

LATEKS AGLÜTİNASYON TESTİ VASITASIYLA BAKTERİEL MENENJİTLERİN ERKEN ETİOLOJİK TEŞHİSİ*

Latex Agglutination: Rapid Etiologic Diagnosis of Bacterial Meningitis

Dr. İbrahim ERKUL¹
Dr. Mehmet GÖDENELİ²
Dr. Sevim KARAASLAN³
Dr. Ümran ÇALIŞKAN³
Dr. Dursun ODABAŞ³

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Kliniğine menenjit nedeniyle yatırılan 44 hastaya etiolojik teşhis için Wellcogen lateks aglütinasyon testi uygulanarak sonuçların beyin - omirilik sıvısı kültür sonuçlarıyla karşılaştırılması yapılmıştır. Lateks aglütinasyon ve kültür birlikte kullanıldığında tek başına kültür kullanılmasına oranla daha yüksek oranda sonuç vermiştir. Ancak lateks aglütinasyon ile kültür sonuçları karşılaştırıldığında literatürde de olduğu gibi arada istatistiki bir fark bulunmamıştır. Kullandığımız kitler arasında B grubu N. meningitidis kitinin bulunmamasının bu sonuçtan sorumlu olduğu ve ülkemiz gibi antibiotiklerin gelişigüzel kullanıldığı yerlerde lateks aglütinasyon testinin kültüre oranla daha anlamlı sonuç vereceği düşünülmüştür.

The cerebrospinal fluids of 44 patients with meningitis were examined by Wellcogen latex agglutination test and the results were compared with culture. When latex agglutination and culture were used together in order to identify the infectious agent, the detection rate was found statistically more significant than using the culture alone. As cited in literature latex agglutination had no statistically superiority compared to culture. The absence of N. meningitidis group B kit among the Wellcogen latex agglutination kits was thought to be responsible from

(*) Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çalışmalarından.

- (1) S. Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Başk. Doç.
- (2) S. Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Arş. Gör.
- (3) S. Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Yrd. Doç.

this result. In countries where antibiotics are used at random we suggest that latex agglutination test is superior than culture to detect the agent.

Menenjitlere bağlı ölümlerin büyük çoğunluğu ilk 24 saatte olmaktadır. Meningokoklara bağlı menenjitlerde ölümlerin %84'ü, pnömokoklarda %66'sı, Hemofilus influenza'da %72'si ilk 24 saat içinde olur (7). Bu nedenle erken teşhis ve tedavi yaşam kurtarıcıdır. İnfeksiyon etkeninin doğru bir şekilde süratli teşhisi uygun antimikrobik tedavinin erken uygulanmasını sağlar. Tedavi yetersiz ve geç başlamışsa yaşayanlarda entellektüel gerilik, uyum ve davranış bozuklukları, körlük, sağırılık, paralizi, epilepsi gibi çok değişik olabilen çeşitli nörolojik sekeller görülür (4 8).

Gram boyama ve kültür etkenin teşhisinde kullanılan klasik metodlardır. Gram boyamada sonuç süratle alınabilir, fakat mikroorganizmaların yaymada görülebilmesi için ml. de 10^5 cfu (koloni oluşturan unit) olması gereklidir (5). Esas etiyolojik teşhis kültür ile mümkündür, ancak sonucu elde etmek için en az 18 saat beklemek gibi bir dezavantajı vardır (3, 11), üstelik daha önce antibiyotik kullanılmışsa üreme olmayabilir (6, 13).

Son yıllarda bakteriyel menenjit nedenini en kısa sürede tesbit etmek için çeşitli metodlar geliştirilmiştir. Bu metodlar beyin - omurilik sıvısında (BOS) bulunan spesifik bakteriyel antijenlerin tesbiti esasına dayanmakta olup BOS kültür sonuçları çıkmadan önce spesifik tanının konmasını sağlamaktadır. Antibiyotik kullanımından dolayı kültürün negatif olduğu vakalarda da etkeni tesbit edebilmektedir (6, 9). Robert Bortolussi ve arkadaşları yeterli tedaviyi izleyen 48 saat içinde bakteriyel antijen konsantrasyonunun düştüğünü, ancak altıncı güne kadar devam ettiğini göstermiştir (1).

