



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YENİDOĞAN DIŞI MENENJİT ŞÜPHELİ HASTALARDA
BAKTERİYEL MENENJİT ETKENLERİNİN KLASİK VE
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

Dr. Mehmet YARPUZLU

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gönül ASLAN

MERSİN-2013



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YENİDOĞAN DIŞI MENENJİT ŞÜPHELİ HASTALARDA
BAKTERİYEL MENENJİT ETKENLERİNİN KLASİK VE
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

Dr. Mehmet YARPUZLU

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gönül ASLAN

Bu tez BAP-TF TTB (MY) 2010-4 TU kodlu proje olarak Mersin
Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
desteklenmiştir.

MERSİN-2013

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bana her konuda yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ'a ve başta tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gönül ASLAN olmak üzere değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Candan ÖZTÜRK, Sayın Prof. Dr. Nuran DELİALİOĞLU, Sayın Doç. Dr. Feza OTAĞ ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Seda TEZCAN'a eğitim ve öğretimime katkılarından dolayı teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim sırasında hep yanımda olan ve çalışmamda uygulanan moleküler yöntemlerle ilgili deneyimlerini benimle paylaşan hocam Yrd. Doç. Dr. Mahmut ÜLGER'e teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimimdeki rotasyonlarım sırasında eğitim ve öğretimime katkıları dolayısıyla Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Necdet KUYUCU'ya, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ali KAYA'ya, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gürbüz POLAT'a, Halk Sağlığı Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Resul BUĞDAYCI'ya teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Çalışmamın istatistiksel analizinin yapılmasında katkılarından dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Bahar TAŞDELEN'e teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim sırasında hep yanımda olan, destek ve katkılarını esirgemeyen tüm asistan arkadaşlarıma ve Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarı çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamımın her döneminde olduğu gibi uzmanlık eğitimim ve çalışmalarım sırasında hep yanımda olan canım babama, anneme, kardeşime ve sevgili eşim Melissa'ma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Mehmet YARPUZLU

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	6
1. GİRİŞ VE AMAÇ	7
2. GENEL BİLGİLER	9
2.1. Menenjit Tanımı	9
2.1.1. Akut Menenjit Sendromu	9
2.1.2. Subakut ve Kronik Menenjit Sendromu	10
2.2. Epidemiyoloji ve Etiyoloji	11
2.3. Menenjit Fizyopatolojisi ve Patogenezi	19
2.4. Bakteriyel Menenjit Etkenleri	21
2.4.1. <i>Haemophilus influenzae</i>	21
2.4.2. <i>Neisseria meningitidis</i>	22
2.4.3. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	24
2.5. Menenjitin Klinik Bulguları	27
2.6. Menenjit Tanısı	29
2.6.1. Bakteriyel Menenjit Tanısı	29
2.6.1.1. Lomber Ponksiyon	30
2.6.1.2. Hücre Sayımı	31
2.6.1.3. Gram Boyama	31
2.6.1.4. Biyokimyasal Analiz	32
2.6.1.5. Kültür	33
2.6.1.6. Lateks Aglütinasyon Testi	34
2.6.1.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	34
2.6.2. Tüberküloz Menenjit Tanısı	35
2.6.3. Aseptik Menenjit Tanısı	36
2.7. Ayırıcı Tanı	36
2.8. Prognoz	37
2.9. Menenjit Tedavisi	38
2.9.1. Ampirik Antibiyotik Seçimi	38
2.9.2. Kemoprofilaksi	42
2.10. Korunma ve Aşılama	43
2.10.1 <i>Haemophilus influenzae</i> Tip b Aşılıarı	43

2.10.2. Meningokok Aşıları	44
2.10.3. Pnömonokok Aşıları	46
3. GEREÇ ve YÖNTEM	49
3.1. Çalışma Grubu ve Örnekler	49
3.2 Kullanılan Cihazlar ve Gereçler	49
3.2.1. Kullanılan Cihazlar	49
3.2.2. Bakteriyolojik Tanı İçin Kullanılan Besiyerleri, Boyalar ve Kimyasallar	50
3.3 Yöntemler	52
3.3.1 Örneklerin Bakteriyolojik Kültürü ve Tür Tanımı	52
3.3.1.1. BOS Hücre Sayımı	52
3.3.1.2. BOS Gram Boyama	52
3.3.1.3. BOS Kültürü	53
3.3.1.4. Bakteri Tanımlaması	53
3.3.1.5. Antibiyotik Duyarlılık Testleri	54
3.3.1.6. Suşların Serotiplendirmesi	55
3.3.2. Lateks Aglütinasyon Testi	56
3.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	58
3.3.3.1. DNA Ekstraksiyonu	58
3.3.3.2. DNA Amplifikasyonu ve Strip Test Yöntemi	59
3.3.3.3. Repetitive Extragenic Palindromic Element (Rep)-PZR Diversilab Sistemi ile Moleküler Tiplendirme	64
3.3.3.4. Arbitrarily Primed Polimerase Chain Reaction (AP-PZR) Yöntemi	66
3.4 İstatistiksel Analiz	67
4. BULGULAR	68
5. TARTIŞMA	78
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	93
7. KAYNAKLAR	95
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	112
ŞEKİLLER ve RESİMLER DİZİNİ	113
TABLolar DİZİNİ	114

ÖZET

Menenjit, beyni çevreleyen meningeal zarların ve spinal kordun inflamasyonudur. Yenidoğan dışı akut bakteriyel menenjitte en sık neden olan etkenler *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* ve *Streptococcus pneumoniae*'dir. Çalışmamızda yenidoğan dışı menenjit şüpheli hastalara ait beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinde bu üç etkenin klasik ve moleküler yöntemler kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır. Toplam 137 BOS örneği çalışmaya dahil edildi. Hastaların 87'si (%63.5) erkek, 50'si (%36.5) kadın, yaş ortalamaları ise 18.4 olarak bulundu. Hedeflenen üç etken için çalışmada dört (%2.92) kültür pozitifliği, 17 (%12.40) LAT pozitifliği ve 18 (%13.14) PZR pozitifliği tespit edildi. Bu üç yöntem ile tanı alan hasta sayısı 19 (%13.86) olarak belirlendi. Kültürde üreyen üç *S. pneumoniae* suşunun serotipleri 6A/B, 23F ve 8 olarak bulunurken bir *H. influenzae* suşunun serotipi ise tip b olarak bulundu. Çalışmamızın sonucunda PZR'nin duyarlılığı %100, özgüllüğü %89.5, pozitif prediktif değeri %22.22 ve negatif prediktif değeri %100 olarak bulunurken, LAT'ın duyarlılığı %75, özgüllüğü %89.5, pozitif prediktif değeri %17.65 ve negatif prediktif değeri %99.17 olarak tespit edildi. Hedeflediğimiz üç etken dışında kültürde yedi (%5.10) koagülaz negatif stafilokok (KNS), dört (%2.92) *Serratia marcescens*, iki (%1.46) *Staphylococcus aureus*, iki (%1.46) *Acinetobacter baumannii*, iki (%1.46) *Pseudomonas aeruginosa* üredi. Sonuç olarak bakteriyel menenjit tanısında klasik kültür yöntemleri, bakteri izolasyonu ve antibiyotik duyarlılığının yapılması açısından vazgeçilmez bir yöntem olsa da bakteriyel menenjitin hızlı tanısında ve özellikle öncesinde antibiyotik kullanılan hastalarda moleküler yöntemlerin ve LAT'ın da kültürle beraber kullanılması bakteriyel menenjitin hızlı tanısında oldukça yararlı olacaktır.

Anahtar sözcükler: Bakteriyel menenjit, kültür, Lateks Aglütinasyon testi (LAT), Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

ABSTRACT

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

Meningitis is an inflammation of meningeal membranes surrounding the brain and spinal cord. The most common agents that cause of non-neonatal acute bacterial meningitis are *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae*. The aim of the present study was to determine the investigation of these three agents in CSF samples from suspicion of non-neonatal meningitis using conventional and molecular methods. A total of 137 CSF samples were included this study. Of the patients, 87 (63.5%) were male, 50 (36.5%) were female, and the mean of age was found as 18.4. In our study, for the intended three agents, there were detected four (2.92%) of culture positivity, 17 (12.40%) of LAT positivity and 18 (13.14%) of PCR positivity. The number of patients diagnosed with this three diagnostic method was found as 19 (13.86%). Of the cultivated three *S. pneumoniae* strain serotypes were found as 6A / B, 23F, and 8 respectively, while one *H. influenzae* strain serotype was found as type b. As a result of this study, PCR sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value was found as 100%, 89.5%, 22.22%, and 100%, respectively, while LAT sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value was determined as 75%, 89.5%, 17.65%, and 99.17%, respectively. Except of the targeted three agents, seven (5.10%) of coagulase-negative staphylococci (CNS), four (2.92%) of *Serratia marcescens*, two (1.46%) of *Staphylococcus aureus*, two (1.46%) of *Acinetobacter baumannii*, and two (1.46%) of *Pseudomonas aeruginosa* was isolated in culture. In conclusion, conventional culture methods are indispensable for the diagnosis of bacterial meningitis in terms of the isolation of bacteria and 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: Bacterial meningitis, culture, Latex Agglutination Test (LAT), Polymerase Chain Reaction (PCR)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Menenjit, pia ve araknoid boşukların inflamasyonudur¹. Özellikle etkili tedavi başlanmasının geciktiği hastalarda mortalite ve morbiditenin yüksek olduğu düşünülürse, erken tanı diğer enfeksiyonlardan çok daha önemlidir. Çok farklı etkenler leptomeningeal enflamasyona neden olabilmekle birlikte gerek morbiditesi gerekse mortalitesi nedeni ile ilk dikkate gelmesi gereken etkenler bakterilerdir. Pürülan menenjit vakalarının büyük kısmından üç bakteri sorumludur: *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Neisseria meningitidis*². Bakteriyel menenjit etkenleri coğrafik bölge ve yaşa göre değişebilmektedir¹.

Bakteriyel menenjitin fizyopatolojisi nazofarinks kolonizasyonu sonrası kana yayılım ardından da meninklere geçiş şeklinde olmaktadır. Bu bakterilerin kapsüler polisakkarit yapıları, inflamatuvar süreçte oldukça güçlü bir sinyaldir ve meninks gibi duyarlı dokulara adhezyon ve kolonizasyonda çok önemlidir³.

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 gözlenebilmektedir⁴. Klasik meningeal irritasyon bulguları ense sertliği, Kernig ve Brudzinski fenomenleridir. Bakteriyel menenjitte gözlenen en sık bulgu ateştir. Özellikle ateş hikayesi varlığında peteşiyel, purpurik döküntüleri olan hastalarda ilk düşünülmesi gereken tanı akut bakteriyel menenjittir⁵.

Bakteriyel menenjit tanısında lomber ponksiyon sonrası alınan BOS örneğinin incelenmesi etkenin tür tanımı ve antibiyotik duyarlılığı için mutlaka gereklidir¹. Total BOS hücre sayımı ve hücre tipi diğer analizlerden elde edilen veriler ile birlikte yorumlandığında akut inflamasyonun tipi (viral, bakteriyel) ve ayırıcı tanı için bilgiler vermektedir⁶. Bakteriyel menenjitte Gram boyamanın duyarlılığı %50-90 arasında değişmekle birlikte kültürün yapılamadığı durumlarda erken tedavi için oldukça faydalıdır⁷. Öncesinde antibiyotik kullanılmış hastalarda Gram boyamanın duyarlılığı %20'lere kadar düşmektedir⁸. Bakteriyel menenjit tanısında etkenin antibiyotik duyarlılığının bilinmesine ve uygun tedaviye olanak sağlayan bakteriyel kültür altın standarttır. Ancak antibiyotik kullanılmış hastalarda duyarlılığı düşmektedir⁷. Lateks

aglütinasyon testi (LAT) bakteriyel menenjit in hızlı tanısında %50-100 arasında değişen duyarlılığa sahiptir. Öncesinde antibiyotik kullanımından etkilenmediği için bundan dolayı kültür ve Gram boyama sonucu negatif olan hastalarda kullanılabilir⁸. Kültür sonuçları 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 geliştirilmiştir⁹. Bakteriyel menenjitin hızlı tanısında kullanılan PZR özellikle antibiyotik tedavisinden dolayı kültürün duyarlılığının düştüğü durumlarda oldukça yararlıdır. Ancak PZR'nin kontaminasyondan etkilenmesi en büyük problemdir¹⁰. Çeşitli PZR metodları *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis*'i tek tüp içerisinde multipleks olarak saptamak için geliştirilmiştir¹¹.

Bakteriyel menenjit tedavisinin mümkün olan en kısa sürede başlanması ve tedavide kullanılacak olan antimikrobiyal ajanın bakterisidal olması gerekmektedir. Antimikrobiyal ajanın BOS'a geçişinde en önemli faktör, kan-beyin bariyerinin durumu, inflamasyonun varlığıdır¹².

Bu çalışmaya çeşitli kliniklerden Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na yenidoğan dışı menenjit şüpheli hastalardan gönderilen BOS örnekleri dahil edilmiştir. Çalışmada bakteriyel menenjit etkenlerinin tanısında klasik tanı yöntemleri ile bu etkenlerin hızlı tanısında yeni kullanıma giren moleküler yöntemlerin tanısal performanslarının karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ve bölgemizdeki bakteriyel menenjit etkenlerinin epidemiyolojik verilerinin oluşturulması amaçlanmıştır. Bakteriyel menenjit tanısında hedeflediğimiz üç bakteriye (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis*) yönelik klasik kültür yöntemi altın standart kabul edilerek PZR ve LAT'ın tanısal değerinin araştırılması ve bu etkenler dışında kültürde üreyip hastane kökenli olabileceği düşünülen bakterilerin arasındaki genetik ilişki varlığının moleküler yöntemler ile tespiti amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Menenjit Tanımı

Santral sinir sistemi (SSS) enfeksiyonları oldukça seyrek görülen hastalıklardan biridir. Ancak hızlı ilerleyebilmesi, kısa sürede kalıcı hasar veya ölüme yol açabilmesi nedeniyle spesifik tedaviye diğer enfeksiyon hastalıklarına göre daha çabuk başlamayı gerektirmektedir. SSS enfeksiyonları, akut selim seyirli viral menenjitlerden, hızla ölüme götürebilen bakteriyel menenjitler, yavaş ilerleyen fungal, mikobakteriyel veya persistan viral enfeksiyonlara kadar farklı formlarda gözlenebilmektedir¹³.

Menenjit, beyni çevreleyen meningeal zarların ve spinal kordun inflamasyonudur². Aşılama, daha iyi antimikrobiyal ve adjuvan terapisinin muhtemel bir sonucu olarak kazanılmış bakteriyel menenjitin morbidite ve mortalite oranları azalmış olsa da hastalık, halen %10 ile %20 arasında yüksek oranlarda mortalite oranına sahiptir¹. Hastalık, BOS'da hücresel ve biyokimyasal değişiklikler ve klinikte belirleyici nörolojik bulgularla görülmektedir¹⁴. Özellikle küçük çocuklarda bakteriyel menenjit tanısı, belirti ve bulguların genellikle non-spesifik olması nedeniyle zorlaşmaktadır¹⁵. Akut bakteriyel menenjit tıbbi önemi olan acil durumlardan biridir. Spesifik tanısı hızla konulmalı ve ampirik tedavisi hızla başlanmalıdır. Akut bakteriyel menenjite sebep olan etkenler konağın immün durumuna ve yaşına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Konjuge protein kapsüler aşuların kullanımı ile aşının içerdiği serotiplerin oluşturduğu menenjitler başarıyla elimine edilebilmektedir¹⁶.

2.1.1. Akut Menenjit Sendromu

Akut bakteriyel menenjit dünyada ölümlü sonuçlanan ilk 10 hastalıktan biridir ve %30-50 arasında nörolojik sekelle sonuçlanmaktadır¹⁷. Baş ağrısı, ateş, ense sertliği ve meningeal irritasyon bulguları ile karakterize ve bulguların birkaç saat ile birkaç gün içerisinde ortaya çıktığı akut bir klinik tablo olma özelliğindedir. Bu belirti ve bulgular hastanın yaşı, altta yatan hastalık varlığı (kafa travması, yakın zamanda kraniyal operasyon öyküsü, BOS şanti varlığı ve immün yetmezlik durumu) ve menenjite neden olan mikroorganizmaya göre değişiklik göstermektedir. Bakteriler, viruslar, mantarlar ve çeşitli ilaçlar akut

menenjit klinik tablosuna neden olabilir. Viral etkenler ve ilaçların neden olduğu hastalık tablosu hafif seyirli olup, bakterilerin oluşturduğu menenjit klinik tablo ağır seyretmektedir¹⁸. Yenidoğan döneminin ardından akut bakteriyel menenjite en sık neden olan etkenler; *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*'tir. *Hemophilus influenzae* tip b (Hib) aşılmasının rutin uygulandığı ülkelerde ise en sık bakteriyel menenjit etkenleri *S. pneumoniae* ve *N. meningitidis* olmuştur¹⁹.

2.1.2. Subakut ve Kronik Menenjit Sendromu

Akut menenjitin aksine subakut veya kronik menenjit haftalar, aylar veya yıllar içinde gelişir. Kronik menenjit en az dört hafta boyunca BOS bulguları olan veya olmayan menenjit bulgularının olması olarak tanımlanır. Yaklaşık üç olgudan birinde neden bulunamamaktadır. Bazen bulguların ortaya çıkış süreci dışında klinik olarak akut menenjitle karışabilir. Subakut ve kronik menenjitler enfeksiyöz veya non-enfeksiyöz nedenlere bağlı olarak gelişebilir²⁰. Klinik bulgular akut menenjitteki gibi olmakla birlikte daha yavaş ortaya çıkar. Ateş daha düşük seyreder, baş ağrısı, meningismus, letarji, bilinç değişikliği görülebilir. Akut menenjite göre fokal nörolojik bulgular daha fazladır²¹. Enfeksiyöz etkenler arasında tedavisi tamamlanmamış bakteriyel menenjitler, *Mycobacterium tuberculosis*, *Treponema pallidum*, çeşitli funguslar (*Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides spp.*, histoplazmoz), viruslar (Human immunodeficiency virus [HIV]) veya *Borrelia burgdorferi* yer almaktadır. Non-enfeksiyöz nedenler arasında ise sıklıkla Sarkoidoz, Behçet hastalığı, ilaçlar ve vaskülitler yer almaktadır²⁰.

Rekürren bakteriyel menenjitler toplumda %1-6 arasında gözlenmektedir. Bir kişide saptanan iki ya da daha fazla bakteriyel menenjit atağı rekürren bakteriyel menenjit olarak nitelendirilmektedir. Rekürren bakteriyel menenjitler nadir görülmekle birlikte, ortaya çıktıklarında hazırlayıcı faktörleri bulmaya yönelik ileri araştırmalar yapılmalıdır. Bu hazırlayıcı faktörler arasında, travma ve cerrahi girişimler sonrası BOS fistülleri, konjenital malformasyonlar, SSS tümörleri, immün yetersizlik (kompleman C5-C9 eksikliği ve splenektomi sonrası), parameningeal enfeksiyon odaklarının varlığı ve yetersiz medikal tedaviler yer almaktadır^{22,23}. Kompleman eksikliği olanlarda *N. meningitidis*,

anatomi defekti olanlarda ise non-b *H. influenzae* etken olarak gözlenebilmektedir²³.

2.2. Epidemiyoloji ve Etiyoloji

Menenjit, ilk olarak 1805'de Genova'da Vieusseux tarafından tanımlanmıştır. Menenjitin en önemli etkenlerinden olan *N. meningitidis*'in ilk kez 1887'de izole edilmesiyle bu hastalığın etiyojisi açıklığa kavuşturulmuştur²⁴. Dünyada bakteriyel menenjit tanısı ile her yıl 170.000 kişinin hayatını kaybettiği tahmin edilmektedir²⁵. Bununla beraber Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) bakteriyel menenjit insidansı son 10 yıla kıyasla 3-5/100.000'den 1.3-2/100.000'e düşmüştür. Bakteriyel menenjit etkenleri coğrafik bölge ve yaşa bağlı olarak değişmektedir^{1,26}. Tüm bakteriyel menenjit etkenleri değerlendirildiğinde en sık üç etken (%80 üzerinde), *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* ve *H. influenzae* olarak karşımıza çıkmaktadır²⁷. Konjuge Hib ve pnömokok aşısının rutin aşı takvimine girdiği ülkelerde akut bakteriyel menenjitin epidemiyolojik profilinde büyük değişiklikler olmuştur²⁸.

Bakteriyel menenjitte mortalite oranları gelişmiş ülkelerde %10-26 arasında iken, gelişmekte olan ülkelerde bu oran %15-50 arasındadır. Yine bakteriyel menenjite bağlı nörolojik defisit, işitme kaybı ve kognitif bozukluklar hastaların yaklaşık %50'sinde gözlenebilmektedir²⁹. Toplumun genetik yapısı ve sosyoekonomik koşulları da, toplumdaki sıklıkla görülen etkenlerin farklı olmasında etkili olmaktadır. Son 20 yılda dünyada menenjit epidemiyolojisi özellikle gelişmiş ülkelerde uygulanan başarılı Hib aşılması ile değişmiştir³⁰. Hib aşısının aşı takvimine girmesinden önce, Hib çocuklarda bakteriyel menenjitin en sık görülen sebeplerinden biri olmasına rağmen ABD'de aşılanma sonrası Hib büyük oranda elimine edilmiş ve sadece aşılanmamış ya da eksik aşılanmış çocuklarda görülmeye başlanmıştır¹⁶. Bugün Avrupa ve Amerika'da çocuk ve erişkinlerde pnömokok menenjiti en önemli etken haline gelmiştir³¹. ABD'de 1998-2007 yılları arasında yetişkinlerde yapılan çalışmada en sık etken *S. pneumoniae* ardından *N. meningitidis* bulunmuştur³². Akut bakteriyel menenjit olguları daha çok sonbahar sonu, kış ve ilkbahar başlangıcında görülürler. Bakteriyel etkenler genellikle solunum yolu ile nazofaringeal kolonizasyon yaparlar.

Menenjit için risk faktörleri aşağıda sıralanmıştır:

- Yaş: 60 yaş üstü ve beş yaş altı popülasyon
- Demografi/sosyoekonomi: Erkek hasta, Afrika/Amerika etnik köken, düşük sosyoekonomik durum, askeri birlikler, yatılı okullar
- Patojene maruziyet: Kolonizasyon, menenjitli hasta ile temas, eşlik eden enfeksiyonlar (mastoidit, sinüzit, otitis media), bakteriyel endokardit, iv ilaç bağımlılığı, anatomik defektler (beyin cerrahi operasyonu sonrası, SSS travması, konjenital defekt), ventriküloperitoneal şanlı hastalar, kohlear implantasyonu olanlar
- İmmüsupresyon: Postsplenektomili hastalar, hematolojik hastalıklar (sickle cell anemi, talesemi major), malignensi, diabet, alkolizm, kompleman ve immünglobulin eksiklikleri, HIV, immüsupresif ilaç kullanımı⁴

N. meningitidis bir enfeksiyon etkeni olarak klinikte çeşitli hastalık şekillerinde karşımıza çıkabilir. Akut nazofarenjitler, sepsis olmadan bakteriyemi, meningokoksemi-sepsis, epidemik menenjit, meningoensefalit, osteomyelit, artrit, peritonit, endoftalmit, perikardit yaptığı hastalıklar arasında sayılabilir³³. Meningokok menenjiti “epidemik menenjit” olarak adlandırılmaktadır. Sağlıklı insanların %35’inin nazofarinks mukozasında kolonize olabilmektedir ve az oranda bu taşıyıcılarda septisemi ya da menenjite neden olmaktadır³⁴. Her yıl ortalama 1.2 milyon kişi meningokok menenjite yakalanmakta, bunların da yaklaşık 135.000’i ölümlle sonuçlanmaktadır³⁵. Meningokok hastalığı yıl boyunca görülebilir. Ancak, sıklık özellikle kış sonu ve bahar başlangıcında artmaktadır. Bulaş, başlıca damlacık yoluyla ya da doğrudan temasla olur. Hasta ile yakın temasta olan kişiler risk altındadır. Askeri birlikler, okul yatakhaneleri ve hapisane gibi toplu yaşanan yerlerde lokal epidemiler çıkabilir. Şart olmamakla birlikte epidemilerin çoğundan *N. meningitidis* A grubu, sporadik olgulardan ise B,C,Y grubu sorumludur³⁶. Bunun yanında üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonrası, hepatik yetmezlik, Sistemik lupus eritematozus, Multiple myelom gibi hastalıklarda, C3-C5 ve C9 eksikliklerinde meningokok menenjit riski artmaktadır³³. İnvaziv meningokok hastalığından dünya genelinde başlıca altı önemli serogrubun (grup A, B, C, Y, X ve W135) sorumlu olduğu bilinmektedir. Serogrup dağılımı coğrafi bölgelere göre farklılık gösterdiği gibi aynı coğrafi bölge içinde de zaman içinde değişim

görülebilmek³⁷. Serogrup A ve C Asya ve Afrika'da, serogrup B ve C Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika'da ağırlıklı olarak görülmektedir. Toplumdaki bireylerin %5-10'unda meningokokların nazofarinks taşıyıcılığı olmasına karşın, yurt, kışla gibi kapalı ve kalabalık ortamlarda taşıyıcılık oranı %40-50'ye kadar yükselebilmekle birlikte salgınlarda ise bu oran %100'lere ulaşabilmektedir³⁸. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) verilerine göre en yüksek insidans ise 9-12 yılda bir Afrika'daki Sahraaltı ülkelerde düzenli epidemiler şeklinde görülmektedir. Bu epidemiler sırasında insidans oranı 1.000/100.000 vaka civarında olmaktadır³⁹. 1996 yılında başlayan en büyük salgın 300.000 vaka ve 30.000 ölümlle sonuçlanmıştır²⁷. 2009 yılında 14 Afrika ülkesi tarafından 78.416 vaka tanımlanmış ve bu vakaların 4.053'ü hayatını kaybetmiştir⁴⁰. Meningokok menenjitinin hastalardaki mortalite oranı %10-14 arasında iken hastalarda sekel kalma oranı ise %10-19 arasındadır⁴¹.

Pnömonokok menenjit, yenidoğan dönemi dışında tüm yaş gruplarında görülür ve erişkinlerde en sık menenjit etkenidir. Kış aylarında daha siktir. Pnömoni, otit, mastoidit, sinüzit olması hastalık riskini artırmaktadır. Pnömoni veya menenjit oluşmasında sorumlu olan pnömokok suşu, hastanın nazofarinksine daha önce kolonize olmuştur⁴². Çeşitli yapılan çalışmalarda dünyada her yıl *S. pneumoniae*'ya bağlı çocuk ölümlerinin sayısı 700 bin ile bir milyon arasında değişmektedir⁴³. Splenektomi, multiple myeloma, hipogamaglobulinemi, malnütrisyon, kronik karaciğer ve böbrek hastalığı olanlarda enfeksiyon ciddi seyretmektedir. Kafa kaide kırığı olan ve BOS sızıntısı gelişen hastalarda ilk akla gelmesi gereken etken *S. pneumoniae*'dir⁴². Hastanede tedavi altına alınan pnömokok menenjitlerinde mortalite yaklaşık %20-30 oranında, intrakraniyal komplikasyonlar ise %40 oranında gözlenmektedir⁴⁴. Bugüne kadar 90 serotipi bulunmuştur. Pnömonoklara bağlı birçok hastalık 23 serotipi ile meydana gelmektedir. ABD'de çoğu invaziv pnömokokal hastalıklar serotip 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F ve 23F ile meydana gelmektedir. En sık karşılaşılan penisilin dirençli serotipler ise 6B, 9V, 14, 19A, 19F ve 23F'dir⁴⁵. Tüm dünyada penisilin ve üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli pnömokoklara ait sistemik enfeksiyon sıklığı giderek artmaktadır. Beş yaş altı çocuklarda direnç oranının daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Bir aydan büyük çocuklarda travma sonrası gelişen bakteriyel menenjitin ampirik tedavisi vankomisin ve üçüncü kuşak sefalosporin şeklinde olmalıdır⁴⁶.

Pnömonokokal hastalıkların tanısındaki kültür yöntemleri ile ilgili sıkıntılarının nedenleri; geç örnek transportu, yetersiz örnekler ve önceden antibiyotik kullanılan hastalar olarak sıralanabilmektedir⁴⁷.

H. influenzae çocukların nazofarenks mukozasının normal bakteri florasının bir üyesidir. Akut pürülan menenjit etiyolojisinde özellikle çocuklarda önemli rol oynayan Hib taşıyıcılığı ilk altı aya kadar olan çocuklarda seyrek, üç-beş yaş grubu çocuklarda ise %3-5 civarındadır. Erişkin çağına doğru taşıyıcılık azalmaktadır⁴². *H. influenzae* menenjiti erişkinlerde nadir, beş yaş altı çocuklarda ise sık gözlenmektedir ve yıllık insidansı 31/100.000'dir³⁹. *H. influenzae* akut otitis media, sinüzit, bronşit, pnömoni gibi solunum yolu enfeksiyonlarının yanı sıra menenjit, septik artrit, sellülit gibi enfeksiyonlara da neden olabilmektedir⁴⁸. Hib aşılmasının başlamasından sonra Hib'e bağlı invaziv hastalıkların insidansında dramatik bir şekilde düşüşler olmuş, Avrupa ve Amerika'daki bazı ülkelerin bazı bölgelerinde neredeyse elimine edilmiştir⁴⁹. Aşılama sonrası bazı ülkelerde Hib aşılmasından sonra tiplendirilemeyen suşların invaziv hastalıklarda görülme oranı artmaya başlamıştır. Şu an için a,c,d,e,f ve tiplendirilemeyen Hib dışı suşlarla da hem çocuk hem de erişkinlerde invaziv hastalıklar görülebilmektedir⁵⁰.

Listeria monocytogenes Gram pozitif, fakültatif anaerop, sporsuz bir bakteridir. Toprak, su, kokuşmuş sebze artıklarında bulunur. Özellikle hazır ve pastörize edilmemiş yiyecekler bulaşa neden olmaktadır. Yaşlılar, alkolikler, kanserli hastalar, immunosupresif yetişkinler, diabet hastaları, kollajen vasküler hastalığı olan kişiler, kronik böbrek ve karaciğer hastalığı olanlar, *L. monocytogenes* menenjiti riskine sahiptirler. 1/2a, 1/2b ve 4b serotipleri insanlarda oluşan enfeksiyonlarda ön plana çıkmaktadır⁵¹. Vajenlerine *L. monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Streptococcus agalactiae* ile kolonize olmuş gebe kadınlar ile doğum esnasında gelişebilecek bulaşla yenidoğan bebekte, bu bakterilere bağlı sepsis, menenjit ve ölü doğuma neden olabilmektedirler³⁶.

S. agalactiae, yenidoğanlar, sütçocuğu ve gebelerde ciddi enfeksiyon nedenidir. Çoğu vakada sepsis, pnömoni ve menenjit şeklinde seyreder. Erken başlangıçlı *S. agalactiae* enfeksiyonu için risk faktörleri maternal *S. agalactiae* taşıyıcılığı, uzamış membran rüptürü, intrapartum ateş, genç anne yaşı, siyah etnik grup olarak bildirilmektedir. Geç başlangıçlı *S. agalactiae* enfeksiyonu için

risk faktorleri daha az net olmakla birlikte; maternal, nozokomiyal ya da anne sütü kaynaklı olduğu belirtilmiştir⁵².

Staphylococcus aureus menenjitleri nadir görülmekle birlikte, genellikle nöroşirurjik işlemler, travma, endokardit ve bakteriyemi sonrasında görülebilmektedir. Bunun dışında hastalık oluşumunda başlıca predispozan faktörler arasında diabetes mellitus, alkolizm, kronik renal yetmezlik, hemodiyaliz, intravenöz ilaç bağımlılığı ve maligniteler yer almaktadır⁵³.

Gram negatif basiller (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* ve *Pseudomonas aeruginosa*) bakteriyel menenjit etkenlerinin %10'undan azını oluştururlar. *Enterobacteriaceae* ailesi beyin cerrahi operasyonu sonrası en sık görülen menenjit etkenleridirler¹⁷.

Akut bakteriyel menenjit olgularının %80-85 kadarından *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* ve *H. influenzae* sorumlu olmasına karşın, belli yaşlarda ve bazı durumlarda etkenlerin görülme sıklığının değiştiği unutulmamalıdır. Etkenlerin yaşa göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Menenjit etkenlerinin yaşa göre dağılımı⁴

Yenidoğan	1-23 ay	2-18 yaş	18-50 yaş	> 50 yaş
B grubu streptokoklar <i>E. coli</i> <i>L. monocytogenes</i>	B grubu streptokoklar <i>S. pneumoniae</i> <i>N. meningitidis</i> <i>E. coli</i> <i>H. influenzae</i>	<i>S. pneumoniae</i> <i>N. meningitidis</i> <i>H. influenzae</i>	<i>S. pneumoniae</i> <i>N. meningitidis</i>	<i>S. pneumoniae</i> <i>N. meningitidis</i> <i>L. monocytogenes</i> Gram negatif basiller

Tüberküloz menenjit (TBM), *Mycobacterium tuberculosis*'in neden olduğu ekstartapulmoner enfeksiyonları arasında sık görülen bir tablodur. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde görülmekle birlikte, mortalite (yaklaşık %30) ve sekel oranları oldukça yüksektir. DSÖ, dünya genelinde her yıl bir milyon çocuğun tüberküloz enfeksiyonuna maruz kaldığını, bunların da %11'inde TBM geliştiğini bildirmektedir. HIV enfeksiyonuna sahip ve immün yetmezlikli hastalarda risk yüksektir⁵⁴. TBM, tüberküloz geçirenlerin %5-10'unda görülür. Anti-tüberküloz ilaçlardan önce TBM'nin klasik seyri ölümlü kaçınılmaz son iken, son 50 yıldır hastalığın seyri değişiklik göstermiş, atipik formlar daha sık gözlenmeye başlamıştır. Tıp dünyasındaki ilerlemelere rağmen TBM, gerek teşhisindeki güçlükler gerekse ciddi komplikasyonları nedeniyle hala önemli bir sağlık problemidir. Erişkinde TBM, tek başına veya hastalığın genellikle

pulmoner/miliyer formuna paralel olarak gelişmektedir. TBM'ye ait semptom, belirti ve sekellerin çoğu meninks enfeksiyonuna immünolojik olarak yönlenen inflamatuvar cevabın sonucunda belirmektedir⁵⁵.

Dünya genelinde aseptik menenjitin önde gelen en önemli nedeni enteroviruslardır⁵⁶. Çocuklarda enterovirusa bağlı aseptik menenjitler salgınlar şeklinde karşımıza çıkabilmektedir. Etiyolojinin belirlendiği aseptik menenjit olgularının %80-95'inden polio dışı enterovirus sorumlu tutulmaktadır. Bunlar arasında en sık rastlanılan tiplerin de Coxsackievirus B2, B5; Echovirus tip 4, 6, 9, 11, 16, 30 ve Enterovirus tip 70, 71 olduğu bildirilmektedir. Enterovirus enfeksiyonlarının görülme sıklığı, sıcak iklimlerde yaz/sonbahar dönemlerinde artış gösterirken tropikal ve yarı tropikal bölgelerde ise insidans yıl boyunca yüksektir. İmmün yetmezlik (özellikle konjenital veya edinilmiş hümorale immünite) ve yaş enteroviral menenjit için risk faktörüdür. Yenidoğan ve küçük çocuklar toplumdaki en duyarlı grup olmaları nedeniyle enteroviral menenjitten çoğunlukla etkilenirler. Enterovirus erişkinlerde de en yaygın aseptik menenjit nedenidir. Artan yaşla birlikte görülme oranı azalmaktadır⁵⁷.

