

Bakteriyel ve Viral Menenjitlerin Ayırımında Beyin Omurilik Sıvısında Lökosit Agregasyonunun Önemi

CEREBROSPINAL FLUID LEUCOCYTE AGGREGATION SCORE IN BACTERIAL AND VIRAL MENINGITIS

Bayram ÖZHAN*, Gülnar UYSAL**, Sadi VİDİNLİSAN***,
Necla TÜLEK****, Zeynep ÖZHAN*, Akif GÜVEN**

* Dr., SSK Ankara Çocuk Hastalıkları Eğitim Hastanesi,

** Uz.Dr., SSK Ankara Çocuk Hastalıkları Eğitim Hastanesi Pediatrik İnfeksiyon Hastalıkları Bölümü,

*** Doç.Dr., SSK Ankara Çocuk Hastalıkları Eğitim Hastanesi Klinik Şefi,

**** Uz.Dr., SSK Ankara Eğitim Hastanesi Mikrobiyoloji Bölümü, ANKARA

Özet

Bu çalışmada bakteriyel ve viral menenjitlerin ayırıcı tanısında; beyin omurilik sıvısı (BOS) hücrelerinin agregasyonundaki farklılık araştırıldı. Çalışmaya bakteriyel menenjiti 18 olgu ve viral menenjiti 19 olgu alındı. Ortalama lökosit agregasyon skoru (LAS) bakteriyel menenjit grubunda %31 (minimum:%0, maksimum:%75), viral menenjit grubunda %1.21 (minimum:%0, maksimum:%16) idi ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. Beyin omurilik sıvısındaki hücre sayısı ve tipi ile LAS arasında korelasyon gözlenmezken; BOS protein konsantrasyonu ile LAS arasında pozitif, BOS glukoz konsantrasyonu ile LAS arasında negatif konsantrasyon saptandı. Beyin omurilik sıvısında LAS incelemesinin, bakteriyel - viral menenjitlerin ayırımında yardımcı, hızlı sonuç veren, pratik ve ekonomik bir test olduğu düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Menenjit, Lökosit agregasyonu,
Beyin omurilik sıvısı

T Klin Pediatri 1999, 8:130-134

Summary

In this study, the difference in aggregation of cerebrospinal fluid (CSF) cells was evaluated for differential diagnosis of bacterial and viral meningitis. Eighteen patients with bacterial, and 19 patients with viral meningitis were included in the study. Mean leukocyte aggregation score (LAS) was 31% (range 3% to 75%) in bacterial meningitis group and 1.21% (range 0% to 16%) in viral meningitis group. There was a significant difference between two groups. There was no correlation between numbers and types of CSF cells and LAS. but positive correlation was detected between CSF protein concentration and LAS; and negative correlation between CSF glucose concentration and LAS. It was thought that; LAS in CSF is a useful, easy and economic test in differentiation of bacterial and viral meningitis.

Key Words: Meningitis, Leukocyte aggregation,
Cerebrospinal fluid

T Klin JPediatr 1999, 8:130-134

Bakteriyel menenjitler çocukluk çağının mortalite ve morbiditesi en yüksek infeksiyon hastalıklarından birisidir. Acil olarak antibiyotik ve destekleyici tedavinin başlanması gereklidir. Viral menenjitlerde ise genellikle daha benign bir seyir izlenmekte ve destekleyici tedavi yeterli olmaktadır (1-6). Tedavi yaklaşımı, prognoz, hastanede yatış süresi ve tedavi maliyeti açısından bu iki hastalığın

Geliş Tarihi: 24.11.1998

Yazışma Adresi: Dr. Gülnar Uysal
Bilkent II, G-2 Blok, No: 22
Bilkent, ANKARA

hızlı tanısı büyük önem taşımaktadır. Akut bakteriyel-viral menenjit ayırımı genellikle beyin omurilik sıvısında (BOS) hücre sayısı ve tipi, protein ve glukoz konsantrasyonu, Gram boyama, kültür ve BOS'da bakteriyel antijenin saptanması gibi incelemelere dayanmaktadır. Ancak özellikle hastalığın erken döneminde BOS'da hücre sayısı ve tipi benzerlik gösterebilmekte, protein ve glukoz konsantrasyonları normal olabilmektedir. BOS'dan hazırlanan preparatların Gram boyama ile incelemesinde her zaman mikroorganizma görülememektedir. BOS kültür sonuçlarının çıkması ise birkaç gün sürebilmekte ve hastanın önceden an-