Bakteriyel menenjitin akut özelliği, hastaları daha iyi tedavi etme arzusu bu immunolojik tekniklere ilgiyi artırmıştır. Biz de bu nedenlerle menenjit tanısı konulan 44 hastada etiyolojik teşhis için Wellcogen lateks aglütinasyon kitlerini kullandık ve sonuçları BOS kültür sonuçları ile karşılaştırdık.

MATERYAL VE METOD

15.11.1985 - 25.10.1986 tarihleri arasında S. Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Kliniğine müracaat eden hastalar arasında anemnez ve fizik muayene neticesi menenjit düşünülen 44 hastaya lomber ponksiyon uygulandı. Alınan BOS'ların hepsine rutin incelemeler yapıldı. Biokimyasal analizler fakültemiz biokimya laboratuvarında, mikrobiyolojik araştırmalar ise mikrobiyoloji laboratuvarında ya-

pılmıştır. BOS örnekleri %5 koyun kanlı agar, Mac Conkey, Brain-heart, Löwenstein Jensen basiyerlerine ekilmiştir. Aynı BOS'lara mikrobiyoloji sonuçları bilinmeden Wellcogen ZL 20 (B grubu streptokok), ZL 21 (Hemofilus influenza tip b), ZL 22 (Streptococcus pneumoniae) ve ZL 23 (Neisseria meningitidis A, C, Y, W 135) menenjit kitleri ile lateks aglütinasyon testleri uygulandı.

Testin esası bakteriyel antijenlere karşı antikorlarla kaplı polistyren lateks partikülleri içeren Wellcogen miyarlarının antijen varlığında aglütinasyon göstermeleridir (12). Test materyali test lateks suspansiyonları, kontrol lateks suspansiyonları ve pozitif kontrol antijeninden ibarettir.

Testin yapılışı: BOS kaynar su banyosunda beş dakika süreyle ısıtıldı, oda ısısında soğutuldu, santrifüj edildi. Lateks miyarları çalkalandı. Her test örneği için reaksiyon kartı üzerindeki dairelerden birinin içine otomatik pipetle 25 mikrolitre test lateks, diğerine ise 25 mikrolitre kontrol lateks kondu. Damlalık BOS'dan bir damla (yaklaşık 40 mikrolitre) alınarak test ve kontrol lateks damlasının yanına damlatıldı. Gecikmeksizin ayrı ayrı karıştırıcı çubuklar kullanılarak BOS'larla lateks miyarları karıştırıldı. Kart yavaşça sallanarak 3 dakikada meydana gelen aglütinasyon gözlemlendi. Kontrol latekste aglütinasyon olmaksızın test latekste belirgin aglütinasyon BOS'ta bakteri antijeninin olduğunu gösterir. Hem test latekste, hem de kontrol latekste aglütinasyon olmaması BOS'ta tayin edilebilecek düzeyde bakteri antijeninin olmadığını gösterir. Test lateksten başka kontrol latekste de aglütinasyon olması nonspesifik reaksiyona işaret eder. Çoğu kez bu nonspesifik reaksiyonlar BOS'un ısıtılması ile ortadan kalkar.

Araştırmanın sonunda anemnez, fizik muayene, PPD, akciğerin radyolojik incelenmesi, BOS mikroskopisi, biokimyasal tetkikler, kültür ve lateks aglütinasyon testlerine dayanarak vakalarımız aseptik menenjit, tüberküloz menenjit ve akut bakteriyel menenjit olarak üç grupta incelenmiştir.

BULGULAR

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Kliniğine 15.11.1985 - 25.10.1986 tarihleri arasında muhtelif nedenlerle yatırılan 1100 vakadan 44'ünü menenjitli vakalar teşkil etmiş, tablo 1'de menenjit vakalarının dağılımı gösterilmiştir. Menenjitlerin en kalabalık tipini %81.82 oran ile akut bakteriyel menenjitler teşkil etmiştir.