Fungal menenjitlerin en sık etkenleri *Candida spp.*, *Aspergillus spp.* ve *C. neoformans*'tır. *C. neoformans* menenjitlerinde hastaların %90'ın üzerinde immün sistemi baskılanmıştır ve özellikle AIDS'li hastalarda görülmektedir. *Candida spp.* arasında ise en sık etken *C. albicans*'tır. Kandida menenjiti infantlarda erişkinlere göre daha sık görülmektedir. Kandida menenjitleri bazen sağlıklı bireylerde de görülebilmektedir. Bunların dışında fungal menenjitler arasında *Histoplasma capsulatum*, *Coccoides immitis*, *Zygomycetes spp.* de görülebilmektedir^{58,59}.

Nagleria fowleri, primer amebik meningoensefalit (PAM) etkenidir. Çoğu olgu Amerika, Avrupa ve Avustralya'dan bildirilmiştir. Parazitin giriş yeri olfaktör mukoza ve nöroepitelyumdur. Özellikle sulak yerlerde yaz aylarında görülmektedir. Üç-sekiz günlük inkübasyon sonunda klinik tablo gelişmektedir. Klinik tablo bakteriyel ve TBM ile karışabilmektedir⁶⁰.

Kimyasal menenjit nedenleri ise; metronidazol, ibuprofen, kotrimoksazol kullanımı ile olabilmekle, aseptik menenjite neden olurlar⁶¹.

Nozokomiyal menenjitler, invaziv işlemler (kraniyotomi, ventriküler kateterler, lomber ponksiyon ve spinal anestezi gibi), kafa travmaları ve hastane kaynaklı metastatik enfeksiyonlardan kaynaklanmaktadır. Nozokomiyal menenjit

etkenlerinden ön plana çıkan mikroorganizmalar, Gram pozitiflerden stafilocoklar ve Gram negatiflerden ise çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter spp.* ve *Enterobacteriaceae* ailesi öne çıkmaktadır⁶².

Çeşitli yaş grupları ve coğrafik değişikliklere göre bakteriyel menenjit etkenleri değişebilmektedir. Yaşlı hastalardaki bakteriyel menenjitlerde fokal nörolojik defisitler genç hastalar göre daha fazla sıklıkla görülmekte iken baş ağrısı ve ense sertliği genç hastalara nazaran daha az görülmektedir. Yaşlı hastalarda en sık *S. pneumoniae* ve *L. monocytogenes* görülmekle birlikte immün sistem durumuna göre diğer etkenler geniş bir yelpazede gözlenebilmektedir⁶³. Taiwan'da akut bakteriyel menenjitli 87 yaşlı hastada yapılan bir çalışmada Gram negatif etkenler %55.8, Gram pozitif etkenler %44.2 bulunmuştur. Gram negatif etkenlerden en sık *Klebsiella pneumoniae*, Gram pozitiflerden ise stafilocoklar saptanmıştır. Ancak Taiwan'da aynı yaş grubunda yapılan çoğu çalışmada bakteriyel menenjit etkenlerini daha çok *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* ve *L. monocytogenes* olarak saptamışlardır⁶⁴.

İmmün sistemi baskılanmış hastalarda en sık görülen etken *S. pneumoniae* olmakla birlikte, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *Salmonella spp.* ve *S. aureus* bakteriyel menenjit etkeni olarak görülebilmektedir. Antiretroviral tedavi (HAART) alan HIV'li hastalarda pnömokok menenjit riski oldukça artmıştır⁶³.

Bazı özel durumlarda ise özel menenjit etkenleri saptanır. Bu etkenler Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2. Özel bazı koşullarda sık rastlanan menenjit etkenleri⁶⁵

Şanlı hastalar	<i>S. epidermidis</i> ve <i>S. aureus</i>
Kraniyal fraktür	<i>S. pneumoniae</i>
Aspleni	<i>S. pneumoniae</i> , <i>Salmonella spp.</i>
C3-C5 eksikliği	<i>N. meningitidis</i>
Meningomyelose, dermal fistül	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>
IgG2 eksikliği	Hib
Kronik otit, sinüzit, mastoidit	<i>S. pneumoniae</i>
Penetran kafa yaralanmaları	Stafilocoklar

Menenjite neden olan enfeksiyon ve enfeksiyon dışı nedenler Tablo 3'de sınıflandırılmıştır.

Tablo 3. Menenjit nedenleri⁶⁶

1)Enfeksiyöz Etkenler
A) Bakteriler
<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>
Aerobik gram negatif basiller (<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Salmonella spp.</i>
<i>Brucella spp.</i>
<i>Nocardia spp.</i>
<i>Actinomyces spp.</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
B)Viruslar
Nonpolio entero (Echo, Coxsackie)
Arbovirus (St. Louis ensefalit virus, Kalifornia ensefaliti)
Doğu, Batı ve Venezuela beygir ensefaliti ve Kolarado kene ateşi)
Kabakulak virusu
Herpes (Herpes Simpleks virus (HSV) tip 1 ve 2, Varisella Zoster virus (VZV), Sitomegalovirus (CMV), Epstein Barr virus (EBV), Human Herpes virus (HHV 6 ve 7)
Lenfositik koriomenenjit virus
Human immunodeficiency virus (HIV)
Adenovirus
İnfluenza A ve B virus, Parainfluenza virus
Rubella virus, Poliovirus, Rota virus
C)Mantarlar
<i>Candida spp.</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Aspergillus spp.</i>
<i>Histoplasma capsulatum</i>
<i>Coccidioides immitis</i>
<i>Blastomyces dermatitidis</i>
<i>Sporothrix schenckii</i>
<i>Pseudallescheria boydii</i>
<i>Cladosporium spp.</i>
<i>Zygomycetes spp.</i>
D)Spiroketler
<i>Treponema pallidum</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i>
<i>Leptospira spp.</i>
<i>Borrelia recurrentis</i>
<i>Spirillum Minus</i>
E) Riketsiyalar
<i>Rickettsia rickettsii</i> , <i>Coxiella burnetti</i> , <i>Rickettsia prowazekii</i> , <i>Rickettsia typhi</i> , <i>Rickettsia tsusugamushi</i>
F)Protozoer ve Helmintler
<i>Naegleria fowleri</i>
<i>Acanthamoeba spp</i>
<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Taenia solium</i>

<i>Trichinella spiralis</i>
<i>Trypanosoma spp</i>
<i>Paragonimus spp</i>
<i>Echinococcus granulosus</i>
<i>Strongyloides stercoralis</i>
<i>Schistosoma spp</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>
G)Diğer Enfeksiyöz Durumlar
Parameningeal enfeksiyonlar (beyin absesi, otit, sinüzit, mastoidit, subdural abse, epidural abse, venöz sinüs tromboflebiti, kranial osteomyelit, enfektif endokardit)
Bakteriyel toksinler (Streptokoksik farenjit, kızıl, toksik şok sendromu, difteri, boğmaca)
Viral postenfeksiyöz sendromlar
Aşı sonrası (kabakulak, kızamık, polio, boğmaca, kuduz aşıları)
2) Enfeksiyon Dışı Nedenler
A) Sistemik Hastalıklar
Sistemik lupus eritematozus
Sarkoidoz
Behçet hastalığı
Sjögren sendromu
Mikst konnektif doku hastalığı
Romatoid artrit
Polimiyozit
Wegener's granulomatosis
Lymphomatoid granulomatosis
Poliarteritis nodosa
Granulomatöz anjiit
Ailevi akdeniz ateşi
Kawasaki sendromu
B) İlaçlar
Antimikrobiyal ajanlar (trimetoprim-sulfametoksazol, siprofloksasin, penisilin, izoniazid)
Nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar (ibuprofen, naproksen)
Azathioprine
Cytosine arabinoside
Carbamazepine
İmmunglobulin
C) Çeşitli Uygulamalar
Postnöroşürjik işlemler
Spinal anestezi
Intratekal injeksiyonlar
D)İntrakraniyal Tümör ve Kistler
E)Maligniteler

2.3. Menenjit Fizyopatolojisi ve Patogenezi

SSS, gerek kapalı anatomik yapısından dolayı gerekse kan-beyin bariyerinin fizyolojik özelliklerinden dolayı enfeksiyonlardan korunmada bir avantaj sağlarken, immün sistem fonksiyonlarını sınırlamasından dolayı da dezavantaj oluşturabilmektedir¹².

Çoğu olguda kazanılmış bakteriyel menenjitler nazofaringeal kolonizasyon ile başlamaktadır⁴. Mikroorganizmalar hematojen yola girdikten

sonra hastalardaki klinik tablo septisemi veya menenjitte sonlanabilmektedir. Kapsüler polisakkarit yapı duyarlı dokulardaki adezyon ve kolonizasyonda rol alan en güçlü inflamatuvar sinyal faktörüdür³.

Menenjit gelişimi için mikroorganizmaların dört önemli aşamayı gerçekleştirmesi gerekmektedir. Bunlar; kolonizasyon ve mukozal invazyon (1), dolaşıma geçtikten sonra, vücut savunma mekanizmalarından kurtulma (2), kan-beyin engelini geçiş (3), BOS içinde yaşamını sürdürme ve çoğalma (4) basamaklarını içermektedir. Kolonizasyon ve invazyon sonrasında kan dolaşımına giren bakterilerin, subaraknoid alana ulaşabilmesi, öncelikle konak savunma mekanizmalarının üstesinden gelmesine bağlıdır. Bakteriye dolaşımdaki antikorlara, kompleman ile gelişen öldürmeye ve nötrofil fagositozuna karşı koruyan temel mekanizma ve virülans faktörü kapsüldür^{2,42}. Mukozal epitele tutunma ve dolaşıma geçiş için bakterilerin, sekretuar IgA'nın etkisinden korunması, siliyer temizlik mekanizmasından kurtulması, apikal yüzeye tutunması gerekmektedir. *S. pneumoniae*, Hib ve *N. meningitidis* gerek kapsül yapıları ile sekretuar IgA'nın etkisinden korunurken, gerekse yapılarında buldukları IgA proteaz ile IgA'nın prolinden zengin "menteşe" (hinge) kısmı olarak adlandırılan bölgesinden parçalayarak fonksiyon göremez hale getirmektedirler. Klasik menenjit etkenleri olan bu üç mikroorganizma intravasküler alanda kapsüllü yapıları sayesinde klasik kompleman sisteminin etkisinden korunmaktadırlar. Bu nedenle her üç ajana karşı sadece alternatif kompleman sistemi ile özgün olmayan cevap verilebilir. Ancak *N. meningitidis*'in kapsül yapısında bulunan sialik asit, faktör H'nin C3b'ye bağlanmasına neden olarak, alternatif kompleman sisteminin aktivasyonu için gerekli olan faktör B ile C3b bağlanmasını engeller ve böylece, alternatif kompleman sisteminin etkisinden korunmuş olur. *S. pneumoniae*'da kapsül yapısının özelliği nedeniyle kapsül üzerindeki faktör B ile C3b etkili şekilde bağlanamaz ve C5-C9 aktivasyonu gerçekleşmez. *H. influenzae tip b*'nin ise poliribozil fosfat (PRP) kapsülüne C3 bağlanmadığı için alternatif kompleman sistemi aktive olamaz².

Hematojen yolla bakteriyel invazyonun hangi anatomik bölgeden kaynaklandığı tam açıklığa kavuşturulamamış olsa da koroid pleksus ile ilgili olduğu düşünülmektedir³¹. Bunun dışında mikroorganizmalar orta kulak iltihabı, mastoidit ve sinüzit gibi durumlarda direkt invazyonla meninkslere kolayca ilerleyebilmektedir¹⁸. Menenjite neden olan mikroorganizmalar kan-beyin

bariyerini transsellüler, parasellüler veya enfekte ettikleri makrofajlar (Truva atı modeli) ile geçebilmektedir. Ayrıca çoğu çalışma bu mikroorganizmaların bu bariyeri geçerken konak reseptörleri ile etkileşimini göstermiştir¹⁶.

Subaraknoid aralıkta nötrofiller ve diğer kan hücreleri, kompleman komponentleri ve immünglobülinler olmadığı için bakteri BOS içine girdiğinde menenjit kaçınılmazdır. Bu ortamda logaritmik olarak artan mikroorganizmalar, lökositlerin artışına ve enflamatuvar cevaba neden olurlar².

Lökositlerin BOS'a geçiş mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Kemotaktik faktörler, intersellüler adezyon molekülü-1 gibi spesifik adezyon molekülleri, selektin ve integrinler, adansta ve lökosit göçünde önemli olabilir. Gram negatif bakterilerin lipopolisakkaritleri ve Gram pozitif bakterilerin peptidoglikan ve teikoik asit yapıları meningeal enflamasyonu güçlü bir şekilde indüklemektedirler. Bakterilerin tümör nekrozis faktör, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-16 gibi yerel sitokin ve kemokin salınımını artırarak enflamasyonu indükledikleri düşünülmektedir. Toll benzeri reseptörlerin de bakteriyel menenjitte rolü vardır. Bu reseptörler birçok mikroorganizmada ortak bulunan moleküler yapıları tanıyınca hücrelere aktivasyon sinyali göndererek enflamatuvar sitokin genlerini indüklemektedirler⁴².

Kan beyin bariyerindeki değişim bakteriyel menenjit fizyopatolojisindeki en önemli olaydır. Nitrik oksit, sitokin veya bakteri komponentleri ile indüksiyon sonrası makrofajlardan, nötrofillerden, damar düz kas hücrelerinden ve glial hücrelerden üretilir. Sonuç olarak ta serebral kan akımında değişikliğe neden olmaktadır⁴².

2.4. Bakteriyel Menenjit Etkenleri

2.4.1. *Haemophilus influenzae*

H. influenzae, Gram negatif, küçük hareketsiz bir kokobasildir. Aerob ve fakültatif anaeroptur. Glikoz, ksiloz, galaktoz ve desoksiriboza kaynak olarak kullanabilmektedir. Nitratı nitrit haline redükler, indol, üreaz, oksidaz ve alkali fosfataz aktivitesine sahiptirler^{42,67}. Hastalık materyalinden yapılan preperatlarda küçük, yaklaşık 0.3-0.5 µm eninde ve 0.5-2 µm boyunda kokobasil görünümündedirler. Hareketsiz ve sporsuzdur. Virulan *H. influenzae* zengin besiyerlerinde kapsül oluşturur. Gram boyamada bazen güçlük gösterebilirler. Aerop ve fakültatif anaerob bir bakteri olup adi besiyerlerinde

üremezler. Üreyebilmesi için kanda bulunan hemoglobine bağlı ve ısıya dayanıklı bir X faktörü (protoporfirin IX) ile ısıya dayanıksız bir V faktörünün (nikotinamid adenin dinükleotid) bulunması gereklidir. 37°C'de pH 7.2–7.4'de ürerler. Çikolatamsı agar üretilmesinde kullanılan uygun bir besiyeridir. Besiyerinde küçük, şebnem tanesine benzeyen, kenarları düz, yuvarlak koloniler yaparlar. Kapsül, katı besiyerinde pırıltılı renk gösteren kolonilerin varlığı ile anlaşılır. *H. influenzae* kapsül maddesine göre a, b, c, d, e, f diye isimlendirilen altı serovara ayrılmaktadır⁶⁸. *H. influenzae*, *S. aureus*'un hemolitik kolonilerinin etrafında üreyebilmektedir. Bu olaya "satellit fenomeni" veya "süt-anne fenomeni" denmektedir. *H. influenzae*'nin en önemli virulans faktörü kapsüldür. Diğer virulans faktörleri lipooligosakarit (LOS), IgA proteaz ve bakteriyosin'dir⁶⁹. Kapsüllü *H. influenzae* altı tipten (a-f) bir polisakkaridi içerir. Kapsül varlığı tipe özel antiserumlarla yapılan kapsül şişme reaksiyonu ile de gösterilebilir. Tip b'nin kapsül antijeni PRP'dir. Bu kapsüllü suşlar lam aglütinasyonu, stafilokoklar ile koaglütinasyon ve tipe özgül antikorlar ile kaplanmış lateks partikülleri ile tiplendirilebilmektedir⁷⁰. Hib aşısı bulunmadan önce serotip b, invaziv enfeksiyonların %95'inden sorumlu iken aşı uygulaması başlamasından sonra invaziv enfeksiyonların yarısından çoğu kapsülsüz (tiplendirilemeyen) suşlarla meydana gelmektedir. Hib'deki major virulans faktör PRP içeren antifagositik polisakkarit kapsüldür⁷¹. Yaptığı hastalıklar arasında menenjit, epiglottit, septik artrit, pnömoni ve ampiyem, bakteriyemi ve sellülit sayılabilmektedir⁶⁹.

2.4.2. *Neisseria meningitidis*

Yaklaşık 0.6-0.8 µm büyüklüğünde olan *N. meningitidis* genel olarak kahve çekirdeği görünümünde birbirlerine bakan yüzleri hafif iç bükey ya da düz diplokoklardır. Gerek hastalık materyalinde gerekse eski kültürlerinden yapılan preperatlarda normal büyüklükte ve görünümdeki meningokokların yanında daha büyük, diplokoklardan birisi büyük birisi küçük ve açık ya da koyu renkte boyanmış şekilleri gözlenebilmektedir⁷². *N. meningitidis* aerobik, sporsuz, hareketsiz, oksidaz pozitif, katalaz pozitif³³. Karbonhidratların oksidasyonu ile asit üretmektedirler. Glikozun oksidasyonu ile *N. gonorrhoeae* suşları asit üretirken, *N. meningitidis* suşları hem glukoz hem maltoz oksidasyonu ile asit üretirler. Diğer karbonhidratların oksidasyonu olmaz. *Neisseria* türleri dış

etkenlere karşı oldukça duyarlıdır. Kültürde birkaç gün içinde olurken, %75'lik asitli agarda batırma kültürü yapılarak, kurumaya karşı önlem alınarak, 37°C etüvde tutuldukları takdirde, haftalarca canlı kalabilirler. Kültürde çok çabuk ölmelerinin nedeni bilinmemekle beraber, metabolizma sırasında oluşan amonyağın ortamı kuvvetli alkali yapmasından ileri geldiği düşünülmektedir. Ortamın pH'sını 8.6-9.0'a kadar tolere edebilirken, 55°C de beş dakikada, kurulukta bir-iki saatte ölmektedirler⁷³. Meningokok menenjitinin olası tanısı BOS'un Gram boya kullanılarak direkt incelemesi ile yapılabilir. Hasta ilk antibiyoterapiyi alana kadar Gram boyamada yüksek oranda görülebilirler. *Neisseria* türleri biyokimyasal olarak fazla aktif olmadığından glukoz, maltoz ve sakkarozla olan etkilerinden yararlanılarak tiplendirilmeye çalışılırlar. Asitli ve serumlu vasatlara çeşitli şekerler ilave edilerek, biyokimyasal reaksiyonlar incelenir. Meningokoklar, kanlı agar, çikolata agar, Thayer-Martin besiyeri, beyin-kalp agarı veya zenginleştirilmiş Müller Hinton agarda, 35-37°C ve %3-10 CO₂ içeren ortamlarda ürerler. Glikozu ve maltozu fermente eder, laktozu ve sücrozu etmezler. *N. meningitidis* 18-24 saatlik kültürlerinde yaklaşık 1mm çapında düzgün ve parlak yüzeyle koloniler oluşturur. Kapsüllü türleri mukoid olabilir. *N. meningitidis*'in diğer *Neisseria* türlerinden ayrımında karbonhidratlardan asit oluşturmaya ilaveten nitrat redüksiyon testi, DNaz testi, tributirin hidroliz testi gibi yöntemler kullanılır. Gram boyalı preparatlarda polimorfonükleer hücrelerin içinde ve dışında Gram negatif diplokoklar şeklinde görünmektedirler⁷⁴. Meningokokal hastalıkların tanısında Gram boyama, kültür, lateks aglütinasyon ile antijen testi ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılmaktadır³³. *N. meningitidis* için major virulans faktörü polisakkarit kapsüldür. *N. meningitidis*'in polisakkarit kapsülündeki antijenik farklılıklar bakteri serotiplendirmesinin temelidir. Genel olarak doğrudan doğruya kapsülü görmek zor olmakla beraber, yeni izole edilen bakterilerin bağışık serumlarla karıştırılmasında, şişen kapsüllerini ayırt etmek olanaklıdır (kapsül şişme reaksiyonu). Kapsüller polisakkarit, fimbria ya da pili, lipopolisakkarit tabaka, IgA proteaz, Omp, dış membran vezikülleri ve demir gibi metabolik yolları, virulansta rol oynayan önemli yapılardır^{33,75}. Kapsül, bakteriyi konağın savunmasında önemli bir basamak olan fagositozdan korumaktadır. Meningokoklarda; A, B, C, D, H, I, K, L, W135, X, Y, Z ve 29 E olmak üzere 13 farklı kapsül serogrup tanımlanmış olmasına rağmen DSÖ 12 serogrup tanımlamıştır⁷⁶. Bu 13

serogruptan altısı (A, B, C, W135, X ve Y) hayatı tehdit eden invaziv enfeksiyonlara neden olmaktadır⁷⁷. Yaptığı enfeksiyonlar akut nazofarenjitler, meningokoksemi-sepsis, epidemik menenjit, meningoensefalit ve pnömoni olarak bilinmektedir⁷².

2.4.3. *Streptococcus pneumoniae*

S. pneumoniae, *Streptococcaceae* ailesinden *Streptococcus* cinsinin bir üyesidir. Pnömokoklar birbirine bakan yüzleri düz diğer uçları sivri, 0.5-1.2 µm boyutlarında oval ya da lanset şekilli, kısa zincirler veya ikili koklar (diplokoklar) halinde dizilim gösteren, tipe özgül olarak kapsüllü ya da kapsülsüz bakterilerdir. Gram boyama ile Gram pozitif boyanırlar. Balgam, irin ve seröz sıvıda kısa zincirler halinde bulunurlar. Hareketsiz, sporsuz, katalaz negatif ve fakültatif anaeropturlar. Kapsüllü suşların kolonileri genelde, yuvarlak ve mukoid iken kapsülsüz suşların kolonileri daha küçük ve düz görünmektedir. Tüm koloniler yaşlanmayla otolizise uğramaktadırlar. Aerop koşullarda kanlı agarda alfa hemoliz yaparlar^{78,79}. Gram pozitif, %3 hidrojen peroksit varlığında katalaz ve sitokrom oksidaz negatif diplokoklardır. Pnömokoklar basit besiyerlerinde üremeyip kan, serum, haben sıvısı gibi maddeler içeren zenginleştirilmiş besiyerlerinde %5-10 CO₂ varlığında 18-24 saatte küçük, nemli, yuvarlak ve yüzeyden az kabarık, 0.5-1.5 mm çapında koloniler oluşturarak üremektedirler. Optimal üreme ısı 37°C'de pH 7.4-7.8 olarak bilinmektedir. Karbonhidratları laktik aside fermente ederek enerji kazanırlar. Açığa çıkan laktik asit ise hızlıca toksik seviyelere ulaşarak bakterilerin üremelerini sınırlar⁷⁹. *S. pneumoniae* rutinde kanlı agardaki safrada erime testi, koloni morfolojisi, optokin duyarlılığı ve kapsülü ile tanımlanmaktadır. Optokin duyarlılığı, bir öze kullanılarak alfa hemolitik organizmadan bir koloni alınarak, kanlı agara en az iki yönde keşişecek şekilde sürülür. Optokin diski agarın yüzeyine yerleştirilir, 37°C'de 18-24 saat CO₂ etüvde inkübe edilir, 6 mm'lik optokin diski çevresinde 14 mm ve üzerindeki zon duyarlı, 14 mm altındaki zon ara zon, hiç zon olmazsa dirençli kabul edilir. 10 mm çapında disk kullanıldığında 16 mm ve üzeri zon çapı duyarlı kabul edilmektedir^{78,80}. Safrada erime deneyi iki şekilde yapılmaktadır. Tüp yönteminde buyyona alınan bakteri süspansiyonu (0.5-1 McFarland) 0.5'er ml olarak iki tüpe aktarılıp, daha sonra tüplerden birine 0.5 ml %10 sodyum dezoksikolat (safra) eklenmekte, diğer tüpe 0.5 ml fizyolojik tuzlu su konarak

test kontrolü hazırlanmakta ve 35°C'de üç saat inkübe edilmektedir. Süspansiyon her saat kontrol edilmekte ve berraklaşması ile test pozitif olarak sonuçlandırılmaktadır. Safra tuzları asit ortamda presipite oldukları için bakteri süspansiyonunun pH'sı 7.0 olmalıdır. Kanlı agar besiyerinde üretildiğinde (plak yöntemi) şüpheli koloniler üzerine bir damla %2-10'luk sodyum deoksikolat damlatılır ve 35°C'de 15-30 dakika normal atmosferde inkübe edilir. *S. pneumoniae* kolonileri gözden kaybolur⁸¹. BOS'da pnömokoklara ait bakteriyel antijenleri araştıran hızlı bakteriyel antijen testlerinin klinik yararı tartışılmaktadır. Pozitif kan kültürlerinde doğrudan saptayan nükleik asit prob testleri ticari olarak bulunmaktadır. Bunun yanında vücut sıvılarında pnömokok DNA'sı araştıran PZR yöntemleri BOS için duyarlı ve özgül sonuçlar vermektedir⁷⁸.

Tavşandan tipe özgül kapsül antijenleri ile elde edilen antiserumlarla yapılan Neufeld'in kapsül şişme reaksiyonu (Quellung reaksiyonu) sonucu *S. pneumoniae*'nin 90 serotipi belirlenmiştir. Kapsül şişme deneyi, pnömokokların çeşitli örneklerden direkt çalışılarak tanısını koymada, safrada erime ve optokin duyarlılığı şüpheli suşların tanısında ya da aşı etkinliğini değerlendirmede serotip tayininde kullanılabilir. Numaralandırma sistemi Danimarka'da antijenik benzerliğe (Serogrup 19; 19F, 19A, 19B, 19C tiplerini içerir), Amerika'da ise belirlenme sırasına göre (1-90) yapılmaktadır. Serogrup/serotiplendirmede rakamlar serogrubu, harfler o serogruptaki serotipleri içermektedir. Aynı serogruptaki serotipler çapraz reaksiyon vermektedirler⁸². Bu serotiplerin bir kısmı çok ciddi invaziv enfeksiyonlardan izole edilmektedir. *S. pneumoniae*'nin hastalık oluşturan serotipleri erişkin ve çocukluk yaşında farklılık göstermektedir. Çocuklarda oluşan enfeksiyonların yarısından çoğunda 6A, 14, 19F ve 23F serotipleri ile 4, 6B, 9V, 12F, 18C, 19A; erişkinlerde ise 3, 19F, ve 6A serotipleri ön planda enfeksiyon etkeni olurlar. Serotiplerin dağılımı yaş dışında, ülkeler arası, hatta aynı ülkede merkezler arasında bile bir takım farklılıklar göstermektedir. *S. pneumoniae*'de saptanan serotiplerin yaş, coğrafik konuma bağlı olarak farklılık göstermelerinin yanısıra enfeksiyonun invaziv veya non-invaziv olmasına göre de farklı olabilir⁸³.

Pnömokokların hücre yapısı içinde bakterinin enfeksiyonlarından sorumlu çok sayıda virulans faktörü yer alır. Bakteriyi fagositoz ve opsonizasyona dirençli kılan kapsül, virulansı sağlayan temel yapıdır. Kapsül bakterinin

opsonizasyonunu ve fagositozunu engelleyerek virulansa katkıda bulunur. Kapsül polisakkaritlerine karşı oluşan antikorlar tipe özgüdür. Hücre duvarı diğer Gram pozitif bakteriler gibi, birbirlerine peptid zincirleri ile bağlanmış N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asitten oluşan peptidoglikan tabakadan meydana gelmektedir. Hücre duvarının diğer önemli komponenti galaktozamin, fosfat ve kolinden zengin teikoik asittir. Kolin sadece *S.pneumoniae*'nin hücre duvarında bulunur ve hücre duvarının hidrolizinde düzenleyici role sahiptir^{82,84}. Pnömolizin (ply), PspA (Pnökok yüzey proteini A) ve PsaA-B-C (Pnökok yüzey adhezini A-B-C), hyaluronidaz, nöraminidaz, otolizin (LytA), kolin bağlayan protein A (CbpA), IgA1 proteaz *S. pneumoniae*'nin diğer antijenleri ve aynı zamanda virulans faktörlerindedir. Virulansta yüzey proteinlerinin yanı sıra süperoksit dismutaz, NADH oksidaz ve çinko metallo proteazlar da görev almaktadır. Pnömolizin, sitotoksik bir proteindir. Diğer hücrelerdeki kolesterole bağlanıp membranda porlar açmaktadır. PspA, virulansta çok önemli bir role sahiptir ve bunu da pnökokları konak immün sistemden korumakla yerine getirir. Fagositik hücreleri ve bronşlarda silier motiliteyi inhibe ederler, bazı sitokinlerin (özellikle IL-1, IL-8, TNF) yapımını uyarırlar ve komplemanın klasik yolunu aktive ederler. Otolizin hücre duvarını hidrolize eder ve bakteriyel parçalanmaya neden olur. Hyaluronidaz ve IgA1 proteaz; bakterinin dokuda yayılmasında ve sekretuar IgA inaktivasyonunda rol oynamaktadırlar. Nöraminidaz A-B; adhezyonda rol oynar^{85,86}.

Menenjit, pnömoni, otitis media v.b çok çeşitli enfeksiyonlardan sorumlu olan *S. pneumoniae* bakterisi yıllarca antimikrobik maddelere duyarlı bakteriler olarak tanımlanmıştır. Ancak 1967 yılından başlayarak penisiline dirençli *S. pneumoniae* suşları gittikçe artan oranda bildirilmeye başlanmıştır⁸³. Penisiline duyarlılığı azalmış ilk suş 1965 yılında Boston'da, penisiline dirençli pnökok suşları ise 1967 yılında Avusturalya ve Papua Yeni Gine'den bildirilmiştir. Bundan sonraki 10 yıl boyunca penisilin dışındaki antibiyotiklere karşı önemli bir direnç sorunu görülmemesine karşın, 1977 yılında Güney Afrika'dan penisilin dışında eritromisin ve kloramfenikole de direnç gösteren ilk *S. pneumoniae* kökeni bildirilmiştir⁸⁷. Direnç oranlarının yaş grupları ve ülkelerle ilişkili olarak farklı olduğu gözlenmektedir. Bazı ülkelerde antibiyotiklerin kontrollü kullanımı başta olmak üzere alınan bazı önlemlerle direnç artışı önemli ölçüde azaltılmıştır. Penisilin direnci, PBP'lerde meydana gelen değişikliklerle

oluşmaktadır. Bu değişiklik; PBP genlerinde spontan kromozomal mutasyon gelişmesi ya da dirençli farklı bir bakteriden gelen DNA segmentlerinin pnömokoklarda PBP genlerini kodlayan DNA segmentlerinin arasına yerleşmesi ile mozaik gen meydana gelmesi olmak üzere iki şekilde olabilmektedir⁸⁸. “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI)’a göre pnömokok izolatlarının oksasilin (1µg) zon çapı ≥ 20 mm olduğunda penisiline duyarlı olarak kabul edilir. 2008 yılında CLSI *S. pneumoniae* için penisilin duyarlılığı sınır değerlerini değiştirmiştir. 2008 yılı öncesinde penisilin E-test taramasında Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değeri ≥ 2 µg/ml olduğunda penisilin dirençli, 0.125-1.0 µg/ml arasında olduğunda penisiline orta düzeyde duyarlı ve ≤ 0.06 µg/ml olduğunda penisiline duyarlı *S. pneumoniae* olarak değerlendirilmekteydi. 2008 yılından sonra yayınlanan CLSI dökümanlarında, BOS’dan elde edilen izolatlar için, parenteral kullanılan penisilin MİK değeri ≤ 0.06 µg/ml olduğunda duyarlı, ≥ 0.12 µg/ml olduğunda dirençli olarak değişmiştir. Oral kullanılan penisilin için MİK değerleri ise ≥ 2 µg/ml olduğunda penisilin dirençli, 0.12-1 µg/ml olduğunda penisilin orta düzeyde duyarlı ve ≤ 0.06 µg/ml olduğunda penisilin duyarlı olarak değerlendirilmektedir. Penisilin bağlayan proteinler (PBP), beta-laktam grubu antibiyotiklerin doğal hedefidir ve PBP’leri kodlayan *pbp1a*, *pbp2x* ve *pbp2b* genlerindeki mutasyonlar, *S. pneumoniae*’da beta-laktamlara karşı gelişen dirençten sorumlu tutulmaktadır⁸⁹. Pnömokoklarda yüksek düzey penisilin direnci tüm dünyada başlıca serogrup 6, 9, 14, 19 ve 23 olmak üzere birkaç grupta yoğun olarak görülmekte iken orta düzey penisilin direnci daha geniş bir serogrup topluluğunda gözlenmektedir⁸³. Penisilin direncinin yanı sıra diğer antibiyotiklere özellikle makrolit, trimetoprim-sülfametoksazole ve diğer antibiyotiklere de direnç oldukça yüksek düzeyde saptanmaktadır. Pnömokoklarda makrolid direnci ya ribozomal metilasyon sonucu ya da dışa atım (efluks) mekanizmaları sonucu görülmektedir. Makrolitlere direnç mekanizmalarının araştırıldığı çalışmalarda, suşların çoğunda dirençten sorumlu erm B direnç genleri belirlenmiştir⁹⁰.

2.5. Menenjitin Klinik Bulguları

Menenjite işaret eden semptom ve bulgular ateş, baş ağrısı, ense sertliği, konfüzyon, mental değişimler, letarji, nöbetler ve kusma olarak sıralanabilir. Klasik triad ateş, ense sertliği ve mental değişikliklerdir. Erken dönemde tanı ve

tedavi, prognoz açısından son derece önemli olduğundan bulgular çok dikkatle değerlendirilmelidir. Klasik triadı olan ateş, baş ağrısı ve kusmaya eklenen ense sertliğinin varlığında menenjit tanısı hemen hemen kesindir^{4,5}. Klinik belirti ve bulgular hastanın yaşına, hastalığın şiddetine ve immün yetmezlik durumuna göre oldukça değişiklik gösterir. Bebek ve çocuklarda menenjitin klinik bulguları gizli, değişken ve non-spesifik olabilmektedir. Bebeklerde ateş, hipotermi, letarji, huzursuzluk, beslenme bozukluğu, kusma, ishal, solunum sıkıntısı, nöbet ve şişkin fontaneler klinik bulgular arasında yer alabilmektedir¹⁶.

Ense sertliği, subaraknoid boşlukta kanama veya pürülan eksudanın yarattığı irritasyona bağlı olarak ortaya çıkan menenjitin patogonomik bulgusudur⁵. Brudzinski fenomeni, ense gerilmesi ile meningeal irritasyon bulgularının değerlendirilmesidir. Ensenin pasif fleksiyona gelişi ile kalça ve dizlerde fleksiyon gelişmesi pozitif olarak değerlendirilir. Kernig fenomeninde ise hasta sırt üstü yatar durumda iken, bacak ve ayaklar karın üstünde fleksiyonda iken ayağın 135 dereceden fazla ekstansiyona geçişine direncin söz konusu olması pozitif olarak değerlendirilir⁹¹.