ıbiyotik alması, uygun vasat kullanılmaması gibi nedenler sonucu etken izole edilemeyebilmektedir. İOS' da bakteriyel antijenin saptanmasına yönelik incelemelerde de duyarlılık düşük olabilmektedir (-1,4,5). Bakteriyel menenjitlerin patofizyolojisinde önemli rol oynayan tümör nekrozis faktör (TNF), interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) gibi inflammatuar sitokinlerin saptanması ise her laboratuvar çalışılmaması ve pahalı tetkikler olması nedeni ile pratik uygulamada yardımcı olmamaktadır (3,6-9). Sonuçta akut bakteriyel-viral menenjit ayırımında kullanılacak hızlı, uygulaması kolay ve ekonomik tanı yöntemleri arayışı sürmektedir. Şiddetli bakteriyel infeksiyonlarda ve inflammatuar olaylarda hastaların periferik kanında beyaz küre hücrelerinde "lökerji" olarak tanımlanan agregasyon artışı olduğu ve bu artışın hastalığın şiddeti ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (10-14). Garty ve arkadaşları (15) ise menenjitli olgularda BOS'da lökosit agregasyonunu araştırmış ve bakteriyel menenjitli olgularda viral menenjitli olgulara göre yüksek bulmuşlardır. Bu çalışmada da menenjitli olguların BOS'unda lökosit agregasyon skoru (LAS) araştırılıp, bakteriyel-viral menenjit ayırımındaki rolü ve diğer BOS bulguları ile ilişkisi incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Hastalar: Ekim 1997-Eylül 1998 tarihleri arasında hastanemiz infeksiyon hastalıkları servisinde akut bakteriyel menenjit tanısı ile izlenen 18 olgu ve kabakulağa bağlı viral menenjit tanısı ile izlenen 19 olgu çalışmaya alındı. Bakteriyel menenjit tanısı öykü ve fizik inceleme bulguları ile menenjit düşünülüp yapılan lomber ponksiyonda (LP) BOS' da $50/mm^3$ üzerinde nötrofil predominant hücre saptanması ve kan kültürü, BOS kültürü ya da BOS' da lateks aglutinasyon yöntemi ile bakteriyel etken saptanması temelinde konuldu. Kabakulak menenjit tanısı ise hastanın hastaneye yatış sırasında ya da bir hafta öncesinde kabakulak tanısı alması ve BOS'da $50/mm^3$ üzerinde lenfosit predominant hücre saptanması, ancak bakteriyel etken izole edilememesi ile konuldu. Kabakulak menenjit tanısı alan tüm hastalarda kanda ELİSA ile kabakulak Ig M (+) saptandı.

Bakteriyel menenjitli olgulara seftriakson ve steroid tedavisi ile semptomatik tedavi uygulandı.

Gerekli olgularda kültür sonuçlarına göre antibiyotik düzenlemesi yapıldı. Kabakulak menenjitli olgulara ise semptomatik tedavi uygulandı (1,2).

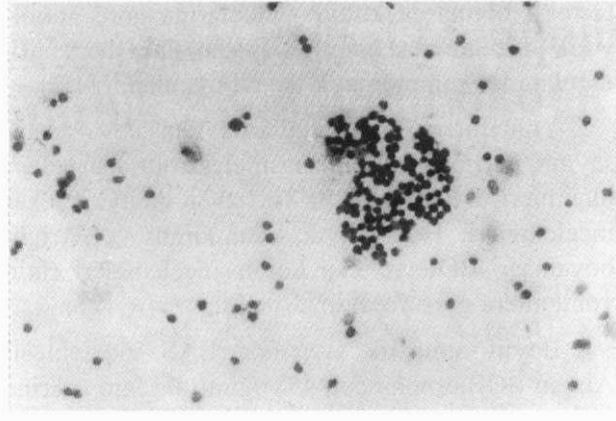
Yöntemler: Tüm olgularda kan beyaz küre sayımı, periferik kan yayması, elektrolit, kan şekeri ölçümleri, BOS' da hücre sayımı, protein ve şeker incelemeleri, BOS yaymasının Gram ve Wright boyaması, BOS ve kan kültür incelemeleri rutin yöntemlere göre yapıldı.

