

Pürülan Meninjitin Tanısında Kültür, Lateks Aglutinasyonu ve EIA Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Özden Büyükbaba

Özet: Pürülan meninjit ön tanısı 550 hastaya ait beyin-omurilik sıvısı, klasik kültür yöntemlerinin yanısıra, beyin-omurilik sıvısında antijen saptayan hızlı serolojik yöntemler olan LA ve EIA ile de incelenmiş ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Kültür ve antibiyogram sonucu beklenmeden antibiyotik kullanma alışkanlığının yaygın olması, muayene maddelerinin her zaman uygun standart koşullarda laboratuvara ulaştırılamaması nedenleri ile etkenin üretilmesinde başarılı olunamadığı belirlenmiştir. Beyin-omurilik sıvısında antijenin gösterilmesi esasına dayanan LA ve EIA'nın hemen eşdeğer sonuç vermesi; daha az karmaşık ve ucuz olması, sonucun daha kısa sürede alınması nedeni ile LA rutin laboratuvarlarda güvenilir bir tanı için uygulanması gereken bir yöntem olarak değerlendirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Pürülan meninjit, EIA, lateks aglutinasyonu

Summary: Comparison of EIA, latex agglutination and culture methods in diagnosis of purulent meningitis. Cerebrospinal fluids taken from the patients with purulent meningitis were examined by culture techniques, latex agglutination (LA) tests and enzyme immunoassay (EIA) in order to make comparison for rapid determination of the agents. It is known that the culture techniques are unsuccessful due to antibiotic therapy prior to specimen take, an unsuitable taking and sending ways to laboratory. According to the results of this study, LA and EIA techniques were found to be approximately in equal value for detecting antigen in the specimen, whereas less expensive and less complicated LA was chosen to be the most available technique than the others.

Key Words: Purulent meningitis, EIA, latex agglutination

Giriş

Pürülan meninjit (akut bakteriyel meninjit, septik meninjit), baş ağrısı, kusma, irritabilite, konvülsiyon, şuur kaybı, ense sertliği ve fontanel kabarıklığı ile karakterize öldürücü olabilen bir infeksiyon hastalığıdır (1,2,3).

Pürülan meninjitlerin % 80'ini aşan bölümünden, kapsüllü bakteriler olan *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Hemophilus influenzae* sorumludur. 1978'de Amerika Birleşik Devletleri Centers for Disease Control (CDC)'un verilerine göre, meninjit olgularının % 84'ünde *H. influenzae*, *N. meningitidis*, ve *S. pneumoniae*'nin etken olduğu bildirilmiştir. Ancak son yıllarda bu üç etkenin yanısıra, özellikle yenidoğan meninjitlerine sıklıkla neden olabilen *Escherichia coli* K₁ ve B grubu streptokoklar önem kazanmıştır. Yine CDC verilerine göre meninjit olgularında ölüm oranı Gram-negatif çomaklar için % 37, *H. influenzae* için % 7.1, *N. meningitidis* için % 13.5, *S. pneumoniae* için % 20.5, B grubu streptokoklar için % 22.4 ve *Listeria monocytogenes* için % 29.5'dir.

İmmünolojik olan ve olmayan defektler ile çeşitli hastalıklar da meninjitte zemin hazırlar. Subaraknoid boşluk ile direkt bağlantılı anatomik defektler, spina bifida ve meningo-miyelosele, cerrahi girişimler veya travmalara bağlı olarak meninjit gelişebilir. Bu tür meninjitlerde sıklıkla deride bulunan *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, çeşitli Gram-negatif çomaklar ve üst solunum yolunun normal flora bakterilerinin etken olduğu görülür. Özellikle konağın bağışıklık sistemindeki yetmezlikler, agammaglobulinemi, multipl miyeloma, B hücre anomalileri, orak hücre anemisi, fonksiyonel aspleni ve splenektomi, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* ve *H. influenzae* gibi bakterilerle oluşan meninjitler için predispozan faktörlerdir. Ayrıca kompleman dizilimindeki ve C5-C9 komponentlerindeki yetmezlikler, başta *N. meningitidis* olmak üzere diğer patojen *Neisseria*'lara

karşı, serumun bakterisidal aktivitesinin bozulmasına yol açarak, tekrarlayan meningokoksik meninjitlere neden olur. Lenfoma, Hodgkin hastalığı veya immunosüpresif tedavi görenlerde gelişen T hücre yetmezliklerinde ise, genellikle intrasellüler mikroorganizmalar olan *L. monocytogenes* ve *Mycobacterium tuberculosis* etkenli meninjitler gelişir. Doğum kanalında kolonize olabilen B grubu streptokoklar ile *L. monocytogenes*, yenidoğan meninjitlerinde önemli rol oynar. Beyin apseleri ventriküller içine veya subaraknoid boşluğa boşaldığı zaman gelişen meninjit olgularında ise çoğunlukla anaerob streptokoklar, *Bacteroides* cinsinden bakteriler ve aerob streptokoklar etken olur (1-4).