Ateş en sık görülen (%90-95) belirti ve bulgudur. İştahsızlık myalji, artralji, ağır halsizlik, terleme, taşikardi, hipotansiyon ve cilt döküntüleri eşlik edebilmektedir. Menenjit tanısında önemli olan baş ağrısı, bulantı-kusma gibi belirtiler erişkinlerde %50'den daha az oranda gözlenmektedir. Bazı hasta gruplarında bakteriyel menenjit klasik bulgularıyla birlikte görülmeyebilir⁴². Hastalığın başlangıç tablosunda stupor ve koma yaygın olmamakla birlikte erken dönemlerde koma tablosunun görülmesi, hastalığın prognozunun kötü olacağının önemli bir işareti olabilmektedir. Fizik muayenede bilinç değişikliği saptanabilir. Çocuklar laterji ve huzursuzluk saptanabilir. Ense sertliği olguların %60-80'inde vardır. Meningeal irritasyon bulgularından Kernig ve Brudzinski bulguları bakılmalıdır, ancak saptanamaması menenjiti dışlamamaktadır¹⁸. Fokal nörolojik belirti ve bulgular artan kafa içi basıncı veya kan akımı bozukluğuna bağlı infarktlarla açıklanabilir. Papil ödemi; venöz sinüs trombozu, beyin absesi, BOS akımında tıkanıklık veya subdural ampiyem gibi bir komplikasyonun geliştiğini gösterir. Meningokokal menenjitli hastalarda peteşi purpura görülebilmektedir¹³. Meningokokoksik hastalıkların daha az sıklıkta görülen ancak daha ciddi tablolara neden olan bir bulgusu hızlı dolaşım kollapsı ve hemorajik döküntülerin ortaya çıkmasıdır. Watherhouse-Friderichsen

sendromu meningokoksik enfeksiyonlu çocukların yaklaşık %10-20'sinde görülmektedir. Bu sendrom, ciltte ve mukozalarda yaygın hemorajik peteşiler, ateş, septik şok ve dissemine intravasküler koagülasyon bozuklukları ile gözlenir¹⁸. Konvülsiyon akut bakteriyel menenjitli çocukların %30-40'ında genellikle ilk üç günde gözlenebilmektedir. Pnömonok ve Hib menenjitlerinde meningokok menenjitine göre dah fazla görülmektedir. Hib menenjitlerinin yaklaşık yarısında hiponatremi ve uygunsuz antidiüretik hormon salınımı olabilmektedir⁵. Bir pürülan menenjit olgusunda erken dönemde konvülsiyon, subdural ampiyem, beyin ödemi gibi komplikasyonların ortaya çıkması, öncelikle pnömokoksik menenjiti akla getirmelidir. Posttravmatik ve tekrarlayan menenjitlerde de en sık etken *S. pneumoniae*'dir. Akut bakteriyel menenjit şüpheli bir hastanın anamnezinde mutlaka aşılama, altta yatan hastalıklar, travma, kullanılan ilaçlar, seyahat öyküsü, yaşam koşulları sorgulanmalıdır⁴².

2.6. Menenjit Tanısı

Menenjitten şüphelenince lomber ponksiyon (LP) yapıp BOS incelemesi ile tanı konulmaktadır. BOS'da Gram boyama ve kültür, beyaz küre sayısı ve lenfosit-polimorfonükleer lökosit ayırımı, protein ve glukoz incelemeleri yapılır⁹². Lomber ponksiyon öncesi yapılması gereken testler planlanmalı ve testlere yetecek kadar tüp hazırlanmalıdır. Genellikle üç yada dört tüp gerekmektedir. Birinci tüp kimyasal ve serolojik testler için, diğer tüpler mikrobiyolojik ve hematolojik testler için kullanılmaktadır⁹³.

2.6.1. Bakteriyel Menenjit Tanısı

Bakteriyel menenjit enfeksiyonlarının mortalitesi yüksek olmakla birlikte erken tanı ve agresif tedavi başarı şansını artırmaktadır. Tanıda BOS'un incelenmesi esastır. BOS'da hücre sayımı, glukoz ve protein miktarının saptanması, Gram boyama ile mikroorganizma aranması tedavinin yönlendirilmesi açısından yol gösterici olmaktadır. Ayrıca BOS kültürü, serolojik testler ve görüntüleme yöntemleri, etkene yönelik moleküler ve biyolojik testler yapılması gereken diğer tanı yöntemleridir⁹⁴.

ABM'de BOS rengi bulanık, BOS lökosit sayısı genellikle >1000 hücre/mm³ (polimorfonükleer lökosit hakim), protein yüksek, glukoz düşük beklenmektedir. Hastaların %20 kadarında BOS lökosit sayısı <250/mm³

olabilmektedir. Hastanın daha önceden antibiyotik almış olması Gram boyama ve kültür sonuçlarını etkileyebilir. Uygun intravenöz antibiyotik alımından sonra birkaç gün nötrofil hakim hücre artışı, protein yüksekliği ve glukoz düşüklüğü devam edebilmektedir. Öncesinde antibiyotik tedavisi alanlarda BOS'da bakteri antijenlerinin varlığını saptamaya yönelik testler yapılabilir, ancak duyarlılık %60-90 arasında olmaktadır⁹².

2.6.1.1. Lomber Ponksiyon

LP, birçok hastalık tanısında kritik öneme sahiptir. Bunlar arasında bakteriyel, viral veya fungal menenjit, ensefalit, myelit, SSS'nin diğer inflamatuvar hastalıkları, malignensiler ve intraserebral kanamalar yer almaktadır⁹⁵.

LP bakteriyel menenjit tanısında en önemli basamaktır ancak invaziv ve ağrılı bir işlemdir. LP için hastanın pozisyonu önemlidir. Hasta mümkün olduğu kadar yatağın kenarına çekilmeli, sırtı yatak kenarına paralel duruma (dekübit pozisyonu) getirilmelidir. Hastanın 3-4. lomber aralığı parmakla yoklanarak iki spinal çıkıntı arası cilt kalemiyle işaretlenir. Bölgenin genişçe povidon iyodin veya klorhekzidin bazlı solusyonla dezenfeksiyonu tamamlandıktan sonra lokal anestezi yapılır. En çok üç dakika kadar beklenir ve ponksiyon iğnesi spinal çıkıntılarının eksenini yönünden ileri ve hafif yukarı doğru ilerletilir. İşlem sonrası mil kapatılarak iğne çekilir, bölge steril olarak kapatılır ve hastanın dört-altı saat kadar yatar pozisyonda kalması önerilir, vital ve nörolojik bulgular izlenir^{93,96}.

LP, kafa içi basıncın çok arttığı, belirgin papil ödemi görülen, serebral kitle oluşturan lezyonlarda, bradikardi, trombositopeni ($<50.000/\text{mm}^3$), koagülasyon bozukluklarında kontrendikedir. SSS lezyonları veya artmış kafa içi basınç menenjit tablosunu taklit edebildiği için klinisyen menenjit ayırıcı tanısında dikkatli olmalı ve gerekli gördüğü durumda bilgisayarlı tomografi (BT) ile diğer durumlar ekarte edildikten sonra LP yapmalıdır^{95,97}.

Alınan BOS örneklerinin incelemesi; Gram boyama, bakteriyolojik kültür, beyaz küre (WBC) sayımı, glukoz ve protein incelemesini içermelidir⁹⁸.

Erişkinlerde LP sonrası normal BOS bulguları Tablo 4'te özetlenmiştir.

Tablo 4. Normal beyin omurilik sıvısının özellikleri⁹⁷

Basınç	6-14 mmHg
Hücre sayısı	<5/ μ L
Protein	15-45 mg/dL
Glukoz	45-60 mg/dL.
Kan/glukoz oranı	\geq 0.6
Gram boyama	Mikroorganizma görülmemeli
Sitoloji	Atipik hücre olmamalı

2.6.1.2. Hücre Sayımı

Total BOS hücre sayımı, diğer analizlerden elde edilen verilerin yorumlanmasına yardımcı olmanın yanı sıra akut inflamasyonu gösteren önemli bir parametredir. Yüksek eritrosit değerleri, kanama veya travmatik ponksiyon ile ilişkili olabilmektedir. Diferansiyel hücre sayımı inflamasyon tipinin saptanması ve ayırıcı tanı için ek bilgiler sunmaktadır (örneğin viral enfeksiyon ile bakteriyel enfeksiyon ayrımı)⁶.

BOS alındıktan hemen sonra hücre açısından değerlendirilmelidir. Ortalama 30-60 dakika sonra BOS'daki lökositler azalmaya başlamaktadırlar. SSS enfeksiyonlarının tanısında ve tedaviye yanıtın izlenmesinde BOS'daki hücre sayısı ve hücrelerin tipi çok önemlidir. Normalde çocuk ve erişkinde santrifüje edilmemiş BOS'da hücre sayısı 0-5/mm³'dir ve sitoplazmaları dar küçük lenfositlerden oluşur. Büyük lenfositler ve diğer mononükleer hücreler, nötrofiller, plazma hücreleri ve eozinofil normalde beklenmez⁹³. Bakteriyel menenjitli hastaların %90'ında lökosit sayısı 100/ml'den, %65-70'inde 1000/ml'den fazla lökosit görülür ve polimorfonükleer nötrofil (PNL) hakimdir⁵.

Akut bakteriyel menenjitlerde baskın hücre tipi çoğunlukla nötrofiller olmakla birlikte, viral ve tüberküloz menenjitlerde de ilk dönemlerde nötrofil baskınlığı gözlenebilmektedir. Bakteriyel menenjitlerde geriatric hastalar, yenidoğanlar ve immün sistemi baskılanmış hastalarda beyaz küre sayısı normal veya düşük olabilmektedir⁷.

2.6.1.3. Gram Boyama

Gram boyama, zaman geçirilmeden hemen hazırlanabilen ve hızlı tanı koymada son derece faydalı olan bir yöntemdir¹⁸. Gram boyamada bakterinin görülme şansı bakteri miktarına bağlıdır. BOS bakteri miktarı 10³ ve altında ise görülme şansı %25 iken, 10⁵ ve üzerinde ise görülme şansı %97'lere kadar

artmaktadır. Gram boyama ile bakterilerin %60-90'ına tanı konabilmektedir. Bakteriyel menenjitte henüz tedavinin başlanmadığı dönemde, Gram boyama ile etken patojen %50-90 oranında gösterilebilmektedir. Özgünlüğü %97 civarındadır ve bunların %80'i de kültür yöntemleri ile üretilebilir. Santrifüj sonrası BOS'un incelenmesi Gram boyada tanı şansını arttırmaktadır^{5,16}. Örnek en az 15 dakika 3000 x g. olarak santrifüj edilmelidir. Pnömonok ve stafilokok menenjitlerinde tespit oranı en yüksektir⁹³. Öncesinde tedavi almamış bakteriyel ve fungal menenjitlerde Gram boyama, hem hızlı hem de ucuz olmasının yanısıra %90'lara kadar duyarlılık ve özgüllük oranına sahip olabilmektedir⁹⁹. Öncesinde antibiyotik kullanılmış hastalarda Gram boyamanın duyarlılığı ise düşmektedir⁶³.

2.6.1.4. Biyokimyasal Analiz

BOS'un biyokimyasal analizi kısıtlı olsa da bakteriyel menenjit ve diğer enfeksiyonlar ve inflamatuvar hastalıkların ayırımında yardımcı olabilmektedir. BOS'da rutin olarak protein ve şeker düzeyi ölçülmesi gerekir. Bakteriyel menenjitlerde BOS proteini artar. BOS protein yüksekliği akut bakteriyel menenjit ve diğer inflamatuvar hastalıklar için nonspesifik bir ayıraçtır. BOS şeker düzeyi, kan şekerine bağlı olduğundan BOS şeker düzeyi mutlaka eş zamanlı kan şekeri düzeyi ile birlikte değerlendirilmelidir. Eş zamanlı olarak alınacak kan şekeri mutlaka LP yapılmadan hemen önce alınmalıdır. Düşük BOS glukoz düzeyleri ise akut bakteriyel menenjit için çok daha faydalı bir sonuçtur. Akut bakteriyel ve tüberküloz menenjitte %90 oranında glukoz seviyesi düşerken, viral menenjitlerde bu düşüş gözlenmemektedir^{4,7}.

LP yapıldıktan sonra eğer; Gram boyamada bakteri saptandı ise, BOS glukozu 40 mg/dL'nin altında veya BOS/kan glukoz oranı 2/3'ten az ise, BOS protein miktarı 200mg/dL üzerinde ise, BOS beyaz küre sayısı 1000/mL üzerinde ise, lökositlerin %80'inden fazlası PNL şeklinde ise, BOS basıncı 300 mm üzerinde ise bakteriyel menenjit ön tanısı ile mutlaka ampirik antibiyotik tedavisi başlamak gereklidir⁴.

Bu belirteçlerin dışında bakteriyel menenjitte tanı değeri olan başka belirteçler de vardır. Bunlardan ikisi BOS laktat ve serum prokalsitonin seviyeleridir. Bir çalışmada BOS laktat seviyesi 4.2 mmol/L üzerinde olan hastalarda bakteriyel menenjit ilişkisinin duyarlılığı %96, özgüllüğü %100

bulunmuştur. Ancak unutulmamalıdır ki BOS laktat seviyeleri serebral iskemi ve anaerobik metabolik durumlarda da yükselebilir. Prokalsitonin düzeyinin incelenmesi daha çok çocuk hastalarda olmaktadır. Bir çalışmada 5 µg/L üzerinde serum prokalsitonin düzeyi ile bakteriyel menenjit ilişkisi incelenmiş ve duyarlılık %94, özgüllük %100 bulunmuştur⁸.

Çeşitli menenjit tiplerinde BOS bulguları Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5. Çeşitli menenjit tiplerinde BOS bulguları^{3,17}

	Basınç	Görünüm	Hücre *	Protein **	Glukoz ***
Akut bakteriyel menenjit	Artmış	Pürülan	>1000 / ml PNL baskın	Artmış	Azalmış
Tüberküloz menenjit	Artmış	Berrak, ksantokromik	<500/ ml MNL baskın	Artmış	Azalmış
Fungal menenjit	Artmış	Berrak, opelesan	<1000/ ml MNL baskın	Artmış	Azalmış
Viral menenjit	Normal veya hafif artmış	Berrak	0-250 MNL baskın	Normal veya hafifçe artmış	Normal

* Viral menenjtitlerin ve Tüberküloz menenjitinin erken döneminde BOS’da PNL’ler çoğunlukta olabilir (PNL: polimorfonükleer lökosit, MNL: mononükleer lökosit).

** Normal BOS proteini 15-45 mg/dl’dir.

***Normal BOS glukozu eszamanlı olarak bakılan kan glukozunun 2/3’ü kadardır.

2.6.1.5. Kültür

BOS kültürü hemen, mümkünse hasta başında yapılmalıdır. BOS örneği rutin olarak kanlı agar ve çikolatamsı agar besiyerine aerop ve %5 CO₂’li ortamda ekilmeli, kan kültür şişesine örnek alınmalıdır. Sıvı besiyeri olarak beyin-kalp infüzyonu besiyeri de kullanılabilir⁴². BOS örnekleri mümkünse antibiyotik tedavi öncesi alınmalıdır. Miktar en az 0.5 ml olmalı, *M. tuberculosis* için ise en az beş ml olmalıdır. Örnekler mümkün olduğunca hızlıca oda ısısında nakledilmeli ve hemen işleme alınmalıdır¹⁰⁰. Bakteriyel menenjitte kesin etyolojik tanı etkenin kültürde üretilmesi ile konur. Bakteriyolojik kültür altın standarttır ve antibiyotik duyarlılık olanağı sağlamakla birlikte klinisyeni uygun tedaviye yönlendirmektedir. Kültürde bakteriyi üretmede hastanın önceden antibiyoterapi alıp almadığı önem kazanmaktadır. Öncesinde antibiyotik almış hastalarda kültür sonucu negatif olabilmektedir^{7,13,16,63}. Bakteriyel menenjit etkenlerinin kültürde üretilme oranı önceden antibiyotik almamış hastalarda

%70-85 oranındadır. Kültürün dezavantajı mikroorganizmayı tanımlamak için 24-48 saat gibi bir zaman dilimine ihtiyaç olmasıdır¹⁰¹. Bakteriyel menenjitli 128 çocuk hastada yapılan bir çalışmada, LP öncesi antibiyoterapi almayan hastalarda kültür pozitiflik oranı %97 iken, LP öncesi oral antibiyoterapi alanlarda kültür pozitifliği %67, parenteral antibiyoterapi alanlarda kültür pozitifliği %56'ya düşmüştür¹⁰². Kan kültürü, menenjit şüpheli hastalarda antibiyotik kullanımından önce rutin olarak alınmalıdır. Birçok çalışmada bakteriyel menenjitli hastalarda kan kültürünün pozitiflik oranı %50-90 arasında bulunmuştur⁸.

2.6.1.6. Lateks Aglütinasyon Testi

LAT ile BOS'daki kapsül polisakkaridleri ve hücre duvarı komponentleri saptanmaktadır. Bu test Hib, *N. meningitidis* serogrup A, B, C, Y, W135, *S. pneumoniae*, grup B streptokok ve *E. coli* için yapılabilmektedir⁵. BOS'da bakteriyel antijenlerin incelenmesi, bakteriyel menenjitin erken tanı ve tedavisi için çok önemli bir basamak oluşturmaktadır¹⁰³. LAT bakteriyel menenjit tanısında oldukça hızlı bir test olmakla birlikte 15 dakikadan kısa bir sürede tanıya gidebilmektedir. Çeşitli çalışmalar testin duyarlılığını *H. influenzae* için %78-100, *S. pneumoniae* için %59-100, *N. meningitidis* için %22-93 olduğunu göstermektedir⁶³. Öncesinde antibiyotik tedavisi verilip hastaneye başvuran hastalarda immünokromotografi veya LAT gibi BOS'da bakteriyel antijen tayin testleri özellikle *S. pneumoniae*, *N. meningitis* ve *H. influenzae*'de oldukça duyarlı bulunmuştur. Bu testler pahalı olduğu gibi mikroskopi ve kültürü negatif olan hastalarda tanıya oldukça yarar sağlamaktadır^{7,8}.

2.6.1.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SSS enfeksiyonlarında mikroorganizmanın her zaman tespit edilememesi, kültür sonuçlarının geç alınması nedeniyle hızlı tanı yöntemlerinin kullanımına yönelilmiştir. Bunlardan en umut vereni PZR yöntemleridir⁹³. Kültür yöntemlerinin en az 24 saat süre aldığı ve öncesinde antibiyotik kullanılmış hastalarda kültür duyarlılığının belirgin bir biçimde düştüğü göz önüne alınırsa, PZR gibi hızlı tanı yöntemlerinin bakteriyel menenjitin hızlı tanısında kültüre göre tanısal anlamda daha etkili olduğu görülmektedir¹⁰⁴. Son yıllarda BOS'da mikrobiyal deoksiribonükleik asit (DNA)'i çoğaltan ve belirleyen

PZR teknikleri geliştirilmiştir ve yaygınlıkla kullanılmaktadır. PZR tekniğinde uygun primer dizilerinin seçilmesi önemli bir faktördür ve sınırlama getirmektedir. Bu sınırlama bakterinin 16S rDNA bölgesini hedefleyen primerlerin kullanılmasıyla çözümlenebilmektedir. Daha sonra bu universal PZR ürünlerinin kesim enzimleri ile muamele edilmesinden sonra bakteriyel türler belirlenebilmektedir¹⁰⁵. Çeşitli PZR metodları *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis*'i tek tüp içerisinde multipleks olarak saptamak için geliştirilmiştir. Bu yöntemlerde *S. pneumoniae* için pnömolizin (ply) gen bölgesi, *H. influenzae* için bexA gen bölgesi, *N. meningitidis* için porA ve ctrA gen bölgeleri tespit edilebilmektedir¹¹. Örneğin pnömokok menenjitli hastalarda PZR temelli tanı testleri klinik örneklerde tespit yaparken canlı bakteri gerektirmez ve yüksek duyarlılıkta pnömokok menenjit tanısı koyabilmektedir¹⁰⁶. Yine pnömokok menenjitlerinde hızlı immünokromotografik testler, Gram boyama ve kültürle kombine olarak değerlendirildiğinde %100 duyarlılıkta tanı koymaktadırlar¹⁶.

2.6.2. Tüberküloz Menenjit Tanısı

TBM tanısında anamnezin veya klinik bulguların yardımı çok fazla olmamakla birlikte özellikle çocuklarda geçirilmiş tüberküloz öyküsünün olması çok anlamlıdır. BOS basıncı artmıştır, görünüm renksiz veya ksantakromik olabilmektedir. Genellikle hücre sayısı $500/\text{mm}^3$ altındadır. Hücrelerin çoğunluğunu lenfositler oluşturmaktadır. BOS oda ısısında bekletildiğinde fibrin ağı oluşumu gözlenir. BOS proteini yüksek, glukoz seviyesi düşüktür. BOS sedimentinde aside rezistan basil (ARB) görülmesi erken tanı açısından önemlidir. ARB pozitiflik oranı %10-40'tır. Üst üste dört BOS örneğinin incelenmesiyle bu oran %80-85'e çıkmaktadır. BOS sedimentinin ayrıca auramin-rodamin boyamasıyla incelenmesi ARB pozitiflik oranını artırmaktadır. Tüberküloz menenjitinin kesin tanısı BOS kültüründe tüberküloz basilinin üretilmesiyle konulur. Kültürün duyarlılığı da %20-70 arasında değişmektedir¹⁰⁷. TBM'nin erken tanısı, tedavi ve prognozda anahtar rol oynamaktadır. BOS örneklerinden *M. tuberculosis*'in kültürde üretilmesi 2-6 hafta zaman almakla birlikte miktar olarak 6 ml ve altı örneklerin test edilmesinde kültürün duyarlılığı düşmektedir¹⁰⁸. Tüberküloz menenjitinin erken tanısında BOS'da adenoazin deaminaz (ADA) aktivitesinin yükselmesi, LAT, ELISA yöntemi, PZR yöntemi

kullanılabilir. Ancak PZR yönteminin BOS örnekleri için duyarlılığının %48, özgülüğünün ise %100 olduğu belirtilmektedir¹⁰⁷.

2.6.3. Aseptik Menenjit Tanısı

Enteroviral menenjitlerde hemen daima mononükleer pleositoz görülür. Hücre sayısı 100-1000/mm³tür. BOS glukozundaki düşme ve proteinindeki yükselme genellikle hafiftir¹⁰⁹. Enterovirus enfeksiyonlarının tanısında hücre kültürü standart yöntem olmakla birlikte örnekte yüksek miktarda canlı virus olması gereklidir ve bazı serotipler hücre kültüründe saptanamayabilir. Bu şekilde virüs izolasyonu oranı %65-75 civarındadır. Ayrıca hastanın orofarenks ve dışkılarından enterovirüs izolasyonu da etiyolojik tanı için değerlidir. Enteroviruslar farklı serotipler arasında ortak antijen içermediğinden IgM düzeyleri değişkenlik göstermekte ve bu nedenle antikor testleri SSS enfeksiyonu tanısında yaygın olarak uygulanamamaktadır. Enterovirusların korunmuş dizileri olan 5'NTR (non-translated region; kodlama yapmayan bölge) bölgesinin hedef alındığı, klinik örneklerden viral RNA'nın araştırılmasına yönelik ters transkripsiyon PZR (RT-PZR) tekniği ile tanının daha hızlı bir şekilde koyulduğu belirtilmektedir⁵⁷. Özellikle herpesviruslar için beyin biyopsisi veya BOS'da antijen saptanabilir. Fokal tutulum yapan HSV ensefalitinde, beyin biyopsisinden virus kültürü ve/veya viral antijenlerin saptanması, bir dönem altın standart olarak kabul edilmesine karşın, günümüzde yerini, BOS'da nükleik asit saptama yöntemlerine bırakmıştır¹⁰⁹.

2.7. Ayırıcı Tanı

Bakteriyel menenjitin ayırıcı tanısı aseptik menenjitin enfeksiyöz olan ya da enfeksiyöz olmayan tüm nedenlerini içerir. Enfeksiyöz nedenler arasında en çok viral etkenler, ayrıca kısmen tedavi edilmiş bakteriyel menenjit ve fokal SSS enfeksiyonları gelmektedir. Mantarlar, tüberküloz, nokardia, parazitler, Lyme hastalığı, sifiliz ve atipik bakterilerle bakterilerle meydana gelen menenjitler de ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Enfeksiyöz olmayan nedenler arasında malign hastalıklar, Sistemik lupus eritematozis, Sarkoidoz, Behçet hastalığı, Wegener granülomatozu gibi sistemik hastalıklar, kurşun zehirlenmesi ve ilaçlar vardır⁹².

2.8. Prognoz

Akut bakteriyel menenjitin klinik seyri, yaş, etken mikroorganizmanın virulansı, altta yatan hastalıklar ve uygun tedavinin başlanıp başlanmaması gibi birçok faköre bağlı olarak değişmektedir. Hastaya yapılan BOS tetkiklerinde düşük beyaz küre sayısı, düşük glukoz seviyesi ve yüksek protein seviyesi, hastalığın şiddeti, hastada döküntü olması, kan kültüründe üreme olması mortalite ve morbiditenin artışına paralellik göstermektedir. Fatalite hızı %17-37 arasındadır⁴². Yapılan çalışmalarda en yaygın görülen sekelin işitme kaybı olduğu vurgulanmaktadır. Afrika'daki yapılan çalışmalarda sekel oranı en yüksek oranda bulunmuştur. Uzun dönem sekeller en sık *S. pneumoniae* menejitlerinde meydana gelmektedir¹¹⁰. Bunun dışındaki sekeller; nöbetler, motor problemler, hidrosefali, mental retardasyon ve bunun yanında bilişsel, davranışsal sorunlar olarak sıralanabilir. Bunun yanında çocuk hastalarda yaş küçüldükçe ve ileri yaşlarda prognoz daha kötü olmaktadır. Etkenler değerlendirildiğinde, *S. pneumoniae* menenjitinin diğer bakterilere göre prognozu daha kötüdür. Serebral infarkt özellikle pnömokok menenjitlerinde hastalığın ilk beş gününde inflamasyona bağlı olarak karşımıza çıkmaktadır. Diğer bir prognostik faktör hastada menenjit sırasında meydana gelen peteşidir. Peteşi ne kadar fazla ise prognoz daha ciddidir. Tam olarak açıklanamamış olsa da erkek cinsiyet te menenjitte bir prognostik faktör olarak göze çarpmaktadır^{111,112}. Pnömokokal menejit sonrası ölüm oranı %20-25 arasında değişmektedir. Antibiyotiklerin etkin kullanıma bağlı olarak *N. meningitidis* menenjitinde mortalite %20'nin altındadır. Ancak meningokoksemik menenjitte Waterhouse-Friderichsen sendromu diğer etkenlere nazaran daha sık olarak görülmektedir¹¹³. Pnömokok menenjitlerinden sonra hastaların yaklaşık %15'inde şok tablosu gözlenmektedir. Bakteriyel menenjit sonrası konvülsiyon yaklaşık olguların 1/3'ünde görülmektedir⁴. Menenjitte akut sürrenal yetmezliği, dissemine intravasküler koagülasyon (DİK), endokardit, septik artrit gelişebilir. Tedavi ile fokal norolojik bulgular hızla düzelir, düzelmezse beyin hidropsu, subdural efüzyon, hidrosefali, lokalize ventrikülit, kortikal tromboflebit ve sagittal sinus trombozu düşünölmelidir⁶¹.

2.9. Menenjit Tedavisi

Uygun antibiyotik tedavisine rağmen akut bakteriyel menenjitli olgularda mortalite %13-27 arasında değiştiği bildirilmektedir¹³. Antibiyotik tedavisine başlamak için mikrobiyolojik ve serolojik testlerin sonuçlanması beklenmemeli ve kullanılacak antibiyotiklerin ilk dozu 30 dakika içinde verilmelidir. Hasta hastaneye yatırılarak, diş etken ve uyarılardan uzak tutulmalıdır. Damar yolu açılarak kaybedilen sıvı yerine konulmalı ve ağızdan beslenemeyen hastalarda damar yolu ile beslenme sağlanmalıdır⁶¹.

Bakteriyel menenjit tedavisinde kullanılacak antimikrobiyal ajanın laboratuvar ortamında yani invitro bakterisidal olması da yeterli değildir. Menenjitin geliştiği ortam kapalı bir alan ve kan-beyin bariyeri gibi etkili sınır kontrolü bulunan bir ortam olduğu için, ajanın bu alana bakterisidal konsantrasyonlarda ulaşması gerekmektedir. Bakterisidal konsantrasyonun sağlanmasında antimikrobiyal ajanın üç önemli özelliği rol oynar; kan beyin bariyerini geçişi, pürülan BOS içerisindeki antimikrobiyal etkinliği ve BOS içerisindeki metabolizması ve temizlenme hızıdır. BOS geçişi açısından antibiyotikler farklı özellikler gösterirler. Antibiyotiğin lipid çözünürlüğü ne kadar yüksekse kan beyin bariyerinden geçişi de o kadar iyidir. Antimikrobiyal ajanın BOS'a geçişinde önemli olmakla beraber en önemli faktör, kan-beyin bariyerinin durumu, inflamasyonun varlığıdır. Şiddetli olmayan inflamasyon varlığında dahi kan-beyin bariyerinin geçirgenliği belirgin şekilde artar. Pürülan menenjit varlığında antimikrobiyal ajanların geçişleri 1.000'li katlara kadar artmıştır. Akut bakteriyel menenjitte etken sıklıkla tedavinin başlanacağı dönemde belirlenemez, bu nedenle tedavinin ampirik olarak özellikle hastanın yaş grubuna ve bulunan bölgenin özelliklerine göre başlanması gereklidir¹².

2.9.1. Ampirik Antibiyotik Seçimi

Ampirik antibiyotik seçiminin olası mikroorganizmalar ve direnç paternleri düşünülerek verilmesi gereklidir. Birçok tedaviye yönelik araştırma ilk seğenek olarak 3. kuşak bir sefalosporin (seftriakson, sefotaksim) ile vankomisin kombinasyonunu önermektedir. Seftriakson hastane dışında gelişmiş, altta yatan hastalığı olmayanların akut bakteriyel menenjitinde sorumlu olan *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae*'ya etkilidir. Özellikle *S. pneumoniae*'deki penisilin direncinden dolayı seftriaksona vankomisin

eklenmesi gerekliliği dođmaktadır¹¹⁴. *L. monocytogenes* enfeksiyonu düşünülüyor ise sefalosporinlere dirençli olduğu için tedavide yüksek doz ampisilin veya amoksisilin, intravenöz gentamisin ile kombine olarak kullanılması gerekmektedir. Şant enfeksiyonlu stafilokok menenjit şüphesinde linezolid tedavisi metisilin dirençli olanlar açısından başlanabilmektedir¹⁷. Birçok çalışmada penisilin dirençli pnömokoklar %14-20 orta düzeyde dirençli, %3-14 oranında yüksek düzeyde dirençli bulunmuştur. ABD'de penisilin dirençli pnömokokların %40'ında 3. kuşak sefalosporinlere de direnç vardır. Bu penisilin dirençli suşlar ayrıca yüksek oranda trimetoprim-sülfometaksazol, klindamisin ve makrolidlere de direnç göstermektedir. Menenjite neden olan pnömokoklar genellikle vankomisin ve moksifloksasiline duyarlıdır. Birçok uzman bu nedenlerden dolayı pnömokok menenjit tedavisinde seftriaksona ek olarak tedaviye vankomisinin de eklenmesini önermektedir. Vankomisin, kan beyin bariyerindeki yetersiz penetrasyonu nedeniyle monoterapide önerilmemektedir⁴.

Çoğu patojen için 10-14 günlük tedavi süreleri yeterli olmakla birlikte, meningokok menenjiti için 5-7 gün, pnömokok için 10-14 gün, Hib için 7-10 gün, *L. monocytogenes* ve *Enterobacteriaceae spp.* için ise 3-4 haftalık tedaviler önerilmektedir³¹.

Gram boyama sonucunda Gram pozitif kok görülen hastalara vankomisin ile sefalosporin kombine olarak, Gram negatif kok görülenlere penisilin G başlanmalıdır. Yine Gram boyamada Gram pozitif basil gözlenen hastalara ampisilin ve sefalosporin, eğer Gram negatif basil ise sefalosporin başlanması önerilmektedir¹².

Kombine antibiyotik tedavisi; tüberküloz menenjit, brusella menenjiti, etken saptanamayan olgularda ve yenidoğan ve infant menenjitlerinde uygulanır⁶¹.

Akut bakteriyel menenjit tedavisinde BOS kültüründe üreyen bakteriye ve direnç paternine göre antibiyotik seçilmelidir. Bununla ilgili ayrıntılı bilgi Tablo 6'da özetlenmiştir.

Tablo 6. BOS kültüründe üreyen bakteriye göre spesifik antibiyotik seçimi¹⁰¹

Mikroorganizma	Standart tedavi	Alternatif tedavi
<i>Haemophilus influenzae</i> β-laktamaz negatif β-laktamaz pozitif	Ampisilin Üçüncü kuşak sefalosporin	Üçüncü kuşak sefalosporin; sefepim; kloramfenikol; aztreonam Sefepim; kloramfenikol; aztreonam; florokinolon
<i>Neisseria meningitidis</i> Penisilin MİK <0,1µg/ml Penisilin MİK 0,1-1,0µg/ml	Penisilin G veya ampisilin Üçüncü kuşak sefalosporin	Üçüncü kuşak sefalosporin; kloramfenikol Kloramfenikol; florokinolon
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Penisilin MİK<0,1µg/ml Penisilin MİK 0,1-1,0µg/ml Penisilin MİK ≥2,0µg/ml	Penisilin G veya ampisilin Üçüncü kuşak sefalosporin Vankomisin + üçüncü kuşak sefalosporin	Üçüncü kuşak sefalosporin; vankomisin Meropenem; vankomisin 3.kuşak sefalosporin + florokinolon
Enterobacteriaceae	Üçüncü kuşak sefalosporin	Aztreonam; florokinolon; SXT; meropenem
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Seftazidim veya sefepim	Aztreonam; florokinolon; meropenem
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ampisilin veya penisilin G	SXT
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Ampisilin veya penisilin G	Üçüncü kuşak sefalosporin; vankomisin
<i>Staphylococcus aureus</i> Metisilin duyarlı Metisilin dirençli	Nafsilin veya ofloksasin Vankomisin	Vankomisin SXT, Linezolid
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Vankomisin	Linezolid
<i>Treponema pallidum</i>	Penisilin G	Seftriakson
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Üçüncü kuşak sefalosporin	Penisilin G; doksisisiklin

Yaş gruplarına ve etkenlere göre ampirik menenjit tedavisi tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. Yaş gruplarına ve etkenlere göre ampirik menenjit tedavisi¹¹⁵

Yaş	Sık görülen etkenler	Ampirik tedavi	Ek tedavi
Yenidoğan (0-30 gün)	Grup B Streptokok, <i>Escherichia coli</i> , <i>L. monocytogenes</i>	Sefotaksim+Ampisilin	<i>L. monocytogenes</i> şüphesi varsa Gentamisin eklenir
Süt çocuğu (1-24 ay)	Grup B Streptokok, <i>Escherichia coli</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>S. pneumoniae</i>	Sefotaksim+Vankomisin	Dirençli <i>S. pneumoniae</i> suşlarında Vankomisin eklenir
Çocuk (2-18 yaş)	<i>N. meningitidis</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>S. pneumoniae</i>	Seftriakson+Vankomisin	Meningokok riski yüksek ise aşılama düşünölmelidir
Erişkin (18-65 yaş)	<i>S. pneumoniae</i> , <i>N. meningitidis</i>	Seftriakson+Vankomisin	Meningokok riski yüksek ise aşılama düşünölmelidir
Yaşlı (>65 yaş)	<i>S. pneumoniae</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> , diğer Gram negatif bakteriler	Seftriakson+Vankomisin+ Ampisilin	<i>L. monocytogenes</i> etken ise Ampisilin eklenmelidir

Bakteriyel menenjitte kortikosteroid kullanımı konusunda bir fikir birliğine varılamamıştır. Kortikosteroidler, bakteriyel menenjitte beyin ödemi, intrakraniyal hipertansiyonu ve meningeal inflamasyonu azaltmaktadır³¹. Gram boyamasında bakteri görünen, BOS hücre sayımında 1000/mm³ lökosit olan hastalarda antibiyotiğin ilk dozu ile birlikte veya öncesinde verilen steroid tedavisinin mortaliteyi %15’ten %7’ye düşürdüğü vurgulanmaktadır¹¹⁶. Steroid tedavisi özellikle *H. influenzae* menenjitli hastalarda işitme bozukluğu ve nörolojik hasarlarda faydalı olabilmektedir¹¹⁷. Steroidlerden ampirik olarak verilen deksametazonun (0.15 mg/kg/doz günde 4 defa) antibiyotik kullanımından 12 saat sonra başlanması ve 2-4 gün boyunca devam edilmesi önerilmektedir¹¹⁴. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda steroid tedavisinin pnömokok menenjitlerindedeki serebral ödem, BOS basıncını ve BOS laktat seviyesini düşürdüğü gözlenmiştir. Onbir çalışmanın metaanalizinin sonuçlarına göre deksametazon kullanımının işitme kaybı dışında diğer nörolojik defisitleri azaltmadığı bildirilmiştir⁴. Son yıllarda *H. influenzae* insidansının azalması ile birlikte çocuk hastalarda steroid kullanımı sorgulanmaya başlamıştır. Ancak erişkin toplum kökenli menenjitlerde antibiyotiğin ilk dozu ile birlikte steroid

verilebilmektedir. Deksametazonun antibiyotiklerle beraber verilmesinin beraberinde bazı terapötik hatalarda artışa neden olabileceği endişesi vardır. Bunun da nedeni deksametazonun antibiyotiklerin BOS'daki seviyelerini düşürdüğü yönündedir ancak mekanizması net değildir^{4,118}.

