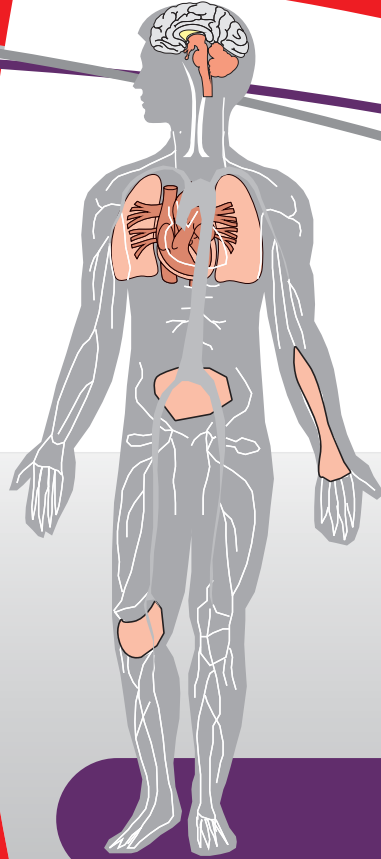




# KLİNİK ÖRNEKTEN SONUÇ RAPORUNA UYGULAMA REHBERİ



Steril Vücut Sıvıları Örnekleri

Bu rehber Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlığı Derneđi (KLİMUD) tarafından hazırlanmış olup rehberin her türlü yayın, basım ve dağıtım hakkı KLİMUD'a aittir. KLİMUD'un yazılı izni olmadan rehberin tümü ya da bir bölümü herhangi bir ortamda yayınlanamaz ve/veya çoğaltılamaz. Ancak kaynak gösterilerek kısa alıntılar yapılabilir. Rehber ilgili kişi ve kurum/kuruluş için hazırlanmış olup ücretsizdir ve para ile satılamaz.

Mayıs 2014, Ankara

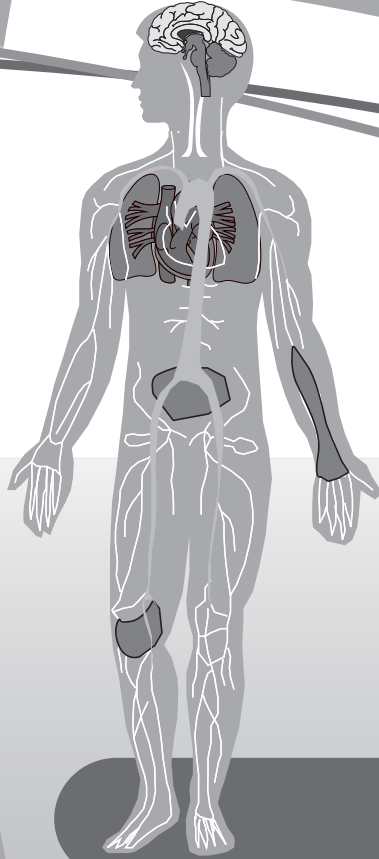
ISBN:....

Basım yeri: ....., Ankara

KLİMUD Kaynak No: 1



# KLİNİK ÖRNEKTEN SONUÇ RAPORUNA UYGULAMA REHBERİ



Steril Vücut Sıvıları Örnekleri

### **KLİMUD-RHKK Üyeleri**

Mehmet Baysallar

Selda Erensoy

Berrin Esen

Duygu Fındık

Pınar Zarakolu Köşker

Belkıs Levent

Cüneyt Özakin

Serap Süzük

Burçin Şener

Ayşın Zeytinoğlu

### **Steril Vücut Sıvıları Örnekleri Alt Çalışma Grubu Üyeleri**

#### **Başkan**

Duygu Fındık

#### **Yazıcı Üyeler**

Gülçin Bayramoğlu

Berna Gültekin

Nilgün Kaşifoğlu

İpek Mumcuoğlu

Hatice Türk Dağı

#### **Klinisyen Üyeler**

Şerefnur Öztürk

Şebnem Erdiç

#### **Uygulayıcı Üyeler**

Ayşe Rüveyda Uğur

Sevinç Şen

#### **Okuyucu Üyeler**

Neriman Aydın

Sebahat Aksaray

Arzu Sayiner

### **Rehber Değerlendirme Grubu**

Hakan Abacıoğlu

Ali Adiloğlu

Selda Erensoy

Betigül Öngen

## İÇİNDEKİLER

I. Sunuş .....	
II. Bu rehberi nasıl kullanacaksınız?.....	
III. Kısaltmalar.....	
IV. Biyogüvenlik uygulamaları.....	
<b>1. BEYİN OMURİLİK SIVISI</b>	
1. 1. Giriş .....	
1. 2. Klinik Örnek Mikroorganizma İlişkisi.....	
1. 3. Örneklerin Alınması, Taşınması, Kabul/Ret Ölçütleri.....	
1. 4. Örneklerin Uygulanacak Yönteme Göre İşlenmesi.....	
1.4.1. Makroskopik İnceleme.....	
1.4.2. Hücre Sayımı.....	
1.4.3. Santrifüj.....	
1.4.4. Gram Boyama .....	
1.4.5. Çini Mürekkebi Yöntemi .....	
1.4.6. Aside Dirençli Boyama .....	
1.4.7. Antijen Tarama Testi .....	
1.4.8. Kültür.....	
1.4.9. Antikor Tarama Testi.....	
1.4.10. Moleküler Yöntemler.....	
1. 5. Sonuçların Raporlanması .....	
1. 7. Ara Raporlar ve Panik Değerler.....	
1. 8. Referans Laboratuvara Başvurulması Gereken Durumlar .....	
1. 9. İş Akış Şeması.....	
<b>2. EKLEM SIVISI</b>	
2. 1. Giriş.....	
2. 2. Klinik Örnek Mikroorganizma İlişkisi .....	
2. 3. Örneklerin Alınması, Taşınması, Kabul/Ret Ölçütleri.....	
2. 4. Örneklerin Uygulanacak Yönteme Göre İşlenmesi.....	
2.4.1. Makroskopik İnceleme.....	
2.4.2. Hücre Sayımı.....	
2.4.3. Gram Boyama.....	
2.4.4. Kültür.....	
2.4.5. Serolojik Testler .....	
2.4.6. Moleküler Testler.....	
2. 5. Ara Raporlar ve Panik Değerler.....	
2. 6. Sonuçların Yorumlanması.....	
2. 7. Sonuçların Raporlanması.....	

2. 8. İş Akış Şeması.....	
<b>3. PERİKARD SIVISI</b>	
3. 1. Giriş.....	
3. 2. Klinik Örnek Mikroorganizma İlişkisi .....	
3. 3. Örneklerin Alınması, Taşınması, Kabul/Ret Ölçütleri.....	
3. 4. Örneklerin Uygulanacak Yönteme Göre İşlenmesi.....	
3.4.1. Makroskopik İnceleme.....	
3.4.2. Hücre Sayımı.....	
3.4.3. Santrifüj.....	
3.4.4. Gram Boyama.....	
3.4.5. Akridin Oranj Boyama.....	
3.4.6. Aside Dirençli Boyama.....	
3.4.7. Auramin-Rhodamine Boyama.....	
3.4.8. Direkt Bakı ve Kalkoflor Beyazı ile Boyama.....	
3.4.9. Kültür.....	
3.4.10. Viral Kültür.....	
3.4.11. Antijen Tarama Testi.....	
3.4.12. Antikor Tarama Testi.....	
3.4.13. Moleküler Yöntemler.....	
3. 5. Sonuçların Raporlanması.....	
3. 6. Ara Raporlar ve Panik Değerler.....	
3. 7. İş Akış Şeması.....	
<b>4. PLEVRA SIVISI</b>	
4. 1. Giriş.....	
4. 2. Klinik Örnek Mikroorganizma İlişkisi.....	
4. 3. Örneklerin Alınması, Taşınması, Kabul/Ret Ölçütleri.....	
4. 4. Örneklerin Uygulanacak Yönteme Göre İşlenmesi.....	
4.4.1. Makroskopik İnceleme.....	
4.4.2. Santrifüj.....	
4.4.3. Gram Boyama.....	
4.4.4. Aside Dirençli Boyama.....	
4.4.5. Auramin-Rhodamine Boyama.....	
4.4.6. Potasyum Hidroksit ile İnceleme ve Kalkoflor Beyazı ile Boyama.....	
4.4.7. Akridin Oranj Boyama.....	
4.4.8. Kültür.....	
4.4.9. Viral Kültür.....	
4.4.10. Antijen Tarama Testi.....	
4.4.11. Antikor Tarama Testi.....	
4.4.12. Moleküler Yöntemler.....	
4. 5. Sonuçların Raporlanması.....	
4. 6. Ara Raporlar ve Panik Değerler.....	

4. 7. İş Akış Şeması.....	.....
<b>5. PERİTON ve PERİTON DİYALİZ SIVISI</b>	
5. 1. Giriş.....	.....
5. 2. Klinik Örnek Mikroorganizma İlişkisi.....	.....
5.2.1. Primer (spontan bakteriyel) peritonit.....	.....
5.2.2. Sekonder Peritonit.....	.....
5.2.3. Tersiyer Peritonit.....	.....
5.2.4. Periton Diyalizi İlişkili Peritonit.....	.....
5. 3. Örneklerin Alınması, Taşınması, Kabul/Ret Ölçütleri.....	.....
5.3.1. Örnek Alınması.....	.....
5.3.2. Taşıma Yöntemi.....	.....
5.3.3. Ret Ölçütleri.....	.....
5. 4. Örneklerin Uygulanacak Yönteme Göre İşlenmesi.....	.....
5.4.1. Makroskopik İnceleme.....	.....
5.4.2. Gram Boyama.....	.....
5.4.3. Hücre Sayımı.....	.....
5.4.4. Periton Sıvısının Kültürü.....	.....
5.4.5. Periton Diyaliz Sıvısının Kültürü.....	.....
5.4.6. Periton Diyaliz Sıvısının Mikobakteri ve Mantar Kültürü.....	.....
5.4.7. Polimeraz zincir reaksiyonu.....	.....
5. 5. Sonuçların Yorumlanması.....	.....
5. 6. Sonuçların Raporlanması.....	.....
5. 7. Ara Raporlar ve Panik Değerler.....	.....
5. 8. İş akış Şeması .....	.....
<b>6. AMNİYON SIVISI</b>	
6. 1. Giriş.....	.....
6. 2. Klinik Örnek Mikroorganizma İlişkisi.....	.....
6. 3. Örneklerin Alınması, Taşınması, Kabul/Ret Ölçütleri.....	.....
6. 4. Örneklerin Uygulanacak Yönteme Göre İşlenmesi.....	.....
6.4.1. Makroskopik İnceleme.....	.....
6.4.2. Santrifüj.....	.....
6.4.3. Gram Boyama.....	.....
6.4.4. Kültür.....	.....
6.4.5. Hücre ve Doku Kültürü.....	.....
6.4.6. Moleküler Yöntemler.....	.....
6. 5. Sonuçların Raporlanması.....	.....
6. 6. Ara Raporlar ve Panik Değerler.....	.....
6.7. İş akış Şeması.....	.....
<b>7. KAYNAKLAR</b>	





## I. SUNUŞ

Enfeksiyon hastalıkları ile mücadelede klinik mikrobiyoloji laboratuvarları kilit bir rol oynamaktadır. Mikroorganizmaların küresel yayılımının kolaylaşması, yeni tanımlanan ve/veya yeniden önem kazanan hastalık etkenleri, antimikrobiyal ilaç direncindeki hızlı artış, değişen hasta profili ve sık karşılaşılmayan fırsatçı enfeksiyonlar, mikrobiyoloji laboratuvarlarında uygulamaya yeni giren ileri tanı yöntemleri “Klinik Mikrobiyoloji” laboratuvarlarının önemini giderek arttırmaktadır.

Tıbbi (Klinik) Mikrobiyoloji uzmanının sorumluluğu; insanda mikroorganizmaların neden olduğu hastalıkların tanısı, ayırıcı tanısı, önlenmesi, tedavisinin yönlendirilmesi ve izlenmesini, antimikrobiyal ilaç direncinin izlenmesi amacıyla hastaya ait tüm biyolojik örneklerin incelenmesini; mikrobiyolojik, immünolojik ve moleküler testlerin seçimini, testlerin yapılmasını, sonuçların yorumlanmasını ve tıbbi konsültasyonu kapsamaktadır. Klinik mikrobiyoloji uzmanlarının rolü; klinisyenin bir enfeksiyon hastalığından şüphelenmesinden başlayıp o enfeksiyon ortadan kalkıncaya kadar devam etmektedir. Bu yaklaşımla mikrobiyoloji uzmanlığını kapsayan süreci; pre-preanalitik, preanalitik, analitik, postanalitik ve post-postanalitik süreçler başlığında değerlendirmek gerekir. Tüm bu süreçte klinik mikrobiyoloji uzmanının; doğru ve hızlı sonuç verebilecek, hasta güvenliğini ön planda tutarak sağlık hizmeti kalitesini artıracak ve maliyet etkin uygulamaları gözeterek bir yaklaşıma sahip olması gerekmektedir. KLİMUD tarafından çalışmalarına 2013 yılında başlanarak 2014 yılında tamamlanan ve üyelerinin kullanımına sunulan bu ve diğer “Klinik örnekten sonuç raporuna uygulama rehberleri”nde yukarıda anılan tüm süreçte bir klinik mikrobiyoloji uzmanının sahip olması gereken yetkinlikler için ihtiyaç duyacağı bilgilere sistematik bir yaklaşım sunulması amaçlanmaktadır.

Rehberlerin, mikrobiyoloji uzmanının sahip olacağı doğru ve güvenilir tanı yaklaşımı yanında klinisyen-mikrobiyolog işbirliğinin artırılmasına da katkı sağlaması hedeflenmekte böylece doğru tanı için en önemli unsurlardan biri olan klinik örneğin pre-pre analitik ve preanalitik süreçlerinin de yönetilmesi için bir kaynak olması amaçlanmaktadır. “Klinik örnekten sonuç raporuna uygulama rehberleri”nin, tıbbi/klinik mikrobiyoloji uzmanlarının uygulamalarında standart bir yaklaşımın oluşturulmasına da katkı sağlaması ve etkinliği kanıtlanmamış ya da etkisiz ve yanlış uygulamaların önlenmesi hedeflenmekte bu amaçla rehberlerde bir klinik örnekle ilgili yapılacak mikrobiyolojik işlemlere yönelik olarak, test isteminden sonucun raporlandırılmasına kadar geçen tüm aşamalar için kanıta dayalı yaklaşımlara da yer verilmektedir. KLİMUD Rehberlerinin, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (THSK) tarafından yürütülen Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS) çalışması kapsamında hazırlanan rehberler ile birlikte alandaki önemli bir boşluğu kapatacağını düşünüyoruz.

Hedef kitlesi birinci, ikinci ve üçüncü basamak sağlık kurum ve kuruluşlarında hizmet veren tüm tıbbi/klinik mikrobiyoloji uzmanları ile uzmanlık öğrencileri olan rehberlerimizin laboratuvarlarımızda yaygın bir şekilde kullanılması en büyük arzumuzdur. Son olarak, rehberlerimizin her zaman birlikte daha iyiyi bulma ilkesi ile periyodik olarak geliştirilerek güncelleneceğini de bilgilerinize sunar rehberin hazırlanmasında emeği geçen, katkı ve katılım veren tüm üyelerimize ve UMS'nin tamamlayıcı bir unsur olarak hazırlanmasına olanak sağlayan THSK yetkililerine sonsuz teşekkür ve şükranlarımızı sunarız.

**KLİMUD Yönetim Kurulu**  
**Nisan, 2014**

## II. BU REHBERİ NASIL KULLANACAKSINIZ?

“Klinik örnekten sonuç raporuna uygulama rehberleri” nin mikrobiyoloji uzmanlarımıza, örneğin alınışından raporlanma aşamasına kadarki tüm süreçlerin yönetilmesinde yardımcı bir kaynak olması amaçlanmaktadır. Bu amaçla rehberin ilk bölümünde genel olarak örneğin alındığı sistem, sık karşılaşılan enfeksiyonları ve bu enfeksiyonların etkenleri ile ilgili çok özet bir bilgilendirme yapılmaktadır. Bu bölümün ardından; her sistemin ilgili örneğinin alınması, taşınması, saklanması, işlenmesi ve raporlandırılması süreçleri okuyucuyu yormadan kolayca bilgiye ulaşmasının hedeflendiği tablolar ve iş akış şemaları kullanılarak özetlenmektedir. Tablo ve iş akış şemaları arasında yer alan “**bilgi not**”ları konu ile ilgili olarak bilinmesi gereken en önemli noktalara, “**uyarı**” kutucukları ise özellikle uygulamada dikkatli olunması gereken süreçlere vurgu yapmakta olup bu amaçla tüm rehberde aşağıda yer alan simgeler kullanılmaktadır. Rehberin en başında yer alan “**biyogüvenlik uygulamaları**” sadece hatırlatıcı olup konuya özgü rehberlerde yer alan tüm önlemlerin özenle uygulanmasına dikkat çekilmektedir.

Rehber boyunca kullanılan simgeler ve anlamları aşağıda gösterilmektedir.



### Bilgi simgesi

İlgili örnek ve/veya enfeksiyon hakkında mutlaka bilinmesi gereken bilgi



### Uyarı-dikkat çekme simgesi

Önemli mesajlar/uygulamalar



### Raporlama simgesi

İlgili örneğin raporlanmasında kullanılan farklı şablonlar

### III. KISALTMALAR

<b>AMDT</b>	: Antimikrobiyal duyarlılık testi
<b>ARB</b>	: Aside dirençli boyama/basil
<b>BGD</b>	: Biyogüvenlik düzeyi
<b>BGK</b>	: Biyolojik güvenlik kabini
<b>BOS</b>	: Beyin omurilik sıvısı
<b>cfu</b>	: colony forming unit
<b>CLSI</b>	: Clinical and Laboratory Standards Institute
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>EDTA</b>	: Etilen diamin tetra asetik asit
<b>EMB</b>	: Eozin metilen blue
<b>EUCAST</b>	: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
<b>IPD</b>	: Aralıklı periton diyalizi
<b>KKD</b>	: Kişisel koruyucu donanım
<b>KNS</b>	: Koagülaz negatif stafilokok
<b>LJ</b>	: Löwenstein Jensen
<b>mL</b>	: mililitre
<b>MNL</b>	: Mononükleer lökosit
<b>MRSA</b>	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>MSS</b>	: Merkezi sinir sistemi
<b>NAAT</b>	: Nükleik asit amplifikasyon testi
<b>PCR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>PNL</b>	: Polimorfonükleer lökosit
<b>RNA</b>	: Ribonükleik asit
<b>SAPD</b>	: Sürekli ayaktan periton diyalizi
<b>SBP</b>	: Spontan bakteriyel peritonit
<b>SPS</b>	: Sodyum polietanol sülfonat
<b>SSPD</b>	: Sürekli siklik periton diyalizi

## III. BİYOGÜVENLİK UYGULAMALARI

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında klinik örneklerin ve izolatların işlenmesi sırasında mutlaka iyi laboratuvar uygulamalarına dikkat edilir. Başta aerosol oluşturan işlemler olmak kaydıyla tüm işlemler sırasında asgari **Biyogüvenlik düzey (BGD) II önlemleri** alınır.

### Fiziksel önlemler

- Laboratuvarlara giriş/çıkışlar sınırlandırılır.
- Laboratuvarların girişinde biyogüvenlik işareti bulunur.
- Laboratuvarlar ile ofis alanları birbirinden ayrılır.