Pürülan Meninjitin Tanısı

Pürülan meninjitli hastalarda etkenin süratle saptanması ve uygun antibiyotik tedavisine hemen başlanması hayati önem taşır. Bu amaçla çoğunlukla BOS, septisemi ile birlikte seyreden olgularda ise BOS ve kan incelenir. BOS'nun olabildiğince çabuk laboratuvara ulaştırılması ve uygun çalışmaların yapılması gereklidir. Süratle incelemeye alınmayan BOS'da eritrositler ve PNL'ler erir, bu da mikroskop incelenmesi ile elde edilecek ön tanıya neden olur. Ayrıca glük üreyen kapsüllü bakteriler uygun besiyerlerine direkt olarak inoküle edilmedikçe üremezler. Pürülan meninjit olgularında BOS örnekleri için uygulanması gereken temel deneyler şunlar olmalıdır:

- BOS'nun açılış basıncının belirlenmesi,
- Eritrosit ve lökosit varlığının belirlenmesi,
- Protein ve glikoz düzeyinin belirlenmesi,
- Uygun kültür yöntemlerinin uygulanması,
- Serolojik deneylerin uygulanması.

Pürülan meninjit olgularında BOS'dan hazırlanan Gram preparasyonu her zaman duyarlı sonuç vermemesi, klasik kültür yöntemlerinden çeşitli nedenlerle her zaman başarılı sonuçlar alınmaması ve en erken 24 saatte sonuçlanması, pürülan meninjitlerin tanısında hızlı ve duyarlı sonuçlar veren çeşitli serolojik yöntemlerin gelişmesine neden olmuştur. Bu serolojik deneylerin başlıcaları "countercurrent-

immunolectrophoresis" (CIE), lateks aglutinasyon deneyi (LA), enzim immunoassay (EIA)'dır (5,6).

Rutin olarak kullanılmayan nonspesifik yardımcı deneyler de vardır. Bu deneyler; BOS'da Gram-negatif mikroorganizmaların endotoksinlerini göstermek üzere kullanılan limulus lizat deneyi, yüksek laktik asit, laktik dehidrogenaz ve siklik adenoziin monofosfat düzeylerini gösteren deneyler ve C reaktif proteinlerin gösterilmesidir (2).

Bu çalışma, pürülan meninjit ön tanısı konmuş hastalardan alınan beyin-omurilik sıvısı örneklerine uygulanan bakteriyolojik ve mikolojik kültür yöntemleri ile, bazı mikroorganizma antijenlerinin saptanabildiği serolojik yöntemlerden lateks aglutinasyonu (LA) ve enzim immunoassay (EIA) yöntemlerinin güvenilirlik ve çabuk sonuç verme gibi özellikleri yönünden karşılaştırılması amacı ile yapılmıştır.

Yöntemler

Çoğunluğu İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan olmak üzere, İç Hastalıkları, Nöroloji ve Nöroşirürji Anabilim Dallarından meninjit ön tanısı ile gelen 550 BOS örneği incelenmiştir.

Laboratuvara gelen BOS örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjde çevrilmiş ve çöktelti, kültür ve preparasyon hazırlama işlemlerinde, üst sıvı serolojik deneylerde kullanılmıştır.

1. Kültür Yöntemleri

Beyin-omurilik sıvılarının santrifüj çökteltisinden iki ayrı preparasyon hazırlanmış, Gram ve Ziehl-Neelsen yöntemleri ile boyanarak incelenmiştir.

Kültür için çöktelti:

- % 2 polivitex (Bio-mérieux) içeren triptik soy buyyon (Oxoid) (pH 7.2),
- % 5 tavşan kanı +% 1 polivitex içeren Columbia agar (Oxoid) (pH 7.2),
- Sıvı Sabouraud (Oxoid) (pH 6),
- % 5 koyun kanı içeren Brain-Heart-Infusion agar (Oxoid) (pH 6)

besiyerine ekilmiştir.

Ekim yapılan triptik soy buyyon ve Columbia agar besiyerleri % 10 CO₂'li ortamda 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Mikolojik inceleme amacı ile 37°C'de bir günlük inkübasyondan sonra, oda sıcaklığında üç hafta bekletilmiştir.

Gram negatif diplokokların tanısı için "Diagnostics Neisseriaceae identification systems (Pasteur)" kiti kullanılmıştır. Ayrıca *N. meningitidis* A,B,C,Y,W₁₃₅ ve 29E serotiplerine özgül bağışık serumlar (Pasteur) kullanılarak serotipleri belirlenmiştir.

Kültürde üretilen suşların 17 çeşit antibiyotik ve kemoterapötik maddeye duyarlılıkları Kirby-Bauer disk-diffüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Bu yöntemle penisiline dirençli görülen *H. influenzae*, *N. meningitidis* ve *S. pneumoniae* suşlarının penisiline duyarlılığı buyyonda dilüsyon yöntemi ile denenerek MIC değerleri saptanmıştır. Bu amaçla, Mueller-Hinton buyyonu kullanılmıştır. Antibiyotik ve kemoterapötik maddeler seçilirken, BOS'na geçebilme ve meninjit tedavisinde uygulanan antibiyotik kombinasyonlarında yer alma özellikleri dikkate alınmıştır.