Enterovirus menenjitlerinin spesifik tedavisi yoktur. Herpes virus aseptik menenjiti için ampirik tedavide asiklovir kullanılmalıdır. Yine mantarlardan *C. neoformans* menenjitinde amfoterisin B ve flusitosin kullanılabilir⁴.

TBM'li hastalara tanı konulduktan sonra hızla tedavi başlanması gerekir. TBM için yapılan anti-enfektif tedavi en az 9–12 ay sürdürülmelidir. Tedavide önerilen en az 3 ilacın birlikte kullanılmasıdır ancak primer izoniazid direncinin yüksek olduğu bölgelerde bunlara 4. bir ilaç eklenmelidir. Antibakteriyel tedavideki temel ilaç izoniaziddir. İzoniazid meningial inflamasyon varlığında 10 mg/kg/gün dozunda verilir. BOS'a iyi geçen bir diğer ilaç pirazinamiddir. Erişkinlere ağız yolundan 2 gr/gün verilir. Rifampisin'in kan beyin bariyerini geçme yeteneği kötüdür. Ancak meninkslerde inflamasyon varlığında yeterli seviyede BOS'a ulaşmaktadır. İzoniazid, rifampisin ve pirazinamid tedavide olmalıdır. Etambutol tedaviye 4. ilaç olarak eklenebilmektedir. Tedaviye 15 mg/kg dozunda başlanır. En önemli yan etkileri optik nevrit ve ürik asit düzeyinde yükselmedir. Steroidlerin beyin ödemi, intrakranial basınç artışını azalttığı çalışmalarda gösterilmiştir. Tedavinin ilk 6–8 haftasına deksametazon eklenmesi mortaliteyi ve nörolojik sekelleri azaltmakta ve başarı şansını artırır¹¹⁹.

2.9.2. Kemoprofilaksi

Eğer meningokoksik hastalık şüphesi varsa veya tanı kesin ise hasta ile ev içi yakın temasta olan kişilere rifampin (erişkinlerde 2x600mg, çocuklarda 10 mg/kg, yenidoğanlarda 5mg/kg iki gün süre ile), seftriakson (erişkinde 250mg, çocuklarda 125mg tek doz) veya siprofloksasin (sadece erişkinlerde 750 mg tek doz) kullanılmaktadır. Okul, iş ortamı ya da hastanın nakli sırasındaki temaslarda korunma önerilmemektedir¹⁴. Hastanın solunum yolu sekresyonları ile çok yakın teması olan sağlık personeline profilaksi önerilmektedir³⁸. *H. influenzae* kemoprofilaksisinde hastanın birlikte yaşadığı ev halkına ve hasta ile yakın temasta olanlara uygulanmaktadır. Temas ile hastalık gelişme riski iki yaş altındaki aşılanmamış çocuklarda en yüksektir. Kemoprofilaksi için 20 mg/kg

dozunda rifampin dört gün süre ile kullanılır. *S. pneumoniae* ve Gram negatif basil menenjitlerinde kemoprofilaksi önerilmez. Ancak yüksek riskli hastalarda koruyucu etkinliği tam olarak kanıtlanmamış olmakla birlikte pnömokok aşısı yapılması önerilmektedir¹⁴.

2.10. Korunma ve Aşılama

Hib konjuge aşısının uygulanmaya başlaması ile bu mikroorganizma ile gelişen menenjit olgularında büyük azalma olmuştur. Konjuge pnömokok aşısı ile de menenjit dahil invaziv pnömokok hastalıklarında %90'dan fazla azalma saptanmıştır⁹².

2.10.1 *Haemophilus influenzae* Tip b (Hib) Aşısı

Hib, çocukluk yaş grubunda menenjit, pnömoni ve epiglottitin önemli bir sebebidir. ABD'de aşılamadan önce her yıl beş yaş altı 20.000 çocuk Hib hastalığına yakalanıyor ve bunların yaklaşık 1.000'i hayatını kaybediyordu¹²⁰.

Aşılanmamış dört yaş altındaki (evde veya kreşte yaşayan) çocuklar dışında asplenik, sickle cell anemili, HIV'li, diğer immün yetmezlikli, malign neoplazmalı gibi özel durumlardaki çocuklar da invaziv Hib enfeksiyonu için riskli hastalardır. Hib konjuge aşısının uygulanmaya başlanmasıyla bebekler ve çocuklardaki invazif Hib enfeksiyonu %99 azalmış ve beş yaş altında invaziv Hib enfeksiyonu sıklığı 1/100.000'den az görülmeye başlanmıştır. Aşılama nazofaringeal taşıyıcılığa da etkilidir¹²¹.

Hib'in kapsül polisakkaridine bir protein taşıyıcı bağlanmasıyla etkin koruyuculuk sağlayan aşı elde edilmiştir. Hib'in purifiye kapsüller polisakkaridi olan PRP T hücre bağımsız humoral immün cevap oluşturduğundan 18 aydan küçük çocuklarda yeterli koruyucu düzeyde anti-PRP antikoları oluşturmaz. Bu nedenle PRP bir taşıyıcı proteine kovalant bağlanarak konjuge aşı elde edilmiştir. Bütün Hib aşıları PRP içermektedir. 1985'de ilk lisans olan Hib aşısı 18-24 ay ve üzerinelere önerilmekte idi. İlk aşı polisakkarid aşısı şeklinde mevcutken daha sonra hazırlanan konjuge polisakkarid aşıları ise erken bebeklikten itibaren kullanılmaya başlanmıştır. Hib'le rutin aşılama 2 aydan sonraki bebeklere (bütün aşılar 0.5 ml. intamüsküler) uygulanmaktadır¹²¹.

2006 yılında Türkiye'de bütün sağlık kuruluşlarında Hib aşısı yapılmaya başlanmıştır. 2008 yılı başından itibaren DaBT-İPA-Hib aşıları (difteri, asellüler

boğmaca, tetanoz, inaktif polio ve Hib aşısı) tek enjektör içine doldurulmuş olarak kullanıma hazır bir şekilde temin edilmiş ve bu şekilde bir seferde beş hastalığa karşı aşılanma yapılması sağlanmıştır¹²².

2.10.2. Meningokok Aşıları

Meningokok enfeksiyonları aşı ile engellenebilir hastalıklar arasında üst sıralarda yer almaktadır. Epidemiyolojik ve yaşa bağlı meningokok serogruplarındaki değişimlerden dolayı ülkelerin meningokok aşısı tercihinde, ülkedeki meningokok seroepidemiolojisi temel ölçüt olmalıdır. Halen tüm meningokok serogruplarını kapsayan ve tüm coğrafi bölgelere uygun bir meningokok aşısı yoktur¹²³.

Ülkemizde geçmiş yıllarda gelişmiş ülkelerde şimdi görüldüğü gibi serogrup C hastalığı yaygınken, son yıllarda muhtemelen Hac'dan taşınan suşlara bağlı olarak W135 enfeksiyonlarında artış gözlenmiştir. Meningokok hastalıklarından korunma için önce polisakkarid aşılar geliştirilmiş, daha sonra bu aşuların etkinliğinin yetersiz olması nedeniyle konjuge aşılar üretilmiştir. Polisakkarid aşılar T-hücre bağımlı olmadığından, immünolojik hafıza oluşturmaz ve iki yaş altında etkili değildir. Bu nedenle aralıklı olarak tekrarlanmaları gerekir. Konjuge aşılarında ise polisakkarid antijen bir taşıyıcı proteine bağlanmış, bu sayede T-hücre bağımlı hale gelmiş, dolayısıyla küçük bebeklerde etkili ve uzun süreli bağışıklık oluşturabilmektedir¹²⁴.

Yaygın olarak ilk kullanılan aşı olan A-C polisakkarid aşı serogrup A ve C'nin polisakkaridini içerir ve bu iki gruba bağlı enfeksiyonlara karşı üç yıl boyunca %85 koruyuculuk sağlamaktadır. Daha sonra tetravalan polisakkarid aşı geliştirilmiş olup serogrup A, C, Y ve W-135 polisakkaridlerini içeren bu aşı sık görülen dört serogruba karşı da koruyuculuk sağlamakta, ancak koruyuculuk kısa süreli olmakta ve bu aşı da iki yaş altındaki çocuklara uygulanamamaktadır. Ayrıca tekrarlanan aşılarında cevabın giderek azaldığı gösterilmiştir. Serogrup B'nin kapsüler polisakkaridinin antijenik özelliği çok zayıf olduğundan, henüz bu gruba karşı çok etkili bir aşı geliştirilememiştir. Ülkemizde son yıllarda kullanılmaya başlanan polisakkarid tetravalan aşının uygulama şekli, dozu ve yan etkileri A-C aşısı gibidir. Aşının tek doz olarak 0.5 ml deri altına uygulanması önerilmektedir. Polisakkarid meningokok aşısı diğer aşılarla aynı zamanda ancak farklı bir anatomik bölgeden yapılabilmektedir.

Koruyucu antikor seviyesi genellikle aşıdan sonraki 7-10 gün içerisinde gelişir. Polisakkarid meningokok aşısı ile gelişen istenmeyen tepkimeler genellikle hafiftir. Aşı uygulanan yerde ağrı ve kızarıklık gibi yerel tepkimeler en sık görülen yakınmalardır, aşılananların %5-10'unda görülür. Hafif ateş, baş ağrısı, halsizlik gibi sistemik tepkimeler aşı uygulanan çocukların %2-5'inde görülmektedir^{76,124}.

Meningokok enfeksiyonlarının en sık görüldüğü yaş gruplarından birinin iki yaşından küçük çocuklar olup polisakarit aşuların bu yaş grubunda etkisiz olması konjuge aşuların geliştirilmesi çalışmalarını hızlandırmıştır. İlk olarak monovalan konjuge meningokok C aşuları geliştirilmiş, ABD ve birçok Avrupa ülkesinde rutin aşı takvimine girmiştir. İngiltere'de konjuge meningokok C aşısının rutin uygulamaya girmesini takip eden dönemde, meningokok enfeksiyonlarının sıklığında belirgin azalma sağlanabilmiştir¹²³.

Tetravalan konjuge aşıda serogrup A, C, Y ve W-135 polisakkaridleri difteri toksoidi, mutant difteri toksoidi (CRM197) veya tetanoz toksoidi ile konjuge edilmiştir. Aşı 2005 yılından önce adolesanlarda ve yetişkinlerde (11-55 yaş) uygulanmak üzere ABD'de ruhsat almıştır, daha sonra risk gruplarında alt yaş sınırı ikiye inmiştir. Aşının tek doz, 0.5 ml kas içi olarak deltoid bölgeye uygulanması önerilir. Koruyucu antikor seviyesi genellikle aşıdan sonraki 7-10 gün içerisinde gelişmesi beklenir^{124,125}.

11-18 yaş arasındaki tüm adölesanlara, 2-55 yaş arasında invaziv meningokok enfeksiyonları için risk grubundaki kişilere, üniversiteye başlayan, beş yıl veya daha önce polisakarid/konjuge meningokok aşısı olmuş kişilere dört değerlikli (A, C, W, Y) konjuge meningokok aşısının yapılması önerilmektedir. Yirmi bir yaşından büyük olan ve meningokok enfeksiyonu için tanımlanmış risk grubunda olmayanlara rutin meningokok aşısı önerilmemektedir. Terminal kompleman eksikliklerinde (C5-C9, properdin, Faktör H, Faktör D eksikliği) ve aspleni durumlarında iki ay ara ile iki doz meningokok aşısı yapılması, her beş yılda bir ise rapel doz yapılması önerilmektedir. 11-18 yaş arası HIV pozitif adölesanlarda da iki ay ara ile iki doz primer aşılama önerilmektedir. Meningokok laboratuvarlarında çalışanlarda, hacılarda ve Sahra Afrikası'na seyahat edenlerde tek doz aşı yapılması önerilmektedir. Ülkemizde konjuge meningokok aşısı bulunmamaktadır. Hacı ve

Umre nedeni ile Suudi Arabistan'a gideceklere ve askerlere rutin dört değerlikli polisakarit meningokok aşısı uygulanmaya devam edilmektedir¹²³.

2.10.3. Pnömonok Aşları

Pnömonokal invaziv hastalıklar çocuklarda yüksek mortalite ve morbiditeye sahiptir. ABD'de yedi valanlı konjuge aşılardan önce her yıl ortalama 5-7 milyon akut otitis media, 71.000 pnömoni, 17.000 bakteriyemi, 1.400 civarı *S. pneumoniae*'ye bağlı menenjit vakası görülmekteymiş. İmmünizasyon sonrası ise bu sayılar dramatik bir şekilde düşüş göstermiştir¹²⁶. Ülkemizde yedi bileşenli konjuge pnömonok aşısı (KPA-7) uygulaması öncesi sürveyans yapılmadığı için KPA-7 aşısı öncesi invaziv pnömonokal hastalık sıklığı konusunda güvenilir bilgi bulunmamaktadır¹²⁷.

Polisakkarid yapıda farklı antijenik özelliklere dayanan 90'dan fazla kapsüler serotipi vardır. Klinik kullanımda iki tip aşı bulunmaktadır: Pnömonokal polisakarit aşısı (PPA) ve konjuge pnömonok aşısı (KPA). Polisakkarid aşılardan 1980'lerin ortasından beri mevcuttur ve 23 serotipten elde edilen kapsüller polisakkaridleri içerir. Polisakkaridlerin başlıca B-hücre bağımlı immün cevap oluşturması nedeniyle bu aşılardan immün sistemleri henüz immatür sayılan iki yaşından küçük çocuklara uygulanmamaktadır. Polisakkarid aşılardan mukozal immüniteyi indükleyemez ve taşıyıcılık oranlarını etkilemez. PPA23 aşısının endikasyonları arasında ≥ 65 erişkinler, immün yetmezliği olanlar, asplenikler, kronik hastalığı olanlar ve HIV enfeksiyonu olanlar vardır¹²⁸.

Bu kısıtlama, aşı antijenlerinin taşıyıcı bir proteine bağlanıp, T-hücreye bağımlı hale getirilmesi ve bellek hücrelerinin oluşumu ile aşılmıştır. 7-Valanlı Konjuge Pnömonok Aşısı (KPA7 [Prennar Wyeth]) 2000 yılında FDA tarafından onaylanmış ve çocukluk döneminde en sık rastlanan serotiplerden yedi tanesine ait kapsüller polisakaritleri içermektedir (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F ve 23F). Bu polisakkaridler toksik olmayan bir difteri toksoid proteini olan CRM197 ile konjuge edilmiştir. Üç doz (2, 4 ve 6. aylarda) KPA7 uygulamasının tüm aşı serotiplerine karşı %82-100 oranında antikor yanıtı sağladığı, 12. ayda uygulanan rapel doz ile antikor yanıtının pekiştirildiği, diğer tüm çocukluk çağı aşılı ile birlikte güvenle uygulanabildiği gösterilmiştir^{128,129}.

DSÖ, KPA7'nin etkili ve güvenli olduğunu onaylayarak 2007 yılında ulusal aşılama programlarına KPA'nın dahil edilmesini önermiştir. Ülkemizde de

KPA7 Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan "Genişletilmiş Bağışıklama Programı Genelgesi" ile Kasım 2008'den itibaren ulusal aşılamaya takvimine dahil edilmiştir. Pnömonokok suşlarının penisiline duyarlılıklarında azalma olması tüm dünyada gözlenen bir sorun olmaya devam etmektedir. Aşının kullanıma girmesi ile penisiline duyarlı olmayan pnömokok enfeksiyonlarında da belirgin azalma olduğu kaydedilmiştir. Penisiline duyarlı olmayan suşlarla oluşan enfeksiyonlarda iki yaş altı çocuklarda 70.3/100.000 vakadan 13.1/100.000 vakaya azalma ile %81 düşüş gözlenmiştir¹³⁰.

KPA7 aşılmasının uygulandığı bölgelerde aşılamaya sonrası serotip dağılımlarında değişimler olduğu bildirilmiştir. Serotip 19A Türkiye'de ve yurtdışında yapılmış birçok çalışmada KPA7 aşısının kapsamı dışında kalan serotipler içinde en yaygın görüleni olmuştur. İnvaziv pnömokokal hastalık etkeni serotiplerin dağılımındaki değişiklik ve 19A serotipi başta olmak üzere KPA7-dışı serotiplerin ön plana çıkması KPA7'den daha geniş bir serotip kapsamı gösteren bir aşıya ihtiyaç duyulacağını göstermekteydi^{128,130}.

Bu amaçla üzerinde çalışılan 10-Valanlı Konjuge Pnömonokok Aşısı (KPA10) 2009 yılı Ocak ayında European Medicine Agency (EMA) tarafından onaylanmış ve ülkemiz de dahil olmak üzere birçok ülkede ruhsat almıştır. KPA-10 aşısı KPA-7 aşısının içerdiği pnömokok serotip 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F'e ek olarak 3 yeni serotipi (1, 5, 7F) de içermektedir^{123,127}.

2008 yılı sonlarında kullanıma giren 13-Valanlı Konjuge Pnömonokok Aşısı (KPA13), 50'den fazla ülkede ruhsatlandırılmış olup Şubat 2010'da T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından ruhsatlandırılmıştır. KPA13 aşısı, KPA7 ile aynı prosesle formüle edilmiş ve üretilmiştir. KPA7'nin güvenilirliği ve etkinliğini gösteren çalışmalar temel alınarak altı hafta-59 aylık çocuklarda KPA7 yerine uygulanmak üzere onay almıştır. KPA13 aşısı, KPA7 içinde bulunan 7 serotipe (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F) ilave olarak 6 serotip daha içermektedir (1, 3, 5, 6A, 7F, 19A). Ülkemizde KPA13 aşısı Nisan 2011'den itibaren de Türkiye ulusal aşı takviminde KPA7'nin yerini almıştır. KPA13'ün ulusal aşı programlarına dahil edilerek iki yaş altı çocuklara uygulanması ve KPA7 dozlarını tamamlamış olan çocuklara da 5 yaşına kadar ek bir doz yakalama aşısı önerilmektedir¹³⁰.

KPA, çok sayıda ülkede iki, dört, altı ve 12-15. aylarda olmak üzere dört doz olarak yapılmaktadır. Aşı çocuk altı haftalık olduğundan itibaren yapılabilmektedir. Endikasyonları arasında; yaşı 23 ay ve altında olan tüm

çocuklar, orak hücre hastalığı ve diğer orak hücre hemoglobinopatiler, konjenital veya akkiz aspleni veya splenik disfonksiyon, HIV ile enfekte çocuklar, immün yetmezlik durumları (böbrek yetmezliği, maligniteler, uzun süreli kortikosteroid kullananlar, solid organ transplantasyonu yapılanlar), kronik hastalıklar (diabet, astım, BOS kaçağı, kalp hastalıkları) vardır¹²⁸.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu ve Örnekler

Bu tez çalışması, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilimsel Araştırmaları Değerlendirme Komisyonu'nun 02.03.201 tarih ve 2011/45 sayılı kararı ile "Etik Kurul Onayı" nı almıştır.

Çalışmamıza, Mart 2011-Ocak 2013 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi yenidoğan dışı kliniklerden Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na gönderilen bakteriyel menenjit şüpheli 137 BOS örneği dahil edilmiştir.

3.2 Kullanılan Cihazlar ve Gereçler

3.2.1. Kullanılan Cihazlar

- PZR cihazı (Thermal Cycler, Eppendorf Mastercycler)
- Güvenlik Kabini (Heraeus-HERA safe)
- Soğutmalı Mikrosantrifüj (Hettich-Universal 32 R)
- Derin Dondurucu (Uğur)
- Etüv, inkübatör (Memmert)
- Otoklav (Nüve-OT 020)
- Hassas Terazisi (Scaltec)
- Buzdolabı (Indesit)
- Vortex (NM-110)
- Su Banyosu (Memmert)
- Distile su cihazı (Nüve NS 108)
- Mikropipet Seti (Gilson-Pipetman-P 10-P100-P1000)
- Isı bloğu (Techne DB-2D)
- Mikroskop (Olympus)

3.2.2. Bakteriyolojik Tanı İçin Kullanılan Besiyerleri, Boyalar ve Kimyasallar:

Çalışmamızda kullandığımız besiyerleri aşağıda anlatıldığı şekilde hazırlandı.

- **Kanlı Agar (Biomerieux Lot: 825273801):**

Bu besiyerinin içeriği aşağıdaki şekildedir.

Blood agar	40 g
Kan	40ml
Distile su	1000 ml

Besiyeri otoklavlanıp 42°C'ye geldikten sonra defibrine steril koyun kanı eklenir ve karıştırılır. Steril ortamda 90 mm çapındaki petrilere 20-25 ml, 150 mm çapındaki petrilere ise 45 ml dağıtılır.

- **Çikolata Agar (Biomerieux Lot: 825273801):**

Bu besiyerinin içeriği aşağıdaki şekildedir.

Blood agar	40 g
Kan	40ml
Distile su	1000 ml

70°C'ye soğutulunca içine 40 ml defibrine steril koyun kanı eklenir ve karıştırılır. Steril ortamda 90 mm çapındaki petrilere 20-25 ml, 150 mm çapındaki petrilere ise 45 ml dağıtılır.

- **Eozin Metilen Blue Agar (Biomerieux Lot: 51033):**

Bu besiyerinin içeriği aşağıdaki şekildedir.

Dehidrate EMB agar	37.5 g
Distile su	1000 ml

Besiyerleri 90 mm çapındaki steril plastik petrilere kalınlığı 4 mm olacak şekilde döküldükten sonra kalite kontrolleri yapılarak, kullanılıncaya kadar +4°C’de buzdolabında saklandı.

- **Müller-Hinton Agar (Oxoid Lot: 654362):**

Bu besiyerinin içeriğı ağıdaki şekildedir.

Dehidrate EMB agar	38 g
Distile su	1000 ml

Besiyerleri 90 mm çapındaki steril plastik petrilere kalınlığı 4 mm olacak şekilde döküldükten sonra kalite kontrolleri yapılarak, kullanılıncaya kadar +4°C’de buzdolabında saklandı.

- **Gram Boyama:**

Gram boyamada kullanılan kimyasallar ve içerikleri ağıda verilmiştir¹³¹.

- **Kristal Viyole (Merck Lot: ZC255240)**

Kristal viole	20 g
Amonyum oksalat	8 g
% 96 Etil alkol	200 ml
Saf su	800 ml

- **Lugol**

Stok Lugol

İyod (Merck Lot: B962361)	5 g
Potasyum iyodür (Merck Lot: B339840)	10 g
Saf Su	100 ml

- **Sulu Fuksin**

Bazik fuksin (Merck Lot: ZC262337)	2 ml
Distile su	18 ml

- **Kimyasallar**

- **Sodyum deoksikolat (Merck Lot: VM302204 120)**

Sodyum deoksikolat	2 g
Distile su	100ml

- **Oksidaz (Merck Lot: L54982202 423)**

Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride	0.1 g
Distile su	10 ml

3.3 Yöntemler

3.3.1 Örneklerin Bakteriolojik Kültürü ve Tür Tanımı

3.3.1.1. BOS Hücre Sayımı

BOS örneği laboratuvara ulaştığı anda vakit kaybetmeden BOS miktarı yeterli ise 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek çöktürme işlemi uygulandı. Üst kısım atıldıktan sonra hücre sayımı yapıldı. Hücre sayımında BOS'un bir milimetre küpündeki lökosit miktarı tespit edildi. Hücre sayımı için Thoma lamı kullanıldı. Sayım şu şekilde yapıldı:

- BOS örneğinden bir iki damla atıldıktan sonra, üzeri lamel ile kapatılan Thoma lamının iki tarafından taşırmandan dolduruldu.
- Thoma lamında tek büyük kare içindeki lökositler mikroskobun 40x büyütmesi kullanılarak sayıldı. Sayıma Thoma lamının yukarı sıralardaki küçük karelerde soldan sağa, alt sıraya geçince sağdan sola olmak üzere devam edildi. Sadece küçük karelerin içi ile sol ve üst çizgide bulunan hücreler sayıma alındı.

3.3.1.2. BOS Gram boyama

Gram boyama için ayrılan BOS örneklerine BOS miktarı yeterli ise 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek çöktürme işlemi uygulandı. Üst kısım atıldıktan sonra Gram boyama için temiz bir lam üzerine çok fazla dağıtmadan

BOS örneği damlatıldı ve kurumaya bırakıldı. Gram boyama için şu yöntem izlendi¹³²:

- Lam üzerindeki BOS örneği havada kurutuldu.
- Kuruyan örnekler alevden 3 defa geçirilerek tespit edildi.
- Hazırlamış olduğumuz preparatın üzerine Kristal Viyole boyasını döküp 1 dakika bekletildi.
- Lamı pens ile tutarak üzerindeki boyayı yıkamadan döküp preparatın üzerine lugol boyası döküp 1 dakika bekletildi.
- Preparat üzerindeki boya dökülerek % 96'lık etil alkol konuldu. Daha sonra su ile yıkandı.
- Preparat üzerine sulu fuksin dökülerek 10-15 saniye beklendi ve su ile yıkandı.
- Havada kurutularak 100x immersiyon objektifi ile incelendi. Gram olumlular mor, Gram olumsuzlar pembe-kırmızı renkte görüldü.

3.3.1.3. BOS Kültürü

BOS örnekleri steril tüp içerisine alındıktan sonra laboratuvara gönderildi. Gelen örneklerde BOS miktarı yeterli ise 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek çöktürme işlemi uygulandı. Üst kısım atıldıktan sonra tüpün dibinde kalan kısımdan bakteriyolojik kültür için kanlı, çikolata ve Eozin metilen blue (EMB) agara inoküle edildi. Ekim esnasında alev başında ve alevden yaklaşık olarak 15-20 santimetrelilik bir alanda çalışıldı. Örneklerin geri kalan kısmı moleküler analizlerde kullanılmak üzere steril ependorfa alınarak -80°C'de saklandı. Ekim yapılan petriyer 24-48 saat süreyle 37°C'de hem aerob ortamda hem de %5 CO₂'li ortamda inkübe edildi^{100,133}.

3.3.1.4. Bakteri Tanımlaması

Üreme olan kültürlerdeki şüpheli kolonilere Gram boyama yapıldı.

Gram boyamada görülen Gram negatif kokobasil kolonilerine ilk olarak oksidaz testi yapıldı. Oksidaz pozitif koloniler serum fizyolojikte süspanse

edildikten sonra X ve V faktör disklerinin yerleştirildiği Müller-Hinton agara ekildi. Hem X hem de V faktöre gereksinimi olan bakteriler *H. influenzae* olarak tanımlandı¹³⁴.

S. pneumoniae tanımlanmasında, kanlı agar besiyerinde alfa hemolitik, yeşil renkte görülen küçük kolonilerin Gram boyaması yapıldı. Gram boyamada Gram pozitif diplokok morfolojisinde olan koloniler için katalaz testi yapılarak katalaz enziminin varlığını araştırıldı. Katalaz testi negatif çıkanlar için optokin ve safrada erime testi uygulandı. Optokin testi için %5 koyun kanlı agarda saf olarak üreyen pnömokok kolonilerinden tek tek üreyen birkaç koloni öze yardımı ile alınarak %5 koyun kanlı agar besiyerine homojen olacak şekilde ekildi. Ekimi yapılan plaklar üzerine 6 mm çaplı ve 5 µg optokin içeren antibiyotik diski (Oxoid) yerleştirilerek 35°C'de %5 CO₂'li etüvde 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Diskin etrafında 14 mm'ye eşit ya da daha fazla inhibisyon zonu oluşan plaklarda üreyen bakteriler *S. pneumoniae* olarak tanımlandı. Optokin duyarlılık testine ek olarak çalışmada pnömokokların tanımlanmasında safrada erime testi yapıldı. *S. pneumoniae* kolonileri %5 koyun kanlı agarda üretilerek sonrasında bu kolonilerin üzerine %2'lik sodyum deoksikolat damlatıldı ve plaklar 35°C'ye ayarlı CO₂'li etüve ters çevrilmeden konularak yarım saat bekletildi. Sodyum deoksikolat damlatılan kısımda bulunan bakteriler lizise uğrayıp eridiklerinde, pnömokok olarak yorumlandı¹³⁵.

3.3.1.5. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Suşların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde disk difüzyon ve E-test yöntemleri kullanıldı.

Antibiyotik disklerinin potenslerini koruyabilmek amacıyla +4°C'de saklandı ve üretici firma tarafından belirtilen son kullanma tarihini aşmamaya özen gösterildi. Disklerin potenslerini kaybetmemeleri için kapalı kutuda muhafaza edilmeleri sağlandı, nemli ortamdan korundu ve su ile temas etmelerinden kaçınıldı.

➤ Disk difüzyon testi

Antibiyotik duyarlılık testleri CLSI kriterlerine göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile değerlendirildi. 24 saatlik taze kültür pasajından saf olarak

elde edilen bakteri kolonileri deneylerde kullanıldı. Bu kolonilerden triptik soy buyyonda 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlandı. Süspansiyonun bulanıklığını ayarladıktan sonra en fazla 15 dakika içerisinde, içine steril bir eküvyon daldırıldı ve fazla inokulumu önlemek için tüpün sıvı üstünde kalan bölümünde eküvyonu tüp duvarında sıkıca bastırarak birkaç kez döndürüldü. Hazırlanan eküvyon ile %5 koyun kanlı agar plağının tamamına ekim yapıldı. En fazla 30 dakika içerisinde diskler yerleştirilip 35°C'ye ayarlı %5 CO₂'li etüvde 18-24 saat inkube edildi. İnkübasyon sonunda CLSI kriterlerine göre inhibisyon zonlarının çaplarına göre antibiyotik duyarlılıkları belirlendi¹³⁶.

➤ ***Streptococcus pneumoniae* suşlarında penisilin direnci bakılması**

Çalışmamızda penisilin Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerlerini belirlemek üzere PenisilinG E-test (Biomerieux, Fransa, Lot: 502658) kullanıldı. CLSI'ya göre oksasilin duyarlılık zonu ≥ 20 mm olan suşlar penisiline duyarlı kabul edildi. Zon çapı ≤ 19 mm olanlar ise yüksek düzey penisilin dirençli, orta düzey penisilin dirençli veya duyarlı olabileceğinden, bu suşlar için penisilin MİK değeri belirlendi. 24 saatlik taze kültür pasajından saf olarak elde edilen bakteri kolonilerinden triptik soy buyyonda 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlandı. Steril eküvyon yardımıyla %5 koyun kanlı agar plağının tamamına ekim yapıldı. -20°C'de muhafaza edilen E-test şeritleri oda ısısına gelmeleri için 30 dakika kadar beklendikten sonra steril edilmiş pens yardımı ile plaklara yerleştirilip 35°C'ye ayarlı %5 CO₂'li etüvde 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda yerleştirilen E-test şeritlerinin çevresinde oluşan üreme inhibisyon alanlarının E-test şeritlerini kestiği noktadaki en düşük antibiyotik konsantrasyonları saptandı. Suşların, %5 koyun kanlı agarda yapılan testte MİK değeri ≤ 0.06 µg/ml olan suşlar duyarlı, ≥ 0.12 µg/ml olan suşlar dirençli olarak değerlendirildi¹³⁷.

3.3.1.6. Suşların Serotiplendirmesi

➤ ***Hamophilus influenzae* suşlarının serotiplendirmesi**

Kültürde üreyen *H. influenzae* suşlarının serotiplendirmesi kapsüler polisakkarit antijenlerini araştırmak suretiyle, spesifik antiserumlar ile (Antisera

set Denka Seiken, Japonya, Lot: 135086) lam aglütinasyon yöntemiyle yapıldı. Suşlar sırasıyla a, b, c, d, e, f antiserumlarıyla karıştırıldı. Aglütinasyon gösteren suşlar pozitif olarak kabul edilerek tiplendirmesi yapıldı.

➤ ***Streptococcus pneumoniae* suşlarının serotiplendirilmesi**

Kültürde üreyen *S. pneumoniae* suşlarının serotiplendirmesi; Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nda, bulaşıcı hastalıklar surveyansı çalışması dahilinde yapıldı.

3.3.2. Lateks Aglütinasyon Testi

Çalışmada BOS örneklerinden lateks aglütinasyon testi BioMerieux Slidex meningite-Kit 5 Lyon, Fransa (Lot: 1205106350) kiti ile çalışıldı¹³⁸.

Slidex meningite-Kit 5 reaktifleri, özel antiserumla duyarlılaştırılmış lateks partikülleri içermektedir. Bunlar beyin omurilik sıvısında kart üzerinde hızlı aglütinasyon tekniği ile ilgili antijenin saptanmasına olanak tanımaktadır.

Kit içeriği:

- R1 reaktifi (*H. influenzae* tip b) (Renksiz kapaklı damlalıklı şişe): Kullanıma hazırdır. Anti-*H. influenzae* tip b antikoru ile duyarlılığı artırılmış polistiren mikropartikül süspansiyonu içermektedir.
- R2 reaktifi (*S. pneumoniae*) (Kırmızı kapaklı damlalıklı şişe): Kullanıma hazırdır. Anti-*S. pneumoniae* antikoru ile duyarlılığı artırılmış polistiren mikropartikül süspansiyonu içermektedir.
- R3 reaktifi (*N. meningitidis* A) (Mavi kapaklı damlalıklı şişe): Kullanıma hazırdır. Anti-*N. meningitidis* A antikoru ile duyarlılığı artırılmış polistiren mikropartikül süspansiyonu içermektedir.
- R4 reaktifi (*N. meningitidis* B ve *Escherichia coli* K1) (Yeşil kapaklı damlalıklı şişe): Kullanıma hazırdır. Anti-*N. meningitidis* B monoklonal antikoru ile duyarlılığı artırılmış polistiren mikropartikül süspansiyonu içermektedir.
- R5 reaktifi (*N. meningitidis* C) (Sarı kapaklı damlalıklı şişe): Kullanıma hazırdır. Anti-*N. meningitidis* C antikoru ile duyarlılığı artırılmış polistiren mikropartikül süspansiyonu içermektedir.