Tablo : 1 - 44 vakada tesbit edilen menenjit tipleri.

| Tipi | Vaka sayısı | % |
|--------------------------|-------------|----------|
| Aseptik menenjit | 4 | (9.09) |
| Tüberküloz menenjit | 4 | (9.09) |
| Akut bakteriyel menenjit | 36 | (81.82) |
| Toplam | 44 | (100.00) |

Tablo 2'de akut bakteriyel menenjitlerin hastaneye yatırılan vakaların %3.27'sini teşkil ettiği görülmektedir. Aynı tabloda akut bakteriyel menenjit vakalarının cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde kız ve erkek vakalar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($P > 0.05$).

Tablo : 2 - Akut bakteriyel menenjitli vakaların cinsiyete göre dağılımı.

| | Kız | Erkek | Toplam |
|---|--------------|--------------|----------------|
| Akut bakteriyel menenjit dışı nedenlerle hastaneye yatanlar | 482 (%45.30) | 582 (%54.70) | 1064 (% 96.73) |
| Akut bakteriyel menenjit dolayısıyla yatanlar | 18 (%50.00) | 18 (%50.00) | 36 (% 3.27) |
| Toplam | 500 (%45.46) | 600 (%54.54) | 1100 (%100.00) |

Tablo 3'de akut bakteriyel menenjit vakalarının yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde 4 yaş ve altı yaş grubunda, 5 yaş ve üstü yaş grubuna göre akut bakteriyel menenjik görülme sıklığı istatistiksel yönden anlamlı bulunmuştur ($P < 0.01$).

Tablo : 3 - Akut bakteriyel menenjitli vakaların yaş gruplarına göre dağılımı

| Yaş grubu | Akut bakteriyel menenjitli olanlar | Akut bakteriyel menenjit dışında hastalığı olanlar | Toplam |
|---------------|------------------------------------|--|----------------|
| 4 yaş ve altı | 28 (%4.67) | 572 (%95.33) | 600 (% 54.54) |
| 5 yaş ve üstü | 8 (%1.60) | 492 (%98.40) | 500 (% 45.46) |
| Toplam | 36 (%3.27) | 1064 (%96.73) | 1100 (%100.00) |

Tablo 4'de akut bakteriyel menenjitli vakalarda BOS kültür sonuçları incelendiğinde %41.70 oranında kültürle etkenin tesbit edilemediği, geri kalanlarında tesbit edilebildiği görülmektedir.

Tablo : 4 - Akut bakteriyel menenjitli vakalarda BOS kültür sonuçları

| Etken | Vaka sayısı | % |
|----------------------------|-------------|-----------------|
| Meningokok | 14 | (38.88) |
| Pnomokok | 4 | (11.11) |
| Proteus | 1 | (2.77) |
| Pseudomonas | 1 | (2.77) |
| E. coli | 1 | (2.77) |
| Etken tesbit edilemeyenler | 15 | (41.70) |
| Toplam | 36 | (100.00) |

Tablo 5'de akut bakteriyel menenjitli vakalarda BOS lateks aglütinasyon sonuçları incelendiğinde lateks aglütinasyon testinin kültürden ayrı olarak 4 meningokok, 1 pnomokok ve 3 H. influenza tip b daha tesbit etmiş olduğu görülmektedir.

Tablo : 5 - Akut bakteriyel menenjitli vakalarda BOS lateks aglütinasyon sonuçları

| Etken | Vaka sayısı | % |
|--------------------|-------------|-----------------|
| Meningokok | 18 | (69.24) |
| Pnomokok | 5 | (19.23) |
| H. influenza tip b | 3 | (11.53) |
| Toplam | 26 | (100.00) |

Tablo 6'da lateks aglütinasyon testi pozitif 26 bakteriyel menenjitli vakadaki kültür sonuçları karşılaştırıldığında %57.70'inde kültür pozitif, %42.30'unda ise kültür negatif bulunmuştur. Kültürle etkenin tesbit edilemediği vakaların büyük bir kısmını evvelce antibiyotik alan hastalar teşkil etmiştir.