2. Serolojik Yöntemler

Lateks aglutinasyon (LA) deneyi: Bu deney için "Bacterial antigen kit-Wellcome" kiti kullanılmıştır.

BOS örnekleri 100°C'lik su banyosunda 5 dakika tutulmuş (nonspesifik reaksiyonların önlenmesi için) 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjde çevrilmiş, üst sıvı deney için kullanılmıştır.

Kitin içerdiği B grubu streptokok, *H. influenzae* tip b, *S. pneumoniae* (omnivalan), *N. meningitidis* (A,C,Y,W₁₃₅), *N. meningitidis* B/E.coli K₁ antijenlerine karşı antikorlarla kaplanmış polistren lateks partikülleri süspansiyonlarından birer damla aglutinasyon plaklarına damlatılmış, üzerine bir damla BOS örneği ilave edilerek çalkalanmıştır. Üç dakika içinde gözlenen aglutinasyon pozitif bulgu olarak değerlendirilmiştir.

Çapraz pozitif sonuç alındığında ise, kitin içerdiği kontrol lateks kullanılarak, pozitif sonuçlar doğrulanmıştır.

Deney 10 dakikalık bir zaman almaktadır.

Enzim-immünoessey (EIA): Bu deney için "Pharmacia-Meningitidis EIA kit"i kullanılmıştır.

Anti-*H. influenzae* tip b, anti-*N. meningitidis* (A,B,C,Y,W₁₃₅) ve anti-*S. pneumoniae* (30 seçilmiş serotip) antikorlarını ayrı ayrı içeren tavşan anti-serumları ile kaplı tüpler 4 ml yıkama solüsyonu ile yıkanmış, filtre kağıdına ters çevrilerek 1 dakika kuruması için beklenmiştir.

Her tip bakteriye özgün, horse-radish peroxidase (HRP) enzimi ile işaretli serumlardan bu tüplere 100 µl ilave edilmiş, yine aynı miktarda BOS, pozitif ve negatif kontroller eklenerek, tüpler 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Süre sonunda tüpler 4 ml yıkama solüsyonu ile yıkanmış, filtre kağıdına ters çevrilerek 1 dakika kuruması için bekletilmiştir.

Tüplere 200 µl substrat ilave edilerek 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş, süre sonunda tüplere 200 µl 2M HCl ilave edilerek reaksiyon durdurulmuş, sonuçlar, pozitif ve negatif kontrol tüplerine göre gözle okunmuştur.

Tüplerdeki sarı-turuncu renklenme pozitif, renklenme olmaması ise negatif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir.

Bu deney 1 saatlik bir zaman almaktadır.

Sonuçlar

İncelenen BOS'larda kültür yöntemleri ile izole edilen bakteriler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Ancak LA ile *S. pneumoniae* (omnivalan), *N. meningitidis* (A,C,Y,W₁₃₅), *H. influenzae* tip b, *E. coli* K₁/*N. meningitidis* B ve B grubu streptokoklar, EIA ile *S. pneumoniae* (seçilmiş 30 serotip), *N. meningitidis* (A,B,C,Y,W₁₃₅) ve *H. influenzae* tip b antijenleri saptanabildiği için, kültür, LA ve EIA'nın pürülan meninjit tanısındaki başarısının karşılaştırılması için hazırlanan tablolarda sadece bu bakterilerin etken olduğu olgulara yer verilmiştir (Tablo 2).

Bu bulgular etken bakteriler göz önüne alınarak genişletilmiş ve sonuçlar Tablo 3'te gösterilmiştir.

Pürülan meninjit etkenlerinin yaş gruplarına göre dağılımları, etkeni kültürde izole edilen 150, etkeni LA ve EIA ile belirlenebilen 61 olmak üzere toplam 211 olgu gözönüne alınarak incelenmiş ve sonuçlar Tablo 4'te gösterilmiştir.

Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi ile penisiline dirençli bulunan 13 *N. meningitidis*, 10 *S. pneumoniae* ve 2 *H. influenzae* tip b suşunun penisiline duyarlılığı dilüsyon yöntemi ile MIC değeri saptanarak belirlendiğinde, tümünün penisiline duyarlı olduğu saptanmıştır.