- R6 reaktifi: Pozitif kontrol şişesidir. Liyofilize halde bulunur. *H. influenzae* tip b, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* A ve C, *Escherichia coli* K1 antijen ekstrelerini içerir ve kullanılmadan önce 1 ml. distile su ile sulandırılmalıdır.
- 6 reaksiyon alanlı 30 tek kullanımlık kart
- 3×50 tek kullanımlık karıştırıcı çubuk

Tüm reaktifler prospektüste yazdığı gibi 2-8°C'de muhafaza edilmiştir.

➤ **BOS örneklerinin çalışma için hazırlanması**

- Sistemik olarak BOS örnekleri 100°C'de 5 dakika ısıtılmıştır.
- Daha sonra 10 dakika 2.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonrası üstte kalan sıvı çalışılmak üzere elde edilmiştir.

➤ **Lateks aglütinasyon testinin yapılışı ve sonuçlandırılması**

Testin yapılışı kit prospektüsüne uygun olarak aşağıdaki sıra ile yapılmıştır.

- Öncelikle reaktiflerin oda ısısına (18-25°C) gelmesi beklendi.
- Lateks reaktifleri karıştırıldı. Lamlaticıda kalan hava kabarcıkları uzaklaştırıldı.
- Tek kullanımlık kart alınarak, bir reaksiyon alanına bir damla R1 reaktifi damlatıldı, diğer alanlara bir damla R2, R3, R4 ve R5 olarak devam edildi.
- Sonra her damla lateks reaktifi yanına 30 µl elde ettiğimiz BOS örneği damlatıldı.
- Bir karıştırıcı yardımı ile dairenin tüm yüzeyi kaplanarak, her dairenin içeriği ayrı karıştırıcılarla karıştırıldı.
- Kart nazikçe maksimum 2 dakika döndürüldü.
- Aglütinasyon olup olmadığı büyüteç kullanmadan normal ışık şartlarında okundu.
- Aglütinasyon yok ise negatif olarak yorumlandı.
- Net bir aglütinasyon görülmesi pozitif olarak yorumlandı.

- Aynı anda 2 veya daha fazla reaksiyon görülmesi durumunda ise prospektüsün de önerdiği gibi farklı bir yöntemle (bakteriyolojik kültür veya PZR) doğrulamaya gidildi.
- Testin kalite kontrolü her kit açıldığında R6 pozitif reaktifi ile yapıldı.

3.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

3.3.3.1. DNA Ekstraksiyonu

Çalışmaya dahil edilen BOS örneklerinden DNA ekstraksiyonu Roche High Pure PZR Template Preparation Kit (Roche Lot: 11 796 828 001)'i kullanılarak üretici firma önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. Çalışmaya başlamadan önce "Inhibitor Removal Buffer"a 20 ml ve yıkama tamponu (wash buffer)'na 80 ml. absolut etanol eklendi. Liyofilize olan proteinaz K, 4.5 ml. DNase/RNase içermeyen distile suda çözüldü ve 50 µl'lik hacimlere ayrılarak -20°C'de çalışılincaya kadar saklandı¹³⁹.

- Steril 1.5 ml'lik ependorf tüpüne 200 µl binding buffer ve 40 µl proteinaz K konuldu.
- Bunun üzerine 200 µl BOS örneği ilave edildi ve vortekslendi.
- 70°C'de 10 dakika bekletildikten sonra üzrene 100 µl izopropil alkol ilave edildi.
- Her bir hasta için ekstraksiyon kitinin içerisinde bulunan toplama tüpü ve filtreli tüpten bir adet hazırlandı ve ependorf tüpteki sıvının tamamı filtreli tüplere aktarıldı.
- Toplama tüpü ve filtreli tüp 9.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası toplama tüpü atılarak yenisi filtreli tüpün altına yerleştirildi ve filtreli tüpe 500 µl "inhibitor removal buffer" eklenerek tekrar 9.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası toplama tüpü atılarak yenisi filtreli tüpün altına yerleştirildi ve filtreli tüpe 500 µl yıkama tamponu eklenerek tekrar 9.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.

- Bu basamak bir kez daha tekrarlandı.
- Santrifüj sonrası toplama tüpü atılmadan içerisindeki sıvı atık kabına döküldü, toplama tüpü tekrar filtreli tüpün altına yerleştirilerek 12.000 rpm'de 10 saniye yüksek devirde santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası toplama tüpü atılarak filtreli tüp steril 1.5 ml'lik ependorf tüpüne yerleştirildi ve üzerine 70°C'de bekleyen "elution buffer"dan 150 µl ilave edilerek oda ısısında 3 dakika beklendi.
- Süre sonunda 9.000 rpm'de 2 dakika santrifüj yapılarak filtreli tüpte bulunan sıvının ependorf tüpe geçmesi sağlandı.
- Edile DNA çalışılincaya kadar -80°C'de saklandı.

3.3.3.2. DNA Amplifikasyonu ve Strip Test Yöntemi

Roche High Pure PZR Template Preparation Kit kullanılarak elde ettiğimiz ekstraksiyon örneklerinin amplifikasyonu için Vircell Microbiologists Speed-Oligo Bacterial Meningitis kiti (İspanya, Lot: 10SPBME001) kullanıldı. Teknik üç ana adıma bölünmüştür: DNA ekstraksiyonu, spesifik oligo çiftiyle amplifikasyonu ve çoğaltılmış ürünlerin belirlenmesi. Belirleme daldırma şeriti ile gerçekleştirilmektedir. Kit DNA amplifikasyonu ve hibridizasyon prensiplerine dayanmaktadır¹⁴⁰.

Kit içeriği;

- 1A VIRCELL BME PZR MIX A: Liyofilize PZR tamponu, MgCl₂, *S. pneumoniae* için spesifik primerler, dNTP'ler, Taq polimeraz ve amplifikasyonu için spesifik primerler ile birlikte PZR amplifikasyon kontrolü için DNA fragmanları içeren 3 şişe.
- 1B VIRCELL BME PZR MIX B: Liyofilize PZR tamponu, MgCl₂, *H. influenzae* ve *N. meningitidis* için spesifik primerler, dNTP'ler, Taq polimeraz içeren 3 şişe.
- 2 VIRCELL BME POSITIVE CONTROL: Pozitif kontrol olarak kullanılan enfekte olmamış liyofilize DNA içeren 1 şişe.
- 3 VIRCELL NEGATIVE CONTROL: Negatif kontrol olarak kullanılan 200 µl deiyonize su içeren 1 şişe.

- 4 VIRCELL BME STRIPS: Spesifik DNA belirlenmesi için 24 strip.
- 5 VIRCELL PZR MIX RECONSTITUTION SOLUTION: Triton X-100 içeren, PZR karışımını kullanıma hazırlamak için 1 ml sulu çözelti 1 şişe.
- 6 VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: Triton X-100 içeren, pozitif kontrolü kullanıma hazırlamak için 500 µl sulu çözelti 1 şişe.
- 7 VIRCELL BME RUNNING SOLUTION: Proclin içeren hibridizasyon çözeltisinin 1 ml'sini içeren 1 şişe. Kit, 2-8°C'de muhafaza edildi. Vircell BME PZR Mix A, B ve Vircell BME Positive Kontroller hazırlandıktan sonra -20°C'de muhafaza edildi.

Amplifikasyon için önce şu ön hazırlıklar yapıldı:

- 1A Vircell BME PZR Mix A şişesi içerisine 150 µl Vircell PZR Mix Reconstitution Solution'dan eklenerek 10 saniye vortekslendi.
- 1B Vircell BME PZR Mix B şişesi içerisine 150 µl Vircell PZR Mix Reconstitution Solution'dan eklenerek 10 saniye vortekslendi.
- Vircell Positive Control şişesi 5000 rpm'de 5 saniye santirüfüjledikten sonra içerisine 100 µl Vircell Positive Control Reconstitution Solution eklenerek 10 saniye vortekslendi. 5000 rpm'de 5 saniye santrifüjledikten sonra 3 dakika oda ısısında beklendi ve kullanıma hazır hale getirildi.

Her hasta örneği için 1A ve 1B olmak üzere iki ayrı 200 µl'lik ependorf tüp hazırlandı ve bu tüplerin üstlerine hasta sıra numaraları yazıldı.

Amplifikasyon için;

- Her hasta için hazırlanmış olduğumuz tüpler içerisine A tüpüne mixA, B tüpüne mixB'den 15 µl dağıtıldı.
- Hasta, negatif kontrol ve pozitif kontrollerden de bu misklerin üzerine 10 µl eklendi.
- Daha önceden amplifikasyon protokolünü kaydetmiş olduğumuz ısı döngü cihazı içerisine tüpleri yerleştirerek çalışmaya başlandı. Amplifikasyon protokolü Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. Vircell Microbiologists Speed-Oligo Bacterial Meningitis kiti amplifikasyon protokolü

1 döngü	92°C	1 dakika
40 döngü	92°C	20 saniye
	55°C	20 saniye
	72°C	20 saniye
1 döngü	72°C	1 dakika
1 döngü	95°C	1 dakika

- Amplifikasyon işlemi devam ederken kuru ısı bloğunu 55°C'ye ayarlandı.
- Her hasta için bir tane olmak üzere steril 1500 µl'lik ependorf tüp hazırlandı ve üzerine hasta numaraları yazıldı. Bu ependorf tüplerin içerisine 35 µl Vircell Running Solution eklendi ve amplifikasyon işleminin bitimine yakın kapaklarını kapatılarak kuru ısı bloğunda 2 dakika bekletildi.
- Thermal cyclerda amplifikasyon işlemi sonrasında PZR ürünlerini hemen buz üzerine alındı.
- Kuru ısı bloğunda 2 dakika süreyle bekletilen ependorf tüplerinin kapaklarını teker teker açarak her hastanın mixA ve mixB amplifikasyon ürünlerinden 5'er µl pipetaj yaparak tüplere eklendi.
- Bu karışımın üstüne stripleri ok yönünde olacak şekilde tüplerin içerisine bırakıldı ve 5 dakika süreyle kuru ısı bloğunun üstünde bekletildi. Sürenin sonunda stripleri çıkartarak hemen değerlendirmeye alındı.

➤ **Strip testin değerlendirilmesi**

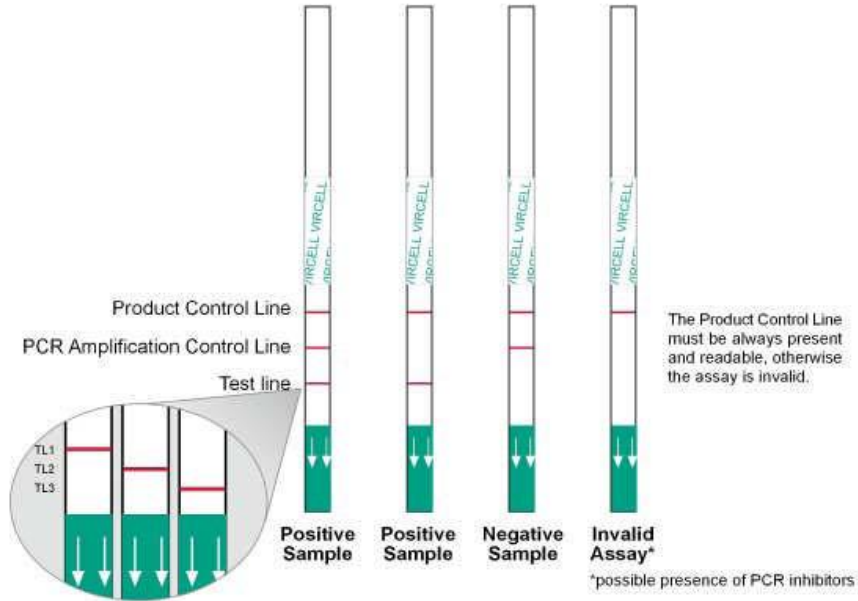
Vircell Microbiologists Speed-Oligo Bacterial Meningitis kitinde PZR-tabanlı metot ile daldırma şeriti birleştirilmiştir, serebrospinal sıvı örneklerinde *H. influenzae*, *N. meningitidis* ve *S. pneumoniae*'nin hızlı, yüksek duyarlılıkta ve spesifik olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. *S. pneumoniae*'nin belirlenmesi için *lytA* genine, *H. influenzae* belirlenmesi için *bexA* genine ve *N. meningitidis* belirlenmesi için *ctrA* genine özgül bölgeler seçilmiştir. Hedef genleri için tamamlayıcı problemleri içeren ayrı şeritleri tek test stribine yerleştirerek bu üç bakterinin tespiti sağlanmıştır. Çalışmaya dahil ettiğimiz örnekte amplifikasyon inhibitörlerinin olup olmadığının kontrolü için kullandığımız kit içerisinde iç

amplifikasyon kontrolü içermektedir ve doğru amplifikasyon oluşmaktadır. Kontrol, DNA fragmanı ve onun amplifikasyonu için spesifik oligo çiftinden oluşmaktadır.

- Ürün kontrol çizgisi test doğru olarak çalışıldığında pozitif ve okunaklı olmalıdır. Bu çizgi koloidal altının doğru olarak çalıştığını, prob uygulanabilirliği yeterli ve çalışma tamponu uygun bir şekilde aktığını gösterir.
- PZR amplifikasyon kontrol çizgisi: Kırmızı şeritin olmaması durumu örnekte amplifikasyon reaksiyonu ile girişim yapabilecek inhibitörlerin bulunduğunu gösterir. O takdirde numuneden alınan ikinci bir örnek veya yeni numune tekrar test edilmelidir. ğiddetli pozitif örneklerde örnekteki spesifik hedefin yüksek içeriğinden dolayı çizgi zayıf veya negatif olabilir ama son sonucu geçersiz kılmaz. (Şekil 1)
- Test çizgisi: Altan üste doğru *N. meningitidis* (Test çizgisi 3, TL3), *H. influenzae* (Test çizgisi 2, TL2) ve *S. pneumoniae* (Test çizgisi 1, TL1)'e karşılık gelen 3 farklı şerit içerir. Test çizgisinde kırmızı şerit (TL1, TL2 veya TL3) örnekte *N. meningitidis*, *H. influenzae* veya *S. pneumoniae* genetik materyali bulunduğunu gösterir. Test çizgisinde birden fazla şerit ortaya çıkması durumunda sonuç geçersiz olacaktır. O durumda orijinal örnek ile testin tüm adımları tekrarlanmalıdır. Yorumlama kartında test çizgisi pozisyonunda sadece bir şerit ortaya çıkar, üç test çizgisinden sadece biri pozitif sonuç göstergesi olarak ortaya çıkmalıdır. (Şekil 2)

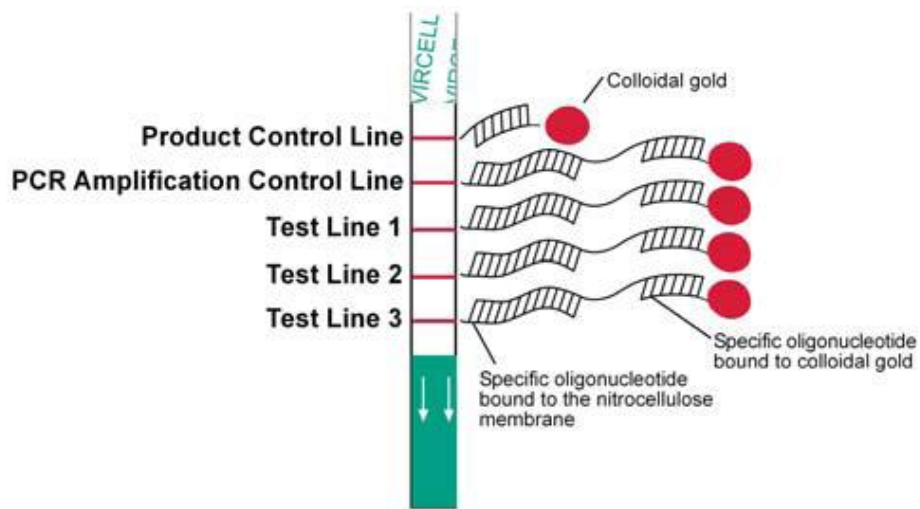
Kullandığımız bu kitin analitik duyarlılığı; *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* serogrup A, *N. meningitidis* serogrup B, *N. meningitidis* serogrup C, *H. influenzae* bakterilerinin saflaştırılmış DNA'larının seri dölüsyonları negatif örneklerde yapılmış ve kitin her reaksiyonunda DNA'nın 50 parçasına kadar belirleyebilmiştir.

Şekil 1. Vircell Speed Oligo Bacterial Meningitis kiti strip değerlendirmesi 1



Ürün kontrol çizgisi, PZR amplifikasyon kontrol çizgisi ve test çizgisi pozitif ise örnek pozitif kabul edilir. PZR amplifikasyon çizgisi olmadan, ürün kontrol çizgisi ve test çizgisi pozitif ise örnek pozitif kabul edilir. Sadece PZR amplifikasyon çizgisi ve ürün kontrol çizgisi pozitif ise örnek sonucu negatiftir. Sadece ürün kontrol çizgisi pozitif ise örnek sonucu geçersiz kabul edilir.

Şekil 2. Vircell Speed Oligo Bacterial Meningitis kiti strip değerlendirmesi 2



Alttan üste doğru *N. meningitidis* (Test çizgisi 3, TL3), *H. influenzae* (Test çizgisi 2, TL2) ve *S. pneumoniae* (Test çizgisi 1, TL1)'ye karşılık gelmektedir.

3.3.3.3. Repetitive Extragenic Palindromic Element (Rep)-PZR

Diversilab Sistemi ile Moleküler Tiplendirme

Çalışmaya dahil edilen BOS örneklerinden izole edilen 4 *S. marcescens* suşunun hastane kökenli olabileceği düşünülerek bu suşlar arasındaki klonal benzerlik Rep-PZR Diversilab sistemi ile araştırıldı.

Rep-PZR yönteminde, epidemiyolojisi araştırılan mikroorganizmaların kromozomları üzerinde bulunan, kısa, tekrarlayan ve konservatif yapıları hedef alan kısa primerler kullanılır. Bu bölgelerin birbirlerine yakınlığına bağlı olarak iki ekstragenik bölge arasında kalan kısım amplifiye edilir ve elde edilen PZR ürünleri agaroz jel elektroforezinde değerlendirilir. Diversilab sistemine bağlı Rep-PZR uygulaması aşamaları; DNA ekstraksiyonu, diversilab parmak izi kitleri ile Rep-PZR; diversilab çipleri ile mikroakışkan elektroforez ve internet tabanlı yazılım programı ile sonuçların değerlendirilmesini takip eden aşamalarından oluşmaktadır.

➤ DNA İzolasyonu

DNA ekstraksiyonu yapılacak örnekler kanlı agara tek koloni ekimi yapılarak 35°C'de 18-24 inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda örnekler ikinci kez pasajlanarak elde edilen kültürlerden DNA ekstraksiyonu yapıldı. DNA ekstraksiyonu UltraClean Microbial DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories, ABD) ile üretici firmanın önerdiği DNA izolasyon protokolüne göre yapıldı.

➤ DNA miktarlarının ölçülmesi

Ekstrakte edilen DNA'ların miktarları nanodrop cihazı (NANODROP 2000, Thermo scientific) ile ölçüldü. Miktarı fazla olan örneklerin DNA'ları, Diversilab dilüsyon hesaplama (dilution calculator) programı ile dilüsyon için gereken DNA ve su miktarları hesaplanarak, nükleaz içermeyen steril su ile 35 ng/µL olacak şekilde seyreltildi.

➤ Rep-PZR Uygulaması

Rep-PZR uygulaması diversilab *Serratia* DNA fingerprinting kit (Lot: SE101101, Biomerieux SA, Fransa) ile yapıldı. Reaksiyon bileşenlerinin hazırlanması ve ısı döngü cihazı programının oluşturulması diversilab sistemi

Rep-PZR worksheet programında belirtildiği gibi uygulandı. (Tablo 9 ve Tablo 10)

Tablo 9. Rep-PZR amplifikasyonunda bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı

Reaksiyon Bileşenleri	Miktar
Rep-PZR MM1	18 µL
GeneAmp 10X PZR Buffer	2,5 µL
Primer Mix	2 µL
AmpliTaq DNA polimeraz	0,5 µL
Ekstraksiyon ürünü 35ng/µL	2 µL
Toplam	25 µL

Tablo 10. Rep-PZR amplifikasyon koşulları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre (saniye)	Döngü Sayısı
Ön ısıtma (Başlangıç denatürasyonu)	94	120	1
Denatürasyon	94	30	35
Primer bağlanması (annealing)	50	30	
Zincir uzaması (extension)	70	90	
Son uzama (Final extension)	70	180	1
Muhafaza	4	∞	∞

➤ **Diversilab DNA Labchip Uygulaması**

Rep-PZR ile amplifiye edilen *Serratia* DNA'ları Diversilab labchip kitine (Biomerieux Sa-Fransa) yüklenerek Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, USA) ile mikroakışkan elektroforez uygulandı. Labchip elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra elde edilen ham grafikler internet tabanlı diversilab yorumlama ve yazılım programı (DiversiLab, version 2.1.66, BioMerieux, Fransa) ile değerlendirildi.

➤ **İzolatların Rep-PZR Parmak İzi İlişkilerinin Değerlendirilmesi**

- Ayırt edilemez örneklerin benzerlik yüzdeleri (benzerlik >%97) yüksektir. Bu grupta yer alan örnekler genellikle %97'nin üzerinde benzerlik gösterirler ve bant farklılığı yoktur. Çalışmada bu grupta yer alan örnekler ana klonun alt tipi olarak (alt klon) olarak değerlendirildi.

- Benzer örneklerin benzerlik oranları (benzerlik %95-97 arasında, 1-2 bant farkı) biraz düşüktür. Genellikle %95'in üzerinde benzerlik gösterirler ve 1-2 bant farklılığı vardır. Çalışmada bu özelliğe sahip örnekler ana olarak değerlendirildi.
- Farklı örnekler düşük benzerlik oranına (benzerlik <%95 ve >2 bant farkı) sahiptir. Benzerlik oranı genellikle %95'in altındadır ve bant farklılığı fazladır. Bu grupta yer alan örnekler çalışmada farklı klon olarak değerlendirildi.

3.3.3.4. Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction (AP-PZR)

Yöntemi

Çalışmada hastane kökenli olduğu düşünülen ve çalışmaya dahil edilen BOS örneklerinden izole edilen 7 koagülaz negatif stafilokok (KNS), 2 *S. aureus*, 2 *P. aeruginosa* ve 2 *A. baumannii* suşları arasındaki klonal benzerliğin varlığı Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction (AP-PZR) yöntemi ile araştırıldı.

➤ Hızlı DNA İzolasyon Metodu

- Besiyerinde üreyen bakteri kolonilerden bir öze dolusu (Genelden bir petrinin ¼'ü süpürülüyor) alınarak, 1.5 ml'lik plastik tüplerde 1 ml steril distile su içerisinde süspanse edildi.
- Tüpler, 80°C'de 20 dakika (veya 30 dk) tutularak (su banyosu) bakterilerin parçalanması sağlandı.
- Süre sonunda tüpler su banyosundan çıkarılarak oda ısısına gelmesi beklendi.
- Daha sonra ependorf tüpü 12.000 x gravity (g)'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant atıldı.
- Pellet üzerine 200 µl kloroform ve 200 µl steril distile su ilave edildikten sonra karışım 12.000 x g'de 10 dakika tekrar santrifüj edildi.
- Süpernatant PZR reaksiyonunda kalıp olarak kullanıldı¹⁴¹.

Arbitrarily-primed polimeraz zincir reaksiyonu (AP-PZR), M13 primer dizisi kullanılarak gerçekleştirildi. Herbir örnek için, toplam 50 µl'lik hacimde 75 mM Tris-HCl pH 8.8, 0.2 mM dNTP karışımı (Sigma, DNTP-100), 1.5 mM MgCl₂ (Promega, A3513), 0.5 µM of universal M13 primeri (5'-

GAGGGTGGCGGTTCT-3') ve 1 U *Taq* polymerase (Sigma, D1806) içeren reaksiyon karışımı hazırlandı. Örneklerin "thermal cycler"da (Eppendorf, Mastercycler, Germany) amplifikasyon koşulları ise, 2 siklus 94°C'de 5 dk, 40°C ve 72°C'de 5 dk başlangıç reaksiyonunun arkasından 40 siklus 94°C'de 60 sn denatürasyon, 40°C'de 60 sn bağlanma ve 72°C'de 60 sn uzama basamaklarını içermektedir. PZR ürünleri, %1'lik agaroz jel elektroforezinden sonra 0.5 µg/mL ethidium bromide ile boyandıktan sonra UV transiluminatörde görüntülenmiştir¹⁴².

3.4 İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda kültür referans test kabul edilerek PZR ve LAT'ın tanısal performansını değerlendirmek amacıyla duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değeri (PPD), negatif prediktif değeri (NPD) ve %95 güven aralıkları hesaplandı. Ayrıca PZR ve LAT sonuçlarıyla kültür sonuçları arasındaki ilişki Ki-kare testiyle değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık seviyesi olarak %5 alındı. Değerlendirmelerde Medcalc versiyon 12.1.3 kullanıldı.

4. BULGULAR

➤ Hastaların Genel Özellikleri

Çalışmamıza çeşitli kliniklerden Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na gönderilen yenidoğan dışı menenjit şüpheli hastalardan 137 BOS örneği dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen 137 menenjit şüpheli hastanın 87 (%63.5)'si erkek ve 50 (%36.5)'si kadın hastadan oluşmaktaydı.

Menenjit şüpheli 137 hastanın 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) idi.

Çalışmaya dahil edilen 137 hastanın kliniklere göre dağılımı Tablo 11'de verilmektedir.

Tablo 11. Çalışmaya dahil edilen hastaların kliniklere göre dağılımı

Klinik	Sayı (%)
Çocuk Acil Kliniği	31 (%22.6)
Beyin Cerrahisi Kliniği	23 (%16.8)
Erişkin Acil Kliniği	21 (%15.3)
Erişkin Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği	20 (%14.6)
Çocuk Hastalıkları Kliniği	15 (%11)
Çocuk Yoğun Bakım Kliniği	8 (%5.8)
Çocuk Enfeksiyon Kliniği	6 (%4.4)
Erişkin Nöroloji Kliniği	4 (%2.9)
Çocuk Hematoloji Kliniği	3 (%2.2)
Kulak Burun Boğaz Kliniği	2 (%1.5)
Erişkin Hematoloji Kliniği	1 (%0.7)
Çocuk Cerrahisi Kliniği	1 (%0.7)
Erişkin Onkoloji Kliniği	1 (%0.7)
Erişkin Yoğun Bakım Kliniği	1 (%0.7)
Toplam	137

Hastaların tümünün klinik bulguları değerlendirildiğinde; 90 (%65.7) hastada ateş, 51 (%37.2) hastada baş ağrısı, 45 (%32.8) hastada bulantı-kusma ve 35 (%25.5) hastada meninks irritasyon bulguları (ense sertliği/kernig/brudzinski) olduğu saptandı.

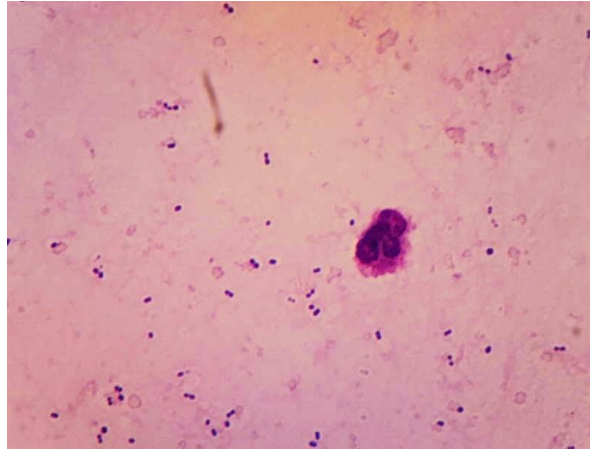
➤ **Hücre Sayımı Sonuçları**

BOS lökosit sayısı çalışmaya dahil edilen 137 hasta için ortalama $737/\text{mm}^3$ ($10-14000/\text{mm}^3$) olarak bulunurken, $10-500/\text{mm}^3$ 106 (%77.4) hastada, $501-1000/\text{mm}^3$ 16 (%11.7) hastada, $>1000/\text{mm}^3$ 15 (%10.9) hastada tespit edildi.

➤ **Gram Boyama Sonuçları**

Çalışmaya dahil edilen 137 hastanın BOS örneğinin Gram boyama ile incelenmesi sonucunda toplam 12 örnekte mikroorganizma tespit edildi. Bu 12 örneğin altısı Gram negatif basıl, beşi Gram pozitif diplokok ve biri Gram pozitif kok olarak saptandı (Resim 1).

Resim 1. BOS'un Gram boyaması sonucunda Gram pozitif diplokokların görüntüsü



➤ **Kültür Sonuçları**

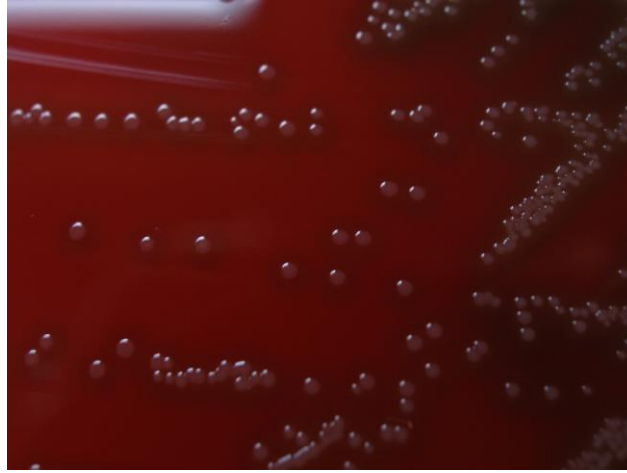
Hastalardan alınan 137 BOS örneğinde bakteri kültürü ile toplam 21 (%15.32) örnekte bakteri üretildi. Bu bakteriler sırasıyla yedi (%5.1) koagülaz negatif stafilokok (KNS), dört (%2.92) *S. marcescens*, üç (%2.19) *S. pneumoniae*, iki (%1.46) *S. aureus*, iki (%1.46) *A. baumannii*, iki (%1.46) *P.*

aeruginosa ve bir (%0.73) *H. influenzae* olarak tespit edildi (Tablo 12) (Resim 2). Kùltür sonuçlarına göre *N. meningitidis* hiçbir BOS örneğinde üretilmedi.

Tablo 12. Çalışmaya dahil edilen 137 BOS örneğinin kùltür sonuçları

Mikroorganizma	Kùltür pozitifliğı sayı (%)
KNS	7 (%5.10)
<i>S. marcescens</i>	4 (%2.92)
<i>S. pneumoniae</i>	3 (%2.19)
<i>S. aureus</i>	2 (%1.46)
<i>A. baumannii</i>	2 (%1.46)
<i>P. aeruginosa</i>	2 (%1.46)
<i>H. influenzae</i>	1 (%0.73)
<i>N. meningitidis</i>	-
Toplam	21 (%15.32)

Resim 2. Kanlı agarda üreyen *S. pneumoniae* kolonileri

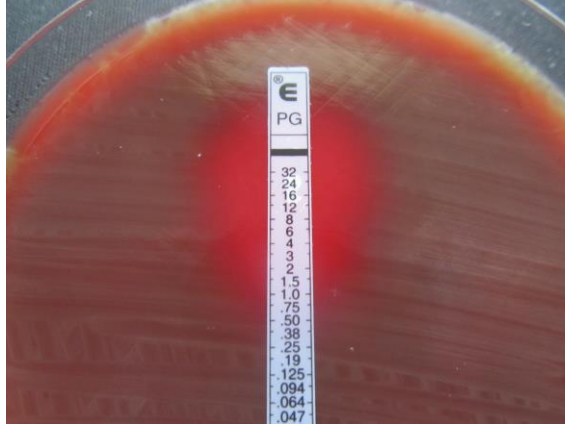


Kùltür ile BOS örneklerinden izole edilen üç pnömokok suşunun serotipleri tip 6A/B, tip 23F ve tip 8 olarak belirlendi. Yine kùltürde izole edilen bir *H. influenzae* suşunun serotipi ise tip b olarak belirlendi.

İzole edilen üç *S. pneumoniae* suşunun penisilin direnci E-test yöntemi ile belirlendi. Serotip 6A/B ve 23F suşlarının penisilin E-test MİK değerleri

sırasıyla 0.50 µg/ml ve 1.50 µg/ml dirençli olarak tespit edilirken, serotip 8 suşunun E-test MİK değeri 0.06 µg/ml duyarlı olarak belirlendi (Resim 3).

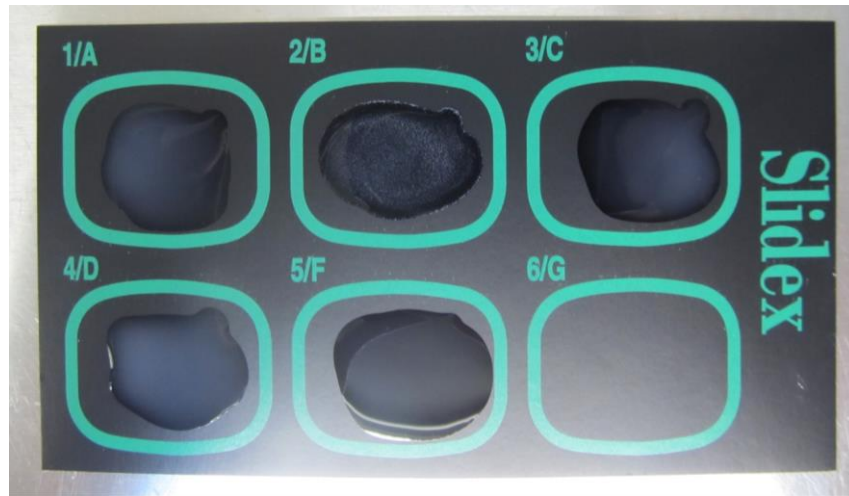
Resim 3. %5 Koyun kanlı agarda üreyen *S. pneumoniae* suşunun Penisilin G E-test görüntüsü



➤ LAT Sonuçları

Çalışmada 137 BOS örneğinin tümüne hedeflediğimiz üç etkene yönelik (*H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*) LAT uygulandı. LAT sonuçları ile 17 (%12.4) hastanın sonucu bakteriyel menenjit olarak tanımlandı. LAT ile tanı alan hastaların 16 (%11.7)'sı *S. pneumoniae*, biri (%0.7) *H. influenzae* olarak tanımlanırken, *N. meningitidis* hiçbir hastada saptanmadı (Resim 4).

Resim 4. LAT (BioMerieux Slidex meningite-Kit 5) değerlendirilmesi



R1 reaktifi (*H. influenzae* tip b), R2 reaktifi (*S. pneumoniae*), R3 reaktifi (*N. meningitidis* A), R4 reaktifi (*N. meningitidis* B ve *Escherichia coli* K1), R5 reaktifi (*N. meningitidis* C). Resimde *S. pneumoniae* LAT pozitif (R2) BOS örneği görülmektedir.

➤ PZR Sonuçları

Çalışmada 137 BOS örneğinin tümüne hedeflediğimiz üç etkene yönelik (*H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*) PZR uygulandı. PZR sonuçları ile 18 (%13.1) hastanın sonucu bakteriyel menenjit olarak tanımlandı. PZR ile tanı alan hastaların 16 (%11.7)'sı *S. pneumoniae*, ikisi (%1.5) *H. influenzae* olarak tanımlanırken, *N. meningitidis* hiçbir hastada saptanmadı (Resim 5).