Tablo : 6 - Lateks aglütinasyon (+) vakalarda kültür sonuçları

| Etken | Lateks aglütinasyon (+) vakalarda | Kültür (+) olanlar | Kültür (—) olanlar |
|--------------------|-----------------------------------|--------------------|--------------------|
| Meningokok | 18 (%100.00) | 11 (%61.12) | 7 (% 38.33) |
| Pnomokok | 5 (%100.00) | 4 (%80.00) | 1 (% 20.00) |
| H. influenza tip b | 3 (%100.00) | — | 3 (%100.00) |
| Toplam | 26 (%100.00) | 15 (%57.70) | 11 (% 42.30) |

Tabla 7'de kültür pozitif olan vakalardan sadece Wellcogen menenjit kiti bulunan mikroorganizma cinsleri ile her iki metodla elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Bunun sonucunda kültürün lateks aglütinasyonun tesbit edemediği 3 meningokok vakasını tesbit ettiği görülmektedir.

Tablo : 7 - Wellcogen menenjit kitinde test lateksi bulunan kültür (+) vakalarda lateks aglütinasyon sonuçları

| Etken | Kültür (+) vakalarda | Lateks aglütinasyon (+) olanlar | Lateks aklütinasyon (—) olanlar |
|------------|----------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Meningokok | 14 (%100.00) | 11 (%78.58) | 3 (%21.42) |
| Pnomokok | 4 (%100.00) | 4 (%100.00) | — |
| Toplam | 18 (%100.00) | 15 (%83.34) | 3 (%16.66) |

Tablo 8'de lateks aglütinasyon ve kültür sonuçları karşılaştırıldığında kültür ve lateks aglütinasyon testleri birlikte kullanıldığında 21 meningokok, 5 pnomokok, 3 H. influenza tip b olmak üzere toplam 29 vaka da etiyolojik teşhisin sağlandığı görülmektedir.

Tablo : 8 - Lateks aglütinasyon ve kültür sonuçlarının karşılaştırılması.

| Etken | Kültür (+) LA (+) olanlar | Kültür (+) LA(—) olanlar | Kültür (—) LA (+) olanlar | Toplam |
|--------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------|
| Meningokok | 11 (%53.38) | 3 (%14.28) | 7 (% 32.34) | 21 (%100.00) |
| Pnomokok | 4 (%80.00) | — | 1 (% 20.00) | 5 (%100.00) |
| H. influenza tip b | — | — | 3 (%100.00) | 3 (%100.00) |
| Toplam | 15 (%51.72) | 3 (%10.34) | 11 (% 37.94) | 29 (%100.00) |

LA : Lateks aglütinasyon

Tablo 9 akut bakteriyel menenjitin etiyolojik teşhisinde sadece kültür, sadece lateks aglütinasyonu veya lateks ve kültürün birlikte kullanılma durumlarına göre olan sonuçları göstermektedir. Yapılan X^2 testleri sonucunda akut bakteriyel menenjitin etiyolojik teşhisinde kültür ve lateks aglütinasyonun birlikte kullanılmasının tek başına kültür kullanımına göre istatistiksel olarak daha iyi sonuç verdiği tesbit edilmiştir. ($P < 0.01$). Kültür ve lateks aglütinasyonun birlikte kullanılması sadece lateks aglütinasyonu kullanımına göre istatistiki bir farklılık göstermemiştir ($P > 0.05$). Lateks aglütinasyonunun istatistiksel yönden kültüre bir üstünlüğü bulunamamıştır ($P > 0.05$).