### İyi/Güvenli laboratuvar uygulamaları

- Laboratuvarda çalışılırken mutlaka uygun kişisel koruyucu donanım (KKD) giyilir ve laboratuvar alanı terk edilmeden önce çıkarılır.
- Aerosol oluşturan tüm işlemler Sınıf II Biyolojik güvenlik kabininde yapılır.
- Enfeksiyöz atıklar usulüne uygun bir şekilde bertaraf edilir ve buna ilişkin kayıtlar tutulur.
- Çalışma alanları ve cihazlar usulüne uygun bir şekilde temizlenir, düzenlik bakım, kontrol ve kalibrasyonları yapılır.
- Laboratuvarda kazalarına ilişkin prosedürlerin varlığı ve kayıtlarının tutulduğu kontrol edilir.
- Çalışan sağlığına yönelik prosedürlerin varlığı ve kayıtlarının tutulduğu kontrol edilir.

### Yüksek riskli patojenlerle çalışma

Mikobakteri, francisella, brusella ve küf mantarları gibi etkenlerle çalışılırken **BGD II önlemlerine ek olarak** aşağıdaki önlemler de alınır.

- Bu izolatlara ait işlemler için ayrı bir laboratuvar alanı bulunur.
- Bu alanın girişi; çift kapılı, kendiliğinden kapanan bir kapı sistemi ile sınırlanır.
- Laboratuvar alanında tek yönlü hava akımı sağlanır, aynı anda hava girişi ve çıkışının olmamasına dikkat edilir.
- Bu alanda, normal laboratuvar alanlarında giyilenden ayrı bir KKD kullanılır, ek olarak FFP2 düzeyinde maske kullanılır. KKD bütün işlemler sırasında giyilir.
- Bütün atıklar dekontamine edilir.



Yüksek riskli bir patojen ile enfeksiyon hastalığı olma ihtimali olan hastalara, aerosol oluşturacak herhangi bir girişim yapılacağı zaman mutlaka uygun KKD kullanılır. İşlem sonrası tüm malzemeler dekontamine edilir.

## 1. BEYİN- OMURİLİK SIVISI

### 1. 1. Giriş

Beyin-omurilik sıvısı koroid pleksuslardan salgılanan, subaraknoid aralık ve ventriküllerde bulunan, araknoid villuslardan ve lomber bölgedeki damarlardan kana geri dönen plazma ultrafiltratıdır, berrak ve renksiz bir sıvıdır. Beyin-omurilik sıvısının analizi, santral sinir sistemi enfeksiyonlarının tanı, ayırıcı tanı ve tedavilerinin izlenmesinde büyük öneme sahiptir.

Menenjit, beyni çevreleyen meninks zarlarının enflamasyonudur. Bu süreç akut, kronik, enfektif veya nonenfektif olabilir. Bakteriler, virüsler, mantarlar ve parazitler menenjit etkeni olabilir. Ateş ve halsizlik gibi genel enfeksiyon belirtilerinin yanı sıra, şiddetli baş ağrısı, bulantı-kusma, ense sertliği ve diğer meningeal irritasyon bulguları (Kernig, Brudzinski bulguları) ortaya çıkar.

Akut bakteriyel menenjit acil bir tıbbi durumdur. Menenjitin belirti ve bulguları birkaç gün içinde gelişir ya da birkaç saat içinde hızlı bir başlangıç ve fulminan seyir gösterir. Tedavi edilmezse mortalitesi yüksektir. Viral (aseptik) menenjit genellikle iyi huyludur ve komplikasyonlar nadirdir.

Klinik seyir iki ya da üç gün içinde, subakut gelişir. Kronik menenjit meningeal enflamasyon belirti ve bulgularının bir ay veya daha uzun sürmesiyle karakterizedir. *Mycobacterium tuberculosis*, mantarlar ve spiroketler genellikle kronik menenjite neden olur.

Ensefalit beyin parankiminin enflamasyonudur ve sıklıkla menenjit ile birlikte (meningoensefalit). Fokal nörolojik bulgular, davranış değişikliği, epileptik nöbetler ve giderek artan uyku hali siktir. Yüksek ateş, baş ağrısı, bulantı-kusma olabilir de ense sertliği ve diğer meningeal irritasyon bulguları yoktur ya da geri plandadır.

### 1. 2. Klinik örnek mikroorganizma ilişkisi

Beyin omurilik sıvısı normalde steril bir sıvıdır ve mikroorganizma bulunmaz, örnek alınırken kontamine olmamışsa saptanan bütün mikroorganizmalar etken kabul edilir.

Tablo 1.1. BOS'ta bulunabilecek olası etken mikroorganizmalar

Olası Etkenler			
Bakteri	Virüs	Mantar	Parazit
<i>Neisseria meningitidis</i>	Herpes simplex virus	<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Acanthamoeba</i> spp.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Enterovirüsler	<i>Candida</i> spp.	<i>Balamuthia</i>
<i>Haemophilus influenzae</i> tip b	Human Herpes virus 6	<i>Histoplasma capsulatum</i>	<i>mandrillaris</i>
<i>Escherichia coli</i>	Human Immunodeficiency Virus	<i>Coccidioides immitis</i>	<i>Sappinia diploidea</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Dengue virus		<i>Naegleria fowleri</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	Influenza virus		<i>Microsporidia</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Epstein–Barr virus		
Gram negatif basiller	JC polyomavirus		
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Parvovirus B19		
<i>Treponema pallidum</i>	Kuduz virüsü		
<i>Brucella</i> spp.	Kızamık virüsü		
	Kabakulak virüsü		
	Varicella zoster virus		
	Batı Nil ateşi virüsü		
	Cytomegalovirus		
	Adenovirus		
	Rotavirus		
	Lenfositik koryomenenjit virüsü		

Tablo 1.2. BOS'ta bulunabilecek bazı etkenlerin yaş gruplarına göre dağılımı

Etkenler	Yaş Grubu			
	Yenidoğan-2 ay ve altı	2 ay-geç erişkin	Erişkin	60 yaş üstü
<i>S. agalactiae</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i>
<i>E. coli</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>L. monocytogenes</i>
<i>L. monocytogenes</i>	<i>H. influenzae</i> tip b	<i>H. influenzae</i> (tip b dışı)	<i>H. influenzae</i> (tip b dışı)	Gram negatif basiller
<i>N. meningitidis</i>	Virüsler	Virüsler	Virüsler	
HSV	(özellikle enterovirüsler)			
<i>Candida</i> spp.				

### 1.3. Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Klinik örnek mümkünse antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalıdır. Örnek alınacak bölge antisepsi kurallarına uygun olarak hazırlandıktan sonra L3-L4, L4-L5 veya L5-S1 aralığından LP yapılarak üç adet steril, kapaklı tüpün her birine en az 1-2 mL BOS alınmalıdır. İyotlu bir preparat ile deri üzerine antisepsi uygulanmalıdır. Sıvının alınacağı bölge %70 etanol ile ve iyot çözeltisi (%1-2 iyot tentürü veya %10 povidon iyot) ile silinmelidir. İyot tentürü kullanılırsa işlem sonrasında %70 etanol ile tekrar silinmelidir. Eğer tek BOS örneği alındıysa, önce mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmelidir. Eğer birden fazla tüpe örnek alınabilirse ikinci tüp mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmelidir. Genel olarak BOS kültürleri ile eşzamanlı olarak kan kültürü alınması da önerilir.

Beyin omurilik sıvısı oda ısısında, 15 dakika içerisinde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Örneğin alınması ile işlenmesi arasındaki süre en fazla dört saat olabilir. Virolojik çalışmalar dışında BOS örnekleri asla buzdolabına konmamalı, örnek saklanacaksa oda ısısında tutulmalıdır.

Virolojik çalışmalar yapılacaksa 4°C'de 24 saat, daha uzun süreler için -80°C'nin altında saklanabilir. Sızdıran kaplarda gönderilen örnekler işlenmeli, ancak bulaş olasılığı açısından klinisyen hekim uyarılmalıdır.



BOS (virolojik incelemeler dışında) asla buzdolabına konmamalıdır.

Tablo 1.3. Örneklerin alımı, transferi, kabul veya ret ölçütleri

Örnek alma yöntemi	Taşıma kabı	Örnek miktarı	Taşıma süresi/ ISISI	Saklama süresi/ ISISI	Ret Ölçütleri
Usulüne uygun LP	Steril tüp	Konvansiyonel Bakteriler için $\geq 1$ mL	$\leq 15$ dk, oda ısısı	$\leq 24$ sa, oda ısısı	Yok
		Mantarlar için $\geq 2$ mL			
		Mikobakteriler için $\geq 5$ mL	$\leq 24$ sa, oda ısısı	$\leq 24$ sa, -80°C	
		Virüsler için $\geq 1$ mL			
		Parazitler için $\geq 1$ mL	$\leq 2$ sa, oda ısısı	Yok	

### 1.4. Örneklerin uygulanacak yöntemeye göre işlenmesi

Tüm BOS örnekleri biyolojik güvenlik kabini (BGK) içinde işlenmelidir. Genel olarak biyogüvenlik düzeyi II kullanılmakla birlikte; ön tanıda *N. meningitidis*, *M. tuberculosis*, Batı Nil virüsü, HIV, kuduz virüsü, *N. fowleri* gibi etkenlerden şüpheleniliyorsa biyogüvenlik düzeyi III önlemleri kullanılmalıdır.

Tablo 1.4 . BOS'ta bulunabilecek mikroorganizmaların biyogüvenlik risk gruplarına göre sınıflandırılması

Mikroorganizma	Risk grubu 2	Risk grubu 3	Risk grubu 4
<b>Bakteri</b>	<i>B. burgdorferi</i> <i>E. coli</i> <i>H. influenzae</i> <i>L. interrogans</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>N. meningitidis</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>S. agalactiae</i> <i>T. pallidum</i>	<i>Brucella</i> spp. <i>M. tuberculosis</i>	
<b>Mantar</b>	<i>Candida</i> spp. <i>C. neoformans</i> Kabakulak virüsü	<i>C. immitis</i> <i>H. capsulatum</i>	
<b>Virüs</b>	Enterovirüsler Herpes virüsler Kabakulak virüsü	Lenfositik koryomenenjit virüsü Dengue virus Batı Nil ateşi virüsü Japon ensefaliti virüsü Herpes simiae virus HIV Kuduz virüsü	Nipah virüsü Rus bahar-yaz ensefaliti virüsü Omsk kanamalı ateşi virüsü
<b>Parazit</b>	<i>Acanthamoeba</i> spp.	<i>N. fowleri</i>	

#### 1.4.1. Makroskobik inceleme

Beyin omurilik sıvısının rengi, bulanıklığı, kan veya pıhtı içerip içermediği kontrol edilip kaydedilmelidir. Bazı tüberküloz menenjit olgularında tipik bir 'örümcek ağı' görünümü olabilir, nadir görüldüğü için not edilmelidir.

#### 1.4.2. Hücre Sayımı

Lökosit ve eritrosit sayımı **santrifüj edilmemiş örneklerden**, sayma lamı veya bu sayımı yapmaya uygun hemogram cihazları kullanılarak yapılır. Pıhtı içeren örneklerden sayım yapılmamalıdır. Çok kanlı örneklerde dilüsyon uygulanarak sayım yapılabilir. Hesaplama dilüsyon oranı göz önüne alınmalıdır. Kanlı örneklerde BOS'ta lökosit artışı olup olmadığını anlayabilmek amacıyla hastanın BOS lökosit/eritrosit oranıyla, kan lökosit/eritrosit oranı karşılaştırılabilir. Hücre sayımı ile birlikte yapılan biyokimyasal değerlendirme menenjit etkenlerinin ön tanısına yardımcı olur.

Tablo 1.5. BOS normal değerleri ve çeşitli menenjit tiplerinde izlenen değişimler

	Total protein (g/L)	Glikoz oranı (mmol/L)	Hücre sayısı mm <sup>3</sup>	Hücre tipi
Normal değerler	< 0.45	> 0.4-0.5	< 15	MNL
Bakteri menenjiti	Artar	Azalır	> 1000	PNL
Virüs menenjiti	Normal-Artar	Normal-Azalır	10-1000	MNL/PNL
Tüberküloz menenjiti	Artar	Azalır	< 1000	MNL
Mantar menenjiti	Artar	Normal-Azalır	1000-5000	MNL

MNL: Mononükleer lökosit, PNL: Polimorfonükleer lökosit

#### 1.4.3. Santrifüj

Klinik örnek 1mL'den az ise santrifüj yapılmamalıdır. Biri yedek olmak üzere iki preparat hazırlanmalı ve tablo 6'daki kültür ortamlarına ekim yapılmalıdır. Eğer örnek 1mL'den fazla ise boyama ve kültür işlemleri için 1500xg'de 5-10 dakika santrifüj edilmelidir. BOS örneğinden 2-3 damla alınarak sitosantrifüj de yapılabilir. Mikobakteri türleri için deinceleme istenmişse, santrifüj 3000xg'de 15-20 dakika yapılmalıdır. Üst sıvı, istek varsa biyokimyasal, viral ve serolojik çalışmalar için kullanılabilir. Dipteki çökelti çalkalanarak boyama ve kültür işlemleri yapılmalıdır.

Parazit incelemesi için santrifüj edilmiş ve edilmemiş örneklerin her ikisinden de direkt mikroskopik inceleme yapılmalıdır. Santrifüj edilmemiş örnekten bir damla 10X büyütme ile incelenir. Daha sonra örnek 100xg'de 10 dakika çevrilir. Örnekten bir damla lam-lamel arasına alınarak ameboid trofozoitler açısından incelenmelidir.

#### 1.4.4. Gram Boyama

İki adet preparat hazırlanıp biri Gram boyama yöntemi ile boyanmalı, diğeri saklanmalıdır. Lökosit varlığı ve türü, mikroorganizma varlığı, Gram boyanma özelliği ve morfolojisi değerlendirilmelidir. Bakteriyel menenjit tanısı için Gram boyamanın duyarlılığı antimikrobiyal tedavi almamış hastalarda %60-80 ve tedavi alan hastalarda %40-60 arasındadır.



Eğer santrifüj ya da sitosantrifüj olanağı yoksa lam üzerine bir damla örnek damlatılıp kuruduktan sonra tekrar damlatılarak incelenecek örnek miktarı artırılarak Gram boyama yapılabilir.

#### 1.4.5. Çini mürekkebi yöntemi

*Cryptococcus neoformans* menenjitinden şüphe ediliyorsa çini mürekkebi yöntemi ile kapsüllü, yuvarlak ve tomurcuklanan maya mantarı varlığı araştırılmalıdır. Çini mürekkebi yönteminin duyarlılığı yaklaşık %50'dir.

#### 1.4.6. Aside dirençli boyama

Duyarlılığı düşük olmasına rağmen klinisyen tüberküloz menenjitten şüpheleniyorsa yapılmalıdır. Sonuç negatif ise ertesi gün yeni örnekle tekrarlanmalıdır.

#### 1.4.7. Antijen tarama testi

Bakteri menenjiti olgularında BOS'ta hızlı antijen tarama testlerinin rutin olarak yapılması önerilmez. Ancak immün yetmezliği olan nötropenik hastalar, BOS analizi öncesi antibiyotik tedavisi alanlar ile Gram boyama ve kültür sonucu negatif olan hastalarda yararlı olabilir.

Kriptokok antijen testi, şüpheli kriptokoksik menenjit olgularında ve immün sistemi baskılanmış menenjitli hastalarda yapılmalıdır. Testin duyarlılığı tedavi almamış hastalarda serumda %100, BOS'ta %98 civarındadır.

#### 1.4.8. Kültür

Bakteriyolojik ve mikolojik kültür için steril bir pipet ile çökeltiden önerilen besiyerlerine 2-3 damla inoküle edilmelidir. Tek koloni düşürmek için, steril bir öze ile inokulum yayılmalıdır. Yeterli inkübasyon süreleri sonunda incelenen kültür plaklarında üreme varsa üreyen bütün izolatlar tanımlanmalı ve duyarlılık testleri uygulanmalıdır.



Mantarların etken olduğu (*C. neoformans*, *C. immitis* ve *H. capsulatum*) menenjitlerin tanısında, BOS dışı örneklerde kültür ve serolojik testleri önerilir.



Tüberküloz menenjitte kültürde üreme oranları %25-70 arasında bildirilmiştir. Tüberküloz menenjit tanısı için PCR en duyarlı yöntemdir.

Pek çok virüs için hücre kültürü tanıda altın standart olmakla birlikte uygulamadaki zorluklar nedeni ile tercih edilmemektedir.

Parazit kültürü için BOS 100xg'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra çökeltiden bakteri kaplı plaklara 2 damla damlatılarak inkübe ve takip edilmelidir.



Tablo 1.6. BOS örneklerinin değerlendirilmesinde kullanılan besiyerleri, inkübasyon koşulları ve etken mikroorganizmalar

Etken mikroorganizmalar	Besiyerleri	İnkübasyon			Değerlendirme sıklığı		
		Sıcaklık	Ortam	Süre			
Herhangi bir bakteri	Koyun kanlı agar	35-37°C	%5-10 CO <sub>2</sub>	72 saat	Günlük		
	Çikolata Agar						
	Kan kültürü şişesi (otomatize sistem)		Aerop ortam	5-7 gün	Otomatik cihaz tarafından yapılır		
Mikobakteriler	Löwenstein-Jensen					6 hafta	Günlük
	Sıvı besiyeri (otomatize sistem)						
Mantarlar	Sabouraud-dextrose agar		5-7 gün		Günlük		
	Beyin-kalp infüzyon agar						

#### 1.4.9. Antikor tarama testi

Nörobruselloz tanısında BOS'tan etkeni izole etmek zor olduğu için tanıda antikor testleri (Rose Bengal, tüp aglütinasyon, Coombs) kullanılmaktadır. Merkezi sinir sistemi etkilenmeyen bruselloz olgularında BOS'ta antikor saptanmaz.

Nörosifiliz tanısında BOS'ta nontreponemal testler (VDRL ve RPR), *B. burgdorferi*, *L. interrogans*, *H. capsulatum*, *C. immitis* enfeksiyonlarında BOS'ta antikor testleri önerilmektedir.

Viral menenjitlerde serolojik testler tanıda oldukça yardımcıdır, artan titreler veya serumda IgM saptanması özgül tanıyı destekler. Ayrıca BOS/serum antikor oranlarının (BOS antikor indeksi) belirlenmesi intratekal antikor üretimini göstererek tanıya yardımcı olur.

#### 1.4.10. Moleküler Yöntemler

Bakteri menenjitten şüphelenilen hastaların BOS örneklerinde PCR'in rutin kullanımı önerilmektedir. Ancak, mikroskopi ve kültür, MSS'nin bakteri enfeksiyonlarının mikrobiyolojik tanısında hala altın standarttır ve PCR testleri onların yerine geçemez.

Merkezi sinir sisteminin mantar enfeksiyonlarının tanısında; kriptokokkoz şüphesinde rutin yöntemlere ek olarak PCR yapılabilir, ancak *Histoplasma*, *Coccidioides* ve *Candida* türleri için rutin olarak kullanımı önerilmemektedir.

Virüs menenjitlerinde PCR en sık tercih edilen tanı yöntemidir. Herpes simplex virus 1 ve 2, enterovirus ve parechovirus, varicella zoster virus, Epstein-Barr virus, human herpes virus 6 ve cytomegalovirus için PCR tekli ya da multipleks PCR şeklinde uygulanabilir. Multipleks PCR özellikle immüsuprese hastalarda ve BOS miktarının az olduğu durumlarda tercih edilebilir. Kullanılan PCR yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü hakkında bilgi sahibi olunmalıdır. EBV, HHV-6 gibi virüsler için BOS'da PCR testinin katitatif sonuç verecek şekilde yapılması, aktif ile latent enfeksiyonu ayırt etmede yardımcı olabilir.

Merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarının tanısında şüphelenilen etken için mikroskopi, kültür ve serolojinin duyarlılığı düşükse, klinik şüpheye rağmen negatif sonuçlar alınıyorsa, hasta immünkompromize ise, tanıda PCR yöntemi tercih edilmelidir.



Tek bir negatif PCR sonucu tanıyı her zaman ekarte ettirmez, klinik bulgular devam ediyorsa yeni örneklerle test tekrarlanmalıdır. Virüs menenjitlerinin ilk 3 gününde veya 10. günden sonra alınan örneklerin yanlış negatif sonuç verebileceği unutulmamalıdır.

Tablo 1.7. BOS'ta bulunan olası etkenler için önerilen tanı yöntemleri

Etken	Önerilen tanı yöntemi	Ek tanı yöntemi	
<i>N. meningitidis</i>	Mikroskopi, kültür	Kan kültürü	
<i>S. pneumoniae</i>			
<i>H. influenzae</i>			
<i>S. agalactiae</i>			
<i>E. coli</i>			
<i>L. monocytogenes</i>			
<i>M. tuberculosis</i>	ARB, kültür, PCR	Balgamda ARB, kültür, PCR	
<i>T. pallidum</i>	VDRL	Serumda antikor	
<i>B. burgdorferi</i>	Antikor		
<i>Brucella</i> spp.	Rose Bengal, STA, Coombs, kültür	Kan kültürü, serumda Rose Bengal, STA, Coombs testleri	
<i>L. interrogans</i>	Antikor, kültür	Serumda antikor, kültür	
<i>C. neoformans</i>	Antijen testi, çini mürekkebi, kültür	Kan kültürü	
<i>Candida</i> spp.	Mikroskopi, kültür		
<i>C. immitis</i>	Antikor		
<i>H. capsulatum</i>	Antikor	Kan, kemik iliği kültürü	
Adenovirus	PCR/ RT-PCR	PCR, virüs kültürü (plazma, boğaz sürüntüsü)	
Cytomegalovirus		Virüs kültürü (kan, idrar, boğaz sürüntüsü), IgM (serum)	
Dengue Virus		Virüs kültürü	
Enterovirus, Parechovirus		Virüs kültürü, RT-PCR (dışkı ve boğaz sürüntüsü)	
Epstein-Barr Virus			
Herpes Simplex Virus			
HIV			
HHV-6		HHV 6 IgM (BOS), PCR ve HHV6 IgM (serum)	
Influenza virus		RT-PCR ve virüs kültürü (solunum yolu örneklerinde)	
JC polyomavirus			
Kızamık virüsü		IgM (BOS, serum), PCR (nazofarinks sürüntüsü ve idrar)	
Kabakulak virüsü		IgM, IgG (serum), virüs kültürü (tükrük, boğaz)	
Parvovirus B19		PCR ve IgM (BOS, serum)	
Rabies (Kuduz)		Antikor (BOS, serum), RT-PCR ve DFA (tükrük ve deri biyopsisi)	
Varicella zoster virus		IgM (BOS, serum)	
Rotavirus		Antikor (serum), RT-PCR ve antijen (dışkı)	
Batı Nil virüsü		IgM, RT-PCR	IgM (serum), RT-PCR (kan ve idrar)
<i>Acanthamoeba</i> spp.		Direkt mikroskopik inceleme, kültür	
<i>Balamuthia mandrillaris</i>		Direkt mikroskopik inceleme	
<i>Microsporidia</i>	Modifiye Trikrom boyama, Modifiye EZN, Kalkaflor Beyazı ile boyama, PCR		
<i>N. fowleri</i>	Direkt mikroskopik inceleme		
<i>Sappinia diploidea</i>	Direkt mikroskopik inceleme		
<i>T. gondii</i>	PCR	Seroloji	

**Tablo 1.8. Bakteriyel menenjit tanısında kullanılan bazı yöntemlerin duyarlılık değerleri**

Etken	Duyarlılık %			
	Kan kültürü	BOS Gram boyama	Lateks aglütinasyon	PCR
<i>N. meningitidis</i>	40-60	30-89	22-93	88-94
<i>S. pneumoniae</i>	60-90	69-93	59-100	61-100
<i>H. influenzae</i> tip b	25-90	25-65	78-100	72-92
<i>S. agalactiae</i>	80-85	80-90		
<i>L. monocytogenes</i>	15-75	15-35		
<i>S.aureus</i>	75-100	20-44		

**Tablo 1.9. BOS'ta bazı viral etkenlerin tanısında PCR yönteminin duyarlılık ve özgüllük değerleri**

Etken	PCR	
	Duyarlılık %	Özgüllük %
Cytomegalovirus	82-100	86-100
Enterovirus ve Parechovirus	> 95	> 95
Epstein-Barr Virus	> 98.5	100
Herpes Simplex Virus	> 95	>95
HIV	> 95	>95
Human Herpes virus 6	> 95	
JC Polyamavirus	50-75	98-100
Kuduz virüsü	100	100
Varicella zoster virus	80-95	>95

**1.5. Sonuçların raporlanması:**

<b>Hücre Sayımı</b>	Eritrosit ve lökosit sayımı yapılarak mililitredeki (mL) değerleri verilmelidir.
<b>Direkt Mikroskopi</b>	Ameboid/trofozoit varlığı bildirilmelidir.
<b>Gram Boyama</b>	Lökosit varlığı ve türü, mikroorganizma varlığı, Gram boyanma özelliği ve morfolojisi bildirilmelidir.
<b>Çini mürekkebi yöntemi</b>	Kapsüllü, tomurcuklanan maya mantarı varlığı bildirilmelidir.
<b>Aside dirençliboyama</b>	Aside dirençli basil varlığı bildirilmelidir.

Kültür	
<b>Negatif sonuç</b>	Üreme saptanmadı.
<b>Pozitif sonuç</b>	Bütün üremeler duyarlılık sonuçlarıyla beraber bildirilmelidir.
Moleküler Yöntemler	
<b>Negatif sonuç</b>	".....DNA / RNA'sı" saptanmadı.
<b>Pozitif sonuç</b>	".....DNA / RNA'sı" saptandı.

**1.7. Ara raporlar ve panik değerler:**

Beyin omurilik sıvısında mikroskopik incelemede herhangi bir mikroorganizma görülmesi, üreme olması ve antijen antijen ve/veya nükleik asit testlerinde pozitiflik saptanması panik değerdir, kültür sonucu beklenmeden hemen kliniğe telefonla ve otomasyonla rapor bildirilmelidir.

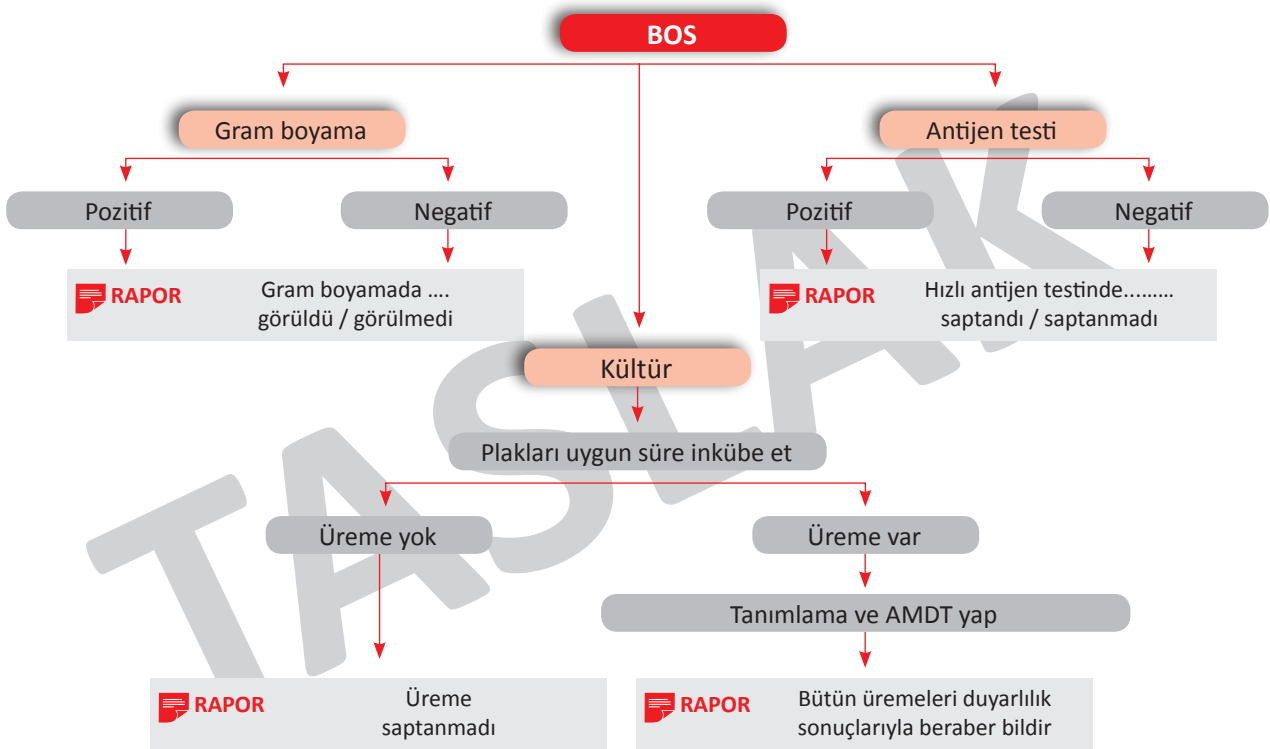


BOS'ta mikroskopik incelemede herhangi bir mikroorganizma görüldüğünde kültür sonucunu beklemeden hemen klinisyene ön rapor bildirilmelidir.

### 1.8. Referans laboratuvara başvurulması önerilen durumlar:

- *S. pneumoniae*, *H. influenza*, *Listeria spp.*, beta-hemolitik streptokoklar serotiplendirme amacıyla
- *Mycobacterium spp.* ve mantarlar ileri tanımlama ve "antimikrobiyal duyarlılık testi (AMDT) için"
- Kültür negatif ancak meningokoksik menenjit şüphesi devam eden olgularda BOS, serum ve EDTA'lı plazma örnekleri
- Beklenmeyen ya da nadir antimikrobiyal direnç paterni gösteren suşlar
- Arbovirus enfeksiyonlarının tanısı
- Salgına neden olan suşlar referans laboratuvarlara uygun paketleme yöntemleriyle gönderilmelidir.

### 1.9. İş akış şeması



## 2. EKLEM SIVISI

### 2.1. Giriş

Eklem sıvısı, eklem boşluğunda bulunan, eklem dokularından salgılanan yüksek molekül ağırlıklı, sakkaridden zengin molekülleri (özellikle hyalüronik asit) içeren plazma ultrafiltratıdır. Normal koşullarda viskozitesi yüksek, açık sarı renkte ve şeffaf görünümündedir. Eklem sıvısı, olağan şartlarda her eklemde az miktarda (eklem boyutuna göre 0.1-3.5 mL) bulunur, eklem kıkırdaklarının hareketini kolaylaştırır ve beslenmesini sağlar. Eklemi etkileyen nonenflamatuvar, enflamatuvar ya da septik nedenlere bağlı olarak miktarı artabilir. Septik artrit, sinovya ve eklem sıvısında çeşitli mikroorganizmaların yol açtığı enfeksiyon tablosudur.

### 2.2. Klinik örnek / mikroorganizma ilişkisi

Eklem sıvısı normalde steril bir sıvıdır ve mikroorganizma içermez. Örnek alınırken kontamine olmamışsa saptanan bütün mikroorganizmalar etken kabul edilmelidir.

Artritlerde en sık bakteriler bazen de virüsler ve mantarlar etken olmaktadır. Bazı bakteriler (*Chlamydia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* ve *Yersinia* türleri) ve parazitlerin (protoza ve helmintler) enfeksiyon sonrası artrite yol açabildiği belirtilmektedir (Tablo 2.1).

Septik artrite yol açan mikroorganizmalar arasında *S. aureus* ilk sırada olmakla beraber belirli yaş gruplarında (Tablo 2.2) ya da eşlik eden durum/hastalıklarda (Tablo 2.3) diğer bazı patojenler de sık görülebilmektedir.

Tablo 2.1. Eklem enfeksiyonlarında klinik örnek ve olası etken mikroorganizmalar

Enfeksiyon Hastalığının Adı	Örnek Türü	Olası Etkenler		
		Bakteri	Virüs	Mantar
Akut artrit	Eklem sıvısı	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus lugdunensis</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> Grup A dışı beta hemolitik streptokoklar <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Kingella kingae</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Brucella</i> spp.	Parvovirus B-19 Rubella	
Kronik artrit		<i>Borrelia burgdorferi</i> Atipik mikobakteriler <i>Mycobacterium tuberculosis</i>		<i>Candida</i> spp. <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Blastomyces dermatitidis</i> <i>Aspergillus</i> spp <i>Coccidioides immitis</i>
Prostetik eklem enfeksiyonu	Eklem sıvısı, doku biyopsisi, çıkarılan protez	<i>Staphylococcus aureus</i> Koagülaz negatif stafilokoklar <i>Enterococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp (grup A, B ve diğer beta-hemolitik türler) <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Corynebacterium</i> spp. <i>Propionibacterium acnes</i> Diğer anaeroplara Polimikrobiyal		

**Tablo 2.2. Belirli yaş gruplarında daha sık görülen septik artrit etkenleri**

Yaş grubu	Etkenler
Yenidoğanlar	B grubu streptokoklar Gram negatif enterik basiller
3 ay-5 yaş arası	<i>Haemophilus influenzae</i> tip B (bu bakteri için aşı yapılmayan ülkelerde) A grubu streptokoklar <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Yetişkinler	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>

**Tablo 2.3. Belirli durumlarda daha sık görülen septik artrit etkenleri.**

Hastalık/klirik özellik	Etkenler
Orak hücreli anemi	Salmonella türleri
İmmün-yetmezlik	A grubu streptokoklar <i>Listeria monocytogenes</i> Gram negatif basiller
İleri yaş	Gram negatif basiller
Altta yatan hastalık varlığı (kronik metabolik hastalıklar, eklem hastalığı gibi)	
İntravenöz ilaç alışkanlığı	
Isırık öyküsü	Kedi-Köpek: <i>P. multocida</i> İnsan: <i>E. corrodens</i> ve <i>oral anaerob</i> bakteriler
Eklem içine enjeksiyon öyküsü	<i>Candida</i> türleri ve diğer mantarlar
Sistemik enfeksiyon (Mantara bağlı)	

### 2.3. Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Hasta bilgileri, örneğin alındığı tarih, saat, anatomik bölge ve hastanın tanısı kaydedilmelidir.

Travma, geçirilmiş cerrahi ya da enfeksiyon öyküsü ya da gonokok, klamidya türleri gibi patojenler düşünüldüğünde belirtilmelidir.

Eklem sıvısı sıklıkla proteinözdür, pıhtı içerebilir. Asetik asit ya da proteinleri yıkabilecek diğer sıvılar hücresel incelemeyi engelleyeceğinden eklenmemelidir.

Alınan örnek yeterli miktarda ise hasta başında 10 mL'si aerob kan kültürü şişesine ekilir. Kalan eklem sıvısı laboratuvara gönderilirken aşağıdakilerden biri seçilebilir.

- Steril gaz kapaklı tüp ya da koruyucu içermeyen steril kan alma tüpü (kırmızı kapaklı) içine alınabilir ancak pıhtılaşma olabileceğinden heparin ya da sodyum polietanol sülfonat (SPS) içeren tüpler içine alınması tercih edilir. Bazı mikroorganizmalar uzun süre bekletilirse SPS ile inhibe olabilir. Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) ya da sitrat mikroorganizmaları daha fazla inhibe ettikleri için kültür istenen örneklerde kullanılmamaları gerekir.
- Anaerob taşıma tüpleri (Az miktardaki örnekler için)



Kültür yapılacak örnek buzdolabına konmaz. Hücre sayımı ve kristal aranması için mikroskopi yapılacak örnek ayrılarak 4°C'de tutulabilir.

Tablo 2.4. Örneklerin alınması, taşınması ve kabul/ret ölçütleri

Örnek Türü	Alım Özelliği	Miktarı	Taşıma Özellikleri	Ret Ölçütleri
Eklem sıvısı	Deri antiseptisi (%70 alkol ile silindikten sonra povidon iyot ya da klorhegzidin ile) uygulandıktan sonra klinisyen tarafından aspirasyon ile alınır.	Örnek ne kadar fazla alınabilirse laboratuvara önderilmelidir. Hücre sayımı için 1 mL, ve yapılacak diğer incelemeler için 2-3 mL en az miktarlardır. Kan kültürü besiyerine ekim yapılabilmesi için ayrıca 2-10 ml örneğe gereksinim duyulur.	“Steril tüp/taşıyıcı/ taşıma besiyeri içinde En kısa sürede oda ısısında (15 dk-en fazla 1 saat içinde)”	“Sadece kan kültürü şişesine alınmış, Gram boyamanın yapılamayacağı örnekler Silgiç ile alınıp gönderilmiş örnekler (Klinisyenle görüşülmelidir). İğnesi bulunan enjektör içinde laboratuvara gönderilen örnekler (Laboratuvar personelinin yaralanma riski bulunur. Klinisyen telefonla aranmalı ve örneği tekrar alıp uygun taşıyıcı içinde göndermesi istenmelidir).Sızıntılı kaplarda gelen örnekler işlenmeli ancak kontaminasyon olasılığının bulunduğu klinisyene bildirilmelidir.”

## 2.4. Örneklerin uygulanacak yöntemle göre işlenmesi

Örneklerin işlenmesi uygun biyogüvenlik düzeyinde yapılmalı (M. tuberculosis şüphesinde biyogüvenlik düzeyi 3, diğer patojenler için 2) ve kişisel koruyucu önlemler ihmal edilmemelidir.

### 2.4.1. Makroskobik inceleme:

Örneğin makroskobik görünümü (miktarı, rengi, viskozitesi, ışığı geçirgenliği, pıhtı varlığı gibi) kaydedilmelidir. Eklem sıvısı içindeki lökosit sayısı arttıkça makroskobik olarak şeffaflığı azalır, rengi bulanıklaşır, enflamasyona bağlı olarak viskozitesi azalır.

Monosodyum ürat ve kalsiyum pirofosfat kristalleri varlığında süte benzer beyaz renkte, kolesterol kristalleri varlığında sarı-kremsi görünümde, eski eklem protezlerine bağlı metal varlığında grimsi tonda renkte olabilir. Enflamatuvar artropatilerde fibrin parçaları, travmatik durumlarda kan içerebilir.

### 2.4.2. Hücre sayımı:

Santrifüj edilmemiş örnekteki lökositler manuel olarak sayma kamarasında sayılır (Örneğin pıhtı içermesi yanlış sonuçlara neden olur). Sıvının viskoz özelliği nedeni ile otomatize sayım cihazlarında yanlış sonuçlar alınabilir. Eklem sıvısını dilüe etmek için sodyum klorür çözeltisi (%0.3) kullanılır. Lökositlerin sayısı yanında polimorfonükleer lökositlerin (PNL) mononükleer lökositlerden (MNL) ayrılarak % oranının belirtilmesi önemlidir. Bu ayırmada iki yol kullanılabilir.

#### 1) Sayma kamarası ile sayım (Az sayıda lökosit içeren örnekler için)

- Az kanlı/kansız örnekler için: Santrifüj edilmemiş örnek %0.1 toluidin ya da metilen mavisi ile boyandığında lökosit çekirdekleri ayırt edilebilir.



Toplam lökosit sayısı belirlenirken sulandırma faktörü hesaplanmalıdır.

- Kanlı örnekler lökosit sayma eriyiği ile karıştırılıp 5 dk beklendiğinde eritrositler parçalanır ve lökositler ayırde edilir hale gelir.