Resim 5. Vircell Speed Oligo Bacterial Meningitis kiti strip değerlendirmesi

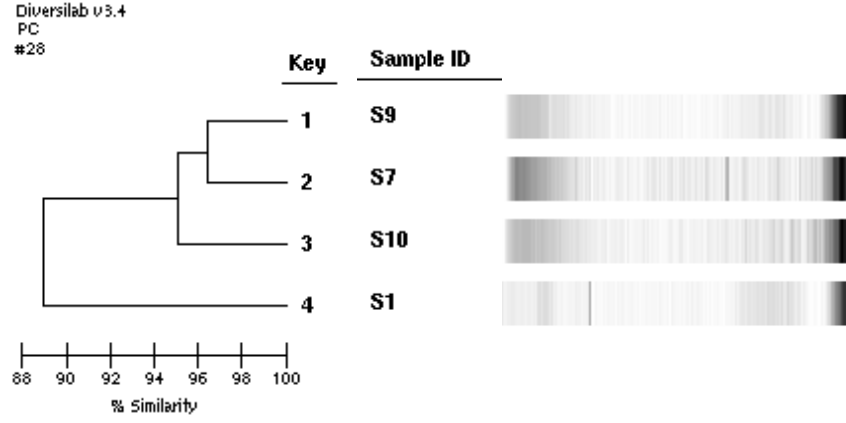


Alttan üste doğru *N. meningitidis* (Test çizgisi 3, TL3), *H. influenzae* (Test çizgisi 2, TL2), *S. pneumoniae* (Test çizgisi 1, TL1), PCRCL (PZR amplifikasyon çizgisi) ve PCL (ürün kontrol çizgisi)'ye karşılık gelmektedir. Resimde *H. influenzae* PZR pozitif (TL2) BOS örneği görülmektedir.

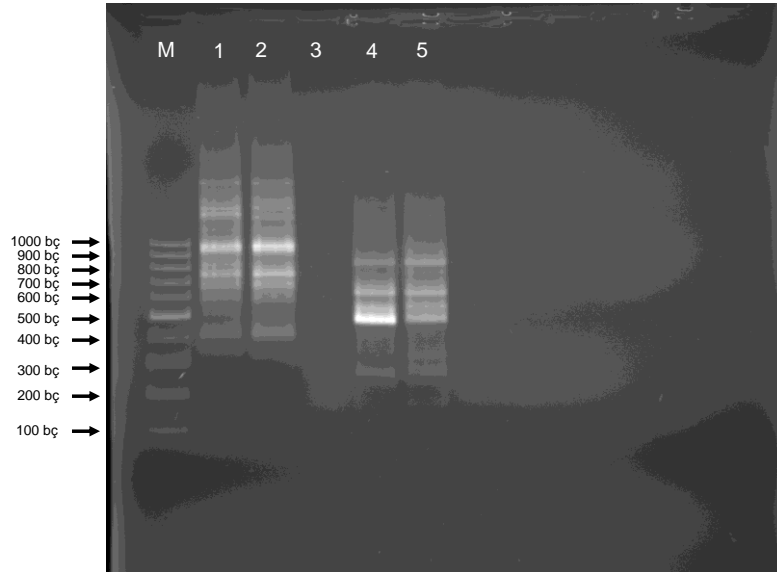
Bunun yanında kültürde izole edip hedeflediğimiz üç etken dışında kalan ve hastane kökenli olabileceğini düşündüğümüz diğer suşlara, Rep-PZR veya AP-PZR yöntemlerini uygulayarak bu suşlar arasındaki klonal benzerlik değerlendirildi. Kültürde *S. marcescens* izole edilen dört suşa Rep-PZR Diversilab sistemi ile moleküler tiplendirme yapıldığında dört suşun üçü klonal olarak ilişkili bulunurken bir suş klonal olarak farklı bulundu (Şekil 3). Dört *S. marcescens* suşunun dışında kalan suşların hepsinin hastane kökenli olabileceği düşünüldü ve bu suşlar arasındaki klonal benzerlik AP-PZR yöntemi ile araştırıldı. AP-PZR sonucunda iki (2/7) KNS ve iki (2/2) *S. aureus* suşu klonal olarak kendi aralarında benzer bulunurken diğer beş (5/7) KNS, iki (2/2)

P. aeruginosa ve iki (2/2) *A. baumannii* suşu kendi aralarında klonal olarak farklı bulundu (Resim 6).

Şekil 3. Dört *S. marcescens* suşunun Rep-PZR ile klonal benzerliğinin görüntüsü



Resim 6. Klonal olarak ilişkili bulunan iki KNS ve iki *S. aureus* suşunun AP-PZR agaroz jel elektroforez görüntüsü



Kolon M: 100 baz çifti DNA moleküler ağırlık standardı (GeneRuler 100 bp DNA Ladder, SM0241, Fermentas)
Kolon 1, 2: KNS suşlarının AP-PZR görüntüsü
Kolon 4,5: *S. aureus* suşlarının AP-PZR görüntüsü

➤ Çalışmamızda Hedeflediğimiz Üç Etkene Yönelik Sonuçların Karşılaştırılması

Çalışmada en sık bakteriyel menenjit etkeni olan *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis* bakterilerine yönelik kültür, LAT ve PZR yöntemleri karşılaştırıldı. Bu üç yöntemle, laboratuvarımıza gönderilen menenjit

şüpheli 137 BOS örneğinden üç etken için toplam 19 (%13.87) (kültür ile dört hasta, PZR ile 18 hasta, LAT ile 17 hasta) hastaya bakteriyel menenjit tanısı konuldu.

Çalışmada hedeflediğimiz üç etken için kültür yöntemi ile dört (%2.92) suş izole edildi. Bu suşların üçü (%2.19) *S. pneumoniae*, biri (%0.73) ise *H. influenzae* suşu iken *N. meningitidis* suşu kültürde hiçbir BOS örneğinde üretilmedi. PZR ile 18 (%13.14) hastaya tanı konulurken, kültürde üreyen tüm bakteriler PZR ile de pozitif bulundu. LAT ile 17 (%12.40) hastaya tanı konulurken, kültürde üreyen üç *S. pneumoniae* suşu LAT ile pozitif iken, bir *H. influenzae* suşu LAT ile negatif bulundu. Bir *S. pneumoniae* suşu kültür ve PZR ile negatif bulunurken, LAT ile pozitif bulundu.

Tüm bu veriler doğrultusunda klasik kültür yöntemi altın standart yöntem olarak kabul edilerek PZR ve LAT'ın bakteriyel menenjit tanısındaki güçleri istatistiksel olarak analiz edildi. Buna göre PZR'nin duyarlılığı %100, özgüllüğü %89.5, pozitif prediktif değeri (PPD) %22.22 ve negatif prediktif değeri (NPD) %100 bulundu. LAT'ın ise duyarlılığı %75, özgüllüğü %89.5, PPD %17.65 ve NPD %99.17 olarak bulundu (Tablo 13).

Tablo 13. Çalışmada hedeflenen üç etkene yönelik 137 hastanın kültür, PZR ve LAT sonuçlarının istatistiksel karşılaştırılması

Test	Kültür		Toplam	Duyarlılık (%95 GA)	Özgüllük (%95 GA)	PPD (%95 GA)	NPD (%95 GA)
	Pozitif	Negatif					
PZR	Pozitif	4	14	%100 (39.76-100.00)	%89.5 (82.97-94.12)	%22.22 (6.41-47.64)	%100 (96.95-100.00)
	Negatif	0	119				
	Toplam	4	133				
LAT	Pozitif	3	14	%75 (19.41-99.37)	%89.5 (82.97-94.12)	%17.65 (3.80-43.43)	%99.17 (95.44-99.98)
	Negatif	1	119				
	Toplam	4	133				

PPD: Pozitif Prediktif Değeri

NPD: Negatif Prediktif Değeri

%95 GA: %95 Güven Aralığı

Üç etken için bakteriyel menenjit tanısı konulan 19 hastanın demografik verileri, hücre sayımı, biyokimya analizleri, Gram boyama sonuçları, öncesinde antibiyotik kullanım öyküleri, klinik bulguları ve prognozları aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

- Hastaların 12 (%63.2)'si erkek, yedisi (%36.8) kadın hasta iken yaş ortalaması 23.75 olarak bulundu.

- Hastaların BOS lökosit sayılarının ortalaması 2169/mm³ (10-14000/mm³) olarak bulunurken, BOS lökosit sayısı 10-500/mm³ 10 (%52.6) hastada, 501-1000/mm³ iki (%10.5) hastada, >1000/mm³ yedi (%36.8) hastada tespit edildi. Bu hastaların BOS lökosit tipi değerlendirmesinde ise 17 (%89.5)'sinin PNL ağırlıklı lökositlerden oluştuğunu belirlendi. (Tablo 14)

- Hastaların biyokimyasal sonuçları BOS/kan glukoz değerleri ve BOS protein (mg/L) değerleri yönünden değerlendirildi. Çalışmadaki 19 hastanın 15 (%78.9)'inde BOS/kan glukoz değerleri <0.6 iken, bir (%5.3) hastanın BOS glukoz değerinin sonucuna ulaşamadı. Bunun yanında 19 hastanın 13 (%68.4)'ünde BOS proteini >450 mg/L iken, iki (%10.5) hastanın BOS protein değerinin sonucuna ulaşamadı. (Tablo 14)

- Hastaların beşinde Gram boyama ile etken mikroorganizma (beş Gram pozitif diplokok) saptandı. Kültür pozitif dört hastanın üçünde (üç Gram pozitif diplokok) Gram boyama ile de etken mikroorganizma tespit edilirken, kültürde üreyen bir *H. influenzae* suşu Gram boyama ile tespit edilemedi. Bunun yanında kültür negatif ancak PZR ve/veya LAT pozitif iki (iki Gram pozitif diplokok) hastada ise Gram boyama ile mikroorganizma tespit edildi. (Tablo 14)

- Hastaların 13 (%68.4)'ünün özgeçmişinde antibiyotik kullanım öyküsü tespit edildi. BOS örneğinde Gram boyama ile mikroorganizma tespit edilen beş hastanın ikisinde (%40) önceden kullanılmış antibiyotik öyküsü mevcutken, Gram boyama ile mikroorganizma tespit edilemeyen 14 hastanın 11 (%78.6)'inde önceden antibiyotik kullanım öyküsü olduğu belirlendi. Kültür pozitif dört hastanın (üç *S. pneumoniae*, bir *H. influenzae*) ikisinde (%50), kültür negatif-PZR pozitif 14 hastanın 10 (%71.4)'unda, kültür negatif-LAT pozitif 14 hastanın 10 (%71.4)'unda hastaların hastanemize başvurmadan bir-yedi gün öncesinde antibiyotik kullanım öyküleri olduğu saptandı. Ayrıca kültür negatif,

PZR ve LAT pozitif üç (%15.79) hastanın ise öncesinde antibiyotik kullanıp kullanmadığı tespit edilemedi (Tablo 14).

- Hastaların klinik bulguları değerlendirildiğinde; 18 (%94.7) hastada ateş, 15 (%78.9) hastada baş ağrısı, 12 (%63.2) hastada bulantı-kusma ve 15 (%78.9) hastada ise meninks irritasyon bulgularının olduğu tespit edildi.

- Hastaların sekizinde (%42.1) altta yatan hastalık veya predispozan faktör öyküsü saptandı. Bunlar beyin cerrahi operasyon öyküsü, spinal anestezi öyküsü, burun ameliyatı öyküsü, mukopolisakkaridoz ve öncesinde menenjit öyküsü olarak bulundu (Tablo 14).

- Hastaların 16 (%84.2)'sı aldıkları tedavi sonucunda şifa ile taburcu olurken, iki (%10.5) hastada nörolojik sekel geliştiği ve bir (%5.3) hastanın ise tedavisinin ilk gününde hayatını kaybettiği belirlendi.

Tablo 14. Çalışmada hedeflenen üç etkene yönelik Gram boyama, kültür, PZR, LAT sonuçları ile tanı alan 19 hastanın öncesinde antibiyotik kullanımı, altta yatan hastalık, BOS biyokimyası ve BOS lökosit sayısı yönünden incelenmesi

Hasta yaşı/ cinsiyet	Öncesinde antibiyotik kullanımı	Altta yatan hastalık veya predispozan faktör	BOS glukoz /kan glukoz*	BOS protein (mg/L) (150-450)**	BOS lökosit sayısı/ mm ³	Gram boyama	Kültür	PZR	LAT
9 ay/E	+	-	33/99 (0.33)	Ulaşılamadı	10	Gram (+) diplokok	Üreme olmadı	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
8/E	+	-	5/156 (0.03)	1481	1980	Mikroorganizma görülmedi	Üreme olmadı	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
2.5/E	Bilinmiyor	-	60/81 (0.74)	120	10	Mikroorganizma görülmedi	Üreme olmadı	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
11/E	+	Beyin cerrahi operasyonu öyküsü	72/80 (0.9)	286	10	Mikroorganizma görülmedi	Üreme olmadı	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
37/K	+	Spinal anestezi ile operasyon öyküsü	2/219 (0.009)	8400	2500	Gram (+) diplokok	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
14/E	+	-	Ulaşılamadı	Ulaşılamadı	10	Mikroorganizma görülmedi	Üreme olmadı	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
43/K	Bilinmiyor	-	74/98 (0.75)	208	20	Mikroorganizma görülmedi	Üreme olmadı	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
68/E	Bilinmiyor	-	180/360 (0.5)	1069	520	Gram (+) diplokok	Üreme olmadı	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
29/E	+	Beyin cerrahi operasyonu öyküsü	1,45/150 (0.01)	4588	7300	Mikroorganizma görülmedi	Üreme olmadı	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
15/K	+	-	40/100 (0.4)	2223	360	Mikroorganizma görülmedi	<i>H. influenzae</i>	<i>H. influenzae</i>	Negatif
55/E	+	-	19/258 (0.07)	2223	14000	Mikroorganizma görülmedi	Üreme olmadı	Negatif	<i>S. pneumoniae</i>
2/K	-	Muko-polisakkaridoz	7,45/125 (0.06)	793	10	Gram (+) diplokok	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
22/K	+	Spinal anestezi ile operasyon öyküsü	41/69 (0.6)	1249	70	Mikroorganizma görülmedi	Üreme olmadı	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
35/K	-	Burun ameliyatı öyküsü	66 /145 (0.45)	1168	1020	Mikroorganizma görülmedi	Üreme olmadı	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
4 ay/E	+	-	7,98/78 (0.1)	1250	650	Mikroorganizma görülmedi	Üreme olmadı	<i>H. influenzae</i>	<i>H. influenzae</i>
17/E	-	3 ay önce menenjit öyküsü	1/123 (0.008)	3629	2280	Gram (+) diplokok	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
40/E	+	Beyin cerrahi operasyonu öyküsü	33/103 (0.32)	4320	10240	Mikroorganizma görülmedi	Üreme olmadı	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
12/K	+	-	54/97 (0.55)	409	130	Mikroorganizma görülmedi	Üreme olmadı	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
39/E	+	-	35/135 (0.26)	2225	100	Mikroorganizma görülmedi	Üreme olmadı	<i>S. pneumoniae</i>	Negatif

* Normal BOS/kan glukoz (mg/dL) oranı 2/3 (0.6) olarak kabul edildi.

** Normal BOS protein değeri 150-450 mg/L olarak kabul edildi.

5. TARTIŞMA

Bakteriyel menenjit özellikle küçük çocuklarda ve yaşlılarda mortalitesi yüksek bir hastalıktır¹⁴³. Yaş, altta yatan hastalıklar, toplumun sosyo-ekonomik yapısı enfeksiyon tipinde önemli faktörlerdir⁹⁴. Bakteriyel menenjit hemen her yaş grubunda görülebilen bir hastalık olduğundan, hastaların yaş ortalaması çeşitli çalışmalarda farklı olarak bulunabilmektedir. Gurley ve ark. yaptıkları çalışmada 189 bakteriyel menenjit olgusu saptamışlar ve bu olguların 136 (%72)'sinin erkek hastalardan, 53 (%28)'ünün kadın hastalardan oluştuğunu ve yaş ortalamasının da 19.5 olduğunu belirtmişlerdir¹⁴³. Mani ve ark. çalışmalarındaki 385 hastanın %76.1'inin erkek, %23.9'unun kadın hastalar olduğunu ve bu hastaların 51 (%13.2)'inin 12 yaş altı çocuklar ile, 334 (%86.8)'ünün erişkin hastalar tarafından oluştuğunu bildirmişlerdir¹⁴⁴. Silva ve ark. yaptıkları üç yıllık çalışmada akut bakteriyel menenjitli 168 hastanın 107 (%63.7)'sinin erkek hastalar, 60 (%35.7)'inin kadın hastalar tarafından oluştuğunu, bir hastanın da kayıtlarına ulaşamadıklarını, hastalarının yaş ortalamasını ise 22.48 olarak bildirmişlerdir¹⁴⁵. Çelik ve ark. çalışmalarındaki bakteriyel menenjitli hastaları %57.3 erkek, %42.7 kadın, yaş ortalamasını 36.8 olarak saptamışlardır¹⁴⁶. Yamazhan ve ark. çalışmalarında hastaları %71.3 erkek, %28.7 kadın, yaş ortalamasını 38.12 olarak bulmuşlardır¹⁴⁷. Demiroğlu ve ark. çalışmalarındaki hastaları %58.6 erkek, %41.4 kadın ve yaş ortalamasını da 42.7 olarak bulmuşlardır¹⁴⁸. Çalışmamızda 137 hastanın 87 (%63.5)'si erkek, 50 (%36.5)'si kadın hastadan oluşmaktaydı. Hastaların yaş ortalaması 18.4 (2 ay-83) olarak tespit edildi.

Menenjit genellikle ateş, baş ağrısı, bulantı, kusma, bilinç değişikliği ve ense sertliği yakınmaları ile başlamaktadır¹⁴⁸. Gurley ve ark. 189 bakteriyel menenjitli hastanın bulgularını üç bakteri için (*N. meningitidis*, *S. pneumoniae* ve *H. influenzae*) ayrı ayrı sırasıyla değerlendirmişlerdir. Klinik bulgularının bulunma yüzdelerini ateş için (%100, %100, %100), kusma için (%80, %61, %56), baş ağrısı için (%82, %52, %28), ense sertliği için (%71, %43, %24), konvülsiyon için (%43, %78, %92) olarak bulmuşlardır¹⁴³. Vashishtha ve ark. 67 çocuk hastada yaptıkları çalışmada hastaların bulgularını sırasıyla, ateş (%91), bilinç bulanıklığı (%62.7), kusma (%50.8), konvülsiyon (%47.8) olarak bildirmişlerdir¹⁴⁹. Çelik ve ark.'nın çalışmasında 75 bakteriyel menenjit tanısı

konan hastanın sırasıyla klinik bulgularının pozitifliklerini; %93.3 meninks irritasyon bulgusu, %89.3 baş ağrısı, %86.7 ateş, %76 kusma, %18.7 konvülsiyon, %13.3 döküntü olarak bildirmişlerdir¹⁴⁶. Taşkesen ve ark. çalışmalarında santral sinir sistemi enfeksiyonlu 73 hastanın hastaneye başvurduklarında şikayetlerini %90.4 ateş, %73.9 kusma, %32.8 baş ağrısı, %23.2 havale geçirme, %15 ishal ve %4.1 öksürük olarak bildirirken, hastaların %57.5'inde meninks irritasyon bulguları (ense sertliği, kernig belirtisi, brudzinski fenomeni) ve %9.5'inde bilinç değişikliği bulunduğunu vurgulamışlardır¹⁵⁰. Demiroğlu ve ark. çalışmalarında ateş, ense sertliği ve bilinç değişikliğini akut bakteriyel menenjit olgularının %69'unda saptamışlardır¹⁴⁸. Özdemir ve ark. 44 hastada yaptıkları çalışmada en sık semptomları sırasıyla ateş %90.9, kusma %61.4, uykuya meyil %40.9, baş ağrısı %38.6 ve konvülsiyon %25 olarak, meninks irritasyon bulgularını ise sırasıyla ense sertliği %56.8, kernig belirtisi %45.5 ve brudzinski belirtisi %43.2 olarak belirtmişlerdir¹⁵¹. Yamazhan ve ark. 94 pürülan menenjit olgusunun bulgularının sırasıyla ateş %100, baş ağrısı %96.8, bilinç değişikliği %76.6, bulantı-kusma %74.5, döküntü %8.5, meninks irritasyon bulgularını ise ense sertliği %100, kernig belirtisi %73.4, brudzinski belirtisi %53.2 olarak bildirmişlerdir¹⁴⁷. Çalışmamıza dahil ettiğimiz 137 hastanın tümünün klinik bulguları değerlendirildiğinde; 90 (%65.7) hastada ateş, 51 (%37.2) hastada baş ağrısı, 45 (%32.8) hastada bulantı-kusma ve 35 hastada (%25.5) meninks irritasyon bulguları (ense sertliği/kernig/brudzinski) olduğu saptandı. Hedeflediğimiz üç etkene (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis*) yönelik tanı alan 19 hastanın klinik bulguları değerlendirildiğinde; 18 (%94.7) hastada ateş, 15 (%78.9) hastada baş ağrısı, 15 (%78.9) hastada meninks irritasyon bulguları ve 12 (%63.2) hastanın ise bulantı-kusmasının olduğu tespit edildi. Sonuçlarımıza göre bakteriyel menenjit tanısı alan hastalarımızın en sık semptomu literatürle uyumlu olarak ateş, ardından ise meninks irritasyon bulguları ve baş ağrısı olarak bulundu.

Bakteriyel menenjitlerde BOS lökosit sayısı çeşitli çalışmalarda farklı oranlarda bulunmuştur. Çelik ve ark.¹⁴⁶ ortalama $906 \pm 793.6/\text{mm}^3$, Demiroğlu ve ark.¹⁴⁸ ortalama $4.254/\text{mm}^3$, Özdemir ve ark.¹⁵¹ ortalama $1.860/\text{mm}^3$, Gurley ve ark.¹⁴³ ortalama $9.455/\text{mm}^3$ ve bunların %80'ini PNL, Öztürk ve ark.¹⁵² hastalarının %80'inde $>1.000/\text{mm}^3$ ve %97 oranında PNL, Taşkesen ve ark.¹⁵⁰ ortalama $1.095/\text{mm}^3$, Fışgın ve ark.⁹⁴ %40.9 oranında $>1.000/\text{mm}^3$, %20.9 500-

1000/mm³, %25 100-500/mm³ arasında bulmuşlardır. BOS lökosit sayısı çalışmaya dahil ettiğimiz 137 hasta için ortalama 737/mm³ (10-14.000/mm³) olarak bulunurken, 10-500/mm³ 106 (%77.4) hastada, 501-1.000/mm³ 16 (%11.7) hastada, >1.000/mm³ 15 (%10.9) hastada tespit edildi. Hedeflediğimiz üç etkene yönelik bakteriyel menenjit tanısı konulan 19 hastanın BOS lökosit sayılarının ortalaması 2.169/mm³ (10-14000/mm³) olarak bulunurken, BOS lökosit sayısını 10-500/mm³ 10 (%52.6) hastada, 501-1.000/mm³ 2 (%10.5) hastada, >1.000/mm³ 7 (%36.8) hastada tespit edildi. Bu hastaların BOS lökosit tipi değerlendirmesinde ise 17 (%89.5)'sinin PNL ağırlıklı lökositlerden oluştuğu belirlendi. Tüm bu veriler değerlendirildiğinde genel olarak literatür çalışmalarında olduğu gibi bakteriyel menenjitlerde lökosit tipinin PNL ağırlığında olması çalışmamızla uyumluuydu. BOS lökosit sayıları da çoğunlukla literatür ile çalışmamız arasında uyum gösterse de hedeflediğimiz üç bakteriye yönelik tanı alan 19 hastamızın altısında (%31.6) lökosit sayısı 10-50/mm³ gibi düşük değerlerde tespit edildi.

Gram boyama bakteriyel menenjit tanısında oldukça önemli bir testtir. Gram boyama ile etken patojen %60-90 oranında gösterilebilmektedir. Öncesinde antibiyotik kullanımı ile bu oran %20'lere kadar düşmektedir⁸. Gram boyama *H.influenzae*'yi çocuklarda %50-65, erişkinlerde %25-33, *S. pneumoniae*'yi %69-93 oranında, *N. meningitidis*'i %30-89 oranında saptayabilmektedir⁶³. Hindistan'da Mani ve ark.'larının 385 piyojenik menenjitli hastada yaptıkları çalışmada suşları %65.7 oranında Gram boyama ile tespit ettiklerini bildirmişlerdir¹⁴⁴. Silva ve ark. yaptıkları üç yıllık çalışmada 168 akut bakteriyel menenjit hastanın tanısında Gram boyama ile yedi olguda (%4.1) mikroorganizma tespit edebilmişlerdir¹⁴⁵. Akut bakteriyel menenjitli 67 hastada yapılan bir diğer çalışmada Gram boyama ile hastaların 29 (%43.3)'unda mikroorganizma saptanabilmiştir¹⁴⁹. Ülkemizde yapılan bir çalışmada akut pürülan menenjitli 94 hastanın 38 (%40.4)'inde Gram boyama ile etken mikroorganizma gözlenebilmiştir¹⁴⁷. Çalışmaya dahil edilen 137 hastanın BOS örneğinin Gram boyama ile incelenmesi sonucunda toplam 12 örnekte mikroorganizma tespit edildi. Bu 12 örneğin altısı Gram negatif basil, beşi Gram pozitif diplokok ve biri Gram pozitif kok olarak saptandı. Hedeflediğimiz üç etkene yönelik bakteriyel menenjit tanısı konulan 19 hastanın beşinde Gram boyama ile mikroorganizma (beş Gram pozitif diplokok) saptandı. Kültür pozitif

dört hastamızın üçünde (üç Gram pozitif diplokok) Gram boyama ile de etken mikroorganizma tespit edilirken, kültürde üreyen bir *H. influenzae* suşu Gram boyama ile tespit edilemedi. Bunun yanında kültür negatif ancak PZR ve LAT pozitif iki (iki Gram pozitif diplokok) hastamızda Gram boyama ile mikroorganizma tespit edildi. Gram boyama ile tespit ettiğimiz beş hastanın ikisinde önceden kullanılmış antibiyotik öyküsü mevcutken, tespit edemediğimiz 14 hastanın 11'inde önceden antibiyotik kullanım öyküsü mevcuttu. Sonuç olarak Gram boyama sonuçlarımızın düşük olma nedeninin; önceden kullanılmış antibiyotik tedavisi, BOS'daki bakteri yoğunluğunun azlığı ve laboratuvarımıza gönderilen BOS örneklerinin bazılarının miktarının az olmasından kaynaklı santrifüj edilemeden preparat hazırlanıp incelenmek durumunda kalınması gibi durumların sebep olabileceğini düşünmekteyiz.

BOS, pek çok önemli metabolik işlevi olan önemli bir vücut sıvısıdır. BOS değerlendirmesinde protein, albumin, glukoz, immünglobulin, laktat, hücresel değişiklik, enfeksiyöz ajanlara ait antijenler gibi birçok değişenin beraber incelenmesi tanısal duyarlılığı ve özgüllüğü artırmaktadır. Normal BOS protein miktarı yetişkinlerde 23-38 mg/dL arasındadır. BOS protein konsantrasyonu bakteriyel menenjitte 40-440 mg/dL aralığında değişmekle birlikte, >150 mg/dL değerleri %98 oranında özgül olsa da duyarlılığı düşük olabilmektedir. Bundan dolayı diğer parametrelerin de birlikte değerlendirilmeleri gereklidir. Normal BOS glukozu ise kan glukozunun %50-60'ı kadardır. BOS glukozu kan glukozuna bağımlı olduğu için BOS alındıktan hemen sonra glukoz değerine hızlıca bakılmalıdır. Bakteriyel menenjitte BOS glukoz değeri düşmektedir^{3,153}. Önal ve ark. İstanbul'da 30 menenjitli hastanın (16 bakteriyel menenjit, 14 viral menenjit) laboratuvar bulgularını değerlendirmişlerdir. Bu 16 bakteriyel menenjitli hastanın protein düzeyi 10 mg/dL üzerinde olan hasta sayısını 14/16 (%87.5), BOS glukoz/kan glukoz oranı <0.6 olan hasta sayısını ise 13/16 (%81) oranında bulduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca çalışmalarında prokalsitonin düzeyinin glukoz, protein, lökosit sayısından daha özgül olduğunu ancak BOS lökosit PNL oranından daha az özgül olduğunu da vurgulamışlardır¹⁵⁴. Brezilya'da yapılan bir çalışmada 28 cerrahi sonrası menenjitli hastada laboratuvar testlerin sonuçları değerlendirilmiş, bakteriyel menenjit tanısında BOS glukoz, protein ve laktat sonuçlarının duyarlılığı sırasıyla %86, %28.6, %86 bulunurken özgüllükleri sırasıyla %90.5, %90.5 ve %90.5 bulunmuştur¹⁵⁵. Viallon ve ark.

1997-2009 yılları arasında yaptıkları çalışmada direkt BOS incelemesi negatif olan toplam 254 menenjit (35 bakteriyel, 181 viral) hastasının laboratuvar sonuçlarını ele almışlardır. BOS glukoz değerlerinin bakteriyel menenjit grubunun %25'inde düşük olmadığını, viral menenjit grubunun ise %5'inde BOS glukoz değerlerinde düşme olduğunu vurgulamışlardır. BOS protein seviyelerinin ise bakteriyel menenjit grubunun %5'inde normal olduğunu, viral menenjit grubunun ise %25'inde yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarının sonucu olarak ise serum prokalsitonin (duyarlılığı %95, özgüllüğü %100) ve BOS laktat düzeylerinin (duyarlılığı %94, özgüllüğü %92) bakteriyel ve viral menenjitlerde kullanılabilir parametreler olduğu sonucuna varmışlardır¹⁵⁶. Hedeflediğimiz üç etkene yönelik bakteriyel menenjit tanısı konulan 19 hastanın biyokimyasal sonuçları BOS/kan glukoz değerleri ve BOS protein (mg/L) değerleri yönünden değerlendirildi. Çalışmamızdaki 19 hastanın 15 (%78.9)'inde BOS/kan glukoz değerleri <0.6 iken, bir (%5.3) hastanın BOS glukoz testinin sonucuna ulaşamadı. Bunun yanında 19 hastanın 13 (%68.4)'ünde BOS proteini >450 mg/L iken, iki (%10.5) hastanın BOS protein testinin sonucuna ulaşamadı. Bakteriyel menenjit tanısı alan hastalarımızda genel olarak bakteriyel menenjitlerde gözlenen BOS/kan glukoz <0.6 değerinin ve BOS protein yüksekliğinin literatür bilgileriyle uyumlu olduğu tespit edildi.

Cho ve ark. dokuz yıllık 17 üniversite hastanesinin katıldığı çalışmalarında yenidoğanların da dahil olduğu 0-18 yaş arası 402 menenjitli hastayı değerlendirmişlerdir. Tüm yaş gruplarında en sık etkeni *S. agalactiae* (%24.6), daha sonra etkenleri sırasıyla *S. pneumoniae* (%22.6) ve *H. influenzae* (%16.7) olarak bulmuşlardır. Ancak yenidoğan dışı yaş gruplarını değerlendirdiklerinde en sık etkeni *S. pneumoniae* olarak belirtmişlerdir¹⁵⁷. Gurley ve ark. 766 menenjitli hastanın BOS'unu incelemişler ve 189 hastada kültür, PZR veya LAT ile bakteriyel menenjit tanısı koymuşlardır. Kültürde ürettikleri etkenleri sırasıyla, 136 (%18) hastada *N. meningitidis*, 25 (%3) hastada Hib ve 23 (%3) hastada *S. pneumoniae* olarak bulmuşlardır¹⁴³. Mani ve ark. 10 yıllık bir retrospektif araştırmada 385 piyogenik menenjit hastasının 284 (%73.8)'ünü Gram boyama, kültür, PZR ve LAT ile bakteriyel menenjit lehine tanımlamışlardır. Bu çalışmaları sonucunda *S. pneumoniae*'yi en sık etken olarak belirtmişlerdir. Bundan sonra gelen etkenleri sırasıyla diğer Gram negatif basiller, *Streptococcus spp.*, *S. aureus*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis* olarak

bildirmişlerdir¹⁴⁴. Silva ve ark. yaptıkları üç yıllık çalışmada 168 akut bakteriyel menenjit etkenlerini %24.4 *S. pneumoniae*, %10.7 *N. meningitidis*, %2.4 Hib ve %5.4 diğer bakteriler olarak saptamışlardır¹⁴⁵. Güçlü ve ark. 889 BOS örneğini incelemişler ve 74'ünde (%8.3) mikroorganizma izole edilmişlerdir. *S.aureus* (%33.8) ve KNS (%14.9) en sık izole edilen etkenler olarak tespit edilirken bunları sırasıyla *S. pneumoniae* (%8.1) ve *N. meningitidis* (%6.7)'in izlediğini bildirmişlerdir²⁶. Çelik ve ark. 75 bakteriyel menenjitli hastada yaptıkları çalışmada BOS kültürlerinin 41 (%54.7)'inde pnömokok, 17 (%22.7)'sinde meningokok, ikisinde (%2.7) *S. aureus*, ikisinde *Brucella spp.* (%2.7) üretmişlerdir¹⁴⁶. Demiroğlu ve ark. yaptıkları beş yıllık retrospektif çalışmada 51 erişkin menenjit/meningoensefalit hastasını değerlendirmişlerdir. Elli bir olgunun 29 (%56.9)'una akut bakteriyel menenjit tanısı konulup, 15 (%51.7)'inde kültür pozitifliği saptamışlardır. On hastada *S. pneumoniae*, üç hastada *L. monocytogenes*, bir hastada *S. aureus*, bir hastada ise *S. pyogenes* saptamışlardır¹⁴⁸. Özdemir ve ark. yaş aralığı 1 ay-13 yaş arasında değişen 44 menenjitli hastada yaptıkları çalışmada en sık saptanan bakteriyel menenjit etkenlerini sırasıyla *S. pneumoniae* (%27,3), *H. influenzae* tip b (%11,4) ve *N. meningitidis* (%11,4) olarak bulmuşlardır¹⁵¹. Yamazhan ve ark. akut pürülan menenjitli 94 olguda yaptıkları çalışmada BOS kültürlerinden izole edilen etkenleri sırasıyla, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *Acinetobacter spp.*, *S. aureus* ve *L. monocytogenes* olarak belirtmişlerdir¹⁴⁷. Ceyhan ve ark. 1 ay-17 yaş arası çocuklarda yaptıkları çok merkezli çalışmada, Türkiye'yi 7 coğrafik bölgeye ayırmışlardır. Toplam 408 BOS örneği toplamışlar; kültür, PZR ve LAT ile 243 örnekte bakteriyel etken saptamışlardır. Bu etkenleri sırasıyla 138 (% 56,5) hasta ile *N. meningitidis*, 55 (% 22.5) hasta ile *S. pneumoniae*, 50 (%20.5) hasta ile Hib olarak belirlemişlerdir. Ayrıca çalışmalarında 7 coğrafik bölgede, Akdeniz bölgesi haricinde, en çok görülen akut bakteriyel menenjit etkenini *N. meningitidis* olarak bulurken, Akdeniz bölgesinde ise en sık etkeni *S. pneumoniae* olarak bulmuşlardır¹⁵⁸. Bu çalışmadaki epidemiyolojik veriler en sık görülen üç etkene yönelik değerlendirildiğinde çalışmamızla uyumlu olarak bulundu. Çalışmamızda hedeflediğimiz üç etken için kültür pozitiflik oranı dört (%2.92) olarak bulunurken, en sık etken olarak *S. pneumoniae*'yi, daha sonra *H. influenzae*'yi tespit ettik. *N. meningitidis*'e hiçbir hastamızda rastlamadık. Sonuç olarak yurtdışı ve yurtiçi çalışmaların birçoğu ile çalışmamızda

bulduğumuz bakteriyel menenjit etkenlerinin uyumlu olduğunu, ancak etkenlerin bölgesel olarak da değişebildiğini söylemek mümkündür. Kültür pozitiflik oranımızın PZR ve LAT'a göre daha düşük olmasının nedenlerinden birinin bu üç yöntemle toplam tespit ettiğimiz 19 hastanın 13 (%68.4)'ünde hastanemize başvurmadan önce antibiyotik kullanım öyküsü olmasının etkili olduğunu düşünmekteyiz. Yine kültür pozitifliğinin diğer yöntemlere göre daha düşük olmasının bir diğer nedeninin ise laboratuvarımıza gönderilen BOS örneklerinin bazılarının çok az miktarda olmasından dolayı bu örneklerin santrifüj edilemeden kültür ekimlerinin yapılması olabileceğini düşünmekteyiz.