Beyin omurilik sıvısında LAS incelemesi: Alınan BOS örneğinden 45° eğimli iki lam üzerine birkaç damla damlatılarak 4-5 saniye kadar yerçekimi etkisine bırakıldı. Daha sonra lamlar düz bir zemin üzerinde kumtuıldı. Bu preparatlar May-Grunwald ile tespit edildikten sonra Giemsa ile boyandı. Hazırlanan preparatlar mikroskopda $100\times$ büyütmede tüm alanlar dolaşarak incelendi. Her bir preparatda 100-400 arasında hücre sayıldı. Üç ya da daha fazla hücre birarada ise küme kabul edildi. İki hücre arasında bir hücre büyüklüğünden daha fazla aralık bulunanlar kümeye dahil edilmedi. Küme olarak sayılan hücreler toplam hücre sayısına göre oranlanarak lökosit agregasyon skoru hesaplandı. Örneğin sayılan 100 hücrede beş tane üçlü küme varsa LAS % 15 olarak, sayılan 100 hücrede bir tane onbeşli küme varsa LAS yine %15 olarak saptandı (15).

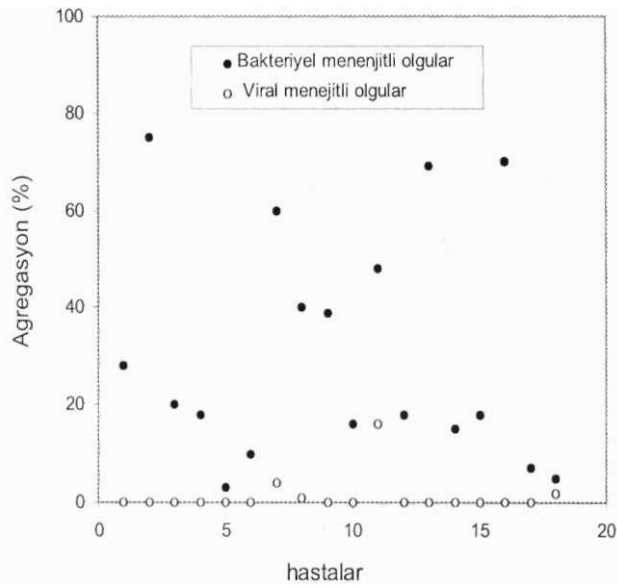
İstatistiksel Çalışma: İstatistiksel çalışma metodu olarak ki-kare testi ve bağımsız gruplar arası t-testi kullanıldı. $P<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Sonuçlar

Çalışmaya alınan 18 olguda bakteriyel menenjit ve 19 olguda viral menenjit (kabakulak menenjit) tanısı kondu. Bakteriyel menenjitli olguların 8'i (%45) kız ve 10'u (%55) erkek idi. Viral menenjitli olguların ise 6'sı (%32) kız ve 13'ü (%68) erkek idi. Gruplar arasında cinsiyet dağılımı açısından anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Yaş ortalaması bakteriyel menenjit grubunda 3.94 ± 3.32 yıl (ortalama \pm SD), viral menenjit grubunda 6.86 ± 2.39 yıl (ortalama \pm SD) idi ve iki grup arasında anlamlı fark vardı ($p= 0.0081$). Bakteriyel menenjitli olgular etkenler yönünden incelendiğinde 7 olguda (%38.5) Streptococcus pneumonia'nın, 6 olguda (%33) Hemophilus influenzae'nin, 2 olguda (% 11) Neisseria meningitidis' in etken olduğu görüldü.



Şekil 1. Bakteriyel menenjitli bir olguda beyin omurilik sıvısında lökositlerin agregasyonu.



Şekil 2. Bakteriyel ve virai menenjitli hasta gruplarında LAS değerleri.

Birer olguda ise B grubu Streptokok, Proteus (daha önceden hidrosefali nedeni ile şant takılmış bir hasta) ve Salmonella etken olarak izole edildi. Olgular arasında ölen olmadı. Bakteriyel menenjitli bir olguda subdural ampiyem gelişti ve cerrahi girişim uygulandı.