- Boyama yöntemi ile sayım:** Lökosit sayısı yüksek olan örnekler için uygundur. Santrifüj edilmiş örneğin dip kısmından hazırlanan preparat havada kuruduktan sonra alkol ile tespit edilerek Gram yöntemi ile boyanır ve lökosit morfolojisi kaydedilir. (Alevde tespit edildiğinde lökositlerin morfolojisi bozulur)

Tablo 2.5. Eklem sıvısının makroskopik, mikroskopik ve bazı biyokimyasal özellikleri.

	Normal	Non-Enflamatuvar	Enflamatuvar	Septik	Hemorajik
Görünüm	Berrak, saman rengi	Berrak, saman rengi	Sarı, dumanlı görünüm	Bulanık	Kanamalı
Viskozite	Yüksek	Yüksek	Düşük	Düşük	Değişken
Lökosit sayısı/mm <sup>3</sup>	<200	<2000	2000-50000	>50000**	Değişken
%PNL	<25	<25	<50	>75***	Değişken
Glukoz (%kan değeri)	%95-100	%95-100	%80-100	<%50	
Protein	1,3-1,8	3-3,5	>4	>4	
Kristal*	Yok	Yok	Çeşitli ya da Yok	Yok	Yok

PNL: Polimorfonükleer lökosit.

- \* Sodyum urat kristalleri ve kalsiyum pirofosfat kristalleri enflamatuvar artrit ve sinovite neden olabilirler. Kristal varlığı açısından yapılacak mikroskopik incelemede polarize ışık kullanılmalıdır.
- \*\* Malignitesi olanlarda, kortikosteroid kullananlarda, intravenöz ilaç alışkanlığı olanlarda lökosit sayısı 50.000/μL'nin altında olabilir.
- \*\*\* *Mycobacterium* spp. enfeksiyonlarında mononükleer hücre infiltrasyonu %30-50 arasında olabilir.

### 2.4.3. Gram boyama

Alkolden geçirilmiş lam üzerine bir-iki damla örnek damlatılarak (dağıtılmadan) Gram yöntemi ile boyanır. İki mL'den fazla örnekler 1200xg'de 5-10 dk santrifüjlendikten sonra dipteki çökeltiden preparat hazırlanabilir. Lam BGK ya da preparat kurutucuda kurutulur. Yayma metanol ile tespit edildikten sonra boyanır. Viskoz olmayan örneklerde preparatların sitosantrifüj ile hazırlanması önerilmektedir. Gram boyamada karışık morfolojili mikroorganizmalar görüldüğünde örnek seçici aerop (MacConkey, Kolombiya nalidiksik agar) ve anaerop plak besiyerlerine ekilmelidir.



Gram boyalı preparat en kısa sürede incelenmelidir. Pozitif sonuç alınması durumunda klinisyene bildirilir.

### 2.4.4. Kültür

İki-üç damla örnek kanlı agar ve çikolata agar besiyerlerine ekilir. Sadece kan kültürü şişesinde gelen örneklerde agar plağında üremeyi tercih eden bakteriler için (*N. gonorrhoeae* gibi) şişeden çikolata agara pasaj yapılır. Anaerob kan kültür/sıvı kültürüne ekim yapılmamışsa 2-3 damla örnek anaerob besiyerine ekilir. Pıhtılaşmış örnekler <0.5 mL steril sıvı besiyeri ile doku öğütücünde karıştırıldığında pıhtı çözülür ve içindeki bakteriler açığa çıkar. Mantar kültürü istenen örneklerde bu uygulama ile hifler canlılığını kaybedebileceğinden önerilmemektedir.

Alınan örnek sadece birkaç damla ise sadece çikolata agara ekim yapılır, tüp bir miktar sıvı besiyeri ile yıkanır. Gram boyama yapılmaz. Gelen örnek miktarı not edilir.



İncelemelerden sonra ayrılan bir miktar örnek 4°C'de 1 hafta süre ile saklanmalıdır.



Mantar ve mikobakteri türleri için özel kültürler sadece kronik artriti olan hastalardan, bağışık yetmezliği olan hastalardan ya da klinik olarak şüphelenilen hastalardan alınan örnekler için yapılmalıdır. Mikobakteri enfeksiyonu şüphesinde aside dirençli boyama ve mikobakteri kültürü yapılmalıdır.

### 2.4.5. Serolojik Testler

*Brucella* spp., Parvovirus B-19, kızamıkçık virüsü ve *Borrelia burgdorferi* gibi etkenlerin tanısında serolojik yöntemler kullanılabilir.



### 2.4.6. Moleküler Testler

Kültürde zor üreyen ya da kültürü yapılamayan (*B. burgdorferi*, *Tropheryma whippelii* gibi) bakteriler veya virüsler etken olduğunda ya da hastaya önceden antimikrobiyal tedavi başlanması durumunda kültür sonuçları yanlış negatif sonuç verebilir. 16S rRNA genini saptayan PCR sonrası yapılan nükleik asit dizi analizi ile etken cins ya da tür düzeyinde tanımlanabilir. Stafilokoklar ya da streptokoklar gibi besiyerinde kolay üreyen bakteriler için PCR'nin üstünlüğü bulunmamaktadır. Örneğin 1-2 mL'si -80°C'de dondurularak saklandığında kültür sonucu negatif olan örneklerde PCR çalışılabilir.

Tablo 2.6. Örneklerin işlenmesi

Direk Mikroskopi	Boyalı Mikroskopik İnceleme	Besiyeri		İnkübasyon			Etken mikroorganizma
				Sıcaklık	Ortam	Süre	
Hücre sayımı	Gram boyama	Rutin besiyerleri	Kanlı agar Çikolata agar MacConkey agar	35-37 °C	%5-10 CO <sub>2</sub>	4 gün	Herhangi bir mikroorganizma
			Seçici olmayan anaerop besiyeri		Anaerop ortam	iki hafta	
		Kan kültürü besiyeri	Aerop		Aerop ortam	5-7 gün (Brusella şüphesinde daha uzun süre)	
			Anaerop		Anaerop ortam	5-7 gün	
Potasyum hidroksit Kalkaflor beyazı			Sabouraud dekstroz agar Beyin-kalp infüzyon agar	25-30°C	Aerop ortam	2 hafta	Mantarlar
	ARB	Löwenstein-Jensen besiyeri Sıvı besiyeri (otomatize sistem)	35-37°C	6-8 hafta		Mikobakterler	

### 2.5. Ara raporlar ve panik değerler

Eklem sıvısında mikroorganizma görülmesi durumunda klinisyene telefonla ya da otomasyon sistemi ile bildirilir. Ön testler sonuçlanır sonuçlanmaz muhtemel cins/tür adı rapor edilmelidir.

### 2.6. Sonuçların Yorumlanması

Kültürde üreme saptandığında kültür sonuçlarının direkt Gram boyama sonucu ile uyumu kontrol edilir. Üreyen tüm mikroorganizmalar tanımlanır.

Kontaminasyon olasılığı bulunan mikroorganizmalar için tür düzeyinde tanımlama testleri yapılmaz (Örn. sıvı besiyerinde üreme olmadan plak besiyerinde 1-2 koagülaz negatif stafilokok kolonisi varlığında).

Üreyen mikroorganizmalara uygun standartlara göre (CLSI gibi) AMDT yapılır.

Pozitif kültürler en az 7 gün süre ile ya da izolatlar dondurularak saklanmalıdır.

Etken olan mikroorganizmaya göre klinik tabloda ve tanı testi sonuçlarında bazı farklılıklar göze çarpmaktadır. Septik artritlerde Gram boyamanın duyarlılığı etkene göre değişmekte ve yüksek olmamakla birlikte özgüllüğü oldukça yüksektir (%100'e yakın). Önceden antibiyotik kullanmış hastaların %30-80'inde kültürde yalnızca negatif sonuçlar alınmaktadır. Bunun dışındaki yalnızca negatiflik nedenleri örneğin yanlış işlenmesi, uygun olmayan besiyerleri ve kültürde üreyemeyen mikroorganizmalardır. Kontaminant bakteriler üreyerek yalnızca pozitifliğe neden olabilmekte buna rağmen septik artritte kültürün özgüllüğü %90'ın üzerine çıkmaktadır.

Tablo 2.7. Septik artrit tanısında Gram boyamanın ve kültürün duyarlılığı.

Artrit tablosu	Duyarlılık %	
	Gram boyama	Kültür
Non-gonokoksik artrit	50-70	75-95
Gonokoksik artrit	10-25	10-5
Tüberküloz artrit	20	79



Septik artritlerin %80'inden fazlasında *N. gonorrhoeae* dışındaki mikroorganizmalar etkindir.

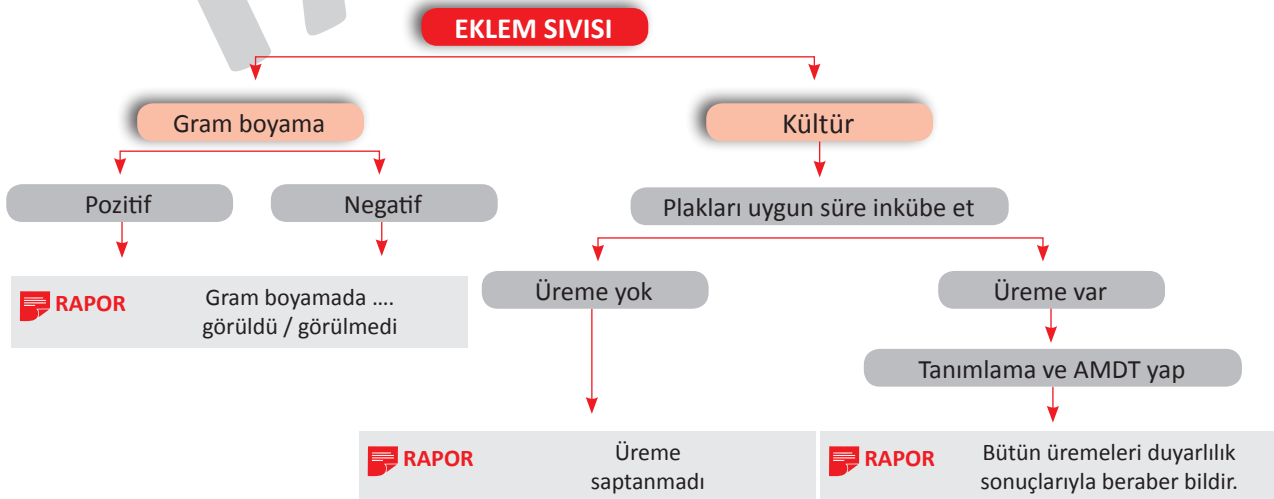


Nongonokoksik septik artritler genellikle ileri yaşta görülür ve hastaların %80'den fazlasında tek eklem tutulmuştur.  
Bu grup hastaların çoğunda eklem sıvısı kültürleri pozitif olmakla beraber kan kültüründe yaklaşık %50 oranında pozitiflik saptanır.

## 2.7. Sonuçların raporlanması

- Üreyen tüm mikroorganizmalar bildirilmelidir.
- Negatif sonuç bildirilirken raporda inkübasyon zamanı da belirtilmelidir.
- Artrit etkeni olabilen bazı mikroorganizmalar kültürde kolaylıkla üretilmeyebilir (örn: *B. burgdorferi*.)
- Plakta kontaminant mikroorganizma şüphesi bulunduğu anda not olarak: "Kültürde kontaminasyon-gerçek enfeksiyon ayrımı yapılamamıştır, uygun alınmış bir örnekle kültürün tekrarlanması önerilir" yazılabilir.
- Örneğin cilt florası ile kontaminasyonu kültürün yanlış pozitifliğine yol açabilir. Örnekteki mikroorganizma sayısının azlığı, kültür alınmadan önce hastaya uygulanmış olan antimikrobiyal tedavi ve mikroorganizmanın zor üremesi yanlış negatif sonuçlara neden olabilir.

## 2.8. İş akış şeması



### 3. PERİKARD SIVISI

#### 3.1.Giriş

Kalp ve devam eden büyük damarlar koruyucu tabaka olan perikard ile çevrilidir. Kalp kasını çevreleyen zar olan epikardiyum ile perikardiyum arasındaki alan perikard boşluğudur ve normalde 15-20 mL berrak sıvı içerir. Eğer sıvıda bir enfeksiyon etkeni varsa veya başka nedenle sıvı artışı olmuşsa perikard gergin bir hale gelir. Tamponad gelişebilir, kardiyak fonksiyonda ve dolaşımda bozulma görülebilir.

#### 3.2.Klinik örnek mikroorganizma ilişkisi

Perikard sıvısı normalde steril bir sıvıdır ve mikroorganizma bulunmaz. Dolayısıyla örnek alınırken kontamine olmamışsa saptanan bütün mikroorganizmalar etken kabul edilmelidir.

Perikardit etkenleri genellikle virüslerdir. Parazitler, bakteriler, bazı mantarlar ve enfeksiyon dışı durumlar (otoimmün hastalıklar, böbrek yetmezliği, miyokard enfarktüsü, mediastinal yaralanma vs.) da bununla ilişkili olabilir. Grup B ve daha az sıklıkta grup A Coxsackie virüsler ve bazı enterovirüsler akut perikardit nedeni olabilirler. Coxsackie B virus ile perikardın invazyonu küçük damarlar yoluyla olur ve akut enflamasyon gelişir. Hastalarda dispne, göğüs ağrısı olur ve bazı olgularda miyokard infarktüsünü taklit edebilir.

Perikardite miyokardit de eşlik edebilir.

Coxsackie virüsler, boğaz sürüntü örneklerinden, dışkı örneklerinden veya nadiren perikard sıvısından izole edilebilir. Alternatif olarak viral RNA saptama yöntemleri kullanılabilir (örneği insitu hibridizasyon, endomyokardiyal biyopsi,..)

Kabakulak Virüsü miyokardit ve perikarditin daha nadir sebeplerindedir.

Tablo 3.1. Perikardit ve miyokarditte sık görülen etkenler

Bakteri	Virüs	Mantar	Parazit
<i>M. pneumoniae</i> <i>C. trachomatis</i> <i>M. tuberculosis</i> <i>S. aureus</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>S. pyogenes</i> Enterobacteriaceae ailesi Diğer gram negatif basiller Anaeroblar ( <i>B. fragilis</i> grup, streptokoklar, <i>Clostridium</i> spp., <i>Fusobacterium</i> spp.) <i>Pseudomonas</i> spp.	Enterovirüsler (primer olarak Coxsackie virus A ve B ve daha az sıklıkta Ekovirüsler) Poliovirus Adenovirüsler Influenza virüsleri Kabakulak virüsü HIV Sitomegalovirüs	<i>C. immitis</i>  <i>Aspergillus</i> spp. <i>Candida</i> spp. <i>C. neoformans</i> <i>H. capsulatum</i>	<i>E. histolytica</i> <i>T. gondii</i> <i>T. cruzi</i> <i>E. granulosum</i> <i>T. spiralis</i>

Tabloda listelenenler haricindeki bazı etkenler de perikardiyal efüzyonlara neden olabilir. Virüsler dışındaki etkenlerle perikardit gelişen hastalarda sıklıkla yatkınlık oluşturan bir faktör mevcuttur (örn. infektif endokardit)

#### 3.3. Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Perikard sıvısı sıklıkla elektrokardiyografik monitörizasyon esnasında iğne aspirasyonu veya cerrahi prosedür yoluyla alınır. Perikard sıvısının alınma işlemi riskli bir işlemdir çünkü örnek atmakta olan bir kalbin hemen yanındadır. Örnek alınmadan önce cilt dekontamine edilmeli, birkaç mL örnek alınmalıdır. Alınan örnek steril kap içinde bekletilmeden laboratuvara gönderilmelidir. Örnek buzdolabına konmamalıdır. Hasta başında aerop ve anaerop kan kültür şişelerine ekim yapılabilir. Laboratuvar personeli örnek gönderildikten sonra bilgilendirilmelidir. Tüberküloz ve geçirilmiş cerrahi öyküsü yardımcı klinik bilgilerdir.

Sadece kan kültür şişesi ile gönderilmiş olan örneklerden, mikroorganizmaların dilüsyona uğramaları nedeniyle Gram boyama yapılması uygun değildir. Bu nedenle kan kültür şişesine alınan örneklere ilaveten Gram boyama yapılabilmesi için steril kaptaki bir miktar örnek gönderilmelidir.



Miktarın fazla olması etkeni yakalama şansını artırır.



Antikoagülan olarak EDTA ve sitrat kullanılması mikroorganizmaları inhibe edebileceği için uygun değildir.



*M. tuberculosis* tanısında perikard biyopsisi ile elde edilen doku perikard sıvısına üstündür.

**Tablo 3.2. Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri**

Örnek alma yöntemi	Taşıma kabı/Miktar	Taşıma süresi/Isısı	Saklama süresi ve ısısı	Ret Ölçütleri
Cilt dekontaminasyonunu takiben iğne spirasyonu (perikardiyosentez) veya cerrahi esnasında	Steril tüp/ Bakteriler için 1-5 mL, Mantarlar için 5 mL Mikobakteriler için ≥5 mL	≤15 dk, oda ısısı	≤24 sa, oda ısısı işlemler sonrasında 1 hafta buzdolabında saklanmalı	Yok
	Anaerob bakteriler için ≥1 mL ve anaerob taşıma sistemi içerisinde	≤15 dk, oda ısısı		
	Virüsler için viral transport besiyerinde/ >1 mL	≤15 dk, buz üzerinde	24 sa, -80 °C	

### 3.4. Örneklerin uygulanacak yöntemle göre işlenmesi

Tüm işlemler BGK içinde yapılmalıdır.

#### 3.4.1. Makroskobik inceleme

Normal perikard sıvısı berrak görünümündedir.

Laboratuvara ulaşan örneğin hacmi ve görünümü kaydedilir.

Laboratuvara gelen pıhtılaşmış perikard sıvısı örnekleri bakterileri açığa çıkarmak için homojenize edilmeli ve mantar hücrelerini serbest bırakmak için kıyılmalıdır.

#### 3.4.2. Hücre sayımı

Otomatize hemositometrik ölçümler yapılabilir. Bakteriyel enflamasyonda nötrofiller baskındır. Tüberküloz ve viral enfeksiyonlarda ise lenfosit hakimiyeti olur.

#### 3.4.3. Santrifüj

Berrak sıvılar santrifüj ya da filtrasyon yoluyla konsantre edilebilir. Pürülan materyal doğrudan besiyerine inoküle edilebilir.

Sıklıkla örneğin her mL'sinde  $10^5$  cfu'dan daha az mikroorganizma bulunduğu için örneklerin santrifüj edilmesi direkt mikroskobilerin duyarlılığını artırır. Boyalı mikroskobilerin duyarlılığını arttırmak için sitosantrifüj kullanımı önerilmektedir.

Kültür için de santrifüj yapmak önerilmektedir. Örnek miktarı az ise santrifüj işlemi yapılmadan birkaç damla örnek besiyerine inoküle edilebilir.

#### 3.4.4. Gram Boyama

Gönderilen tüm perikard sıvısı örneklerine Gram boya uygulanmalıdır. İki adet preparat hazırlanıp biri Gram boyama yöntemi ile boyanmalı, diğeri saklanmalıdır. Santrifüj sonrası çökeltiden örnek alınarak lam üzerine konur ve yayılmadan kuruması beklenir. Metanolla tespit edildikten sonra Gram boya ile boyanır. Preparatlarda lökosit varlığı ve türü, mikroorganizma varlığı, Gram boyama özelliği ve morfolojisi değerlendirilir.

