş, örnek alımı öncesinde antibiyotik kullanan hastaların tanısında PZR'nin etkin olduğunu vurgulamışlardır. Nhantumbo ve ark.⁽²⁵⁾'nin beş yaş altı 369 çocuğun BOS örneğini dâhil ettikleri çalışmada, PZR ile 193 (%52.3) hastada akut bakteriyel menenjit etkenlerinin belirlendiği, bu hastaların yalnızca 27 (%7.3)'sinin kültüründe üreme olduğu bildirilmiştir. Ceyhan ve ark.⁽²⁴⁾'nin bakteriyel menenjit etkenlerini belirlemede Gram boyama, kültür, LAT ve PZR yöntemlerinin kullanıldığı çalışmada kültür pozitifliği %17, LAT pozitifliği %21.8, PZR pozitifliği ise %100 olarak bildirilmiştir BOS kültüründe üreme olmayan 111 hastanın önceden antibiyotik kullanım öyküsü olduğu vurgulanmıştır. Çalışmamızda, kültür yöntemi ile dört hastaya tanı konulurken, PZR ile 18 hastaya tanı konulmuş, kültüründe bakteri üremesi olan bütün BOS örnekleri PZR ile de pozitif bulunmuştur. Bakteriyel menenjit tanısı alan 19 hastanın 13 (%68.4)'ünün öncesinde antibiyotik kullanım öyküsü olduğu düşünüldüğünde PZR'nin öncesinde antibiyotik kullanılan hastaların tanısında oldukça başarılı olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, menenjit mortalite ve morbiditesi yüksek bir hastalık olduğundan, olası olan en kısa sürede tanı konması ve tedavinin başlanması gerekmektedir. Bu nedenle LAT ve PZR ekonomik olarak Gram boyama ve kültürden pahalı olsa da riskli hastaların erken tanısında, Gram boyama ve kültür sonucu negatif, öncesinde antibiyotik tedavisi almış, kliniği menenjitte uyumlu olan hastalarda kesinlikle uygulanmalıdır.

Teşekkür

Bu çalışmanın istatistiksel analizlerini yapan Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Gülhan Örekici Temel'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. **Bhimraj A.** Acute community-acquired bacterial meningitis in adults: An evidence-based review. *Cleve Clin J Med* 2012; 79(6):393-400. <https://doi.org/10.3949/ccjm.79gr.12003>
2. **Kanra G, Ceyhan M, Kara A.** Menenjit I: Etiyopatogenez. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2003; 46(1):57-66.
3. **Özdemir H, Tapısız A, Çiftçi E, İnce E, Doğru Ü.** Çocuklarda akut bakteriyel menenjit. *Çocuk Enf Derg* 2010; 4(1):9-14.
4. **Mace SE.** Acute bacterial meningitis. *Emerg Med Clin North Am* 2008; 26(2):281-317. <https://doi.org/10.1016/j.emc.2008.02.002>
5. **Kanra G, Ceyhan M, Kara A.** Menenjit II: Klinik bulgular ve tanı. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2003; 46(2):128-38.
6. **Topçular B, Topçular NS, Demir GA, Regeniter A.** Beyin omurilik sıvısı analizinde güncel yaklaşımlar. *Arch Neuropsychiatry* 2007; 44(1):28-33.
7. **Scarborough M, Thwaites GE.** The diagnosis and management of acute bacterial meningitis in resource-poor settings. *Lancet Neurol* 2008; 7(7):637-48. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70139-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70139-X)
8. **Shrestha RG, Tandukar S, Ansari S, et al.** Bacterial meningitis in children under 15 years of age in Nepal. *BMC Pediatrics* 2015; 15:94. <https://doi.org/10.1186/s12887-015-0416-6>
9. **Devlin CA, Byars DV.** Meningitis: Current evidence and best practice. *Emergency Medicine* 2011; 43(6):6-13.
10. **Sarookhani MR, Ayazi P, Alizadeh S, Foroughi F, Sahmani A, Adineh M.** Comparison of 16S rDNA-PCR Amplification and culture of cerebrospinal fluid for diagnosis of bacterial meningitis. *Iran J Pediatr* 2010; 20(4):471-5.
11. **Chakrabarti P, Das BK, Kapil A.** Application of 16S rDNA based seminested PCR for diagnosis of acute bacterial meningitis. *Indian J Med Res* 2009; 129(2): 182-8.
12. **York MK.** Cerebrospinal Fluid Cultures. In: Churc DL eds. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 2nd Ed. Washington: ASM Press, 2007:3.7.1-3.7.8.
13. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı. *Haemophilus spp.* Suşlarının X ve V Faktör Gereksiniminin Belirlenmesi İçin Standart Uygulama Prosedürleri. In: Bildirimi Zorunlu Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısına Yönelik Standart Uygulama Prosedürleri Kitabı. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, 2008:177-179.
14. **York MK, Traylor M, Hardy J.** Biochemical Tests for the Identification of Aerobic Bacteria. In: Churc DL eds. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 2nd ed. Washington: ASM Press, 2007:3.17.1.1-3.17.48.1.
15. **CLSI.** Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Second Informational Supplement. CLSI document M100-S22. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.
16. **Demiroğlu YZ, Turunç T, Alışkan H, Çolakoğlu Ş, Erdoğan AF, Arslan H.** Toplum kökenli menenjit/meningoensefalitler: Beş yılın retrospektif değerlendirilmesi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2010; 30(1):218-26. <https://doi.org/10.5336/medsci.2008-8623>
17. **Gurley ES, Hossain MJ, Montgomery SP, et al.** Etiologies of bacterial meningitis in Bangladesh: Results from a hospital-based study. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 81(3):475-83.
18. **Şaksesen M, Taş MA.** Çocuklarda merkezi sinir sistemi enfeksiyonları. *Dicle Tıp Derg* 2007; 34(2):123-6.
19. **Çelik İ, Özden M, Kılıçoğlu A, Demirdağ K, Kılıç SS.** Yüz yirmi bir menenjit olgusunun retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Klimik Derg* 2003; 16(1):11-4.
20. **Silva WA, Pinheiro AM, Coutinho LG, Marinho LAC, Lima LFA.** Epidemiological profile of acute bacterial meningitis in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2010; 43(4):455-7. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822010000400023>
21. **Yamazhan T, Arda B, Taşbakan M, Gökengin D, Ulusoy S, Serter D.** Akut pürülan menenjitli 94 olgunun analizi. *Klimik Derg* 2004; 17(2):95-8.
22. **Mani R, Pradhan S, Nagarathna S, Wasiulla R, Chandramuki A.** Bacteriological profile of community acquired acute bacterial meningitis: A Ten-year retrospective study in a tertiary Neurocare Centre in South India. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25(2):108-14. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.32715>
23. **Kuti BP, Bello EO, Jegede TO, Olubosede O.** Epidemiological, clinical and prognostic profile of childhood acute bacterial meningitis in a resource poor setting. *J Neurosci Rural Pract* 2015; 6(4):549-57. <https://doi.org/10.4103/0976-3147.165424>
24. **Ceyhan M, Yildirim I, Balmer P, et al.** A prospective study of etiology of childhood acute bacterial meningitis, Turkey. *Emerg Infect Dis* 2008; 14(7):1089-96.