İrdeleme

Pürülan meninjitlerde BOS'nda görülen başlıca anomaliler

Tablo 1. İncelenen 550 BOS'dan Kültürde İzole Edilen Bakteriler

Etken	n	%
<i>S. pneumoniae</i>	31	5.6
<i>K. pneumoniae</i>	28	5.0
<i>N. meningitidis</i> *	27	5.0
<i>E. coli</i> **	23	4.2
<i>S. aureus</i>	20	3.6
<i>A. calcoaceticus</i>	5	0.9
<i>S. epidermidis</i>	4	0.7
<i>M. phenylpyruvica</i>	3	0.5
<i>H. influenzae tip b</i>	3	0.5
<i>Enterobacter sp</i>	2	0.4
<i>S. typhimurium</i>	2	0.4
B grubu streptokok	1	0.2
<i>M. tuberculosis</i>	1	0.2
Toplam	150	27.2

*: 23'ü *N. meningitidis* C, 4'ü *N. meningitidis* A
 **: 3'ü *E. coli* K₁

yüksek basınç, bulanık ve cerahatli BOS, nötrofil sayısının artması, protein miktarının artmasına karşın glikoz miktarının düşmesidir. Ancak bu karakteristik tablo her zaman mevcut olmamaktadır. Çünkü bu klasik tablo, lomber ponksiyonun yapılma zamanına, bireyin antimikrobiyal tedavi alıp alma ve BOS'ndaki inflamatuvar cevabına bağlı olarak değişim göstermektedir. Bu da pürülan meninjitlerin virus ve tüberküloz meninjitleri ile karışmasına sıklıkla neden olmaktadır. Bu nedenlerle pürülan meninjit tanısında en güvenilir yol, etken mikroorganizmaların kendisinin gösterilmesi ve üretilmesi ya da antijenlerinin saptanabilmesidir (1,4,7,8).

Gram boyama yönteminin pürülan meninjitli olan ve antibiyotik tedavisine başlanmayan kişilerde % 70-80 oranında olumlu sonuç verdiği bildirilmektedir. Buna karşın bazı meninjit olgularının, özellikle erken dönemde BOS'ndaki bakteri sayısının çok az olabileceği, bu nedenle Gram preparasyonunda etken görülmediği halde kültürde üreyebileceği gerçeği de unutulmamalıdır (2).

Davis ve arkadaşları (9) Gram preparasyonlarında % 60-80 oranında etkenlerin görülebileceğini, buna karşın kültürde etkenlerin izole edilme oranının % 80-90 olduğunu bildir-

Tablo 2. 550 BOS'nda Gram, Kültür, LA ve EIA Bulgularının Karşılaştırılması

Yöntem	Pozitif olgu		Negatif olgu	
	n	%	n	%
Gram	72	13	478	87.0
Kültür	65	11.8	485	88.2
LA	126	23	424	77.0
EIA	111	20.2	439	79.8

mişlerdir. Ayrıca önceden antibiyotik uygulanmasının Gram boyamadaki başarı oranını % 20, kültürdeki başarı oranını ise % 30 oranında düşürdüğünü göstermişlerdir.

Sheldon ve arkadaşları (10) Gram preparasyonlarının özellikle deneyimsiz kişiler tarafından incelenmesinin yanlış tanı konmasına neden olabileceğini ve bu sonuca göre antibiyotik tedavine başlayan klinisyenleri güç durumlara sokabileceğini belirtmişlerdir.

Dış ortam sıcaklığının kültürdeki başarı oranını düşürdüğü ve bu nedenle çok sıcak veya çok soğuk iklim koşullarında, Gram yönteminin daha güvenilir olduğu bir gerçektir. Nitekim Sudan'da meningokoksik meninjit epidemisi döneminde yapılan bir çalışmada, Gram preparasyonunun daha iyi bir tanı tekniği olduğu vurgulanmış. Gram yönteminin % 93, kültürün ise % 44 oranında başarılı olduğu bildirilmiştir (11).

Bu çalışmanın bulgularına göre, Gram yöntemi az da olsa kültür yöntemlerine göre daha üstün bulunmuştur (Gram % 13, kültür % 11.8). Özellikle yurdumuzda bakteriyolojik örnekler alınmadan önce antimikrobiyal ajanların yaygın olarak kullanılma alışkanlığının olması ve bu örneklerin çoğu kez uygun standart koşullarda laboratuvarlara ulaştırılmaması gibi nedenler, Gram preparasyonunu gerçekten de önemli kılmaktadır.

Bu çalışmada, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* tip b, B grubu streptokoklar ve *E. coli* K₁ için kültürde üretme oranı % 11.8 iken, LA ile bu bakterilerin antijenlerinin saptanma oranı % 23'tür. Bu fark oldukça dikkat çekicidir.

Pürülan meninjitli hastaların BOS'larındaki çözünebilir bakteri antijeninin çabuk tanısı için geliştirilmiş bir yöntem olan LA yönteminin, kültür sonuçlarından en az 18 saat önce sonuç vermesi, önceden antibiyotik uygulanmasının, Gram preparasyonunu ve kültür sonuçlarını olumsuz yönde etkilemesine karşın, bu yöntemle BOS'nda 0.75-1.5 ng/ml antijenin bile saptanabilmesi, pürülan meninjitlerin tanısında değerli bir deney olmasını sağlamıştır (12).

Etkeni bilinmeyen meninjitlerin tanısında LA'nun önemini araştırmak amacı ile yapılan bir çalışmada kültürü negatif olan BOS'ların % 12'sinde, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* tip b ve B grubu streptokok antijeni saptanmıştır (13).