Eğer örnek miktarı santrifüj edilemeyecek kadar azsa veya santrifüj imkanı yoksa örnek lam üzerine damlatılır yayılmadan kuruması beklenir. Ardından yeni bir damla örnek bu örneğin üzerine damlatılarak tekrar kuruması beklenir, tespit edilir ve boyanarak incelenir.

### 3.4.5. Akridin oranj boyama

Bakteri ve diğer hücrelerin nükleik asitlerine bağlanan florokromatik bir boyadır. Mikroorganizmalarla hücre materyalleri farklı renklerde boyar. Bakteri ve mantarlar parlak turuncu, insan epitel ve enflamatuvar hücreleri ve zemin açık yeşilden sarıya değişen renklerde boyanır. Gram boya ile boyanmayan ya da yoğun debris içinde saptanamayan mikroorganizmaların görülebilmesi için faydalıdır. Özellikle enfeksiyon varlığından şüphelenilen ancak Gram boya ile mikroorganizma saptanmayan örnekler için kullanışlıdır. Gram boyamada olduğu gibi preparat hazırlanır. Bu boyama ile *Mycoplasma* türleri de görülebilir.



Akridin oranj, kanserojen olduğu için cilt ile temasının engellenmesi için mutlaka eldiven giyilmelidir.

### 3.4.6. Aside dirençli boyama

Santrifüj edilmiş örneğin çökeltisinden preparat hazırlanır ya da sitosantrifüj yoluyla hazırlanan preparat kullanılır.

### 3.4.7. Auramin-rhodamine boyama

Mikobakterilerin gösterilmesinde duyarlılığı daha yüksek bir yöntem olan floresan boyalarla boyama kullanılabilir.

### 3.4.8. Direkt bakı ve kalkoflor beyazı ile boyama

Mantar varlığından şüphelenilen örnekler için kullanılırlar. Gram boyama da bazı mantar elemanları için faydalıdır.

### 3.4.9. Kültür

Hasta başında aerop ve anaerop kan kültür şişelerine ekim yapılmadıysa gönderilen örnekten laboratuvarda şişelere ekim yapılabilir. Kan kültür şişeleri kullanılmıyacaksa örnek santrifüj edildikten sonra çökeltiden kanlı, çikolata ve zenginleştirici buyyona ekim yapılır. Az miktarda örnek geldiyse ve santrifüj için yeterli değilse 2-3 damla örnek besiyerine inoküle edilerek steril öze yardımıyla yayılır. Örnek miktarı daha azsa sadece çikolata agara ekim yapılır. Eğer gram negatif mikroorganizma üremesi bekleniyorsa veya Gram boyalı preparatlarda gram negatif mikroorganizma görülmüşse veya karışık morfolojide bakteri saptanmışsa MacConkey agara da ekim yapılır. Örnekler besiyerlerine inoküle edildikten sonra steril öze ile yayılır ve uygun inkübasyonlar sonrasında günlük olarak 4 gün boyunca üremeler değerlendirilir.

Tüberküloz perikardit şüphesi varsa örnek Löwenstein-Jensen (LJ) besiyerine ve otomatize mikobakteri kültür sistemine ekilir. LJ besiyerleri ilk 4 hafta haftada 2 kez, daha sonraki 4 hafta haftada bir kez olmak üzere toplam 8 hafta koloni oluşumu açısından değerlendirilir. Koloni varlığı gözlenirse ARB ile basil varlığı değerlendirilir. Otomatize hızlı kültür sistemlerinde ise üremeler daha erken saptanabilir.

Anaerop taşıma sistemi ile gelen örneklerden besiyerlerine inokülasyon yapılarak anaerop koşullarda inkübe edilir. Eğer aerop kültür istemi yapılmadıysa örnekler ayrıca kanlı ve çikolata agara inoküle edilip aerop koşullarda inkübe edilir. Anaerop koşullarda inkübe edilen besiyerleri üreme varlığı açısından 48 saat sonunda değerlendirilir.

Üreme gözlenen plaklar veya tüpler 7 gün boyunca buzdolabında saklanır. Tercih edileni ise üreyen suşların  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmasıdır.

**Tablo 3.3. Perikard sıvısı örneklerinin ekildiği besiyerleri ve inkübasyon koşulları.**

Besiyerleri	İnkübasyon			Etken mikroorganizmalar
	Isı	Ortam	Süre	
Koyun kanlı agar	35-37°C	%5-10 CO <sub>2</sub>	4 gün	Çoğu mikroorganizma için uygun
Çikolata Agar				
Otomatize kan kültür şişeleri (aerop)		Aerop ortam	5-7 gün	Çoğu mikroorganizma için uygun
Otomatize kan kültür şişeleri (anaerop)				Çoğu anaerob mikroorganizma için uygun
Löwenstein-Jensen besiyeri			6 hafta	Mikobakteriler
Sıvı mikobakteri besiyeri (otomatize sistem)				
Sabouraud dextrose agar			5-7 gün	Mantarlar
Zenginleştirici buyyon				Çoğu mikroorganizma için uygun

### 3.4.10. Virüs kültürü

Hücre kültürü pek çok virüs için tanıda altın standart olmakla beraber bazı virüslerin hücre kültürlerinde üretilmeleri mümkün değildir

### 3.4.11. Antijen tarama testi

İmmunokromatografik membran testi ile *S. pneumoniae*'nin C-polisakkarit hücre duvar antijenini saptayan kit ile hızlı sonuç alınabilmektedir.

### 3.4.12. Antikor tarama testi

Özellikle viral etyolojide, akut ve konvalesan dönemdeki serumda antikor yanıtının incelenmesi faydalı olabilir.

### 3.4.13. Moleküler Yöntemler

Kültürü zor veya yapılamayan bakteri varlığında ya da antibiyotik tedavisi alan hastalarda yalancı negatif sonuçlar alınabilir. Böyle durumlarda moleküler yöntemlerin kullanılması ile etken saptanabilir. Özellikle tüberküloz şüpheli olgularda da moleküler yöntemler faydalıdır. Ancak negatif test tüberküloz perikarditi dışlamaz.

Bazı virüslere yönelik tekli veya multipleks PCR uygulamaları mevcuttur. Multipleks PCR aynı anda birden fazla etkeni gösterme şansı sağladığı için tercih edilebilir.

**Tablo 3.4. Perikardit ve miyokardit etkenleri için önerilen tanı yöntemleri**

Etken	Önerilen tanı yöntemi	Ek tanı yöntemi
Bakteriler	Gram boyama, kültür	
Mantar	Kalkoflor boyama, KOH ile inceleme, Mantar kültürü	
Mikobakteriler	Asit fast boyama, mikobakteri kültürü	
Coxsackie virus A,B Echovirus Poliovirus Adenovirus HIV Kabakulak virüsü Cytomegalovirus	Moleküler yöntem (test mevcutsa ilk tercih olabilir) Virüs kültürü (tüm virus tipleri için uygun değildir ve her laboratuvarında uygulanamaz)	Virusa özgül seroloji, (akut ve konvalesan serum)
<i>T. cruzi</i> <i>T. spiralis</i> <i>T. gondii</i>	Histopatoloji Toxoplasma NAAT (*)	<i>Trypanosoma</i> spp. için kan yaymaları <i>T. gondii</i> için seroloji
NAAT (*): Nükleik asit amplifikasyon testi		

### 3.5. Sonuçların raporlanması:

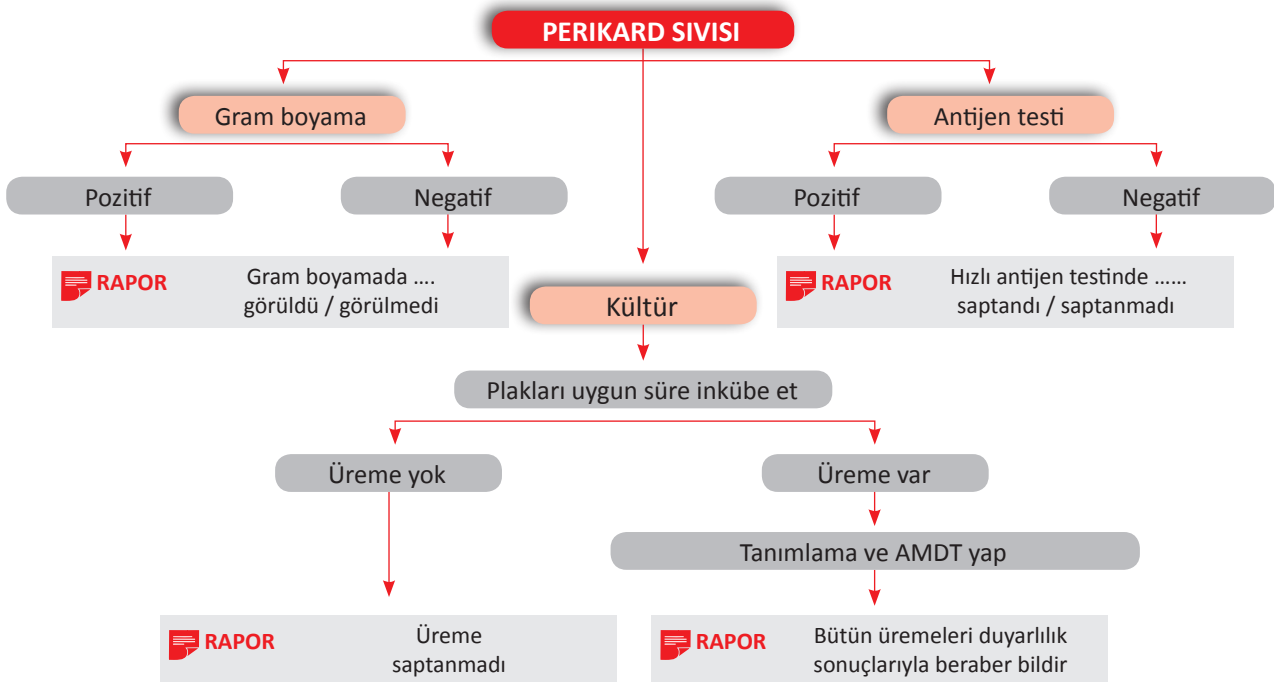
<b>Hücre Sayımı</b>	Örnekte eritrosit ve lökosit varlığı, mL'deki miktarları ve lökosit tipleri bildirilmelidir.
<b>Gram Boyama</b>	Lökosit varlığı ve türü, mikroorganizma varlığı, gram boyanma özelliği ve morfolojisi bildirilmelidir.
<b>Aside dirençli boyama</b>	Aside dirençli basil varlığı bildirilmelidir.
<b>Potasyum hidroksit ve kalkoflor beyazı boyamaları</b>	Mantar elemanları görülmüşse rapor edilir.
<b>Akridin oranj boyama</b>	Saptanan mikroorganizmalar morfolojisi ile beraber raporlanır. Gram boyalı preparat tekrar değerlendirilir. Eğer Gram boyalı preparatta bakteri görülemiyorsa "Örnek akridin oranj boyama ile pozitif ancak Gram boyamada bakteri saptanmadı." şeklinde raporlanır. Mikroorganizma saptanmadıysa "Akridin oranj boyama ile mikroorganizma saptanmadı." şeklinde raporlanır. <b>Auramin-rhodamine boyama:</b> Uygun morfolojide sarı-turuncu basil varlığı pozitiflik olarak rapor edilir. Negatif sonuç mikobakteri enfeksiyonunu dışlamaz.

Kültür	
Normalde steril bölgeden alınmış örnekte, herhangi bir mikroorganizma bulunması anlamlı kabul edilmeli ve tüm izolatlar rapor edilmelidir.	
<b>Negatif sonuç</b>	İnkübe edildiği gün sayısı ile birlikte rapor edilmelidir. ".....gün inkübasyon sonrasında üreme saptanmadı."
<b>Pozitif sonuç</b>	Bütün üremeler duyarlılık sonuçlarıyla beraber bildirilmelidir.
Moleküler Yöntemler	
<b>Negatif sonuç</b>	".....saptanmadı."
<b>Pozitif sonuç</b>	".....saptandı." şeklinde rapor edilir.

### 3.6. Ara raporlar ve panik değerler

Perikard sıvısında Gram boyama, fungal boyalar veya aside dirençli boyalar ile mikroorganizma görülmesi, kültürlerde üreme olması ve antijen testlerinde pozitiflik saptanması panik değerlerdir. Bu durumda hemen klinisyene haber verilmelidir.

### 3.7. İş akış şeması



## 4. PLEVRA SIVISI

### 4.1. Giriş

Paryetal plevra, torasik kavitenin seröz membranıdır ve torasik boşluğun içini döşer. Her bir akciğerin dış yüzeyi de visseral plevra ile döşelidir. Normalde pleural boşlukta solunum hareketleri esnasında akciğerin esnerken ve sönerken minimal sürtünmeye maruz kalmasını sağlamak için az miktarda sıvı bulunur (20 mL). Bu sıvı paryetal plevradaki kapillerlerden köken alır. Paryetal plevra lenfatikleri yoluyla absorbe olur. Bu bölgede fazla sıvı toplandığında efüzyon adı verilir. Çok sayıda beyaz kan hücresi ve diğer inflamatuvar yanıt göstergeleri taşıyan plevra sıvıları genellikle enfeksiyon kaynaklıdır.

Pnömonili hastaların yaklaşık %50'sinde pleural efüzyon gözlenir. Pnömoni dışında farklı hastalıklarda da pleural efüzyon gözlenebilir (örneğin sistemik romatolojik hastalıklar, maligniteler, kalp yetmezliği, tüberküloz, siroz...) Plevral efüzyonların nedeni yaklaşık %75 olguda paraprnömoniktir, yani pnömonilere sekonder gelişir. Ayırıcı tanıda plevra sıvısı transuda ve eksuda tipi olarak ikiye ayrılır. Transuda, yüksek hidrostatik basınç (örn. kalp yetmezliği), azalmış onkotik basınç (örn. hipoproteinemi), asit sıvısının diyafram yoluyla geçişi gibi nedenlere bağlı olabilir. Eksuda ise yüksek kapiller geçirgenlik ve/veya bozulmuş lenfatik drenaj, malignite veya inflamatuvar (örn. paraprnömonik efüzyon) nedenli olabilir.

Akciğeri enfekte etmiş olan mikroorganizma, bazen pleural boşluğa yayılır ve pürülan eksuda veya ampiyeme neden olur.

Plevral efüzyonlar radyolojik olarak gösterilebilir. Fakat ampiyemin saptanması özellikle yoğun pnömonisi olan hastalarda zor olabilir.

### 4.2. Klinik örnek mikroorganizma ilişkisi

Plevra sıvısı normalde steril bir sıvıdır ve mikroorganizma bulunmaz. Dolayısıyla örnek alınırken kontamine olmamışsa saptanan bütün mikroorganizmalar etken kabul edilmelidir.

Toplumdan kazanılmış ampiyemde *Streptococcus viridans*, *Streptococcus milleri* grup streptokoklar (*S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*) ve pnömokoklar en sık izole edilen patojenlerdir. Toplum kaynaklı pleural enfeksiyonların %25 kadarında anaerobik bakteriler de olaya dahildir. Hastane kaynaklı enfeksiyonlarda stafilokoklar (özellikle MRSA), enterokoklar ve Enterobacteriaceae üyeleri öncülük eder. Pürülan olmayan komplike paraprnömonik efüzyonların yaklaşık %20'sinde ve ampiyemelerin %70'inde kültürlerin pozitif olması beklenir.

Tüberküloza bağlı plevra efüzyonu özellikle primer enfeksiyondan 6-12 hafta sonra gözlenir. Küçük subpleural kazeöz odakların yıkılması ve içeriğin pleural boşluğa boşalması şeklinde geliştiği düşünülür. İmmünolojik hipersensitivite reaksiyonu gelişir. Plevra sıvısı eksuda vasfındadır. %90 olguda lenfosit hakimiyeti vardır. Tüberküloz efüzyonlarının %5'ten azında ARB ile basil saptanabilir. Tüberküloz plöritli hastaların plevra sıvısı ve balgam mikobakteri kültürlerinin başarısı da düşüktür (yaklaşık %30). Ancak sıvı mikobakteri kültürleri kullanıldığında başarı daha yüksektir ve sonuçlar daha hızlı alınır. Tüberküloz plörezisi şüphesi olan olgularda balgam incelemeleri de beraberinde yapılmalıdır.

Tablo 4.1. Plevra sıvısında bulunabilecek olası etkenler

Bakteri	Virüs	Mantar	Parazit
<i>S. aureus</i> <i>S. pyogenes</i> <i>S. pneumoniae</i> Anaerob bakteriler <i>M. tuberculosis</i> <i>M. pneumoniae</i> <i>Actinomyces</i> spp. <i>Brucella</i> spp. <i>Legionella</i> spp. <i>Bacillus anthracis</i> <i>Nocardia</i> spp.	Coxsackie B virus	<i>H. capsulatum</i> <i>C. neoformans</i> <i>Candida</i> spp. <i>B. dermatidis</i>	<i>P. westermani</i>



### 4.3. Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ ret ölçütleri

Mikrobiyolojik inceleme için iğne aspirasyonu (torasentez) yoluyla alınan örnek, laboratuvara plevra sıvısı, torasentez sıvısı veya ampiyem sıvısı adlarıyla gönderilebilir. Çok sayıda polimorf nüveli lökosit (PNL) içeren ve makroskopik olarak pürülan olan plevral efüzyonlar ampiyem sıvısı olarak isimlendirilir.

Klinik örnek mümkünse antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalıdır. Öncesinde alkolle ve ardından iyot çözeltisi ile cilt dekontaminasyonu yapılmalıdır.

Alınan örnek hemen laboratuvara sızdırmayan steril bir kap içinde (antikoagülan olarak heparin içerebilir) gönderilmelidir, anaerob etken düşünülüyorsa anaerob taşıyıcı sistem kullanılmalıdır. Örnek buzdolabına konmamalıdır. En geç 4 saat içinde analiz edilmelidir. Eş zamanlı olarak periferik kan örneğinin de kültür amacıyla alınması önemlidir (Özellikle pnömokoksik enfeksiyonlarda).



Antikoagülan olarak EDTA ve sitrat kullanılması mikroorganizmaları inhibe edebileceği için uygun değildir.



Örneğin hasta başında aerop ve anaerob kan kültür şişlerine ekiminin yapılması ve Gram boyama için de ayrı bir örneğin steril bir kap içerisinde laboratuvara gönderilmesi tercih edilmelidir.

Alınan örnek 20-40 mL ise klinisyen hekim tarafından 3 kısma ayrılarak biyokimyasal (5 mL), mikrobiyolojik (5-10 mL) ve sitolojik (10-25 mL) incelemelerde kullanılmalıdır.

Eğer örnekten virolojik çalışmalar yapılacaksa +4°C'de 24 saat, daha uzun süreler için -80°C'nin altında saklanabilir.



Gönderilen örnek miktarı ne kadar fazla ise (>100 mL) etkeni gösterme şansı o kadar artar.



Örnekler işlemler sonrasında 1 hafta buzdolabında saklanmalıdır.



Drenaj tüplerinin ve uçlarının kültürünün yapılması uygun değildir. Taze örneğin işleme alınması gereklidir.



Tüberküloz veya fungal kaynaklı bir enfeksiyondan şüpheleniliyorsa, kültür ve histopatolojik inceleme amacıyla plevra biyopsi örneği alınması tanı duyarlılığını artırır.