- <https://doi.org/10.3201/eid1407.070938>
25. **Nhantumbo AA, Cantarelli VV, Caireão J, et al.** Frequency of pathogenic paediatric bacterial meningitis in Mozambique: The critical role of multiplex real-time polymerase chain reaction to estimate the burden of disease. *PLoS One* 2015; 10(9):e0138249.
26. **Song JY, Nahm MH, Moseley MA.** Clinical implications of pneumococcal serotypes: Invasive disease potential, clinical presentations, and antibiotic resistance. *J Korean Med Sci* 2013; 28(1):4-15. <https://doi.org/10.3346/jkms.2013.28.1.4>
27. **Yildirim I, Hanage WP, Lipsitch M, et al.** Serotype specific invasive capacity and persistent reduction in invasive pneumococcal disease. *Vaccine* 2010; 29(2):283-8. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.10.032>
28. **Aslan G, Emekdaş G, Bayer M, Serin MS, Kuyucu N, Kanık A.** Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* strains in the nasopharynx of healthy Turkish children. *Indian J Med Res* 2007; 125(4):582-7.
29. **Yadhav ML K.** Study of bacterial meningitis in children below 5 years with comparative evaluation of Gram staining, culture and bacterial antigen detection. *J Clin Diagn Res* 2014; 8(4):DC04-6.
30. **Mohammadi SF, Patil AB, Nadagir SD, Nandihal N, Lakshminarayana SA.** Diagnostic value of latex agglutination test in diagnosis of acute bacterial meningitis. *Ann Indian Acad Neurol* 2013; 16(4):645-9. <https://doi.org/10.4103/0972-2327.120491>
31. **Hacımustafaoglu M, Köksal N, Okan M, Ener B, Ercan İ, Çelebi S.** Çocukluk çağı pürülan menenjitlerinin tanısında lateks bakteri aglütinasyon testlerinin değeri. *Mikrobiyol Bul* 1999; 33(3):147-56.
32. **Wu HM, Cordeiro SM, Harcourt BH, et al.** Accuracy of real-time PCR, Gram stain and culture for *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* and *Haemophilus influenzae* meningitis diagnosis. *BMC Infect Dis* 2013; 13:26. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-26>