Lökosit agregasyon skoru bakteriyel menenjit grubunda 31 ± 24 (ortalama \pm SD) (min.: %3, mak.: %75), viral menenjit grubunda 1.21 ± 3.72 (ortalama \pm SD) (mm.:%0, mak.: %16) idi ve iki grup arasında anlamlı fark vardı ($p= 0.001$) (Şekil 1

ve 2). LAS için % 15 değeri sınır alındığında bakteriyel menenjit tanısında testin sensitivitesi %72.2, spesifisitesi % 94.1 , pozitif prediktivite değeri %92.9, negatif prediktivite değeri %78.3 olarak bulundu. Olguların LAS ve diğer laboratuvar bulguları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Bakteriyel menenjitli grupta 15 olguda BOS'da hücre sayısı $3000/\text{mm}^3$ üzerinde, 3 olguda ise $3000/\text{mm}^3$ altında idi. BOS hücre sayısı $3000/\text{mm}^3$ üzerinde olan olgularla $3000/\text{mm}^3$ altında olan olgular arasında LAS açısından anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Yine BOS'dan hazırlanan preparatlarda polimorfo nükleer lökosit (PNL) yüzdesi ile LAS arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0.05$).

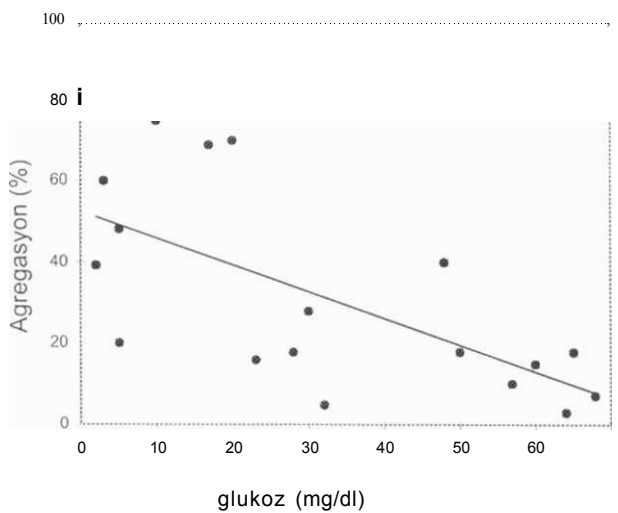
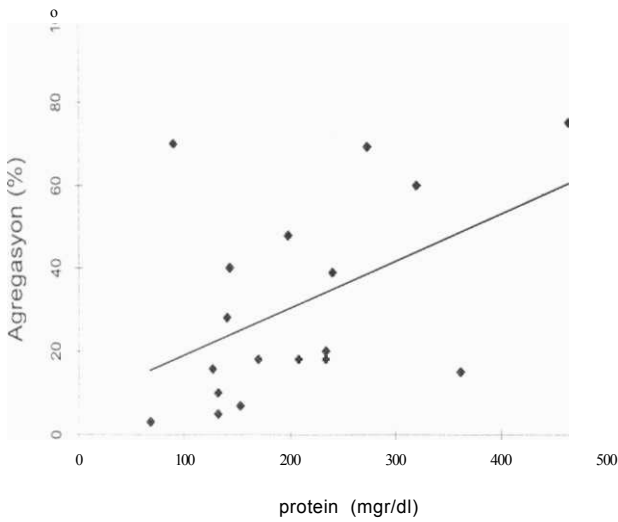
Bakteriyel menenjit grubunda BOS LAS ile BOS protein düzeyi arasında pozitif orta derecede ($p= 0.046$), BOS glukoz düzeyi arasında ise negatif orta derecede ($p= 0.003$) anlamlı lineer ilişki gözlemlendi (Şekil 3).

Tartışma

Periferik kanda lökositlerin biraraya kümelenmesi olarak tanımlanan lökerji fenomeni ilk kez 1956 yılında Fleck ve arkadaşları tarafından gözlemlenmiş ve çeşitli infeksiyöz ve allerjik durumlar, immünizasyon, elektrik şok ve steril inflamasyon sonucunda oluştuğu bildirilmiştir. Daha sonra çeşitli infarkt durumlarında, romatolojik hastalıklarda da hastaların kanında lökerji oluştuğu gösterilmiş ve bu fenomenin tek bir hastalığa spesifik olmadığı ve etyopatogenik bir faktör olmadığı; daha çok inflamatuvar olayın bir sonucu olabileceği düşünülmüştür (10,11). Kemik ve eklem infeksiyonu olan olgularda yapılan bir çalışmada da agregasyon gösteren lökosit oranı ile infeksiyonun şiddeti arasında korelasyon olduğu ve bu testin hastalığın aktivitesini belirlemede diğer hematolojik parametrelerden daha üstün olduğu bildirilmiştir (12). Garty ve arkadaşları (15) ise menenjitli hastalarda BOS'da lökosit agregasyon yüzdesini araştırmış ve bakteriyel menenjitli olgularda viral veya aseptik menenjitli olgulara göre anlamlı yükseklik saptamışlardır. Bu çalışmada da bakteriyel menenjitlerde BOS'da lökosit agregasyonu, viral menenjitlere göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuş ve sınır değer %15 olarak alındığında bakteriyel menenjit tanısında testin spesifisitesi %94.1, sensitivitesi %72.2 olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 1. Bakteriye ve viral menenjitli olgularda laboratuvar bulguları