Tablo 4.2. Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ ret ölçütleri

Örnek alma yöntemi	Taşıma kabı/ Miktar	Taşıma süresi ve ısı	Saklama süresi ve ısı	Ret Ölçütleri
İğne aspirasyonu (torasentez)	Steril tüp (antikoagülan olarak heparin içerebilir)/5-10 mL	≤15 dk, oda ısı	≤24 sa, oda ısı	Yok
	Aerop ve anaerob kan kültür şişeleri			
	Anaerob taşıma kabı/≥1 mL	≤15 dk, buz üzerinde	≥24 sa, -80 °C	
	Virüsler için viral taşıma besiyeri/1 mL			
	Mikobakteriler için/5-10 mL	≤2 sa, oda ısı		

### 4.4. Örneklerin uygulanacak yöntemlere göre işlenmesi

Tüm işlemler BGK içinde yapılmalıdır.

#### 4.4.1. Makroskopik inceleme

Laboratuvara ulaşan örneğin hacmi ve görünümü kaydedilmelidir.

Normal plevra sıvısı açık sarı, saman rengindedir. Örneğin rengi, bulanıklığı, kan veya pıhtı içerip içermediği kontrol edilip kaydedilmelidir. Püç görünümü ampiyem nedenlidir. Klinisyen tarafından apse oluşumu tarif

edilmişse ve kötü kokulu örnekse anaerop enfeksiyon açısından anlamlı olabilir. Beyaz/süt gibi bir görünüm ampiyem veya şilotoraks (lenfoma, travma gibi nedenlerle torasik duktusun yıkımı ile lenfatik sıvının plevral boşluğa geçişi) nedeni olabilir. Kanlı sıvı malignite, travma, pulmoner emboli, pnömoni nedeni olabilir.

Laboratuvara gelen pıhtılaşmış plevra sıvısı örnekleri, bakterileri açığa çıkarmak için homojenize edilmelidir. Bakteriler için doku homojenizatörü veya cam doku öğütme makinesi kullanılabilir. Motorlu olanlarda ısı oluşacağı için mikroorganizmalar ölebilir, ideali manüel olanların kullanılmasıdır. Mantarlar için öğütücü önerilmez, mantar hücrelerini serbest bırakmak için kıyılmalıdır.

Hücre sayımı: Otomatize hemositometrik ölçümler yapılabilir. Plevral inflamasyonda nötrofiller baskındır. Tüberküloz ve viral enfeksiyonlarda ise lenfosit hakimiyeti olur.

C-reaktif protein: Parapnömonik enfeksiyonlarda >30 mg/dL düzeyi anlamlıdır.

#### 4.4.2. Santrifüj

Berrak sıvılar santrifüj ya da filtrasyon yoluyla konsantre edilebilir. Sıklıkla örneğin mL'sinde  $10^5$  cfu'dan daha az mikroorganizma bulunduğu için örneklerin santrifüj ya da sitosantrifüj yoluyla konsantre edilmesi direkt mikroskopilerin duyarlılığını artırır. Kültür için de santrifüj önerilmektedir.

Eğer örnek miktarı santrifüj edilemeyecek kadar azsa veya santrifüj imkanı yoksa örnek lam üzerine damlatılır ve yayılmadan kuruması beklenir. Ardından yeni bir damla örnek bu örneğin üzerine damlatılarak tekrar kuruması beklenir, tespit edilir ve boyanarak incelenir.

Örnek miktarı az veya pürülan ise santrifüj işlemi yapılmadan birkaç damla örnek besiyerine inoküle edilebilir.

#### 4.4.3. Gram Boyama

Gönderilen tüm plevra sıvısı örneklerine Gram boya uygulanmalıdır. İki adet preparat hazırlanıp biri Gram boyama yöntemi ile boyanmalı, diğeri saklanmalıdır. Santrifüj sonrası çökeltiden örnek alınarak lam üzerine konur ve yayılmadan kuruması beklenir. Metanolle tespit edildikten sonra Gram boya ile boyanır. Preparatlarda lökosit varlığı ve türü, mikroorganizma varlığı, Gram boyama özelliği ve morfolojisi değerlendirilir.

Gram boyama sonucunda elde edilen sonuç hemen klinisyene bildirilir.

#### 4.4.4. Aside dirençli boyama

Santrifüj edilmiş örneğin çökeltisinden preparat hazırlanır ya da sitosantrifüj yoluyla hazırlanan preparat kullanılır.

#### 4.4.5. Auramin-rhodamine boyama

Mikobakterilerin gösterilmesinde duyarlılığı daha yüksek bir yöntem olan floresan boya ile boyama kullanılabilir.

#### 4.4.6. Potasyum hidroksit ile inceleme ve kalkoflor beyazı ile boyama

Mantar varlığından şüphelenilen örnekler için kullanılır. Gram boyama da bazı mantar elemanlar için faydalıdır.

#### 4.4.7. Akridin oranj boyama

Bakteri ve diğer hücrelerin nükleik asitlerine bağlanan florokromatik bir boyadır. Mikroorganizmalarla hücre materyalleri farklı renklerde boyar. Gram boya ile boyanmayan ya da yoğun debris içinde saptanamayan mikroorganizmaların görülebilmesi için faydalıdır. Gram boyamada olduğu gibi preparat hazırlanır.



Akridin oranj, kanserojen olduğu için cilt ile temasının engellenmesi için mutlaka eldiven giyilmelidir.

#### 4.4.8. Kültür

Hasta başında aerop ve anaerop kan kültür şişelerine ekim yapılmadıysa gönderilen örnekten laboratuvarında şişelere ekim yapılabilir. Kan kültür şişeleri kullanılmıyacaksa örnek santrifüj edildikten sonra çökeltiden kanlı, çikolata ve zenginleştirici buyyona ekim yapılır. Az miktarda örnek geldiyse ve santrifüj için yeterli değilse 2-3'er damla örnek besiyerlerine inoküle edilerek steril öze yardımıyla yayılır. Örnek miktarı daha azsa sadece çikolata agara ekim yapılır. Eğer gram negatif mikroorganizma üremesi bekleniyorsa veya Gram boyalı preparatlarda gram negatif mikroorganizma görüldüyse ya da karışık morfolojide bakteri saptandıysa MacConkey agara da ekim yapılır. Örnekler besiyerlerine inoküle edildikten sonra steril öze ile yayılır ve uygun inkübasyonlar sonrasında günlük olarak 4 gün boyunca üremeler değerlendirilir.



Normalde steril bir örnek olması nedeniyle tüm üremeler anlamlı kabul edilir ve tanımlanıp antibiyogram sonucuyla birlikte raporlanır.

Tüberküloz plörezi şüphesi varsa örnek Löwenstein-Jensen (LJ) besiyerine ve otomatize mikobakteri kültür sistemine ekilir. LJ besiyerleri ilk 4 hafta haftada 2 kez, daha sonraki 4 hafta haftada bir kez olmak üzere toplam 8 hafta koloni oluşumu açısından değerlendirilir. Koloni varlığı gözlenirse aside dirençli boyama ile basil varlığı değerlendirilir. Otomatize hızlı kültür sistemlerinde ise üremeler daha erken saptanabilir. Anaerop taşıma sistemi ile gelen örneklerden besiyerlerine inokülasyon yapılarak anaerop koşullarda inkübe edilir. Aerop kültür istemi yapılmadıysa örnekler yine de kanlı ve çikolata agara ekilip aerop koşullarda inkübe edilir. Anaerop koşullarda inkübe edilen besiyerleri üreme varlığı açısından 48 saat sonunda değerlendirilir. Üreme gözlenen plaklar veya tüpler 7 gün boyunca buzdolabında saklanır. Tercih edileni ise üreyen suşların  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmasıdır.

**Tablo 4.3. Plevra sıvısı örneklerinin ekildiği besiyerleri ve inkübasyon koşulları.**

Besiyerleri	İnkübasyon			Hedef mikroorganizmalar
	Isı	Ortam	Süre	
Koyun kanlı agar Çikolata Agar	35-37 °C	%5-10 CO <sub>2</sub>	4 gün	Çoğu mikroorganizma için uygun
Otomatize kan kültür şişeleri (aerop)		Aerop ortam	5-7 gün	
Otomatize kan kültür şişeleri (anaerop)		Anaerop ortam	5-7 gün	Çoğu anaerop mikroorganizma için uygun
Löwenstein-Jensen		Aerop ortam	6 hafta	Mikobakteriler
Sıvı mikobakteri besiyeri (otomatize sistem)				
Sabouraud dekstroz agar			5-7 gün	Mantarlar
Zenginleştirici buyyon				

#### 4.4.9. Viral kültür

Hücre kültürü pek çok virüs için tanıda altın standart olmakla beraber bazı virüslerin hücre kültürlerinde üretilmeleri mümkün değildir.

#### 4.4.10. Antijen tarama testi

İmmünokromatografik membran testi ile *S. pneumoniae*'nin C-polisakkarit hücre duvar antijenini saptayan kit ile hızlı sonuç alınabilmektedir.

Direkt floresan antikor yöntemi ile plevra sıvısından *Legionella pneumonia* bu yöntemle çalışılabilir.

#### 4.4.11. Antikor tarama testi

Özellikle viral etiyojide, akut ve konvalesan dönemdeki serumda antikor yanıtının incelenmesi faydalı olabilir.

#### 4.4.12. Moleküler Yöntemler

Gram boyama ve kültüre ilave olarak uygulanan moleküler yöntemler tanıda faydalı bulunmuştur. Geleneksel yöntemlerle bakteri saptanma başarısı %60 iken moleküler yöntemlerin de kullanılmasıyla %75'e çıkmıştır. Özellikle antibiyotik tedavisi almış olanlarda ve anaerobik enfeksiyonlarda moleküler yöntemler önerilmektedir. Tüberküloz plöreziye direkt mikroskopik ve kültüre ek olarak Real-Time PCR yöntemi kullanılabilir. Bazı virüslere yönelik tekli veya multipleks PCR uygulamaları da mevcuttur. Multipleks PCR aynı anda birden fazla etkeni gösterme şansı sağladığı için tercih edilebilir. Ancak moleküler testler ile alınan negatif sonuçlar etkeni veya tanıyı ekarte ettirmez.

Tablo 4.4. Plevra sıvısında bulunan etkenler için önerilen tanı yöntemleri

Etken	Önerilen tanı yöntemi	Ek tanı yöntemi
<i>S. aureus</i>	Gram boyama, kültür	
<i>S. pyogenes</i>		
<i>H. influenzae</i>		
<i>S. anginosus</i>		
<i>S. pneumoniae</i>	Gram boyama, kültür	İdrarda pnömokok antijeni
Enterik gram negatif basiller	Gram boyama, kültür	
<i>P. eruginosa</i>		
<i>Nocardia</i> spp.	Gram boyama, modifiye asit fast boyama, kültür	
<i>Legionella</i> spp.	Gram boyama, BCYE agarda kültür, DFA	İdrarda <i>Legionella</i> antijeni ( <i>L. pneumophila</i> serogroup 1)
<i>B. fragilis</i> group	Gram boyama, anaerop kültür	
<i>Prevotella</i> spp.		
<i>F. nucleatum</i>		
<i>Peptostreptococcus</i> spp.		
<i>Actinomyces</i> spp.		
<i>M. tuberculosis</i>	Asit fast boyama, mikobakteri kültürü, moleküler yöntem	
<i>Candida</i> spp.	Kalkoflor – KOH, Gram boyama, fungal kültür	
<i>Aspergillus</i> spp.	Fungal boyama, fungal kültür	Serumda galaktomannan antijeni
<i>H. capsulatum</i>	Kalkoflor – KOH, fungal kültür, ag testi	
<i>C. immitis/posadasii</i>	Fungal boyama, fungal kültür, serumda IgM ve IgG aranması	
<i>B. dermatitidis</i>	Fungal boyama, fungal kültür, idrar, plevra sıvısında antijen aranması	Serumda antijen aranması
<i>P. westermani</i>	Direkt mikroskopik inceleme ile yumurta aranması	
<i>Coxsackievirus B</i>	Moleküler yöntem	Serumda antikor çalışılması

#### 4.5. Sonuçların raporlanması:

<b>Hücre Sayımı</b>	Örnekte eritrosit ve lökosit varlığı, mL'deki miktarları ve lökosit tipleri bildirilmelidir.
<b>Gram Boyama</b>	Lökosit varlığı ve türü, mikroorganizma varlığı, gram boyanma özelliği ve morfolojisi bildirilmelidir.
<b>Aside dirençli boyama:</b>	Aside dirençli basil varlığı bildirilmelidir.
<b>Potasyum hidroksit ve kalkoflor beyazı boyamaları:</b>	Mantar elemanları görülür ise rapor edilir ve hemen klinisyene haber verilir.
<b>Akridin oranj boyama:</b>	Saptanan mikroorganizmalar morfolojisi ile beraber raporlanır. Gram boyalı preparat tekrar değerlendirilir. Eğer Gram boyalı preparatta bakteri görülmez ise "Örnek akridin oranj boyama ile pozitif ancak Gram boyamada bakteri saptanmadı." şeklinde raporlanır. Mikroorganizma saptanmadıysa "Akridin oranj boyama ile mikroorganizma saptanmadı." şeklinde raporlanır. Bu boyama ile <i>Mycoplasma</i> türleri de görülebilir.
<b>Auramin-rhodamine boyama:</b>	Uygun morfolojide sarı-turuncu basil varlığı pozitiflik olarak rapor edilir. Negatif sonuç mikobakteri enfeksiyonunu dışlamaz.

**Kültür**

Normalde steril bölgeden alınmış örnekte, herhangi bir mikroorganizma bulunması anlamlı kabul edilmeli ve tüm izolatlar rapor edilmelidir.

Negatif sonuç İnkübe edildiği gün sayısı ile birlikte rapor edilmelidir.  
Örnek rapor: “.....gün inkübasyon sonrasında üreme saptanmadı.”

Pozitif sonuç Bütün üremeler duyarlılık sonuçlarıyla birlikte bildirilmelidir.



Kontaminasyon düşünülüyorsa gerçek enfeksiyon ayırımının yapılamadığı, bu nedenle yeni örnek istendiği raporlanmalıdır.



Yalancı negatif kültür sonucu daha önceden kullanılmış olan antibiyotik tedavisine veya sıvının uygunsuz alınmasına bağlı olabilir.



Zenginleştirici buyyonda üreme yokken tek bir plakta 1-2 koloni koagülaz negatif stafilokok (KNS) üremesi varsa tam identifikasyon yapılmayabilir.

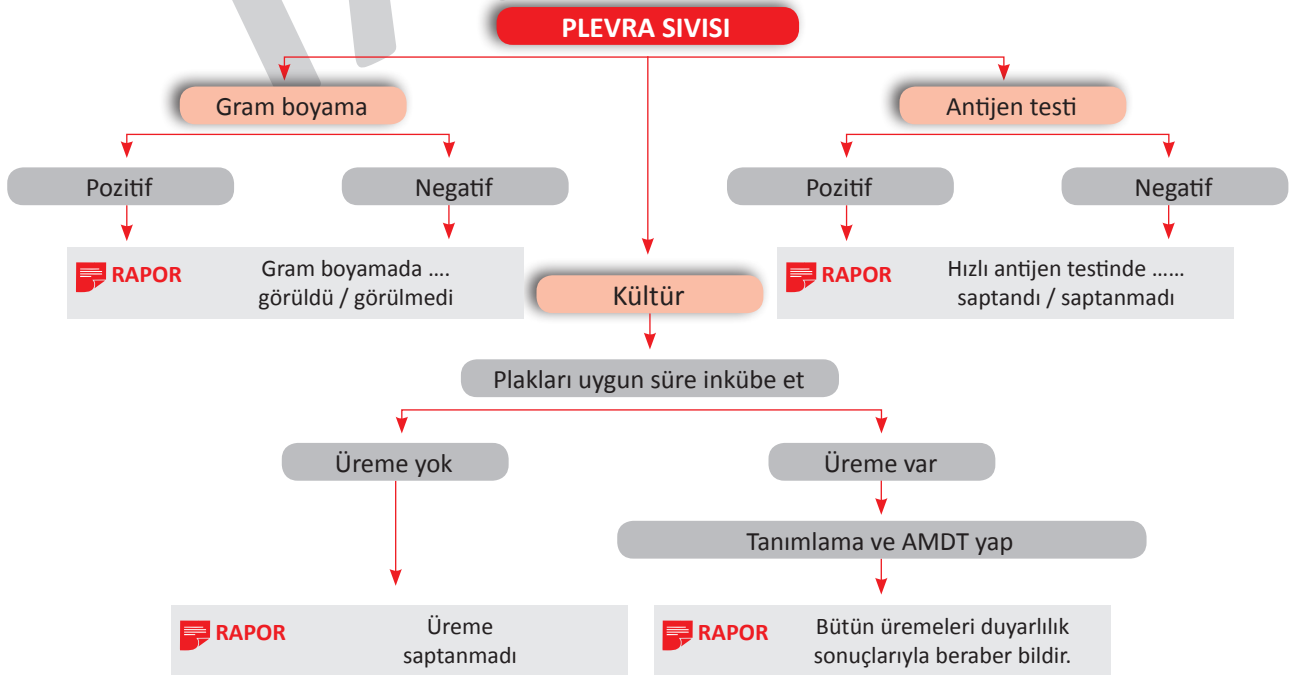
**Moleküler Yöntemler**

Negatif sonuç “.....saptanmadı.”

Pozitif sonuç “.....saptandı.” şeklinde rapor edilir.

**4.6. Ara raporlar ve panik değerler:**

Plevra sıvısında Gram boya, fungal boyalar veya aside dirençli boyalar ile mikroorganizma görülmesi, kültürlerde üreme olması ve antijen testlerinde pozitiflik saptanması panik değerdir. Bu durumda hemen klinisyene haber verilmelidir.

**4.7. İş akış şeması**

## 5. PERİTON ve PERİTON DİYALİZ SIVISI

### 5.1. Giriş

Sağlıklı insanlarda periton boşluğunda iç organların hareketini kolaylaştıracak ve periton yüzeyinin nemliliğini sürdürecektir kadar az miktarda sıvı bulunur. Normal periton sıvısı çoğunluğu mononükleer hücreler olmak üzere az sayıda beyaz küre ( $<250/\text{mm}^3$ ) ve deskuame serozal hücreler içerebilir. Bu seröz sıvının protein içeriği ( $<3\text{g/dL}$ ) ve özgül ağırlığı ( $<1.016$ ) düşüktür. Enfeksiyonlar ve enflamasyon esnasında periton boşluğunda sıvı birikmesi olur. Bu durum asit olarak, biriken sıvı da asit sıvısı olarak adlandırılır. Asit sıvısı artmış sayıda enflamatuvar hücre ve yüksek düzeyde protein içerir. Steril koşullar altında uygun bir iğne ile karın duvarından girilerek periton boşluğundan sıvı alınmasına parasetez denir. Peritonun enflamasyonu peritonit olarak adlandırılır ve periton boşluğunun mikroorganizmalarla kontaminasyonu, kimyasallarla iritasyonu ve her ikisi aracılığı ile oluşabilir. Enfektif peritonitler primer, sekonder ve tersiyer olmak üzere üç kategoriye ayrılır. Sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD) ile ilişkili peritonitler ayrı bir kategoride değerlendirilir.

Primer peritonitte görünür herhangi bir enfeksiyon odağı yoktur ve spontan bakteriyel peritonit (SBP) olarak da adlandırılır. Genellikle nefrotik sendromlu çocuklarda ve asiti olan sirozlu tüm yaş grubundaki hastalarda görülür.

Sekonder peritonit, perfore organ, cerrahi/travmatik hasar, bağırsak duvarı bütünlüğünün kaybına neden olan yıkıcı bağırsak hastalığı (ülseratif kolit, karsinoma, apendiks rüptürü gibi), tıkanma ve önceden var olan bir enfeksiyonun (karaciğer absesi, salpenjit, sepsis gibi) sekeli olarak gelişebilir. Tersiyer peritonit, sekonder peritonitin başarısız tedavisini takiben gelişen devamlı veya tekrarlayan peritonit olarak tanımlanır. İntraabdominal abse veya tedaviye dirençli patojenler ile ilişkili olabilir.