Tablo : 9 - Akut bakteriyel menenjitin etiyolojik teşhisinde kültür ve lateks aglütinasyon kullanılma durumuna göre sonuçlar.

| | Sadece kültür kullanılsaydı | Sadece LA ¹ kullanılsaydı | Kültür ve LA birlikte kullanılsaydı |
|--|-----------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| Etken tesbit ² edilen vaka sayısı | 18 | 26 | 29 |
| Etken tesbit edilemeyen vaka sayısı | 15 | 7 | 4 |

1. LA : Lateks aglütinasyon
2. Kültürde proteus, pseudomonas, E. coli üreyen vakalar Wellcogen menenjit kitimizde spesifik lateks suspansiyonları olmadığından tabloya dahil edilmemiştir.

TARTIŞMA

Yaptığımız çalışmada 44 menenjit vakasının 4'ünde aseptik menenjit tanısı konulmuştur. Bu vakaların hiçbirinde virüs izolasyonu yapılmamakla birlikte BOS bulgularının aseptik menenjite uyması, klinik olarak 3'ünde parotis lojunda şişlik (kabakulak), birinde viral deri döküntüsünün tesbit edilmesiyle aseptik menenjit oldukları düşünülmüştür. Ayrıca lateks aglütinasyon testleri de bu vakalarda negatif bulunmuştur. 4 tüberküloz menenjitli vakada tanı BOS biokimyasal, hücre analizleri, akciğer filmleri, PPD, aile anemnezi ve klinik bulgulara dayanılarak konulmuştur. Bu vakalarda da lateks aglütinasyon testleri negatif bulunmuştur. 36 bakteriyel menenjit vakasının 32'sinde etiyolojik teşhis sağlanırken 4 vakada teşhis BOS biokimya ve hücre analizlerine dayanılarak konulmuştur.

Hastanemize başvuran 1100 vakada akut bakteriyel menenjit oranı %3.27 olarak tesbit edilmiştir. Akut bakteriyel menenjitli vakaların cinse göre dağılımı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0.05$). Yenidoğanda etken ne olursa olsun erkek çocuklarda daha sık görülmektedir. Neden olarak erkek bebeklerin doğum ağırlıklarının daha fazla olmasının doğumda daha çok travmaya yol açabilmesi gösterilmektedir (7). Hastalarımızın yaşı 2 ay ile 12 yaş arasında değişmekte olup yenidoğan bebek bulunmadığından kız - erkek bebek arasında istatistiki bir fark bulunmamıştır.

Akut bakteriyel menenjit küçük yaşlardaki çocuklarda daha sık görülmektedir. Çalışmamızda 4 yaş ve altı yaş grubunda akut bakteriyel menenjit 5 yaş ve üstü grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla rastlanmıştır ($P < 0.01$). Bunun en önemli nedenlerinden biri immun globulinlerin bebeklerde düşük bulunmasıdır (10).

Literatürde de olduğu gibi bizde de lateks aglütinasyon testi kültürden daha fazla oranda pozitif bulunmuştur (2). Ancak etiyolojik teşhiste tek başına lateks aglütinasyon, tek başına kültüre istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0.05$). Çalışmamızda tek başına kültür veya tek başına lateks aglütinasyonu yerine kültür ve lateks aglütinasyonun birlikte kullanılması istatistiki olarak daha anlamlı bir şekilde etkin bulunmuştur ($P < 0.01$). Karşılaştırmayı yaptığımız 3 N. meningitidis vaka-sının tiplendirmesi yapılmamış olmakla birlikte N. meningitidis A, C, Y, W 135 lateks aglütinasyonu kitinde bulunmayan, ancak bütün N. meningitidis'ler için uygun besiyeri kullanılmış olması dolayısıyla kültürde üreyen B grubu N. meningitidis olması belki de lateks aglütinasyonun tek başına kültürden istatistiksel olarak anlamlı bir pozitiflik göstermesine engel olmuştur, diye düşünmekteyiz. Dış literatürde istatistik olarak lateks aglütinasyon ve kültürün karşılaştırılmasında lateks aglütinasyon pozitifliğinin kültüre istatistiksel bir üstünlük göstermemesi bu vakaların çoğunda daha önceden antibiyotik kullanılmamasından kaynaklanmıştır (6), onlarda da antibiyotik kullanan vakalarda kültür negatif bulunmasına rağmen lateks aglütinasyon pozitif bulunmuştur (9). Bizde kültürün negatif lateks aglütinasyonun pozitif olduğu vakaların çoğunda hastaların daha önce antibiyotik kullanmış olmaları nedeniyle ülkemiz gibi kendiliklerinden veya hekim tavsiyesi ile gereksiz antibiyotik kullanımının yaygın olduğu hastaneye geç getirilen iyi tedavi edilmemiş menenjit vakalarında lateks aglütinasyon testinin kültüre daha avantajlı olduğunu düşünmekteyiz.