	Bakteriyel menenjit grubu	Viral menenjit grubu	p değeri
BK ortiSD (min.-mak.)	19844±0707 (6800-42400)	9673±3078 (4800-16000)	0.001
BOS lökosit >3000/mm ³ (olgu)	15	-	0.00001
<300/mm ³ (olgu)	3	19	
BOS glukoz mg/dl ortiSD (min-mak)	32.61±23.69 (2-68)	51.79±11.92 (31-79)	0.0005
BOS protein mg/dl ortiSD (min-mak)	<u>204.72</u> ± <u>100.93</u> (68-464)	<u>51.53</u> ± <u>29.50</u> (26-122)	0.0001
BOS LAS (%) ort±SD (min-mak)	31.06±23.97 (3-75)	1.2±3.72 (0-16)	<0.001

**Şekil 3.** Bakteriye menenjitli hasta grubunda LAS ile BOS protein ve glukoz düzeyleri arasındaki korelasyon.

Çalışmamızda BOS' da lökosit sayısı ve tipi ile LAS arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Garty ve arkadaşlarının çalışmasında da BOS lökosit sayısı ve PNL oranı ile LAS arasında ilişki saptanmamıştır. Bu sonuçlar lökosit agregasyonunun lökositlerin sayısından çok aktivasyonları ile ilgili olduğunu düşündürmektedir. Garty ve arkadaşlarının çalışmasında LAS ile diğer BOS bulguları arasında ilişki kurulamamıştır. Çalışmamızda ise farklı olarak BOS'da LAS ile protein konsantrasyonu arasında pozitif, glukoz konsantrasyonu arasında negatif ilişki saptanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda BOS TNF-alfa, IL-1, IL-6 düzeyleri ile protein konsantrasyonu arasında ilişki bulunmuştur (8,9). Bakteriye menenjitlerin patogenezinde inflamatuvar sitokinlerin salınmasından sonra eksprese olan adezyon molekülleri aracılığı ile lökositlerin damar endoteline adezyon yaptıkları ve sonra damar dışına çıkarak BOS'a geçtikleri bilinmektedir. BOS' daki lökositler yine sitokinlerle stimüle olarak degranüle olmakta, toksik oksijen metabolitlerini ve diğer inflamatuvar maddeleri salarak albüminin BOS'a geçişini arttırmaktadırlar (3,6). BOS LAS ile protein konsantrasyonu arasındaki pozitif ilişkinin; aktive lökositlerin bu etkisine bağlı olduğu düşünülmüştür.

Lökosit agregasyonunun mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak yapılan çalışmalarda normal kişilerin periferik kan lökositleri, LAS'ı yüksek olan kişilerden alınan plazmaya konduğunda lökosit agregasyonunun görülmemesi, bu olayın humoral faktörlerden çok hücrel faktörlerle iliş-

kili olduğunu düşündürmektedir (12). Laktoferrin, fibronektin gibi aktivasyonları sırasında lökositlerin yüzeyinde görülen maddelerin lökositlerin endotele ve birbirlerine adezyonlarını arttırabileceğini ileri süren yayınlar vardır (10,15). Ayrıca çeşitli infeksiyöz hastalıklara karşı immün cevapta önemli rol oynayan adezyon moleküllerinin de bu olayla ilişkili oldukları düşünülmektedir (13-15). Özellikle inflamatuvar sitokinlerin stimülasyonu ile aktive olan lökosit adezyon molekülü CD11/CD18'in hem intersellüler adezyon molekülü ICAM-1'e bağlanarak lökositlerin damar dışına çıkmalarında, hem de lökositlerin birbirine adezyonunda rol oynadıkları öne sürülmektedir (3,16). Yodice ve arkadaşları (13) septik şoklu hastalarda nötrofil agregasyonunun kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığını ve hastaların nötrofilleri anti CD11/CD18 ile inkübe edildiğinde agregasyonun azaldığını saptamışlardır. Astiz ve arkadaşlarının (14) sepsisli hastalarda yaptığı incelemede de lökosit agregasyonu kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuş ve lökosit agregasyonunun CD11/CD18 nötrofil adezyon moleküllerinin ekspresyonu ile anlamlı şekilde korele olduğu görülmüştür. Bu çalışmalar da lökosit agregasyonunda CD11/CD18 adezyon moleküllerinin rolünü desteklemektedir.