Periton diyalizi ilişkili peritonit, en sık kullanılan periton diyalizi tipleri olan, SAPD, sürekli siklik periton diyalizi (SSPD) ve aralıklı periton diyalizi (IPD) ile ilişkili olabilir. Tanısı aşağıdakilerden en az ikisinin varlığı ile konulur.

- Beyaz küre sayısı  $>100/\text{mm}^3$  (genellikle polimorf nüveli lökositler (PNL)  $>50$ ) olduğu bulanık periton sıvısı (olguların %98'inde).
- Karın ağrısı (olguların yaklaşık %75'inde)
- Diyalizat kültür pozitifliği

### 5.2. Klinik örnek mikroorganizma ilişkisi

#### 5.2.1. Primer (spontan bakteriyel) peritonit

Spontan bakteriyel peritonit genellikle tek etkenli olup sıklıkla intestinal sistemden kaynaklanan aerob bir mikroorganizma etken olduğundan anaerob kültürlerin tanı değeri azdır.

#### 5.2.2. Sekonder peritonit

Sekonder peritonitte etken patojenler kaynağa göre değişir ve genellikle gastrointestinal floradan kaynaklanır. Sekonder peritonit çoğunlukla çok etkenli olup anaerob flora bakterilerini içerebilir.

#### 5.2.3. Tersiyer peritonit

Tersiyer peritonitte, periton sıvısından mikroorganizma izole edilemez veya düşük derecede virulan organizmalar (enterokoklar, mantarlar gibi) izole edilebilir.

#### 5.2.4. Periton diyalizi ilişkili peritonit

Diyaliz sıvısının değerlendirilmesi SBP için kullanılan ile temelde aynıdır. Enfeksiyonlar tek etkenli olma eğilimindedir ve anaerob bakteriler nadiren etkindir. Kateter enfeksiyonlarında en sık *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*, peritonitlerde *S.epidermidis* başta olmak üzere diğer koagulaz negatif stafilokoklar en sık görülen etkenlerdir.

Peritonitlerde sık görülen etkenler tablo 5.1'de verilmiştir.

Tablo 5.1. Periton ve periton diyaliz sıvısında bulunabilecek olası etkenler

Enfeksiyon Hastalığının Adı		Olası Etkenler			Mantar	Parazit
		Bakteri		Virüs		
		Aerop	Anaerop			
Primer Peritonit	Erişkinlerde	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella</i> spp. <i>S. pneumoniae</i> <i>Enterococcus</i> spp. Diğer streptokoklar	Nadir			
	Çocuklarda	<i>S. pneumoniae</i> A grubu streptokoklar <i>E. coli</i>	Nadir			
Sekonder Peritonit	Mide Proksimal ince bağırsak	<i>E. coli</i> <i>Klebsiella</i> spp. Streptokoklar	Daha az sıklıkta			
	Safra yolları	<i>E. coli</i> <i>Klebsiella</i> spp. <i>Enterobacter</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp.	<i>Bacteroides fragilis</i> (Daha az sıklıkta)	CMV		
	Distal ince bağırsak Kolon	<i>E. coli</i> <i>Klebsiella</i> spp. <i>Enterobacter</i> spp. <i>Proteus</i> spp.	<b><i>Bacteroides fragilis</i></b> <b><i>Bacteroides</i> spp.</b> <b><i>Clostridium</i> spp.</b> <b><i>Fusobacterium</i> spp.</b> Gram-pozitif koklar			Entamoeba histolytica Strongyloides stercoralis (Nadir)
	Apandisit (Gangrenöz, nekrotik)	<i>E. coli</i> <i>Klebsiella</i> spp. <i>Enterobacter</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>P. aeruginosa</i>				
Tersiyer peritonit		<i>S. aureus</i> KNS <i>Enterococcus</i> spp. <i>P. aeruginosa</i>			<i>Candida</i> spp.	
Sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar		<i>S. aureus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>E. coli</i> <i>Klebsiella</i> spp. <i>Enterobacter</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>Serratia</i> spp. Diğer gram-negatif basiller			<i>Candida</i> spp.	
Periton diyaliz ilişkili peritonitler		Stafilokoklar Viridans streptokoklar Enterobacteriaceae Diğer gram-negatif basiller <i>Mycobacterium</i> spp. (Nadir)	Nadir	CMV	<i>Candida albicans</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Fusarium</i> spp.	

### 5.3. Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Periton ve periton diyaliz sıvısı örnekleri mümkünse antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalı ve tablo 5.2’de verilen koşullar sağlanmalıdır.

#### 5.3.1. Örnek alınması



Örnek perkütan iğne aspirasyonu yoluyla alınmalıdır.

- İyotlu bir preparat ile deri üzerine antisepsi uygulanmalıdır. Sıvının alınacağı bölge %70 etanol ve iyot çözeltisi (%1-2 iyot tentürü veya %10 povidon iyot) ile silinmelidir. İyot tentürü kullanılırsa işlem sonrasında %70 etanol ile silinerek kaldırılmalıdır.



Periton sıvısı için klinik olarak kullanılan çeşitli drenaj tüpleri ve uçları kültür için uygun değildir ve işleme alınmamalıdır. Bu aletlerden alınan sıvılar kültür için gönderilmelidir.



Özellikle SBP’de ve SAPD ile ilişkili peritonitlerde patojenler genellikle çok düşük sayıda (1 cfu/ mL) olabileceğinden, örneklerin kan kültür şişelerine inokülasyonu önerilir. Bu durumda kan kültür şişesine koyulmadan ayrılan 0.5 mL örnek Gram-boyama ve doğrudan ekim için steril bir kap ile ayrıca laboratuvara gönderilmelidir.



Periton diyaliz sıvısı örneklerinde kültür için ilk bulanık sıvının alınması önerilir.

- Daima mümkün olduğunca çok sıvı gönderilmeli, hiçbir zaman sıvıya daldırılmış bir silgiç gönderilmemelidir.
- Hücre sayımı için sıvı antikoagülan olarak ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) içeren tüpe alınarak gönderilmelidir.
- Örnek alınma sıklığı ve sayısı hastanın klinik durumuna bağlı olup örnek tekrarının sınırlaması yoktur.

#### 5.3.2. Taşıma yöntemi

Örnek laboratuvara olabildiğince kısa süre içinde taşınmalı ve dondurulmamalıdır.

#### 5.3.3. Kabul/Ret ölçütleri

Örnek toplandıktan sonra laboratuvara ulaştırılmasına kadar 48 saatten fazla zaman geçmişse örnek işlenmeli fakat rapora “Örnek alındıktan sonra laboratuvara ulaştırılmasına kadar >48 saat geçmiştir sonuçlar buna göre yorumlanmalıdır” gibi bir yorum yazılmalıdır.

Örnekler sızdıran kaplar ile toplanmış ise örnek işleme alınmalı fakat hekim kontaminasyon olasılığı hakkında uyarılmalıdır.



Tablo 5.2. Örneklerin alınması, taşınması ve ret ölçütleri

Örnek	Alma yöntemi	Taşıma kabı	Taşıma süresi/ısı	Saklama süresi/ısı	Ret Ölçütleri
Periton sıvısı	Perkütan iğne aspirasyonu veya cerrahi yoluyla Örnek miktarı 10-50 mL	Anaerop taşıyıcı sistem, steril kapaklı sızdırmaz numune kabı, aerop ve anaerop kan kültürü şişeleri	<15 dakika/ oda sıcaklığı	Bakteri kültürü için <24 sa/oda sıcaklığı Mantar kültürü için <24 sa/4°C	Yalnızca kan kültür şişelerine alınan örnek (Gram boyama uygulanamaz). Örnek ucunda iğne olan enjektör ile laboratuara gönderilirse ret edilmelidir. İğnesi çıkarılmış enjektör içinde gönderilen örnek pıhtılaşmış ise örnek işleme alınırken kontamine olabileceğinden ret edilebilir. Örnek silgiç ile gönderilmiş ise ilgili hekim aranmalı, uygun örnek göndermesi istenmelidir.
Periton diyaliz sıvısı	Diyaliz torbası Örnek miktarı en az 50 mL	Diyalizat torbası daha geniş bir plastik torba içine, bu torba da tek kullanımlık plastik veya diğer sızdırmayan kaplar içine yerleştirilmelidir. Diyaliz sıvısı enjektöre alınabilir ya da kan kültür şişesine de ekilebilir.	<1 sa/ oda sıcaklığı	<24 sa/4°C	

## 5. 4. Örneklerin uygulanacak yöntemlere göre işlenmesi

### 5.4.1. Makroskobik inceleme

Örnek miktarı, rengi, şeffaflığı (berrak/bulanık/opak), viskozite ve pıhtı varlığı kaydedilmelidir. Transuda niteliğindeki sıvılar genellikle saman sarısı renkli ve şeffaftır. Bunun dışında etyolojiye bağlı olarak kırmızı, kahverengi, yeşil, beyaz veya siyah olabilir.

### 5.4.2. Gram boyama



Gram boyama için sitosantrifüjlenmiş sıvının kullanılması önerilmektedir.

- Alternatif olarak besiyerine inoküle edilecek santrifüjlenmiş sıvı çökeltisinden Gram boyama için yayma hazırlanabilir fakat sitosantrifüjden daha az hassastır. Bu yöntemde laboratuara gönderilen >1 mL örnekler 1500Xg'de 15 dakika santrifüjlenmelidir.
- Santrifüj işlemi uygulanamayacaksa, Gram boyama öncesinde, temiz bir lam üzerine 1-2 damla örnek koyulmalı, lam üzerinde yayılmamalıdır.

Spontan bakteriyel peritonitte ve SAPD ile ilişkili peritonitlerde periton sıvısında bakteri sayısı 1 cfu/mL kadar düşük olabileceğinden Gram boyama çok yararlı olmayacaktır. Spontan bakteriyel peritonitte 50 mL asit sıvısının santrifüj edildikten sonra, çökeltiden yapılan Gram boyamanın bile duyarlılık oranı yalnızca %10 olarak bildirilmektedir. Gram boyama, yine de tedavinin erken başlatılmasını sağlamada yararlıdır.

### 5.4.3. Hücre sayımı

Sıvı berrak ise sulandırılmadan, bulanık veya kanlı ise serum fizyolojik veya diğer uygun sıvılar ile sulandırılarak sayım yapılabilir.

### Toplam beyaz küre sayısı

Özellikle SBP'nin ayırıcı tanısı için istenir. Santrifüjlenmemiş örnekten hücre sayım kameraları (Neubauer

lamı/thoma lamı) kullanılarak yapılabilir.

### Ayırimsal hücre sayımı

Polimorf nüveli lökositler ve mononükleer lökositler arasındaki ayırmadır. İki şekilde yapılabilir.

**Hücre sayım kamerası yöntemi:** Özellikle az sayıda beyaz küre içeren örnekler için önerilmektedir.

**Boyama yöntemi:** Hücre tipini belirlemek için kullanılır ve sayım kamerasında ayırımı zor olan çok sayıda beyaz küre içeren örnekler için önerilir.

Her bir lökosit türü sayılmalı, kaydedilmeli ve sonuç toplamda yüzde olarak ifade edilmelidir.

Asit sıvısının ayırıcı tanısında kullanılabilen makroskopik ve mikroskopik özellikleri tablo 5.3’de verilmiştir.

### Diğer mikroskopik incelemeler

#### Potasyum hidroksit ve Kalkoflor beyazı ile inceleme

Mantar şüphesi varsa yapılabilir. Örnek miktarı >2mL ise sitosanrifüj veya santrifüj (1500-2000xg’de 5 dakika) işleminden sonra yapılmalıdır.

#### Ziehl-Neelsen veya auramin-fenol boyama

Mycobacterium spp. şüphesi varsa yapılabilir. Örnek miktarı >2mL ise sitosanrifüj veya santrifüj (3000xg 15 dakika) işleminden sonra yapılmalıdır.

Tablo 5.3. Asit sıvısının ayırıcı tanısı

Ön tanı	Makroskopi	Protein (g/L)	Lökosit (µL)	Önerilen Analiz
Spontan bakteriyel peritonit	Saman rengi, ikterik, bulanık	<30	>500, >250 PNL	Bakteriyoloji
Sekonder bakteriyel peritonit	Bulanık, pürülan	>30	>1000 PNL	Bakteriyoloji
Tüberküloz asiti	Berrak, bulanık, hemorajik veya şilöz	>30	>1000 çoğunlukla lenfosit (>%70)	Laparaskopi, periton biyopsisi, bakteriyoloji, PCR
Karaciğer sirozu	Saman rengi, ikterik	<30	<250	
Malign asit	Saman rengi, hemorajik, musinöz veya şilöz	>30	>1000	Sitoloji
Pankreatojenik asit	Bulanık, hemorajik veya şilöz	Değişken, sıklıkla >30	Değişken, çoğunlukla <1000	Amilaz aktivitesi

#### 5.4.4. Periton sıvısının kültürü

- Periton sıvısının 2-3 damlası %5 koyun kanlı ve çikolata agara inoküle edilmelidir.
- Çok az miktarda (1-2 damla) örnek alınmışsa yalnızca çikolata agara ekilmeli, Gram boyama yapılmamalıdır. Alınan örneğin miktarı raporda belirtilmelidir.
- Örnek 0.5-1 mL ise 10 mL sıvı besiyerine inoküle edilmelidir.
- Örnek yeterli ise hem aerob hem de anaerob şişeye inoküle edilmeli ancak üretici firma tarafından önerilen örnek miktarından daha az konulmamalıdır. Şişelerde bulunan SPS mikroorganizmalar üzerine inhibitör etkili olabilir.
- Anaerob sıvı besiyeri veya anaerob kan kültür şişesine inokülasyon yapılmamış ise 2-3 damla örnek katı anaerob besiyerine ekilmelidir.
- Rutin kültüre ilave olarak mantar ve mikobakteri kültürü yapılacaksa örnek miktarı dikkate alınmalıdır. Örnek 2mL’den az ise besiyerlerine direkt, fazla ise santrifüjlendikten sonra ekim yapılmalıdır. Mantar kültürü için 1500-2000xg’de 5 dakika, mikobakteri kültürü için 3000xg’de 15 dakika santrifüjlendikten sonra çökeltiden ekimler yapılmalıdır.
- Örnek pıhtılı ise önerilen, pıhtı içeren çökeltinin steril doku öğütücüye koyulması, üzerine az miktarda (<0.5 mL) sıvı besiyeri ilave edilerek karışımın nazikçe homojenize edilmesidir. Böylece bakterilerin serbest kalması sağlanır. Mantar kültürü istenmiş ise bu işlem hiflere zarar verebileceğinden yapılmamalıdır.



Periton sıvısı örneği 2 mL'den fazla ise ve kan kültür şişelerine alınmamış ise aerop şişeye, yeterli miktarda var ise anaerop şişeye inoküle edilmelidir.



Periton sıvısı bağırsak içeriği ile kontamine ise inoküle edilecek besiyerlerine kolistin-nalidiksik asit agar veya fenil-etil alkollü agar ve seçici anaerobik besiyeri de eklenmeli, bu durumda sıvı besiyerlerine ekim yapılmamalıdır.

#### 5.4.5. Periton diyaliz sıvısının bakteri kültürü

- Diyalizat torbası 10-20 kez alt üst edilerek karıştırılmalıdır.
- Giriş portu (kateter ile torbayı birleştiren) povidon iodin ile silinmeli, havada kuruması beklenmeli, 100 mL sıvı çekilerek, 50'şer mL'lik vidalı kapaklı santrifüj tüplerine koyulmalıdır.
- Her bir tüpteki örnek 3000xg'de 15 dakika santrifüjlenmeli, üst sıvı dikkatli bir şekilde ayrılmalıdır.
- Çökelti 5mL steril fizyolojik tuzlu su ile süspansiyon edilmeli, çalkalanmalı ve kültür işlemleri için kullanılmalıdır.
- %5 koyun kanlı agar, çikolata agar, MacConkey veya EMB agara çökeltiden birer damla pastör pipeti kullanılarak inoküle edilmeli ve 5 mL örnek de bir kan kültür şişesine ekilmelidir.



Periton diyaliz sıvısı örneği 3000xg'de 15 dakika santrifüjlenmeli, Gram-boyama ve kültür çökeltiden yapılmalıdır.

#### 5.4.6. Periton diyaliz sıvısının mikobakteri ve mantar kültürü

- Mikobakteri ve mantar kültürleri klinik endikasyon varsa yapılmalıdır. Kültürler paralel veya ardışık yapılabilir.
- Paralel kültürler için, çökelti hem mikobakteri hem mantar besiyerlerine aynı gün inoküle edilmelidir. Aside-dirençli yayma, kalkoflor beyazı ile boyama veya KOH preparatları pozitif ise yapılmalıdır.
- Ardışık kültürler için, konsantre diyalizat buzdolabında 5 gün saklanmalıdır. Bakteri kültürleri negatif çıkarsa ve hasta tedaviye yanıt vermezse mikobakteri ve mantar kültürleri yapılmalıdır.
- Uygun besiyerlerine ekimler yapıldıktan sonra tablo'de verilen inkübasyon koşulları sağlanmalıdır.

Tablo 5.4. Örneklerin işlenmesi

Direk Mikroskopi	Boyalı Mikroskobik İnceleme	Kültür için Besiyeri		İnkübasyon		Değerlendirme zamanı	Değerlendirme zamanı	Hedef mikroorganizma	Özel durumlar
		Standart		Sıcaklığı	Ortam				
Hücre sayımı (Periton sıvısında isteğe bağlı)	Gram boyama	%5 koyun kanlı agar	%5-10 CO <sub>2</sub>	4 gün	Günlük	Herhangi bir mikroorganizma	Herhangi bir mikroorganizma	Anaerob kültür sadece sekonder bakteriyel peritonitlerde veya klinik endikasyon varsa yapılmalıdır.	
		Çokolata agar	Aerop						
		MacConkey veya EMB agar	Aerop	En az 2 gün	2 gün	Herhangi bir mikroorganizma	Herhangi bir mikroorganizma	Anaerob kültür sadece sekonder bakteriyel peritonitlerde veya klinik endikasyon varsa yapılmalıdır.	
		Anaerop koyun kanlı agar	Anaerop						
		Kanamisin-vankomisinli lize kanlı agar	35-37°C	5-7 gün	Üretici firma önerisine göre	Herhangi bir mikroorganizma	Herhangi bir mikroorganizma	Sekonder peritonitlerde kültür öncesi Gram-boyamada birden fazla morfolojiye sahip mikroorganizmalar görülürse, kan kültür şişelerine ekilmemelidir.	
		Aerop kan kültür şişesi	Aerop						
		Anaerop kan kültür şişesi	Anaerop			Herhangi bir mikroorganizma	Herhangi bir mikroorganizma	Anaerob kültür sadece sekonder bakteriyel peritonitlerde veya klinik endikasyon varsa yapılmalıdır.	
		Anaerop beyin-kalp infüzyon	Anaerop						

Tablo 5.4. Örneklerin işlenmesi (devamı)

Direk Mikroskopi	Boyalı Mikroskobik inceleme	Kültür için Besiyeri		İnkübasyon		Değerlendirme zamanı	Değerlendirme zamanı	Hedef mikroorganizma	Özel durumlar
		İsteğe bağlı	Ortam	Sıcaklığı	Ortam				
Hücre sayımı (Periton sıvısında isteye bağlı)	Gram boyama	Bacteroides safra eskulin agar	Anaerop	35-37°C	2 gün (Daha uzun süre gerekebilir).	2 gün	B. fragilis grup Bilophila wadsworthia Fusobacterium spp.	Anaerop kültür sadece sekonder bakteriyel peritonitlerde veya klinik endikasyon varsa yapılmalıdır.	
		Kolistin-nalidiksik asit agar veya fenil – etil alkollü agar	Anaerop		En az 2 gün				
		Kolistin-nalidiksik asit agar	%5-10 CO <sub>2</sub>	4 gün	Günlük	Aerop gram pozitif bakteriler	Mikroskobik değerlendirme karışık enfeksiyonu düşündürüyorsa ekilmelidir.		
Potasyum Hidroksit ve Kalkoflor beyazı ile inceleme	ARB veya auramin-fenol boyama	Sıvı besiyeri (otomatize sistem)	Aerop	30°C	6 hafta	3 hafta	Mikobakteriler	Klinik endikasyon varsa ekilmelidir.	
		Löwenstein-Jensen	Aerop		Üretici firma önerisine göre				Haftalık
		Beyin-kalp infüzyon agar	Aerop	Günlük	Rutin bakteriyel kültür, kan kültür şişeleri kullanılmış ise veya örnek santrifüjenir ise Candida spp. kültürü için yeterlidir. ilave mantar kültürü klinik endikasyon varsa yapılmalıdır.				
		inhibitör mold agar							

### 5.4.7. Polimeraz zincir reaksiyonu

Periton sıvısı kültürde zor üreyen veya üremeyen bakterileri içeriyorsa ya da kültür öncesinde antimikrobiyal tedaviye başlanmış ise kültür sonuçları negatif olabilir. Bu durumda PCR patojenin cins ve tür düzeyinde tanımlanmasına yardımcı olabilir. Kültürün yerine kullanılmamalı mutlaka kültür ile birlikte yapılmalıdır. Kültür negatif olduğunda PCR için 1-2 mL örnek toplanmalı ve çalışılincaya kadar -80°C'de saklanmalıdır. Periton ve periton diyaliz sıvısında bulunan olası etkenler için önerilen tanı yöntemleri tablo 5.5'de verilmiştir.