S. pneumoniae çocukluk çağının sık görülen enfeksiyon etkenleri arasında yer almaktadır. Yıllardır çocuklarda morbidite ve mortalite nedeni olduğu bilinmektedir⁴⁶. Yedi valanlı konjuge pnömokok aşısının kullanımından önce beş yaş altı çocuk hastalarda en sık invaziv hastalığa neden olan serotipler 6A, 6B, 19F, ve 23 F iken erişkinlerde 3 ve 23F olarak biliniyordu. Aşılama sonrası ise bunların yerini 19A, 6C, 11A, 15A ve 15 B/C almış ve menenjitli hastalarda özellikler 19A ve 22 F'de artış saptanmıştır¹⁵⁹. Çin'de beş yaş altı çocuklarda yapılan bir çalışmada 61 invaziv pnömokokal hastalık örneğindeki serotipler sıklık sırasına göre 19A, 14, 19F, 23F, 8, 9V, 1, 4, 6B ve 20 olarak bulunurken, penisilin direnci %42.6 olarak bulunmuş ve en sık penisilin direncinin saptandığı serotip 19A olarak belirtilmiştir¹⁶⁰. Azzari ve ark. invaziv pnömokok enfeksiyonlarına yönelik yaptıkları çalışmada PZR ile pnömokok serotiplerini araştırmışlardır. Çalışmaları sonucunda dört menenjit olgusunun serotip sonuçlarını tip 4, 6A/B, 23F ve 9V/A bulmuşlardır¹⁰⁶. Verhaegen ve ark. Belçika'da 1997-2000 yılları arasında 240 menenjit suşunda 14, 6, 9, 19 ve 23 serotiplerini en sık rastlanan serotipler olarak saptamışlardır¹⁶¹. Wasfy ve ark.'nın Mısır'da yaptıkları beş yıllık bir çalışmada toplam 205 pnömokok menenjitli hastayı değerlendirmişler ve en sık görülen serotipleri 6B, 1, 19A, 23F, 6A olarak bulmuşlardır. Bu izolatların %49'unda penisilin direnci (%46 orta düzeyde, %3 yüksek düzey) saptamışlardır¹⁶². Zisis ve ark. 65 invaziv pnömokok hastalığı olan çocukta en sık serotipleri 14, 6B, 1 ve 19F olarak bulmuşlardır¹⁶³. Yıldırım ve ark. yaptıkları çalışmada serotiplerin invaziv hastalığa yol açma potansiyelinin en yüksek olanlarını 3, 7F, 18C, 19A, 22F ve 23F olarak bildirmişlerdir¹⁶⁴. Çavuşoğlu ve ark. izole ettikleri 84 suşun 21'ini penisiline dirençli olarak saptamış; bu suşların çoğunun serotipini 6, 9 ve

14 olarak bulmuş ve 11 suşu tiplendirememişlerdir¹⁶⁵. Fırat ve ark. pnömokok menenjitli hastadan elde edilen 72 suşun serotip dağılımlarını sırasıyla 23, 19, 14 olarak bulurken, altı serotipte E-test yöntemiyle yüksek düzeyde penisilin direnci saptamışlar ve bunların da üçünü serotip 23, diğerlerini 11, 14 ve 19 olarak bulmuşlardır¹⁶⁶. Gözel ve ark. pnömokok menenjitli 15 hastayı değerlendirmişler ve bu suşların beşinde (%33) yüksek düzey penisilin direnci saptamışlardır¹⁶⁷. Aslan ve ark. Mersin’de 1440 sağlıklı çocukta yaptıkları çalışmada nazofaringeal taşıyıcılığı 201 (%13.9) olarak bulurken, penisilin direncini ise 26 suşta saptamışlardır. Bu 26 suşun 24’ü orta düzeyde dirençli iken, iki suşu yüksek düzeyde dirençli bulmuşlardır. En sık rastlanan serotipleri ise sırasıyla 6, 19, 1, 23, 20 ve 17 bulmuşlardır. Penisilin dirençli suşları ise 20, 23, 14, 6 ve 19 olarak bildirmişlerdir¹⁶⁸. Çalışmamızda BOS’dan izole ettiğimiz üç pnömokok suşunun serotiplerini tip 6A/B, tip 23F ve tip 8 olarak belirledik. Genel olarak literatürde invaziv pnömokokal hastalığa neden olan suşlar irdelendiğinde tip 8 dışında diğer iki suşun (tip 6A/B, tip 23F) uygunluk gösterdiği tespit edildi. Suşların penisilin direncini E-test yöntemi ile belirledik. Serotip 6A/B ve 23F suşların penisilin E-test MİK sonuçlarını sırasıyla 0.50 µg/ml ve 1.50 µg/ml dirençli olarak tespit ederken, serotip 8 suşunun E-test MİK sonucunu 0.06 µg/ml duyarlı olarak belirledik. Bölgemizde ve dünyada yapılan literatürlerle karşılaştırdığımızda tip 6A/B ve 23F’de görülen direncin ve tip 8’deki duyarlılığın uyumlu olduğu görülmektedir. Şu an 13-Valanlı Konjuge Pnökokok Aşısı (KPA13)’nin içeriğinde tip 6A/B ve tip 23F mevcut iken tip 8 mevcut değildir. Ancak tip 8 Pnökokokal polisakkarit aşısı 23 (PPA23) içerisinde mevcuttur. Serotip 8 bulduğumuz hastamız 17 yaşında ve altta yatan burun kırığı öyküsü mevcuttu. Bölgemizde Aslan ve ark. tarafından yapılan çalışma ile bizim çalışmamızı karşılaştıracak olursak çalışmamızda bulduğumuz tip 6A/B ve 23F serotiplerimiz bu çalışmadaki en sık görülen serotipler arasında yer alırken, çalışmamızda bulduğumuz tip 8 serotipi ise Aslan ve ark.’nın çalışmasında %2.95 oranında (5/169) nadir gözlenen serotipler arasında yer almaktaydı. Yine Aslan ve ark.’nın çalışmasındaki tip 6 ve tip 23F’deki penisilin direnci ile çalışmamızdaki direnç durumunun uyumlu olduğu gözlenmektedir.

Hib aşısı bulunmadan önce serotip b, invaziv enfeksiyonların %95’inden sorumlu iken aşı uygulaması başlamasından sonra invaziv enfeksiyonların yarısından çoğu kapsülsüz (tiplendirilemeyen) suşlarla meydana gelmeye

başlamıştır⁷¹. Ito ve ark. öncesinde sağlıklı iki yaşındaki bir kız çocuğunda tiplendirilemeyen *H. influenzae*'ye bağlı menenjit ve septisemi olgusu bildirmişlerdir¹⁶⁹. Aşılama sonrası Hib'e bağlı menenjit azalsa da nadir de olsa aşı sonrası menenjit vakaları görülebilmektedir. Ödek ve ark.'nın çalışmasında aşılama sonrası iki çocukta Hib menenjiti bildirmişlerdir. Bunun nedenini de immün yetmezlik varlığında spesifik antikor yanıtı yetersiz olabileceğinden invaziv Hib enfeksiyonlarının görülebileceğini vurgulamışlardır¹⁷⁰. Çalışmamızda tüm yöntemler ile iki hastada *H. influenzae* saptanırken, bunların biri kültürde üretildi ve bu suşun da serotipi, tip b olarak belirlendi.

Menenjit tanısında bakteri kültürü altın standart metod olarak düşünülmelidir, ancak antimikrobiyal tedavi bakteri kültürü ve diğer yöntemlerin duyarlılığını düşürmektedir¹⁵⁸. Son zamanlarda geliştirilen moleküler yöntemler menenjit etkenlerinin erken ve doğru tanımlanmasına olanak sağlamaktadırlar¹⁷¹. Almanya'da yapılan bir çalışmada Boden ve ark. SSS enfeksiyonu şüpheli 26 hastanın örneklerini kültür ve 16S rDNA-PZR yönünden incelemişler ve bir hastada kültür ve PZR'yi birlikte pozitif bulurlarken, altı hastada kültür negatifken sadece PZR'yi pozitif bulmuşlardır. Bunun nedeni olarak ta hastalarının 10 tanesinde önceden antibiyotik kullanım öyküsünün olduğunu vurgulamışlardır¹⁷². Yunanistan'da dokuz yıllık bir dönemde yapılan çalışmada Papavasileiou ve ark. 289 menenjitli hastanın 56 (%19.37)'sına kültür veya PZR ile bakteriyel menenjit tanısı koymuşlar ve bu 56 hastanın 12 (%21.4)'sini kültür ve PZR ile tanımlarken 44 (%78.6)'ünü ise sadece PZR ile tanımladıklarını bildirmişlerdir¹⁷³. Hindistan'da yapılan bir çalışmada Chakrabarti ve ark. 16S rDNA tabanlı multipleks PZR tekniği kullanmışlardır. Kültürü altın standart olarak kabul etmişler ve PZR'nin duyarlılığını %79.24, özgüllüğünü %97.6, pozitif prediktif değerini 89.36, negatif prediktif değerini 94.88 olarak bulmuşlardır¹⁰. Sarookhani ve ark. çalışmalarında bakteriyel menenjit şüpheli 100 BOS örneğini incelemişler ve 36 (%36) hastalarının kültürü pozitifken, 64 (%64) hastalarının kültürünü negatif bulmuşlardır. Kültür pozitif 36 hastanın hepsinin PZR sonucu da pozitifken, kültür negatif 64 hastanın 38 (%59.4)'nin PZR sonucunu pozitif bulmuşlar. Bu sonuçlara göre de PZR duyarlılığını %100, özgüllüğünü %40.6, pozitif prediktif değerini %48.6 ve negatif prediktif değerini %100 olarak tespit etmişlerdir⁹. Tzanakaki ve ark. iki yıllık bir periyod içinde toplam 336 hastadan, 227 kan örneği ve 194 BOS örneğini incelemişlerdir.

Tanıda tek tüpte *S. pneumoniae* için ply gen bölgesine, *N. meningitidis* için ctrA gen bölgesine, *H. influenzae* için bex gen bölgesine göre multipleks PZR yöntemini uygulamışlardır. Sonuçlarına göre PZR duyarlılığını *N. meningitidis* için %93.9, *S. pneumoniae* için %92.3, *H. influenzae* için %88 olarak, üç etken için de özgüllüklerini %100 olarak belirtmişlerdir¹⁷⁴. İsveç'te 345 hastada yapılan bir çalışmada bakteriyel menenjit tanısı konululan 74 hastanın 25'i hem kültür hem de PZR ile pozitif bulunurken, 26'sı sadece PZR ile, 14'ü sadece kültür ile pozitif bulunmuş. Sonuç olarak PZR ve kültürün duyarlılığını sırasıyla %59 ve %43 bulurlarken, özgüllüklerini sırasıyla %97 ve %97 bulduklarını bildirmişlerdir¹⁷⁵. Wu ve ark.'nın 451 BOS örneğinde yaptıkları çalışmada kültür, Gram boyama ve real-time PZR yöntemlerini karşılaştırmışlardır. Çalışmalarında 451 örnekten 80 (%17.7)'inde kültür pozitifliği, 113 (%25.1)'ünde real-time PZR pozitifliği tespit etmişlerdir. PZR'nin duyarlılığı ve özgüllüğünü ise sırasıyla %95 ve %90 olarak bulurken öncesinde antibiyotik kullanan hastaların tanısında PZR ve Gram boyamanın kültüre göre daha az etkilendiğini belirtmişlerdir¹⁷⁶. Çalışmamızda hedeflediğimiz üç etken için kültür yöntemi ile dört (%2.92) suş izole edildi. Bu suşların üçü (%2.19) *S. pneumoniae*, biri (%0.73) ise *H. influenzae* suşu iken *N. meningitidis* suşu kültürde hiçbir hastada üremedi. PZR ile 18 (%13.14) hastaya tanı konulurken, kültürde üreyen tüm bakteriler PZR ile pozitif bulundu. Klasik kültür yöntemi altın standart yöntem olarak kabul edildiğinde PZR'nin duyarlılığı %100, özgüllüğü %89.5, pozitif prediktif değeri %22.22 ve negatif prediktif değeri %100 bulundu.

Menenjitin erken tanısı ve uygun tedaviye başlanması fatal komplikasyonların azaltılması açısından çok önemlidir. Erken ampirik antibiyotik tedavisi için bakteriyel antijen tayini erken tanıda çok önemli bir basamaktır. Ayrıca LP öncesi antibiyotik kullanmış hastalarda antijen testleri faydalı olmaktadır¹⁰³. Bu testlerin duyarlılığı çeşitli çalışmalarda %50-100 arasında değişebilmektedir¹⁷⁷. Finlay ve ark. 48 bakteriyel menenjit tanısı konmuş hastaya LAT yaparken; beş *S. pneumoniae* menenjitinde üç olguda (%60) LAT ile pozitiflik, 15 *H. influenzae* menenjitinde 14 olguda (%93) LAT ile pozitiflik, 18 *N. meningitidis* menenjitinde 7 olguda (%39) LAT ile pozitiflik saptamışlardır¹⁷⁸. Begum ve ark. menenjit şüpheli 45 hastada yaptıkları çalışmada, kültür pozitiflik oranını 13 (%28.89) olarak bulurken LAT pozitiflik oranını 18 (%40) olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada aynı zamanda 45 hastanın 34 (%75.5)'ünde

hastaneye gelmeden önce antibiyotik kullanım hikayesi olduğu vurgulanmıştır¹⁰³. Awari ve ark. klinik şüpheli 150 piyojenik menenjitli hastanın 50 (%33.3)'sine bakteriyel menenjit tanısı koymuşlar ve 50 hastanın 35 (%70)'inin kültür ve Gram boyamasını pozitif olarak bulurken kültür negatif hastaların 6 (%12)'sında LAT ile pozitiflik saptamışlar ve LAT duyarlılığını %92 olarak bildirmişlerdir¹⁷⁹. Surinder ve ark. 65 bakteriyel menenjit şüpheli hastada mikroskopik inceleme, klasik kültür ve LAT yöntemlerini karşılaştırmışlardır. Kültür pozitifliği 15 (%23.1) hastada, Gram boyama pozitifliği 11 (%16.9) hastada, LAT pozitifliği ise 10 (%15.4) hastada bulmuşlardır. Çalışmada kültür negatif iki (%3.1) hastada (*N. meningitidis* A) LAT pozitif bulunmuş ve bu iki hastanın da öncesinde antibiyotik kullanım öyküsü olduğu belirtilmiştir¹⁸⁰. Camargos ve ark. 166 kanlı BOS örneğini incelemeye almışlardır. Kültürü altın standart metod olarak değerlendirmişler ve LAT'ın duyarlılığını ve özgüllüğünü sırasıyla %83.8 ve %94 bulmuşlardır¹⁸¹. Hacımustafaoğlu ve ark. üç yıllık bir süredeki 40 pürülan menenjitli hastayı kültür ve LAT yönünden değerlendirmişlerdir. Kültür pozitifliğini 14 (%35), LAT pozitifliğini 21 (%52.5) olarak belirtirken kültürde üreyen 14 hastanın sekizinde LAT pozitifliği, altısında LAT negatifliği gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak kültüre göre LAT'ın duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerlerini sırasıyla %57, %50, %38 ve %68 olarak belirlemişlerdir¹⁸². Ayaşlıoğlu ve ark. yaptıkları çalışmada kültürle izole ettikleri 20 pürülan menenjitli olguda LAT ile 18 (%90) olguda pozitiflik saptamışlardır¹⁸³. Çalışmamızda hedeflediğimiz üç etken için kültür yöntemi ile dört (%2.92) (üç *S. pneumoniae*, bir *H. influenzae*) suş izole edilirken LAT ile 17 (%12.40) hastaya bakteriyel menenjit tanısı konuldu. Kültürde üreyen üç *S. pneumoniae* suşu LAT ile pozitif iken, bir *H. influenzae* suşu LAT ile negatif bulundu. Klasik kültür yöntemi altın standart yöntem olarak kabul edildiğinde LAT'ın duyarlılığı %75, özgüllüğü %89.5, pozitif prediktif değeri %17.65 ve negatif prediktif değeri %99.17 olarak bulundu.

Türkiye'de Ceyhan ve ark.'nın bir yıllık sürede çok merkezli yaptıkları çalışmada bir ay-17 yaş arasındaki çocuklarda görülen bakteriyel menenjit etkenlerine yönelik 243 tanısı doğrulanmış hastanın sonuçları Gram boyama, kültür, LAT ve PZR yönünden değerlendirilmiştir. Çalışmalarının sonuçlarına göre 243 hastanın kültür pozitifliğini 41 (%17), LAT pozitifliğini 56 (%21.8), PZR pozitifliğini ise 243 (%100) olarak bulmuşlardır. BOS kültürü negatif olan 202

hastanın 111 (%54.9)'inde önceden antibiyotik kullanım öyküsü olduğunu vurgulamışlardır. Bu yöntemler içinde ise kültürün altın standart olduğunu ancak antibiyotik kullanımından etkilenmesinden dolayı en güvenilir yöntemin PZR olduğunu vurgulamışlardır¹⁵⁸. Ghotaslou ve ark.'nın İran'da 277 bakteriyel menenjit şüpheli çocuk hastada yaptıkları çalışmada *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis* ve *S. agalactiae* etkenlerine yönelik kültür, LAT ve PZR yöntemlerini karşılaştırmışlardır. Toplam 277 şüpheli hastanın 11 (%3.97)'inde kültür pozitifliği, 14 (%5.05)'ünde LAT pozitifliği ve 19 (%6.8)'unda PZR pozitifliği bulmuşlardır. Tüm bu sonuçlara göre de PZR'nin hiç yalancı pozitiflik vermediğini, PZR'nin en faydalı ve duyarlı metod olduğunu ve bakteriyel menenjit tanısında kültür ve PZR'nin beraber değerlendirilmesi gerekliliğini vurgulamışlardır¹⁸⁴. Kennedy ve ark. yaptıkları çalışmada bakteriyel menenjit tanısında *S. pneumoniae* ve Hib için klasik kültür, LAT ve PZR'yi incelemişlerdir. PZR'de *S. pneumoniae* için ply, Hib için bexA gen bölgelerine bakmışlardır. Hib için PZR, LAT ve kültürün duyarlılıklarını sırasıyla %100, %40 ve %57.5 olarak bulurken, *S. pneumoniae* için ise sırasıyla %100, %58.3, %66.7 bulmuşlardır. Sonuç olarak ise PZR'nin kültür ve LAT'tan daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir¹⁸⁵. Brezilya'da *S. pneumoniae* menenjitlerine yönelik yapılan bir çalışmada tanıda Gram boyama, kültür, LAT ve PZR (ply gen bölgesine yönelik) testlerinin karşılaştırılmaları yapılmış. Buna göre kültürün duyarlılığını %59, Gram boyamanın duyarlılığını %66, LAT'ın duyarlılığını %78 ve PZR'nin duyarlılığını %96, özgüllüğünü ise %100 olarak belirtmişlerdir¹⁸⁶. Yaptığımız çalışmada hedeflediğimiz üç etken için kültür, LAT ve PZR yöntemlerinin tanısal performanslarını tekrar değerlendirecek olursak; kültür yöntemi ile dört (%2.92) (üç *S. pneumoniae*, bir *H. influenzae*), PZR ile 18 (%13.14), LAT ile 17 (%12.40) hastaya bakteriyel menenjit tanısı konuldu. Kültürde üreyen tüm bakteriler PZR ile pozitif bulundu. Kültürde üreyen üç *S. pneumoniae* suşu LAT ile pozitif iken, bir *H. influenzae* suşu LAT ile negatif bulundu. Bir *S. pneumoniae* suşu kültür ve PZR ile negatif bulunurken, LAT ile pozitif bulundu. Tüm bu veriler doğrultusunda klasik kültür yöntemi altın standart yöntem olarak kabul edilerek PZR ve LAT'ın bakteriyel menenjit tanısındaki güçleri istatistiksel olarak analiz edildi. Buna göre PZR'nin duyarlılığı %100, özgüllüğü %89.5, pozitif prediktif değeri %22.22 ve negatif prediktif değeri %100 bulundu. LAT'ın ise duyarlılığı %75, özgüllüğü %89.5, pozitif prediktif değeri

%17.65 ve negatif prediktif değeri %99.17 olarak bulundu. Kültür oranımızın PZR ve LAT'a göre düşük olma sebebini irdeleyecek olursak; 19 tanı konulan hastanın özgeçmişinde antibiyotik kullanım öyküsünün 13/19 (%68.4) olduğu tespit edildi. Kültür pozitif dört olgunun (üç *S. pneumoniae*, bir *H. influenzae*) ikisinde (%50), kültür negatif-PZR pozitif 14 hastanın 10 (%71.4)'unda, kültür negatif-LAT pozitif 14 hastanın 10 (%71.4)'unda hastaların hastanemize başvurmadan 1-7 gün öncesinde antibiyotik kullanım öykülerinin olduğu saptandı. Ayrıca kültür negatif, PZR ve LAT pozitif üç (%15.79) hastanın ise öncesinde antibiyotik kullanıp kullanmadığı tespit edilemedi. Öncesinde antibiyotik kullanımının kültürdeki üremeyi ciddi oranda etkilediğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda ulaştığımız tüm bu bulgular ve istatistiksel verilerin ışığında, yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olarak PZR'nin bakteriyel menenjit tanısındaki yüksek duyarlılığı bizim çalışmamızda da gözlenmektedir. LAT'ın ise çeşitli çalışmalarda duyarlılığı %30-80 arasında değişmekle birlikte, bu çalışmalar ile kıyaslandığında bizim çalışmamızdaki duyarlılık sonucu uyumlu olarak değerlendirildi. Bu sonuçlara göre de LAT'ın bakteriyel menenjitin hızlı tanısında faydalı olabileceği görülmektedir. PZR ve LAT'ı karşılaştıracak olursak; bakteriyel menenjitin hızlı tanısında her iki yöntemin de kullanılabilir yöntemler olduğunu ancak PZR'nin hem bizim çalışmamızda hem de diğer çalışmalar göz önüne alındığında bu üç yöntem içinde özellikle öncesinde antibiyotik kullanılan hastalarda imkanlar dahilinde LAT'a göre daha çok tercih edilmesi gereken yöntem olduğunu düşünmekteyiz.

Nozokomiyal menenjitler invaziv işlemler (kraniyotomi, ventriküler kateterler, lomber ponksiyon, spinal anestezi), kafa travmaları, intartekal medikasyon, metastatik enfeksiyonlar sonucunda gözlenebilmektedir¹⁸⁷. Turunç ve ark. nozokomiyal menenjit tanısı almış 12 olguyu incelemişler ve bu hastaların altısına ventrikülo-peritoneal şant konulduğunu, iki hastaya da cerrahi girişim uygulandığını belirterek izole ettikleri etkenleri sırasıyla MRSA (%50), *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* olarak bulmuşlardır¹⁸⁸. Kim ve ark. Kore'de 91 nozokomiyal menenjitli hastada yaptıkları çalışmada en sık etkenleri sırasıyla KNS, *Acinetobacter* spp. ve bu hastaların da %85.7'sinde eksternal ventriküler diren olduğunu vurgulamışlardır⁶². Sautter ve ark. ise 1984 yılında cilt dezenfeksiyonu sırasında kullanılan kontamine benzalkonyum klorid solusyonuna bağlı ilk *S. marcescens* vakasını tanımlamışlardır¹⁸⁹. Spinal

anestezi sonrası *Serratia marcescens* menenjitleri nadir karşılaşılan bir durumdur. Hadzic ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada artroskopi işlemi için spinal anestezi yapılan ve 24 saat sonrasında ateş ve baş ağrısı gelişen *S. marcescens* menenjitleri gelişen bir olguyu ele almışlardır. Bu durumun 3 sebebinin olabileceğini vurgulamışlardır. Bunlar; hastada hematogen yolla disseminasyon gelişmiş olabileceğini, spinal işlem sırasında spinal iğne aracılığı ile olabileceğini ve son olarak da enfeksiyon kontrol önlemlerine dikkat edilmediğini, ekipmanlar veya hastane çalışanlarının ağız floralarından kaynaklanabileceğini vurgulamışlardır¹⁹⁰. Chakrabarti ve ark. yaptıkları çalışmada 267 menenjit şüpheli hastanın 117 (%43.8)'sine beyin cerrahi kliniğinden gelen örneklerden tanı koymuşlardır. Bu 117 hastanın 32 (%27.3)'sinde kültürde üreme olmuş ve etkenleri sırasıyla *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. vulgaris* olarak bildirmişlerdir¹⁰. Çalışmamızda kültürde, hedeflediğimiz üç etken dışında izole edilen bakteriyel etkenlerin sayısı 17 (%12.41) olarak bulundu. Bu 17 etken bakteri değerlendirildiğinde; yedi (%5.10) hastada KNS, dört (%2.92) hastada *S. marcescens*, iki (%1.46) hastada *A. baumannii*, iki (%1.46) hastada *P. aeruginosa* ve iki (%1.46) hastada *S. aureus* izole edildi. Kültüründe *S. marcescens* izole edilen dört hastada, aynı dönemde aynı hastanede spinal anestezi ile doğum öyküsü mevcuttu. Bu dört *S. marcescens* suşuna Rep-PZR Diversilab sistemi ile moleküler tiplendirme yapıldığında dört suşun üçü klonal olarak ilişkili bulunurken bir suş klonal olarak farklı bulundu. Kültüründe KNS izole edilen yedi hastanın hepsinde beyin cerrahi operasyon öyküsü ve ventrikülo-peritoneal şant olduğu belirlendi. Kültüründe *S. aureus* izole edilen iki menenjit hastasının birinde ventrikülo-peritoneal şant öyküsü, *A. baumannii* izole edilen iki menenjit hastasının ikisinde de beyin cerrahi operasyon öyküsü ve *P. aeruginosa* izole edilen iki menenjit hastasının birinde ventrikülo-peritoneal şant öyküsü, diğerinde ise beyin cerrahi operasyon öyküsü mevcut olduğunu tespit edildi. Kültürde üreyen bu 13 suşun hepsinin hastane kökenli olabileceği düşünüldü ve bu suşlar arasındaki klonal benzerlik AP-PZR yöntemi ile araştırıldı. AP-PZR sonucunda iki KNS ve iki *S. aureus* suşu klonal olarak kendi aralarında benzer bulunurken diğer beş KNS, iki *P. aeruginosa* ve iki *A. baumannii* suşu kendi aralarında klonal olarak farklı bulundu. Nozokomiyal menenjitlerle ilgili tüm bu veriler değerlendirildiğinde, çalışmamızdaki

nozokomiyal menenjit etkenlerinin literatürlerle benzer şekilde olduğu tespit edildi.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmada bakteriyel menenjit etkenlerinin hızlı ve doğru bir şekilde saptanmasında yeni kullanıma giren moleküler yöntemlerin tanısal performansları, klasik tanı yöntemleri ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ve bölgemizdeki bakteriyel menenjit etkenlerinin epidemiyolojik verilerinin oluşturulması amaçlandı. Hedeflenen üç etkene (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis*) yönelik bakteriyel menenjit tanısında klasik kültür yöntemi altın standart kabul edilerek PZR ve LAT'ın tanısal değeri irdelenirken bu etkenler dışında kültürde üreyip hastane kökenli olabileceği düşünülen bakterilerin arasındaki genetik ilişkinin varlığının moleküler yöntemler ile araştırıldı.

Hedeflenen üç etken için çalışmada dört (%2.92) kültür pozitifliği, 18 (%13.14) PZR pozitifliği, 17 (%12.40) LAT pozitifliği, bu üç yöntemle tanı alan hasta sayısı 19 (%13.86) olarak bulundu. Kültürde üreyen üç *S. pneumoniae* suşunun serotipleri 6A/B, 23F ve 8, bir *H. influenzae* suşunun serotipi ise tip b olarak bulundu. Çalışmanın sonucunda PZR'nin duyarlılığı %100, özgüllüğü %89.5, pozitif prediktif değeri %22.22 ve negatif prediktif değeri %100 olarak bulunurken, LAT'ın duyarlılığı %75, özgüllüğü %89.5, pozitif prediktif değeri %17.65 ve negatif prediktif değeri %99.17 olarak tespit edildi. Hedeflenen üç etken dışında kültürde yedi (%5.10) koagülaz negatif stafilokok (KNS), dört (%2.92) *Serratia marcescens*, iki (%1.46) *Staphylococcus aureus*, iki (%1.46) *Acinetobacter baumannii* ve iki (%1.46) *Pseudomonas aeruginosa* üredi. Kültürde izole edilen dört *S. marcescens* suşunun hastane enfeksiyonu yönünden aralarındaki klonal benzerliklerinin varlığı Rep-PZR Diversilab sistemi ile araştırıldı ve dört suşun üçü klonal olarak benzer bulunurken bir suş klonal olarak farklı bulundu. Kültürde üreyen diğer suşların ise klonal benzerliklerinin varlığı AP-PZR yöntemi ile araştırıldı. AP-PZR sonucunda iki KNS ve iki *S. aureus* suşu klonal olarak benzer bulundu.

Günümüzde bakteriyel menenjite neden olan bakteriyel etkenlerin izolasyonunda ve tiplendirilmesinde kültür altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak kültürde *N. meningitidis*, *H. influenzae* gibi etkenlerin zor üremesi ya da ürememesi, BOS miktarının azlığından dolayı santrifüj yapılamadan kültür ekimlerinin yapılmak zorunda kalınması, BOS içerisinde bakteri yoğunluğunun azlığı, öncesinde antibiyotik kullanılmış hastalar

nedeniyle zaman zaman negatif sonuçlar elde edilebilmektedir. Bu durumlarda PZR ve LAT gibi yöntemler bakteriyel menenjitin hızlı tanısında oldukça fayda sağlamaktadırlar. Ayrıca kültür yöntemleri ile en az 24-48 saat sonra sonuç alınmaktadır. Moleküler yöntemler ise aynı gün içerisinde sonuçlanabilmektedir. Moleküler yöntemlerin en önemli dezavantajı yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlardır. Bundan dolayı kültür altın standart olarak yerini korumaktadır.

Menenjit mortalite ve morbiditesi yüksek bir hastalık olduğundan, mümkün olan en kısa sürede tanı konması ve tedavinin başlanması en doğru yaklaşımdır. 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 menenjitile uyumlu olan hastalarda mutlaka uygulanmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Bhimraj A. Acute community-acquired bacterial meningitis in adults: An evidence-based review. *Cleveland Clinical Journal Of Medicine* 2012; 79(6): 393-400.
2. Kanra G, Ceyhan M, Kara A. Menenjit I: Etiyopatogenez. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2003; 46(1): 57-66.
3. Asha Seidi OA. Acute bacterial meningitis in adults. *Khartoum Medical Journal* 2011; 4(2): 573-583.
4. Mace SE. Acute Bacterial Meningitis. *Emerg Med Clin N Am* 2008; 26(2): 281–317.
5. Kanra G, Ceyhan M, Kara A. Menenjit II: Klinik bulgular ve tanı. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2003; 46(2): 128-138.
6. Topçular B, Topçular NS, Demir GA, Regeniter A. Beyin Omurilik Sıvısı Analizinde Güncel Yaklaşımlar. *Nöropsikiyatri Arşivi* 2007; 44(1): 28-33.
7. Scarborough M, Thwaites GH. The diagnosis and management of acute bacterial meningitis in resource-poor settings. *Lancet Neurol* 2008; 7(7): 637–648.
8. Meningitis Current Evidence and Best Practice. Erişim: <http://www.emedmag.com/PDF/043060006.pdf>. Erişim tarihi: 20.01.2013
9. 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): 471-475.
10. 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): 182-188.
11. Abdeldaim G, Stralin K, Korsgaard J, Blomberg J, Welinder-Olsson C, Herrmann B. Multiplex quantitative PCR for detection of lower respiratory tract infection and meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Neisseria meningitidis*. *BMC Microbiology* 2010; 10 (310): 1-9.
12. Kara A. Menenjit Tedavisi. *Çocuk Enf Derg* 2007; 1(1): 40-44.

13. Kadanalı A. Santral Sinir Sistemi İnfeksiyonları. *The Eurasian Journal of Medicine* 2007; 39(3): 210-223.
14. Demirtürk N, Demirkıran MK. Akut Bakteriyel Menenjit. *The Medical Journal of Kocatepe* 2002; 2: 93-100.
15. El Bashir H, Laundry M, Booy R. Diagnosis and treatment of bacterial meningitis. *Arch Dis Child* 2003; 88(7): 615–620.
16. Kim KS. Acute bacterial meningitis in infants and children. *Lancet Infect Dis* 2010; 10(1): 32–42.
17. Chaudhuri A, Martin PM, Kennedy PGE. EFNS guideline on the management of community-acquired bacterial meningitis: report of an EFNS Task Force on acute bacterial meningitis in older children and adults. *European Journal of Neurology* 2008; 15(7): 649–659.
18. Çavuşlu Ş. Akut Menenjit Sendromu. Akıcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi 2002; 31: 141-151.
19. Souza SF, Costa MCN, Paim JS. Bacterial meningitis and living conditions. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2012; 45(3): 323-328.
20. Gingsberg L, Kidd D. Chronic and recurrent meningitis. *Pract Neurol* 2008; 8(6): 348–361.
21. Haghighi BA. Chronic meningitis. *Shiraz E Medical Journal*. 2000; 1(1): 7-12.
22. Örmen B, Türker N, Ural S ve ark. Rekürren Bakteri Menenjitleri. *Turkish Journal of Infection* 2007; 21(2): 59-63.
23. Altunay H, Öncül O, Çavuşlu Ş. Rekürren Menenjitler: 14 Olgu Nedeniyle. *Klimik Dergisi* 2001; 14(3): 150-153.
24. Control of epidemic meningococcal disease. Erişim: <http://www.who.int/csr/resources/publications/meningitis/whoemcbac983.pdf>. Erişim tarihi: 25.03.2013.
25. Bacterial meningitis. Erişim: www.who.int/nuvi/meningitis/en/index.html. Erişim tarihi: 27.03.2013.
26. Güçlü AÜ, Kılıç A, Küçükarslan A ve ark. Beyin-omurilik-sıvılarından izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *Gülhane Tıp Dergisi* 2005; 47(4): 204-208.