Sonuç olarak çalışmamız bakteriyel-viral menenjit ayırımında lökosit agregasyon skorunun; pratik, kolay uygulanabilir, hızlı sonuç veren ve ekonomik bir test olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Ancak bu konu ve lökosit agregasyonunun oluş mekanizması ile ilgili daha ayrıntılı çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Prober CG. Infections of the central nervous system In: Nelson WE, Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM, eds. Nelson textbook of pediatrics. Philadelphia: WB Saunders Company, 1996: 707-16.
2. Llorens XS, McCracken GH. Meningitis In: Katz SL, Gershon AA, Hotz PJ, eds. Krugman's Infectious Diseases of Children. St Louis: Mosby, 1998: 265-79.
3. Quagliarello V, Scheld WM. Bacterial Meningitis: Pathogenesis, pathophysiology, and progress. New Eng J Med 1992; 327: 864-72.
4. Glimaker M, Kragstberg P, Forsgren M, Olcen P. Tumor necrosis factor-alfa (TNF-alfa) in cerebrospinal fluid from patients with meningitis of different etiologies: High levels of TNF-alfa indicate bacterial meningitis. JID 1993; 167: 882-9.
5. Feigin RD, McCracken HM, Klein JO. Diagnosis and management of meningitis. Pediatr Infect Dis J 1992; 11: 785-814.
6. Tunkel AR, Wispelwyc B, Scheld M. Bacterial meningitis: Recent advances in pathophysiology and treatment. Ann Int Med 1990; 112: 610-23.
7. Dulkerian SJ, Kilpatrick L, Costarino AT, McCawley L, Fein J, Corcoran L ve ark. Cytokine elevations in infants with bacterial and aseptic meningitis. J Pediatr 1995; 126: 872-6.
8. Lopez-Cortes LF, Cruz-Ruiz M, Gomcz-Mateos J, Jimenez-Hernandez D, Palomino J, Jimenez E. Measurement of levels of tumor necrosis factor-alfa and interleukin-1 beta in the CSF of patients with meningitis of different etiologies: Utility in the differential diagnosis CID 1993; 16: 534-9.
9. Arditi M, Manogue KR, Çaplan M, Yogev Ram. Cerebrospinal fluid cachectin / tumor necrosis factor alfa and platelet-activating factor concentrations and severity of bacterial meningitis in children. JID 1990; 162: 139-47.
10. Berliner S, Abramovitz M, Kariv N, Weinberger A, Yaron M, Lavie G, et al. The leukergy test in Rheumatic diseases. New implications for an old test. Arthritis and Rheumatism 1985; 28: 899-903.
11. Berliner S, Sclarovsky S, Lavie G, Pinkhas J, Aronson M, Agmon J. The leukergy test in patients with ischemic heart disease Am Heart J 1986; 119: 19-22.
12. Otremski I, Newman RJ, Kahn PJ, Stadler J, Kariv N, Skornik Y, et al. Leukergy-A new diagnostic test for bone infection. J Bone Joint Surg 1993; 75-B: 734-6.
13. Yodice PC, Astiz ME, Kurian BM, Lin RY, Rackow EC. Neutrophil rheologic changes in septic shock. Am J Respir Crit Care Med 1997; 155: 38-42.
14. Astiz ME, DeGent GE, Lin RY, Rackow EC. Microvascular function and rheologic changes in hyperdynamic sepsis. Crit Care Med 1995; 23: 265-71.
15. Garty BZ, Berliner S, Liberman E, Danon YL. Cerebrospinal fluid leukocyte aggregation in meningitis Pediatr Infect Dis J 1997; 16: 647-51.
16. Etzioni A. Adhesion molecules - Their role in health and disease. Pediatr Res 1996; 39: 191-8.