Yapılan bir karşılaştırmalı çalışmada, meningokoksik meninjit tanısında kültür ile % 79, LA ile % 88, pnömokoksik meninjit tanısında kültür ile % 67, LA ile % 82, *H. influenzae* tip b meninjit için kültür ile % 69, LA ile % 94 oranında pozitif sonuç alındığı, ayrıca bu çalışmada CIE ve LA sonuçlarının hemen hemen eşdeğerde olduğu, ancak *H. influenzae* tip b antijenin BOS'ndan saptanmasında LA (% 94)'un CIE (% 88)'den daha üstün olduğu gösterilmiştir (14).

LA yönteminin meninjit olgularında CIE'den daha erken pozitif sonuç verdiği, deney hayvanlarında yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada deney hayvanlarının BOS'nda en az 10³/ml canlı bakteri LA ile saptanabilirken, CIE ile saptanabilmesi için 10⁴/ml canlı bakteri gerektiği bildirilmiştir (12).

Bir diğer çalışmada da, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* ve *H. influenzae* tip b meninjitlerinin BOS'nda LA ile saptanabilmesi için, BOS'nda bulunması gereken en az antijen miktarının, *N. meningitidis* ve *S. pneumoniae* için 0.75 ng/ml, *H. influenzae* tip b için 1.5 ng/ml olması gerekirken; CIE ile saptanabilmeleri için bulunması gereken en az antijen miktarının sırası ile 24.0 ng/ml, 24.0 ng/ml, 6.0 ng/ml olduğu bildirilmiştir (15).

Bu çalışmada LA ile *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* ve

Tablo 3. Gram, Kültür, LA ve EIA Bulgularının Etken Bakterilere Göre Karşılaştırılması

Etken	Gram		Kültür		LA		EIA	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>N. meningitidis</i>	30	5.4	27	5.0	39	7.0	37	6.7
<i>S. pneumoniae</i>	37	6.7	31	5.6	48	9.0	46	8.4
<i>H. influenzae</i> tip b	2	0.4	3	0.5	32	5.8	28	5.1
B grubu streptokok	0	0	1	0.2	4	0.7	*	*
<i>E. coli</i> K ₁	3	0.5	3	0.5	3	0.5	*	*

* : Denenmedi

H. influenzae tip b antijenleri serum, idrar ve BOS'nda araştırılmış ve en güvenilir sonuçların BOS'larından alındığı bildirilmiştir. BOS'nda *H. influenzae* tip b antijeninin % 92, *N. meningitidis* A ve Y antijenlerinin % 100, pnömokok antijenlerinin ise % 99 oranında saptandığı bildirilmiştir. Ancak *N. meningitidis* C'li hastalarda antijen saptama oranının % 36 gibi düşük bir değerde olduğu saptanmıştır. Bu araştırmacılar LA deneyi ile çok ender çapraz reaksiyonlara rastladıklarını, bunların da genelde idrar ve serum örnekleri ile çalışıldığında görüldüğünü, bu nonspesifik reaksiyonların kaynatma, soğutma ve santrifüjde çevirme gibi işlemlerle giderildiğini bildirmişlerdir (16,17).

LA yönteminin, özellikle *H. influenzae* tip b antijeninin BOS'ndan saptanmasında % 100 doğru sonuç veren bir deney olduğu ve CIE'den üstün olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (18). Bu çalışmalardan birinde *H. influenzae* tip b'nin poliribozil fosfat yapısındaki kapsül antijeninin BOS'nda CIE ile saptanabilmesi için en az 1 ng/ml olması gerekirken, LA ile antijenin saptanabilmesi için en az 0.5

ng/ml olması gerektiği bildirilmiştir (17).

Yapılan bir çalışmada *H. influenzae* tip b etkenli meninjitlerde bu bakterilerin antijenlerinin antibiyotik tedavisinden hemen hiç etkilenmediği, bu nedenle kültür ile negatif sonuç alınsa bile, antibiyotik tedavisinden sonraki birkaç gün boyunca olguların yaklaşık % 20'sinden LA ile pozitif sonuç alınabileceği gösterilmiştir (18).

Pnömokoksik meninjit olması muhtemel olguların % 87'sinden LA ile pozitif sonuç alındığı, ayrıca LA ile *S. pneumoniae* kapsül polisakaritlerinin

saptanmasının CIE'den 2-10 defa daha duyarlı olduğu gösterilmiştir. Pnömokok infeksiyonu olmayan hastalardan alınan 45 BOS örneğinin sadece birinden LA ile yanlış pozitif sonuç alındığı bildirilmiştir (19).

Bu çalışmada incelenen BOS'ların 31'inden *S. pneumoniae* izole edilmiş ve bu BOS'ların tümünde LA ile de antijen belirlenmiştir. Ayrıca kültürde üreme olmamasına karşın, 17 BOS'nda LA ile *S. pneumoniae* antijeni belirlenmiş ve LA duyarlı bir yöntem olarak değerlendirilmiştir.