SONUÇ

Erken etiyolojik teşhisi sağlaması, basit olması dolayısıyla lateks aglütinasyon testinin kullanılması çok avantajlıdır. Ancak antibiyogram yapılamaması testin bir dezavantajını teşkil eder. Bunun için hastane şartları olan yerlerde kültür ve lateks aglütinasyon testinin birlikte kullanılması gerektiği, ancak kültür yapılamayan ve hekimin merkezle ilişkisinin kesildiği durumlarda lateks aglütinasyon testinin kültüre bir alternatif olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Bortolussi, R., Wort, A. J. et al. : *The latex agglutination test versus counterimmuno-electrophoresis for rapid diagnosis of bacterial meningitis. CMA J 127: 489 - 493, Sep 15, 1982.*
2. Denis, E., Prince - David, M. et al. : *Latex agglutination test and counterimmuno-electrophoresis in the diagnosis of Haemophilus influenzae meningitis. Pathol Biol 31 (2): 97 - 101, Feb 1983.*
3. Dirks - Go, S. I. S., Zanen, H. C. : *Latex agglutination, counterimmuno-electrophoresis, and protein A co-agglutination in diagnosis of bacterial meningitis. J Clin Path 31: 1167 - 1171, 1978.*
4. Feigin, R. D. : *Acute bacterial meningitis beyond the neonatal period. Nelson Textbook of Pediatrics, 12th edition, Igaku-Shoin/Saunders, Tokyo, 1983, p. 619 - 624.*
5. Hamoudi, A. C. : *Rapid diagnostic techniques for bacterial meningitis. Am J Med Technol 48 (10): 813 - 819, Oct 1982.*
6. Kaldor, J., Asznovicz, R., et al. : *Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections, with special reference to patients with meningitis and septicemia. AJCP: 284 - 289, Aug. 1977.*
7. Kanra, G. : *Bakteriyel menenjit sorunu. Katkı 5 (3): 258 - 288, Mart 1984.*
8. Krugman, S., Katz, S. L. et al. : *Acute bacterial meningitis. Infectious Diseases of Children, 8th edition, the C.V. Mosby Company, St. Louis, 1985, p. 174 - 179.*
9. Severin, W. P. J. : *Latex agglutination in the diagnosis of meningococcal meningitidis. J Clin Path 25: 1079 - 1082, 1972.*

10. Slobody, L. B., Wasserman, E. : *The normal newborn infant. Survey of Clinical Pediatrics*, 5th edition, Kogakusha Company Ltd., Tokyo, 1968, p. 145 - 155.
11. Tilton, R. C., Dias, F. et al : *Comparative evaluation of three commercial products and counterimmunoelectrophoresis for the detection of antigens in cerebrospinal fluid. J. Clin Microbiol: 231 - 234, Aug 1984.*
12. Wellcome diagnostics : *Latex test to detect Streptococcus group B, H. influenzae type b, S. pneumoniae and N. meningitis groups A, C, Y, and W 135 antigens. Wellcogen Meningitis Kit ZL 25: 1 - 9, Feb 1985.*
13. Whittle, H. C., Tugwell, P. et al. : *Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet: 619 - 621, Sep 1974.*