27. Scheld WM, Koedel U, Nathan B, Pfister HW. Pathophysiology of Bacterial Meningitis: Mechanism(s) of Neuronal Injury. *The Journal of Infectious Diseases* 2002; 186(2): 225–233.
28. Özdemir H, Tapısız A, Çiftçi E ve ark. Çocuklarda Akut Bakteriyel Menenjit. *Çocuk Enf Derg* 2010; 4(1): 9-14.
29. Schut ES, Brouwer MC, Scarborough M, Mai NTH, Thwaites GE, et al. Validation of a Dutch Risk Score Predicting Poor Outcome in Adults with Bacterial Meningitis in Vietnam and Malawi. *PLoS ONE* 2012; 7(3): e34311.
30. Schuchat A, Robinson K, Wenger JD. Bacterial meningitis in the United States in 1995. Active Surveillance Team. *New England Journal of Medicine* 1997; 337(14): 970-976.
31. Hoffman O, Weber JR. Pathophysiology and treatment of bacterial meningitis. *Ther Adv Neurol Disord* 2009; 2(6): 401-412.
32. Thigpen MC, Whitney CG, Messonnier NE et al. Bacterial Meningitis in the United States, 1998–2007. *N Engl J Med* 2011; 364(21): 2016-2025.
33. Machanda W, Gupta S, Bhalla P. Meningococcal Disease: History, Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, Antimicrobial Susceptibility and Prevention. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2006; 24(1): 7-19.
34. Ewans CM, Pratt CB, Matheson M. Nasopharyngeal Colonization by *Neisseria lactamica* and Induction of Protective Immunity against *Neisseria meningitidis*. *CID* 2011; 52(1): 70-77.
35. Kim SA, Kim DW, Dong BQ et al. An expanded age range for meningococcal meningitis: molecular diagnostic evidence from population-based surveillance in Asia. *BMC Infectious Diseases* 2012; 12: 310-319.
36. Parlak M. Akut Bakteriyel Menenjitler. Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlara Pratik Yaklaşımlar Sempozyum Dizisi 2008; 61: 151-164.
37. Pollard AJ. Global epidemiology of meningococcal disease and vaccine efficacy. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23(12): 274-279.
38. Uzel N, Hacımustafaoğlu M. Çocuklarda Meningokoksik Hastalık. *ANKEM Derg* 2006; 20(3): 194-198.

39. Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. Erişim:http://apss.who.int/iris/bitstream/10665/70765/WHO_IVB_11.09_eng.pdf. Erişim tarihi: 05.04.2013.
40. Nakayama A, Takahashi H, Ohkusu K et al. A case of sepsis and meningitis caused by probable travel-related *Neisseria meningitidis* serogroup B infection. *Jpn. J. Infect. Dis* 2011; 64(1): 61-62.
41. Katz LS, Humphrey JC, Conley AW et al. *Neisseria* Base: a comparative genomics database for *Neisseria meningitidis*. Database 2011; bar035: 1-8.
42. Tlek N, Taşdelen Fışgın N. Akut Bakteriyel Menenjitler. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008: 1390-1422.
43. O'brein K, Wolfson L, Watt JP. Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates. *Lancet*. 2009; 374(9693): 893–902.
44. Honda H, Warren DK. Central Nervous System Infections: Meningitis and Brain Abscess. *Infect Dis Clin* 2009; 23(3): 609–623.
45. *Streptococcus pneumoniae*, Invaziv Disease. Erişim: <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/pneumo.pdf>. Erişim tarihi: 18.01.2013.
46. Can E, Keser M, Hatipoğlu N ve ark. *Streptococcus Pneumoniae* Serotip 20 Menenjitli Vakası. *Çocuk Enf Derg* 2009; 3(4): 187-189.
47. Resti M, Micheli A, Moriondo M et al. Comparison of the Effect of Antibiotic Treatment on the Possibility of Diagnosing Invasive Pneumococcal Disease by Culture or Molecular Methods: A Prospective, Observational Study of Children and Adolescents With Proven Pneumococcal Infection. *Clinical Therapeutics* 2009; 31(6): 1266-1273.
48. Gilsdorf JR, Marrs CF, Foxman B. *Haemophilus influenzae*: genetic variability and natural selection to identify virulence factors. *Infect. Immun* 2004; 72(5): 2457–2461.
49. Greenberg N, Haksin O, Yarden-Bilavsky H, Amir J, Bilavsky E. *Haemophilus influenzae* Type b Meningitis in the Short Period after

- Vaccination: A Reminder of the Phenomenon of Apparent Vaccine Failure. *Case Reports in Infectious Diseases* 2012; 2012: 950107.
50. Megged O, Bar-Meir M, Schlesinger Y. *Haemophilus influenzae* Activity in a Single Medical Center in Israel in the Post-Vaccine Era. *IMAJ* 2012; 14(7): 410-415.
 51. Zhang Y, Zang GQ, Tang ZH, Tang ZH, Yu YS. *Listeria monocytogenes* meningitis in an immunocompetent adult: a case report. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2012; 45(3): 410-411.
 52. Öztekin O, Kalay S, Tezel G, Barsal E, Akçakuş M, Oygür N. Yenidoğanda Yaygın Tutulum Gösteren Grup B Streptokok Enfeksiyonu: Olgu Sunumu. *Güncel Pediatri* 2011; 9(1): 141-144.
 53. Arıbaş ET, Tekin B. Lenfomalı bir hastada postoperatif gelişen *Staphylococcus aureus* menenjititi. *Genel Tıp Derg* 2004; 14(2): 61-63.
 54. Kumar SG, Venugopal AK, Mahadevan A et al. Quantitative proteomics for identifying biomarkers for tuberculous meningitis. *Clinical Proteomics* 2012; 9(1): 12.
 55. Şengöz G. Sekseniki tüberküloz menenjitli olgunun değerlendirilmesi. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2005; 53(1): 50-55.
 56. Kim HJ, Kang B, Hwang S, Hong J, Kim K, Cheon DS. Epidemics of viral meningitis caused by echovirus 6 and 30 in Korea in 2008. *Virology Journal* 2012; 9 (38): 1-7.
 57. Kılıç İ, Altuğlu İ, Çiçek C ve ark. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonu Etkeni Enterovirusların RT-PCR ve Hücre Kültür Yöntemleri ile Saptanması. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(3): 468-477.
 58. Zarrin M, Mahmoudabadi AZ. Central nervous system fungal infections; a review article. *Microbiol* 2010; 3(2): 41-47.
 59. Badiie P, Alborzi A. Assessment of A Real-time PCR Method to Detect Human Non-Cryptococcal Fungal Meningitis. *Archives of Iranian Medicine* 2011; 14(6): 381-384.
 60. Movahedi Z, Shokrollahi MR, Aghaali M, Heydari H. Primary Amoebic Meningoencephalitis in an Iranian Infant Case Report *Med* 2012: 782854.
 61. Leblebicioğlu H. Menenjitlere Yaklaşım. *Ulusal İç Hastalıkları Kongresi*. 26-30 Eylül 2001, Antalya: 136-141.

62. Kim HB. Nosocomial Meningitis: Moving beyond Description to Prevention. Korean j intern med 2012; 27(2): 154-155.
63. Brouwer MC, Tunkel AR, Van de Beek D. Epidemiology, Diagnosis, and Antimicrobial Treatment of Acute Bacterial Meningitis. Clin. Microbiol. Rev 2010; 23(3): 467-492.
64. Lai WA, Chen SF, Tsai NW. Clinical characteristics and prognosis of acute bacterial meningitis in elderly patients over 65: a hospital-based study. BMC Geriatrics 2011; 11: 91-96.
65. Çokuğraş H. Bakteriyel Menenjitte Akılcı Antibiyotik Kullanımı. Çocuklarda Akılcı Antibiyotik Kullanımı Sempozyum Dizisi 2002; 33: 51-55.
66. Karakartal G, Altay G, Arısoy ES, Doğanay M. Menenjitler. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi 2002: 985-1018.
67. Öneş Ü. *Haemophilus influenzae* İnfeksiyonları. Klimik Derg 1990; 3(3): 119–122.
68. Bilgehan H. Haemophilus. In: Klinik bakteriyoloji, Özel bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları (Uygulama konuları ile). 10. Baskı. İzmir: Barış Yayınları, 2000: 149–150.
69. Torun MM. Haemophilus Türleri. Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M. (eds). In: Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008: 2243-2249.
70. Gür D. Haemophilus, Bordetella, Brucella ve Fransiella. In: Yemen OŞ (ed). Tıbbi Mikrobiyoloji. İstanbul: Nobel Kitabevleri, 2010: 233-249.
71. Torun MM. Haemophilus ve İlişkili Bakteriler. In: Başustaoğlu A. (ed). Tıbbi Mikrobiyoloji. Ankara: Atlas Kitapçılık, 2010: 343-351.
72. Bilgehan H. Neisseria ve Moraxella. In: Klinik bakteriyoloji, Özel bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları (Uygulama konuları ile). 10. Baskı. İzmir: Barış Yayınları, 2000: 317-346.
73. Fazlı ŞA. Neisseria ve Branhamella. In: Ustacelebi Ş. (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 371–396.
74. Köksal İ. Neisseria Türleri. In: Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M. (eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008: 2114-2122.

75. Gerçeker D. Neisseira ve ilgili bakteriler. In: Başustaoğlu A. (ed). Tıbbi Mikrobiyoloji Kitabı. Ankara: Atlas Kitapçılık, 2010: 291-300.
76. Panatto D, Amicizia D, Lai PL, Gasparini R. Neisseria meningitidis B vaccines. Expert Rev. Vaccines 2011; 10(9): 1337–1351.
77. Stephens DS, Greenwood B, Brandtzaeg P. Epidemic meningitis, meningococcaemia, and Neisseria meningitidis. Lancet 2007; 369(9580): 2196-2210.
78. Sümerkan B. *Streptococcus pneumoniae*. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds): Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3.baskı. İstanbul: Nobel tıp kitapevleri, 2008: 2051-2056.
79. Cengiz AT. *Streptococcus pneumoniae*. In: Ustaçelebi Ş. (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 365-369.
80. York MK, Traylor M, Hardy J, Biochemical Tests for the Identification of Aerobic Bacteria. Churc DL (eds): Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2. baskı, ASM Press, Washington 2007: 3.17.1.1-3.17.48.1
81. Bile Solubility Test. Erişim: <http://www.asmpress.org/asmpress/files/CCLIBRARYFILES/FILENAME/0000000161/03.17.06.pdf>. Erişim tarihi: 05.03.2013.
82. Berkiten R. Türkiye’de *Streptococcus pneumoniae*: Antibiyotiklere Direnç, Eritromisin Direnç Fenotipleri ve Serotip Dağılımı. ANKEM Derg 2006; 20(2): 114-124.
83. Gürler N. Ülkemizde Saptanan Pnömonokok Tipleri ve Direnç. Çocuk Enf Derg 2007; 1(1): 46-51.
84. Tünger Ö. Pnömonokok İnfeksiyonları ve Korunma. ANKEM Derg 2006; 20(2): 125-132.
85. Jedrzejczak MJ. Pneumococcal Virulence Factors: Structure and Function. Microbiol. Mol. Biol. Rev 2001; 65(2): 187-207.
86. Mahdi LK, Wang H, Van der Hoek MB, Paton JC, Ogunniyi AD. Identification of a novel pneumococcal vaccine antigen preferentially expressed during meningitis in mice. J Clin Invest 2012; 122(6): 2208-2220.
87. Goldsmith CE, Moore JE, Murphy PG: Pneumococcal resistance in the UK. J Antimicrob Chemother 1997; 40: 11-18.

88. Şener B. *Streptococcus pneumoniae*'de Penisilin Direnci ve Klonal İlişkinin İzlenmesi. ANKEM Derg. 2007; 21(2): 171-177.
89. Aslan G, Tezcan S, Delialioğlu N, Aydın FE, Kuyucu N, Emekdaş G. Penisiline Duyarlı ve Dirençli *Streptococcus pneumoniae* İzolatlarında Penisilin Bağlayan Protein Genotiplerinin Değerlendirilmesi Mikrobiyol Bul. 2012; 46(2): 190-201.
90. Tiryakioğlu N, Aksu B, Hasdemir UÖ. *Streptococcus Pneumoniae*'da Makrolid Direnç Mekanizmaları ile Serotip İlişkisi. MUSBED 2012; 2(3): 124-129.
91. Saberi A, Syed SA. Meningeal Signs: Kernig's Sign and Brudzinski's Sign. Hospital Physician 1999; 35: 23–24.
92. Şensoy G. Çocuklarda İntrakranial Enfeksiyonlar. Çocuk Enf Derg 2009; 3 (Özel Sayı 1): 43-47.
93. Tülek N, Tanyel E. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonlarına Genel Bakış. In: Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M. (eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008: 1375-1390.
94. Taşdelen Fışgın N, Tanyel E, Zivaloğlu M, Tülek N. Santral Sinir Sistemi İnfeksiyonları: Üçüncü Basamak Bir Üniversite Hastanesi Deneyimi. Turkish Journal of Infection 2007; 21(4): 169-174.
95. Lawrence RH. The Role of Lumbar Puncture as a Diagnostic Tool in 2005. Critical Care and Resuscitation 2005; 7(3): 213-220.
96. Ellenby MS, Tegtmeyer K, Lai S, Braner DA. Videos in clinical medicine. Lumbar puncture. N Engl J Med 2006; 355(13): e12.
97. Straus SE, Thorpe KE, Holroyd-Leduc J. How Do I Perform a Lumbar Puncture and Analyze the Results to Diagnose Bacterial Meningitis?. JAMA 2006; 296(16): 2012-2022.
98. Chaves-Bueno S, McCracken GH. Bacterial Meningitis in Children. Pediatr Clin N 2005; 52(3): 795–810.
99. Dunbar SA, Eason RA, Musher DM, Clarridge JE. Microscopic examination and broth culture of cerebrospinalfluid in diagnosis of meningitis. J Clin Microbiol 1998; 36(6): 1617-1620.
100. Beyin omurilik sıvısı (BOS) Kültürü Standart Uygulama Prosedürü. Bildirimi Zorunlu Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısına Yönelik

Standart Uygulama Prosedürleri Kitabı. Refik Saydam Hifzısıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Mart 2008: 36-39.

101. Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL. Practice Guidelines for the Management of Bacterial Meningitis. *CID* 2004; 39(9): 1267–1284.
102. Kanegaye JT, Soliemanzadeh P, Bradley JS Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis: defining the time interval for recovery of cerebrospinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. *Pediatrics* 2001; 108(5): 1169-1174.
103. Begum N, Ahmed I, Salam A, Begum S, Alam F. Role of Latex Particle Agglutination Test in the Diagnosis of Meningitis. *Bangladesh J Med Microbiol* 2007; 1(1): 10-12.
104. Hojjati Bonab Z, Farajnia S, Ghotaslou R, Nikkhah E. Evaluation of nested PCR method for diagnosis of meningitis due to *Neisseria meningitidis* and *Haemophilus influenzae*. *Turk J Biol* 2012; 36(5): 727-731.
105. Sadighian H, Pourmand MR. Molecular Detection of Common Bacterial Pathogens Causing Meningitis. *Iranian J Publ Health* 2009; 38(1): 60-68.
106. Azzari C, Moriondo M, Indolfi G. Molecular detection methods and serotyping performed directly on clinical samples improve diagnostic sensitivity and reveal increased incidence of invasive disease by *Streptococcus pneumoniae* in Italian children. *Journal of Medical Microbiology* 2008; 57(10): 1205–1212.
107. Doğanay M, Yıldız O. Tüberküloz Menenjit. In: Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M. (eds). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, Nobel Tıp Kitabevleri. 3. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008: 1433-1439.
108. Girardi K, Paviglianiti A, Cirillo M et al. Tuberculous Meningoencephalitis in a Patient Hairy Cell Leukemia in Complete Remission. *J Clin Exp Hematopathol* 2012; 52(1): 31-34.
109. Sayiner A. Viral Merkezi Sinir Sistemi İnfeksiyonlarında Tanı. *ANKEM Derg* 2005; 19(Ek 2): 130-136.
110. Edmond K, Clark A, Korczak VS, Sanderson C, Griffiths UK, Rudan I. Global and regional risk of disabling sequelae from bacterial meningitis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2010; 10(5): 317-328.

111. Kato Y, Takeda H, Dembo T, Tanahashi N. Delayed Recurrent Ischemic Stroke after Initial Good Recovery from Pneumococcal Meningitis. *Intern Med* 2012; 51(6): 647-650.
112. Vasilopoulou VA, Karanika M, Theodoridou K, Katsioulis A, Theodoridou MN, Hadjichristodoulou CS. Prognostic factors related to sequelae in childhood bacterial meningitis: Data from a Greek meningitis registry. *BMC Infectious Diseases* 2011; 11: 214.
113. Somand D, Meurer W. Central Nervous System Infections. *Emerg Med Clin N* 2008; 27(1): 89-100.
114. Tacon CL, Flower O. Diagnosis and management of bacterial meningitis in the paediatric population: a review. *Emerg Med Int* 2012; 320309: 1-8.
115. Parikh V, Tucci V, Galwankar S. Infections of the nervous system. *International Journal of Critical Illness and Injury Science* 2012; 2(2): 82-97.
116. Van de Beek D, De Gans J, Tunkel AR, Wijdicks EF. Community-acquired bacterial meningitis in adults. *N Engl J Med* 2006; 354(1): 44-53.
117. Brouwer MC, McIntyre P, de Gans J, Prasad K, Van de Beek D. Corticosteroids for acute bacterial meningitis (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2010; 9: CD004405.
118. Van de Beek D, Farrar JJ, De Gans J et al. Adjunctive dexamethasone in bacterial meningitis: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Neurol* 2010; 9(3): 254-263.
119. Karabay O, Öğütlü A, Teker B. Tüberküloz Menenjit. *Nobel Med* 2011; 7(2): 5-8.
120. *Haemophilus influenzae* type b (Hib) vaccine. Erişim: <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/vis/downloads/vis-hib.pdf>. Erişim Tarihi: 20.12.2012.
121. Akçakaya N. Hemophilus Influenza Tip B (Hib) Aşısı. *Çocuk Enf Derg* 2008; 2(Özel Sayı 2): 17-19.
122. Buzgan T. Türkiye’de Dünden Bugüne Aşılama Politikaları. *J Pediatr Inf* 2011; 5(1): 235-238.

123. Dinleyici EÇ. Konjuge Meningokok ve Pnömonokok Aşıları. Klinik Gelişim 2012; 25(1): 21-29.
124. Ceyhan M. Meningokok Aşıları. J Pediatr Inf 2011; 5(1): 168-170.
125. Kurugöl Z. Meningokok aşıları. Türk Ped Arş 2007; 42 (özel Sayı): 51-58.
126. Chacon-Cruz E, Velazco-Mendez Y, Navarro-Alvarez S, Rivas-Landeros RM, Volker ML, Lopez-Espinoza G. Pneumococcal disease: emergence of serotypes 19A and 7F following conjugate pneumococcal vaccination in a Mexican hospital. J Infect Dev Ctries 2012; 6(6): 516-520.
127. Hacımustafaoğlu M. Konjuge Pnömonokok Aşıları. J Pediatr Inf 2011; 5(2): 45-6.
128. Çiftçi E. Pnömonokok İnfeksiyonlarında Korunma. ANKEM Derg 2008; 22(2): 258-261.
129. Camcıoğlu Y. Konjuge Pnömonokok Aşısının İmmünojenitesi. Çocuk Enf Derg 2010; 4 (Özel Sayı 1): 1-8.
130. Ceyhan M. Konjuge Pnömonokok Aşılarında Son Gelişmeler: 13-Valanlı Konjuge Pnömonokok Aşısı. J Pediatr Inf 2011; 5(2): 68-73.
131. Boyalar ve Boyama Yöntemleri Standart Uygulama Prosedürü. Bildirimi Zorunlu Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısına Yönelik Standart Uygulama Prosedürleri Kitabı. Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Mart 2008: 115-23.
132. York MK. Gram stain. Churc DL (ed): Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2. baskı, ASM Press, Washington 2007: 3.2.1.1-3.2.1.22.
133. York MK. Cerebrospinal Fluid Cultures. Churc DL (ed): Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2. baskı, ASM Press, Washington 2007: 3.7.1-3.7.8.
134. *Haemophilus spp.* Suşlarının X ve V Faktör Gereksiniminin Belirlenmesi İçin Standart Uygulama Prosedürleri. Bildirimi Zorunlu Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısına Yönelik Standart Uygulama Prosedürleri Kitabı. Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Mart 2008: 177-179.
135. York MK, Traylor M, Hardy J, Biochemical Tests for the Identification of Aerobic Bacteria. Churc DL (eds): Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2. baskı, ASM Press, Washington 2007: 3.17.1.1-3.17.48.1.

136. Antimikrobik Duyarlılık Testleri Standart Uygulama Prosedürleri. Bildirimi Zorunlu Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısına Yönelik Standart Uygulama Prosedürleri Kitabı. Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Mart 2008: 179-184.
137. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. CLSI document M100-S22. Vol 32. No 3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania 2012: 105.
138. BioMerieux Slidex meningite-Kit 5 Kit Prosedür Rehberi Lyon, Fransa.
139. Erişim:https://www.rochediagnostics.ch/SiteCollectionDocuments/Broschueren_PDF/05204933001_EN_EA_High-Pure-PCR-TemplatePreparation-Kit.pdf. Erişim tarihi: 20.08.2012.
140. Erişim:http://www.peramed.com/components/com_siparis/docs/SP006_8436040329054_EN.pdf. Erişim tarihi: 21.08.2012.
141. Sajduda A, Brzostek A, Poplawska M et al. Molecular characterization of rifampin and isoniazid-resistant Mycobacterium tuberculosis strains isolated in Poland. J Clin Microbiol 2004; 42(6): 2425-2431.
142. Durmaz R, Ayan M. Acinetobacter baumannii izolatlarının molekuler epidemiyolojisinde Arbitrarily Primed “PZR ve Pulsed-Field Gel” Elektroforezi. In: Durmaz R. (Ed). Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri 2001: 219– 228.
143. Gurley ES, Hossain MJ, Montgomery SP et al. Etiologies of Bacterial Meningitis in Bangladesh: Results from a Hospital-Based Study. Am. J. Trop. Med 2009; 81(3): 475–483.
144. 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 Journal of Medical Microbiology 2007; 25(2): 108-114.
145. 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): 455-457.

146. Çelik İ, Özden M, Kılıçoğlu A, Demirdağ K, Kılıç SS. Yüz Yirmi Bir Menenjit Olgusunun Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. *Klimik Dergisi* 2003; 16(1): 11-14.
147. Yamazhan T, Arda B, Taşbakan M, Gökengin D, Ulusoy S, Serter D. Akut Pürülan Menenjitli 94 Olgunun Analizi. *Klimik Dergisi* 2004; 17(2): 95-98.
148. Demiroğlu YZ, Turunç T, Alışkan H, Çolakoğlu Ş, Erdoğan AF, Arslan H. Toplum Kökenli Menenjit/Meningoensefalitler: Beş Yılın Retrospektif Değerlendirilmesi. *Türkiye Klinikleri J Med* 2010; 30(1): 218-226.
149. Vashishtha VM, Garg A, John TJ. Etiology of Acute Bacterial Meningitis in Hospitalized Children in Western Uttar Pradesh. *Indian Pediatrics* 2011; 48(12): 985-986.
150. Taşkesen M, Taş MA. Çocuklarda Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonları. *Dicle Tıp Dergisi* 2007; 34(2): 123-126.
151. Özdemir H, Tapısız A, Çiftçi E, İnce E, Doğru Ü. Çocuklarda Akut Bakteriyel Menenjit. *Çocuk Enf Derg* 2010; 4(1): 9-14.
152. Öztürk ED, Erdem İ, Tok B, Karagül E, Özyürek S, Göktaş P. Pürülan menenjitli 115 olgunun değerlendirilmesi. *Klimik 2005 XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kitabı*, 16-20 Kasım 2005, Antalya: 270.
153. Deisenhammer F, Bartos A, Egg R et al. Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis. Report from an EFNS task force. *European Journal of Neurology* 2006; 13(9): 913–922.
154. Onal H, Onal Z, Ozdil M, Alhaj S. A new parameter in the differential diagnosis of bacterial and viral meningitis. *Neurosciences* 2008; 13(1): 91-92.
155. Tavares WM, Machado AG, Matushita H, Plese JP. CSF Markers for Diagnosis of Bacterial Meningitis in Neurosurgical Postoperative Patients. *Arq Neuropsiquiatr* 2006; 64(3-A): 592-595.
156. Viallon A, Desseigne N, Marjollet O et al. Meningitis in adult patients with a negative direct cerebrospinal fluid examination: value of cytochemical markers for differential diagnosis. *Crit Care* 2011; 15(3): R136.

157. Cho HK, Lee H, Kang JH et al. The Causative Organisms of Bacterial Meningitis in Korean Children in 1996-2005. *J Korean Med* 2010; 25(6): 895-899.
158. Ceyhan M, Yildirim I, Balmer P et al. A Prospective Study of Etiology of Childhood Acute Bacterial Meningitis, Turkey. *Emerging Infectious Diseases* 2008; 14(7): 1089-1096.
159. Song JY, Nahm MH, Moseley MA. Clinical Implications of Pneumococcal Serotypes: Invasive Disease Potential, Clinical Presentations, and Antibiotic Resistance. *J Korean Med* 2013; 28(1): 4-15.
160. Liu C, Xiong X, Xu W, Sun J, Wang L, Li J. Serotypes and Patterns of Antibiotic Resistance in Strains Causing Invasive Pneumococcal Disease in Children Less than 5 Years of Age. *PLOS ONE* 2013; 8(1): e54254.
161. Verhaegen J, Vandecasteele SJ, Vandeven J, Verbiest N, Lagrou K, Peetermans WE. Antibiotic susceptibility and serotype distribution of 240 *Streptococcus pneumoniae* causing meningitis in Belgium 1997-2000. *Acta Clin Belg* 2003; 58(1): 19-26.
162. Wasfy MO, Pimentel G, Abdel-Maksoud M et al. Antimicrobial susceptibility and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* causing meningitis in Egypt, 1998–2003. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005; 55(6): 958–964.
163. Zissis NP, Syriopoulou V, Kfetzis D et al. Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive infections and acute otitis media in children. *Eur J Pediatr* 2004; 163(7): 364-368.
164. Yildirim I, Hanage WP, Lipsitch M et al. Serotype specific invasive capacity and persistent reduction in invasive pneumococcal disease. *Vaccine* 2010; 29(2): 283-288.
165. Çavuşoğlu Ç, Hoşgör M, Tünger A, Özinel MA. *Streptococcus pneumoniae* suşlarında penisilin duyarlılığının araştırılması. *Mikrobiyol Bült* 1997; 31(2): 113-118.
166. Fırat M, Ersoy Y, Eşel D, Bayraktar M, Çaylan R, Durmaz R. Menenjitli Hastalardan İzole Edilen Pnömonokların Serotip Dağılımı ve Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bült* 2006; 40(3): 169-177.

167. Gözel MG, Elaldı N, Engin A, Bakır M. Toplum Kökenli Menenjit Gelişen Hastalarda Beyin Omurilik Sıvılarından İzole Edilen *Streptococcus pneumoniae* Suşlarında Penisilin Duyarlılığının ve Antibiyotik Seçiminin Değerlendirilmesi. ANKEM Derg 2011; 25(4): 263-266.
168. 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): 582-587.
169. Ito T, Shibata H, Nakazawa M et al. Meningitis and septicemia caused by nontypeable *Haemophilus influenzae* in a previously healthy 2-year-old girl. J Infect Chemother 2011; 17(4): 559–562.
170. Ödek Ç, Özdemir H, Tapısız A. *Haemophilus influenzae* tip b Aşılması Yapılan İki Çocukta İnvaziv *Haemophilus influenzae* Enfeksiyonları. Çocuk Enf Derg 2010; 4(2): 76-78.
171. Arosio M, Nozza F, Rizzi M et al. Evaluation of the MICROSEQ 500 16S rDNA-based gene sequencing for the diagnosis of culture-negative bacterial meningitis. New Microbiologica 2008; 31(3): 343-349.
172. Boden K, Sachse S, Baier M et al. 16S rDNA-PCR and Sequencing Improves Diagnosis of Bacterial Infection of the Central Nervous System. The Open Critical Care Medicine Journal 2011; 4: 44-46.
173. Papavasileiou K, Papavasileiou E, Tzanakaki G, Voyatzi A, Kremastinou J, Chatzipanagiotou S. Acute bacterial meningitis cases diagnosed by culture and PCR in a children's hospital throughout a 9-Year period (2000-2008) in Athens, Greece. Molecular Diagnosis & Therapy 2011; 15(2): 109-113.
174. Tzanakaki G, Tsopanomichalou M, Kesanopoulos K. Simultaneous single-tube PCR assay for the detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* type b and *Streptococcus pneumoniae*. Clin Microbiol Infect 2005; 11(5): 386–390.
175. Welinder-Olsson C, Dotevall L, Hogevik H et al. Comparison of broad-range bacterial PCR and culture of cerebrospinal fluid for diagnosis of community-acquired bacterial meningitis. Clin Microbiol Infect 2007; 13(9): 879–886.
176. 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 Infectious Diseases 2013; 13(26): 1-10.
177. Trafdar K, Rao S, Recco RA, Zaman MM. Lack of Sensitivity of the Latex Agglutination Test to Detect Bacterial Antigen in the Cerebrospinal Fluid of Patients with Culture-Negative Meningitis. CID 2001; 33(3): 406–408.
 178. Finlay FO, Witherow H, Rudd PT. Latex agglutination testing in bacterial meningitis. Archives of Disease in Childhood 1995; 73(2): 160-161.
 179. Awari A, Nighute S. Incidence of Bacterial Meningitis With Special Reference to Latex Agglutination Test. JRAAS 2012; 27: 65-68.
 180. Surinder K, Bineeta K, Megha M. Latex particle agglutination test as an adjunct to the diagnosis of bacterial meningitis. Indian J Med Microbiol 2007; 25(4): 395-397.
 181. Camargos PA, Almeida MS, Filho GL, Batista KW, Carvalho AG, Pereira CL. Blood stained cerebrospinal fluid responsible for false positive reactions of latex particle agglutination tests. J Clin Pathol 1994; 47(12): 1116-1117.
 182. Hacımustafaoğlu M, Köksal N, Okan M, Ener B, Ercan İ, Çelebi S. Çocukluk Çağı Pürülan Menenjitlerinin Tanısında Lateks Bakteri Agglütinasyon Testlerinin Değeri. Mikrobiyol Bül 1999; 33(3): 147-156.
 183. Ayaşlıoğlu E, Sözen TH, Özkan Ş. Beyin Omurilik Sıvısındaki Bakteriyel Antijenlerin Belirlenmesinde, Lateks Agglütinasyon ve Koagglütinasyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Mikrobiyol Bül 1993; 27(1): 185-190.
 184. Ghotaslou R, Farajnia S, Yeganeh F, Abdoli-Oskouei S, Ahangarzadeh Rezaee M, Barzegar M. Detection of Acute Childhood Meningitis by PCR, Culture and Agglutination Tests in Tabriz, Iran. Acta Medica Iranica 2012; 50(3): 192-196.
 185. Kennedy WA, Chang SJ, Purdy K et al. Incidence of bacterial meningitis in Asia using enhanced CSF testing: polymerase chain reaction, latex agglutination and culture. Epidemiol Infect 2007; 135(7): 1217–1226.
 186. Matos Jde A, Madureire DJ, Rebelo MC, Hofer CB, Barroso DE. Diagnosis of *Streptococcus pneumoniae* meningitis by polymerase chain reaction amplification of the gene for pneumolysin. Mem Inst Oswaldo Cruz 2006; 101(5): 559-563.

187. Van de Beek D, Drake J, Tunkel A. Nosocomial bacterial meningitis. The New England Journal Of Medicine 2010; 362(2): 146-154.
188. Turunç T, Demiroğlu YZ, Akın Ő, Çolakoğlu Ő, Alışkan H, Arslan H. Erişkin Bakteriyel Nozokomiyal Menejitlerin Değerlendirilmesi. III. Ulusal Yoğun Bakım İnfeksiyonları Simpozyumu Kitabı, 18-20 Mayıs 2007, NevŐehir: 73.
189. Sautter RL, Mattman LH, Legaspi LC. *Serratia marcescens* meningitis associated with a contaminated benzalkonium chloride solution. Infect Control 1984; 5(5): 223-225.
190. Hadzic H, Kolude-cimic N, Hadzovic-Cengic M et al. *Serratia Marcescens* Meningitis Following Spinal Anaesthesia and Arthroscopy. Med Arh 2012; 66(3): 54-55.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ADA	Adenozin Deaminaz
AP-PZR	Arbitrarily Primed Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ARB	Aside Rezistan Basil
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DİK	Dissemine İntravasküler Koagülasyon
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EMB	Eozin Metilen Blue
EMEA	European Medicine Agency
Hib	<i>Haemophilus influenzae</i> tip b
HIV	Human Immundeficiency Virus
KNS	Koagülaz Negatif Stafilokok
KPA	Konjuge Pnömonokok Aşısı
LAT	Lateks Aglütinasyon Testi
LP	Lomber ponksiyon
NKD	Negatif Kestirim Değeri
PAM	Primer Amebik Meningoensefalit
PKD	Pozitif Kestirim Değeri
PPA	Pnömonokal Polisakkarit Aşısı
PRP	Poliribozil Fosfat
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Rep-PZR	Repetitive Extragenic Palindromic Element Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SSS	Santral Sinir Sistemi
TBM	Tüberküloz Menenjit

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1 (Vircell Speed Oligo Bacterial Meningitis kiti strip değerlendirmesi 1)	63
Şekil 2 (Vircell Speed Oligo Bacterial Meningitis kiti strip değerlendirmesi 2)	63
Şekil 3 (Dört <i>S. marcescens</i> suşunun Rep-PZR ile klonal benzerliğinin görüntüsü)	73
Resim 1 (BOS'un Gram boyama görüntüsü)	69
Resim 2 (Kanlı agarda üreyen <i>S. pneumoniae</i> kolonileri Değerlendirmesi)	70
Resim 3 (%5 Koyun Kanlı Agarda <i>S. pneumoniae</i> Penisilin G E-test görüntüsü)	71
Resim 4 (LAT değerlendirilmesi)	71
Resim 5 (Vircell Speed Oligo Bacterial Meningitis kiti strip Değerlendirilmesi)	72
Resim 6 (Klonal olarak ilişkili bulunan suşların AP-PZR agaroz jel elektroforez görüntüsü)	73

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1 (Menenjit etkenlerinin yaşa göre dağılımı)	15
Tablo 2 (Özel bazı koşullarda sık rastlanan menenjit etkenleri)	17
Tablo 3 (Menenjit nedenleri)	18
Tablo 4 (Normal beyin omurilik sıvısının özellikleri)	31
Tablo 5 (Çeşitli menenjit tiplerinde BOS bulguları)	33
Tablo 6 (BOS kültüründe üreyen bakteriye göre spesifik antibiyotik Seçimi)	40
Tablo 7 (Yaş gruplarına ve etkenlere göre ampirik menenjit tedavisi)	41
Tablo 8 (Vircell Microbiologists Speed-Oligo Bacterial Meningitis kiti amplifikasyon protokolü)	61
Tablo 9 (Rep-PZR amplifikasyonunda bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı)	65
Tablo 10 (Rep-PZR amplifikasyon koşulları)	65
Tablo 11 (Çalışmaya dahil edilen hastaların kliniklere göre dağılımı)	68
Tablo 12 (Çalışmaya dahil edilen 137 BOS örneğinin kültür sonuçları)	70
Tablo 13 (Çalışmada hedeflenen üç etkene yönelik 137 hastanın kültür, PZR ve LAT sonuçlarının istatistiksel karşılaştırılması)	74
Tablo 14 (Çalışmada hedeflenen 3 etkene yönelik Gram boyama, kültür, PZR, LAT sonuçları ile tanı alan 19 hastanın, öncesinde antibiyotik kullanımı, altta yatan hastalık, BOS biyokimyası ve BOS lökosit sayısı yönünden incelenmesi)	77