B grubu streptokok infeksiyonlarının tanısında LA deneyinin duyarlılığını araştırmak için yapılan bir çalışmada, BOS, idrar ve serum örnekleri ile ayrı ayrı çalışılmış, sonuç olarak, idrarın en iyi antijen belirleyici materyel olduğu sonucuna varılmıştır. Çünkü bu çalışmada altı yenidoğanın hepsinde infeksiyonun ilk 12 saati içinde idrarda antijen saptanmış ve B grubu streptokok infeksiyonu olan 17 yenidoğanın idrarında infeksiyonun ilk 48 saati içinde % 88 oranında antijen belirlendiği gösterilmiştir. Ayrıca B grubu streptokok infeksiyonu bulunmamasına rağmen bu bakterilerle kontamine amniyotik sıvıyı yutmuş olan yenidoğanlarda idrar ile yanlış pozitif sonuç alınabileceği de bildirilmiştir (20-23).

Bir çalışmada B grubu streptokok meninjitli olan 15 hastanın BOS, serum ve idrar örneklerinde LA ile antijen aranmış, BOS'nda % 87, serumda % 50, idrarda % 100 pozitif sonuç alınmıştır. Ancak idrar örneklerinin % 9.5'inde yanlış pozitif sonuç alındığı bildirilmiştir ve LA'nun B grubu streptokok antijeni saptamadaki total özgüllüğünün % 98.7, buna karşın CIE'nin özgüllüğünün % 68.4 olduğu gösterilmiştir (24). B grubu streptokok infeksiyonu şüphesi olan 12 hastanın 12'sinde de LA ile BOS'nda antijen saptanmıştır. B grubu streptokok infeksiyonu şüpheli ve BOS'ları antibiyotik kullanımından 12 saat-26 gün sonra alınan 26 hastanın BOS kültürleri negatif sonuç verirken, LA ile 14'ünde, CIE ile ise 11'inde an-

Tablo 4. Pürülan Meninjit Etkenlerinin Yaş Gruplarına Göre Dağılımları

Etken Mikroorganizmalar	Yenidoğan (≤1 ay)		Çocuk 1 ay-15 yaş		Yetişkin (15≥ yaş)	
	n	%	n	%	n	%
<i>N. meningitidis</i>	2	2.5	23	29.1	14	27.0
<i>S. pneumoniae</i>	3	3.7	18	22.7	27	52.0
<i>H. influenzae</i> tip b	4	5.0	28	35.4	0	0
B grubu streptokok	3	3.7	1	1.2	0	0
<i>E. coli</i>	23	28.7	0	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i>	28	35.0	0	0	0	0
<i>S. typhimurium</i>	0	0	2	2.5	0	0
<i>A. calcoaceticus</i>	0	0	0	0	5	9.6
<i>M. phenylpyruvica</i>	0	0	0	0	3	5.7
<i>Enterobacter sp</i>	0	0	2	2.5	0	0
<i>S. aureus</i>	15	18.7	5	6.3	0	0
<i>S. epidermidis</i>	2	2.5	0	0	2	3.8
<i>M. tuberculosis</i>	0	0	0	0	1	1.9
Toplam	80	79	52			

tijen belirlenmiştir. Bu araştırmacılar sadece *S. pneumoniae* enfeksiyonlu bir BOS'nda yanlış pozitif sonuç aldıklarını bildirmişlerdir (21).

EIA yöntemi, fluoresan-antikör yönteminde olduğu gibi bir fluoresan mikroskoba gereksinim göstermemesi, RIA yönteminde kullanılması son derece riskli olan radyoizotop maddelerin kullanılması, CIE yöntemine göre daha az karmaşık olması ve 1985 yılından sonra daha da geliştirilerek BOS'nda antijen arama süresini 30 dakikaya indirmesinin yanı sıra, özgün ve duyarlı bir deney olması nedeni ile günümüzde önem kazanmıştır (25).

Özellikle BOS'nda *H. influenzae* tip b'nin araştırılması için geliştirilmiş olan EIA'nın çok duyarlı olduğu ve bu yöntem ile BOS'nda 1 ng/ml antijenin bile belirlenebileceği gösterilmiştir (26).

Kültür ile *H. influenzae* tip b meninjitisi olduğu doğrulanan 10 çocuğun dokuzunda EIA ile pozitif sonuç alınırken, LA ve CIE ile altısında pozitif sonuç alınmıştır. Önceden antibiyotik kullanan 15 hastanın BOS'nda üreme olmamasına karşın 11'inden EIA ile, dördünde LA ile, sadece üçünde CIE ile pozitif sonuç alınmıştır. EIA ile nonspesifik reaksiyon görülmediği bildirilirken, EIA ile BOS'nda, *H. influenzae* tip b antijeni için saptanabilen en az miktarın 0.1 ng/ml olduğu ve buna göre LA'na oranla beş kat daha duyarlı bulunduğu bildirilmiştir (27,28).

Bir çalışmada *H. influenzae* tip b'nin kapsül maddesi olan poliribozil fosfatın EIA ile saptanabilmesi için BOS'nda en az 0.3 ng/ml, idrarda 0.6 ng/ml, serumda ise 1.2 ng/ml miktarda bulunması gerektiği, buna karşılık LA ile antijenin saptanabilmesi için BOS'nda en az 0.6 ng/ml, idrarda 0.3 ng/ml, serumda 0.3 ng/ml miktarda antijenin bulunması gerektiği bildirilmiştir (25). Bu araştırmacılar, *H. influenzae* tip b meninjitisi olduğu kültürle doğrulanan 25 hastada EIA ve LA deneylerini karşılaştırmalı olarak uygulamışlardır. Klinik bulguları *H. influenzae* tip b enfeksiyonu ile uygunluk göstermeyen, ancak LA ile pozitif sonuç alınan yedi hastadan sadece birinde EIA ile pozitif sonuç alınmıştır. Ayrıca *S. pneumoniae* enfeksiyonu olan iki, *N. meningitidis* C, *E. coli* K₁ ve *S. aureus* enfeksiyonu bakteriyolojik olarak belirlenen beş hastada, LA ile yanlış pozitif sonuçlar alınmış, bunlardan sadece *E. coli* K₁ ve *S. aureus* ile infekte olan hastalarda EIA ile de yanlış pozitif sonuç alındığı bildirilmiştir (25).

Birçok araştırmacı EIA'nın pnömokoksik meninjitin tanısında CIE ile RIA'ya göre daha duyarlı bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir. *S. pneumoniae* ile infekte edilen deney hayvanlarından 16 saat sonra alınan BOS'ların % 100'ünde EIA ile pnömokok antijeninin saptandığını bildirmişler ve CIE'den 25 kat daha duyarlı olduğunu savunmuşlardır. Ayrıca özellikle pnömokok meninjitisi olup, antibiyotik tedavisine başlanan hastalarda CIE ile negatif sonuç alınmasına karşılık, EIA ile pozitif sonuç alındığını göstermişlerdir (29-31).

EIA ile vücut sıvılarında antijen aranmasına yönelik çalışmalar 1980'li yıllardan sonra başlamış, 1982'de EIA ile antijen arama süresini 30 dakikaya indiren ticari kitler geliştirilmiştir. Bu nedenle EIA ile BOS'ndan antijen aranması konusunda yapılan çalışmalar azdır. Ancak CIE ve RIA'dan daha duyarlı ve daha az miktardaki antijeni saptayabilmesi bakımından üstün olduğu gösterilmiştir. Ayrıca LA ile EIA'nın genelde paralel sonuçlar verdiği, ancak LA ile alınması olası yalancı pozitif sonuçlara EIA ile daha nadir olarak rastlandığı saptanmıştır (1,3).

Bu çalışmada da LA ile EIA'nın oldukça paralel sonuçlar verdiği gözlenmiştir. LA ile *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* ve *H. influenzae* tip b için 119 BOS'nda pozitif sonuç alınırken, EIA ile 111 BOS'nda antijen belirlenmiştir. Yani LA ile

pozitif, EIA ile negatif sekiz olgu bulunmuştur. LA deneyi rutin olarak gelen tüm BOS'larına hemen uygulanırken, EIA için BOS örnekleri -20°C'de muhafaza edilmektedir ve bu durum, dondurulup çözülen BOS'larda bir miktar antijen yıkımı olabileceği ve bu nedenle yanlış negatif sonuç alındığı şeklinde yorumlanmıştır (32).

Kaynaklar

1. Markis FJ. Central nervous system specimens. In: Dalton HP, Nottebart HC, eds. *Interpretive Medical Microbiology*. London: Churchill Livingstone, 1986: 189.
2. Roberts RB. *Infectious Diseases: Pathogenesis Diagnosis and Therapy*. London: Year Book, 1986: 42.
3. Wood M, Anderson M. *Neurological Infections*. London: WB Saunders, 1988: 49-117.
4. Young LS, La Force FM, Head JJ, Feeley JC, Bennet JV. A simultaneous outbreak of meningococcal and influenzae infections. *N Engl J Med* 1972; 287: 5.
5. Boyd RF. *General Microbiology*. St Louis: Times Mirror/ Mosby, 1984.
6. Evans AS, Feldman HA. *Bacterial Infections of Humans: Epidemiology and Control*. New York: Plenum, 1982.
7. Voller A, Bidewell D. Enzyme-linked immunosorbent assay. In: Rose NR, Friedman H, Fahey JL, eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. Washington DC: American Society for Microbiology, 1986: 99.
8. Yolken RH. Enzyme immunoassay for the detection of infectious antigen in body fluids, current imitations and future prospects. *Rev Infect Dis* 1982; 4: 35.
9. Davis SD, del Rio M de los A, Chrane D, Shelton S, McCracken GH, Nelson JD. Ceftriaxone versus ampicillin and chloramphenicol for treatment of bacterial meningitis in children. *Lancet* 1983; i: 1241.
10. Sheldon L, Kaplan MD. Antigen detection in cerebrospinal fluid pros and cons. *Am J Med* 1983; 28: 109.
11. Burans JP, Tayeb M, Ebu-Elyazeed R, Woody JN. Comparison of latex agglutination with established bacteriological tests for diagnosis of cerebrospinal meningitis. *Lancet* 1989; ii: 158.
12. Tilton RC, Dias F, Rayan RW. Comparative evaluation of three commercial products and, counterimmunoelectrophoresis for the detection of antigens in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 1984; 20: 231.
13. Mueller PD, Donal PR, Burger PJ, Wan Horst W. Detection of bacterial antigens in cerebrospinal fluid by latex agglutination test in "septic unknown" meningitis and serogroup B meningococcal meningitis. *S Afr Med J* 1989; 76: 214.
14. White HC, Tugwell P, Egler LS, Greenwood PH. Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. *Lancet* 1974; ii: 619.
15. Scheifele DW, Ward JJ, Siber GR. Advantage of latex agglutination over countercurrent immunoelectrophoresis in the detection of Haemophilus influenzae type b antigen in serum. *Pediatrics* 1981; 68: 888.
16. Ingram DL, Pearson WA, Occhiuti RA. Detection of bacterial antigens in body fluids with the Wellcogen Haemophilus influenzae b, Streptococcus pneumoniae and Neisseria meningitidis (A,C,Y,W135) latex agglutination tests. *J Clin Microbiol* 1983; 18: 1119.
17. Daum RS, Siber GR, Kamon JS, Russel RR. Evaluation of a commercial latex particle agglutination test for rapid diagnosis of Haemophilus influenzae type b infection. *Pediatrics* 1982; 69: 466.
18. Ward JJ, Siber GR, Scheifele DW, Smith DM. Rapid diagnosis of Haemophilus influenzae type b infections b latex particle agglutination and counter-immunoelectrophoresis. *J Pediatr* 1978; 93: 37.
19. Coonrod JD, Rylko-Bauer B. Latex agglutination in the diagnosis of pneumococcal disease. *Ped Infect Dis* 1984; 3: 417.
20. Bromberger PI, Chadler B, Gezon H, Haddow JE. Rapid detection

- of group B streptococcal infections by latex agglutination. *J Pediatr* 1980; 96: 104.
21. Edwards MS, Kasper DL, Baker CJ. Rapid diagnosis of type III group B streptococcal meningitis by latex particle agglutination. *J Pediatr* 1979; 95: 202.
 22. Fischer GW, Lowell GH, Crumrine MH, Wilson JR. Immunoprecipitation and opsonic cross-reaction between type-14 pneumococcus and group B streptococcus type III. *Lancet* 1979; i: 75.
 23. Ingram DL, Suggs DM, Pearson AW. Detection of group B streptococcal antigen in early-onset and late-onset group B streptococcal disease with the Wellcogen strep B latex agglutination test. *J Clin Microbiol* 1982; 16: 656.
 24. Rench MA, Teresa G, Baker CJ. Detection of group B streptococcal antigen in body fluids by a latex couplet monoclonal antibody assay. *J Clin Microbiol* 1984; 20: 852.
 25. Macone AB, Arakere G, Letourneau JM, Goldman DA. Comparison of a new, Rapid Enzyme-Linked Immunosorbent Assay with latex particle agglutination for the detection of Haemophilus influenzae type b infections. *J Clin Microbiol* 1985; 21: 711.
 26. Crosson FJ, Winkelstein JM, Moxon ER. Enzyme linked immunosorbent assay for the quantitation of capsular antigen of Haemophilus influenzae type b. *Infect Immun* 1978; 22: 617.
 27. Drow DL, Maki DG, Hannig DD. Indirect sandwich enzyme linked immunosorbent assay for rapid detection of Haemophilus influenzae type b infection. *J Clin Microbiol* 1979; 10: 442.
 28. Pepple J, Moxon ER, Yolken RH. Indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitation of the type specific antigen of Haemophilus influenzae b: Preliminary report. *J Pediatr* 1980; 97: 233.
 29. Harding SA, Scheld WH, McCowan MD, Sande MA. Enzyme linked immunosorbent assay for detection of S. pneumoniae antigen. *J Clin Microbiol* 1979; 10: 339.
 30. Lampe RM, Chottipatayasunnodh T, Sunakorn P. Detection of bacterial antigen in pleural fluid by counter immunoelectrophoresis. *J Pediatr* 1976; 88: 557.
 31. Miller J, Sande MA, Gwaltney JM, Hendley JO. Diagnosis of pneumococcal pneumoniae by antigen detection in sputum. *J Clin Microbiol* 1978; 7: 459.
 32. Sippel JE, Hider PA, Conroni G et al. Use for the directigen latex agglutination test for detection of Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae and Neisseria meningitidis antigens in cerebrospinal fluid from meningitidis patients. *J Clin Microbiol* 1984; 20: 884.