**Tablo 5.5. Periton ve periton diyaliz sıvısında bulunan olası etkenler için önerilen tanı yöntemleri**

Etken	Önerilen tanı yöntemi	Ek tanı yöntemi
Bakteriler	Gram boyama, kültür	
Mikobakteriler	Ziehl-Neelsen boyama, auramin-fenol boyama, kültür	Periton biyopsisi, periton sıvısı, aspirat veya dokudan nükleik asit amplifikasyon testi
Mantarlar	KOH ile inceleme, kalkoflor beyazı ile boyama, kültür	
Virüsler	Moleküler yöntem	Seroloji
Parazitler	Periton sıvısının mikroskopik incelemesi	Gaita, safra ve duodenal aspirat sıvılarının mikroskopik incelemesi

### 5.5. Sonuçların yorumlanması

- Periton sıvısı kültürlerinde, sıvı besiyerinde üreme yokken katı bir besiyerinde bir veya iki koloni koagülaz negatif stafilokok üremesi varsa tür düzeyinde tanımlama yapılmamalıdır.
- Kültür karışık gastrointestinal mikroorganizmaları içeriyorsa ve baskın mikroorganizma yoksa, özellikle çok etkenli olma eğiliminde olan sekonder peritonitlerde, "karışık aerop ve anaerop bağırsak florası üredi" gibi genel bir açıklama yazılmalı tüm mikroorganizmalar tür düzeyinde tanımlanmamalıdır. Bununla birlikte, metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), beta-hemolitik streptokoklar, çoğul dirençli gram-negatif basiller ve vankomisine dirençli enterokok (VRE) gibi bazı bakteriler ampirik antimikrobiyal tedavinin yönlendirilmesi için seçilerek tanımlanmalıdır. Geleneksel tedaviye yanıt vermeyen hastalarda dirençli organizmaların ve intraabdominal abse varlığının araştırılması için ilave örnekler alınmalıdır.
- Hastanın cildinde bulunan mikroorganizmalar (*S. aureus* ve diğer stafilokoklar gibi) diyaliz ilişkili peritonitlerin de en sık nedenidir ve az sayıda bulduklarından enfeksiyon ile kontaminasyon ayırımı yapmak zordur. Klinik korelasyon göz önünde bulundurulmalıdır.
- Kültür sonuçları Gramboyama sonuçları ile birlikte değerlendirilmelidir.
- Diğer göstergelerin varlığına rağmen kültür sonuçları negatif çıkarsa, zor ve yavaş üreyen *Mycobacterium* spp., mantarlar, *Chlamydia trachomatis* veya *Neisseriae gonorrhoeae* gibi diğer patojenler araştırılmalıdır. Tüberküloz peritoniti oldukça nadir olarak saptanır. Tanıda optimal koşullar altında bile asidik sıvının mikobakteriyel kültürünün duyarlılık oranı yaklaşık %50'dir. Tüberküloz peritonitinin tanısında periton biyopsi örneğinin kültürü ve histolojik özelliklerinin birlikte değerlendirilmesi ile duyarlılık oranı %100'e yaklaşır.
- Periton diyalizi ilişkili peritonitli vakaların % 5-10'unda kültür sonuçları negatif olabilir. Diyaliz sıvısının sabit akışı ile mikrobiyal yoğunluğun azalması, zor ve geç üreyen mikroorganizmaların etken olması, hastanın kültür öncesinde antimikrobiyal tedavi alması ve uygun olmayan kültür tekniği negatif kültür sonuçlarına neden olabilir.
- İlave testler için pozitif kültür petripleri veya tüpleri en az 7 gün veya tercihen izolatlar dondurularak daha uzun süre saklanmalıdır.



Periton diyalizi ilişkili peritonitli vakalarda, ideal olan kültür negatiflik oranının %10'un altında olmasıdır. %20'den fazla ise kültür yöntemleri gözden geçirilmeli ve düzeltilmelidir.

## 5.6. Sonuçların raporlanması

### Makroskopik inceleme

Örnek miktarı, rengi, berrak veya bulanık olması, viskozite ve pıhtı varlığı gibi makroskopik özellikleri rapor edilmelidir.

### Mikroskopik inceleme

Hücre sayısı (Yapılmışsa)

Beyaz küre sayısı  $\times 10^6/L$  şeklinde yazılmalıdır. Ayrıca PNL ve MNL sayısının toplam beyaz küre sayısındaki yüzdesi de bildirilmelidir.

### Gram boyama

Organizma ve beyaz küre varlığı veya yokluğu rapor edilmelidir.

### Ziehl-Neelsen veya auramin-fenol boyama

*Mycobacterium* spp. görülürse rapor edilmelidir.

### Potasyum Hidroksit ile İnceleme ve Kalkoflor Beyazı ile Boyama

Mantar elemanları görülür ise rapor edilmelidir.

Kültür	
Negatif Sonuçlar	Negatif sonuçlar inkübasyon zamanı yazılarak "Üreme saptanmadı" şeklinde rapor edilmelidir
Pozitif Sonuçlar	<ul style="list-style-type: none"> <li>Klinik endikasyon varsa ve kontaminasyon saptanmamış ise üreyen tüm mikroorganizmalar uygun antimikrobiyal duyarlılık test sonuçları ile birlikte rapor edilmelidir.</li> <li>Kontaminasyondan şüpheleniliyor ise, rapora "Kontaminasyon ile gerçek enfeksiyon ayrımı yapılamamıştır, uygun bir şekilde alınan örnek ile kültür tekrarı önerilir" şeklinde bir not eklenmelidir.</li> <li>Ek inceleme sonuçları da rapor edilmelidir.</li> </ul>



Karışık abdominal flora ürettiğinde, organizma gruplarını ve bazı önemli mikroorganizmaları belirten "*Clostridium perfringens* ve *S. aureus*'u içeren çeşitli enterik basiller ve karışık anaerob flora üretti" gibi genel bir ifade yazılması yeterli olabilir.

## 5.7. Ara raporlar ve panik değerler



Mikroskopik incelemede herhangi bir mikroorganizma saptandığı zaman kliniğe/diyaliz ünitesine hemen telefonla ve elektronik ortamda bildirilmelidir.

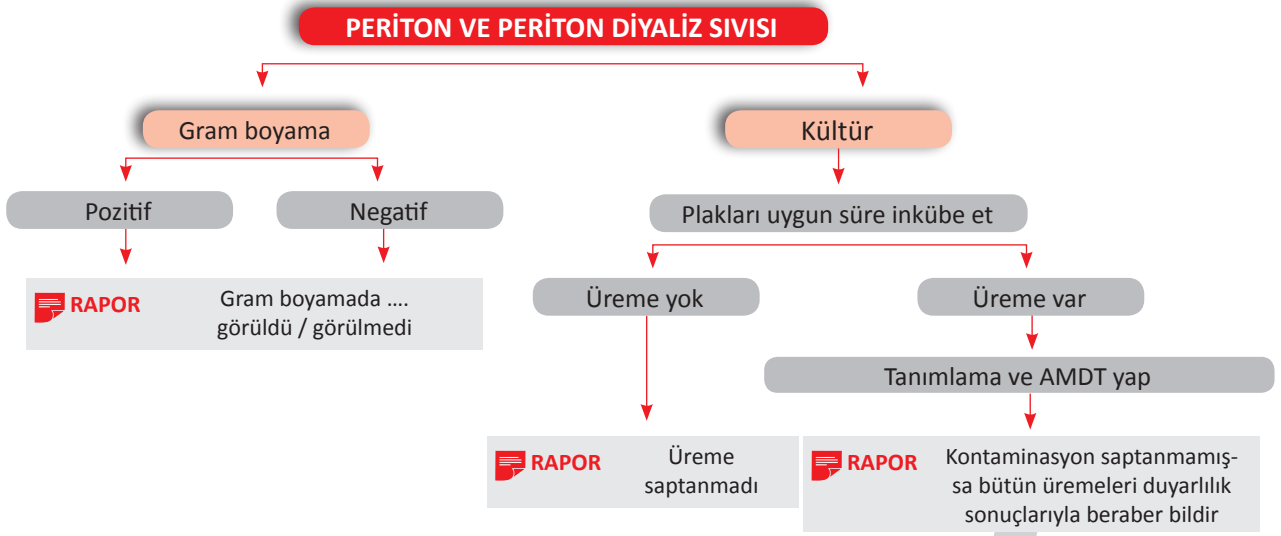


Ön testler tamamlanınca en kısa sürede (muhtemel cins ve tür düzeyinde) rapor edilmelidir.



Periton diyaliz sıvısı için tüm pozitif kültür sonuçları Enfeksiyon Kontrol Komitesi ve Diyaliz Ünitesine bildirilmelidir.

## 5.8. İş akış şeması



TASLAK



## 6. AMNİYON SIVISI

### 6.1. Giriş

Amniyon sıvısı fetüsün gelişimi sırasında onu çevreleyen, bebeğin korunmasını ve beslenmesini sağlayan sıvıdır. Amniyon sıvısı, bebeğin cilt, solunum sistemi, sindirim sistemi ve boşaltım sisteminden dökülen hücrelerin olduğu bir sıvıdır. Normalde steril olan sıvının enfeksiyonu anne ve bebek için mortalite ve morbidite nedenidir.

### 6.2. Klinik örnek mikroorganizma ilişkisi

Amniyon sıvısı normalde steril bir sıvıdır ve mikroorganizma bulunmaz. Bakteri üremesi durumunda örneğin alınması sırasındaki kontaminasyon riski dikkate alınarak etken olup olmadığına karar verilmelidir.

Tablo 6.1. Amniyon sıvısında bulunabilecek olası etkenler

Bakteri	Virüs	Parazit
<i>Ureaplasma urealyticum</i>		
<i>Mycoplasma hominis</i>		
<i>Bacteroides</i> spp.		
<i>Gardnerella vaginalis</i>		
<i>S. agalactiae</i>		
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	Herpes simplex virus	
<i>E. coli</i>	Cytomegalovirus	
<i>Enterococcus</i> spp.	Rubella virus	<i>T. gondii</i>
<i>Fusobacterium</i> spp.	Parvovirus B19	
<i>H. influenzae</i>	Varicella zoster virus	
<i>H. parainfluenzae</i>	HIV	
<i>L. monocytogenes</i>		
<i>N. gonorrhoeae</i>		
<i>Pasteurella bettyae</i>		
<i>S. pyogenes</i>		

### 6.3. Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Amniyon sıvısı amniyosentez ile aspire edilerek veya sezeryan sırasında en az 3 mL örnek alınıp steril tüpte ve/veya anaerop taşıma sistemi içinde laboratuvara gönderilmelidir. Örneğin taşınması veya işlenmesinde gecikme olursa oda ısısında saklanmalıdır. Virolojik çalışmalar yapılacaksa 4°C'de 24 saat, daha uzun süreler için -80°C'de saklanabilir.



Eğer santrifüj ya da sitosantrifüj olanağı yoksa lam üzerine bir damla örnek damlatılıp kuruduktan sonra tekrar damlatılarak incelenecek örnek miktarı artırılarak gram boyama yapılabilir.

Tablo 6.2. Örneklerin alınması, taşınması, kabul/ret ölçütleri

Örnek alma yöntemi	Taşıma kabı ve miktar	Taşıma süresi ve ısısı	Saklama süresi ve ısısı	Ret Ölçütleri
Amniyosentez Sezeryan	Steril tüp/Anaerop transport sistemi 3 mL	<2 saat/Oda ısısı	<24saat/Oda ısısı	Yok

## 6.4. Örneklerin uygulanacak yöntemlere göre işlenmesi

### 6.4.1. Makroskobik inceleme

Sıvının rengi, bulanıklığı, kan veya pıhtı içerip içermediği kontrol edilip kaydedilmelidir.

### 6.4.2. Santrifüj

Klinik örnek bir mL'den az ise santrifüj yapılmamalıdır. Biri yedek olmak üzere iki preparat hazırlanmalı ve aşağıdaki kültür ortamlarına ekim yapılmalıdır. Eğer örnek 1mL'den fazla ise 1500xg'de 15-20 dakika santrifüj edilmelidir. 2-3 damla örnek sitosantrifüj de yapılabilir.

### 6.4.3. Gram Boyama

İki adet preparat hazırlanıp biri gram boyama yöntemi ile boyanmalı, diğeri saklanmalıdır. Lökosit varlığı ve türü, mikroorganizma varlığı, Gram boyanma özelliği ve morfolojisi değerlendirilmelidir.

### 6.4.4. Kültür

Steril bir pipet ile çökeltiden veya direk örnekten her besiyerine inoküle edilmelidir. Tek koloni düşürmek için, steril bir öze ile inokulum yayılmalıdır. 24 ve 48 saat inkübasyonlar sonunda incelenen kültür plaklarında üreme varsa üreyen bütün izolatlar tanımlanmalı ve duyarlılık testleri uygulanmalıdır.

### 6.4.5. Hücre ve doku kültürü

Amniyon sıvısının viral ve paraziter enfeksiyonlarının tanısı için altın standart yöntemdir ancak rutin laboratuvarlar için uygun değildir.

### 6.4.6. Moleküler Yöntemler

Amniyon sıvısının PCR analizi viral ve paraziter enfeksiyonların hızlı tanısı için tercih edilen yöntem olarak ortaya çıkmaktadır.

Tablo 6.3. Amniyon sıvısının ekildiği besiyerleri, inkübasyon koşulları ve etken mikroorganizmalar

Besiyerleri	İnkübasyon			Etken
	Sıcaklık	Atmosfer	Süre	
Koyun kanlı agar EMB Agar veya MacConkey agar	35-37°C	O <sub>2</sub>	48 saat	Aerop bakteriler
Çikolata Agar		%5-10 CO <sub>2</sub>		<i>N. gonorrhoeae</i>
Tiyoglikolatlı besiyeri		Anaerop ortam	5 gün	Anaerop bakteriler
Anaerop Kanlı Agar			48 saat	
Antibiyotikli Anaerop Kanlı Agar				

## 6.5. Sonuçların raporlanması:

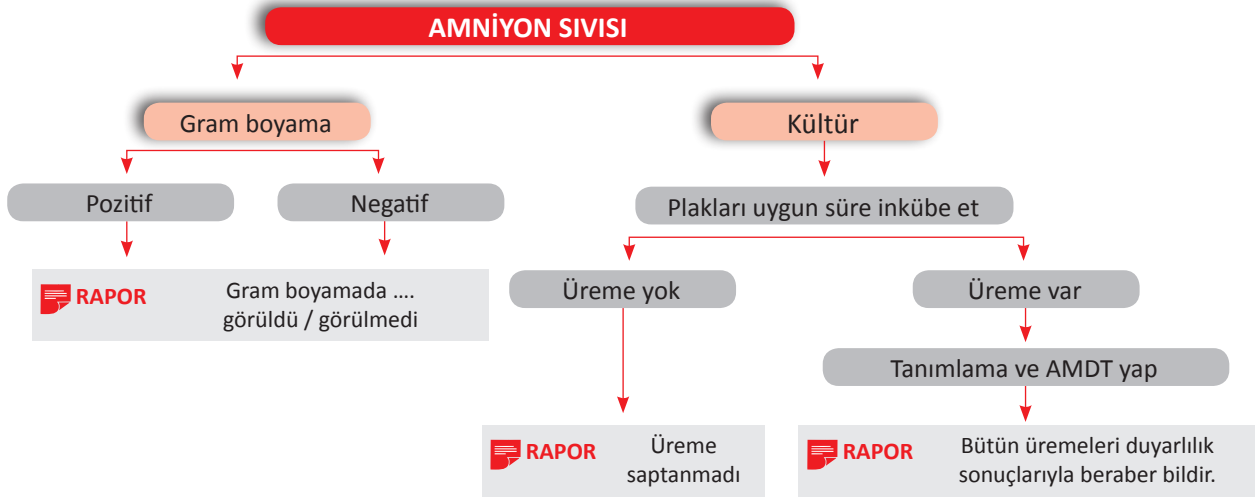
**Gram Boyama:** Lökosit varlığı ve türü, mikroorganizma varlığı, gram boyanma özelliği ve morfolojisi bildirilmelidir.

Kültür	
Negatif sonuç	Üreme saptanmadı.
Pozitif sonuç	Bütün üremeler duyarlılık sonuçlarıyla beraber bildirilmelidir.
Moleküler Yöntemler:	
Negatif sonuç	"....." saptanmadı.
Pozitif sonuç	"....." saptanmadı.

## 6.6. Ara raporlar ve panik değerler:

Gram boyalı mikroskobide herhangi bir mikroorganizma saptandığı zaman kliniğe hemen telefonla ve otomasyonla bildirilmelidir.

## 6. 7. İş akış şeması



TASLAK

## 7. KAYNAKLAR

1. Abdel-Razeq SS, Buhimschi IA, Bahtiyar MO, Rosenberg VA, Dulay AT, Han CS, et al. Interpretation of Amniotic Fluid White Blood Cell Count in “Bloody Tap” Amniocentesis in Women with Symptoms of Preterm Labor. *Obstet Gynecol* 2010; 116:344-54. (2+)
2. ARUP Consult®. Erişim tarihi: 15 Kasım 2013. Available from: <http://www.arupconsult.com/Topics/DengueFever.html>
3. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson RB Jr, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis* 2013;57:485-8.
4. Boriskin YS, Rice PS, Stabler RA, Hinds J, Al-Ghusein H, Vass K, Butcher PD. DNA microarrays for virus detection in cases of central nervous system infection. *J Clin Microbiol* 2004 ;42:5811-8.
5. Brannan SR, Jerrard DA. Synovial fluid analysis. *J Emerg Med* 2006;30:331-9. (2++)
6. Brouwer MC, Tunkel AR, van de Beek D. Epidemiology, Diagnosis, and Antimicrobial Treatment of Acute Bacterial Meningitis. *Clin Microbiol Rev* 2010;23: 467–492.(2++)
7. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Safe Work Practices in Human and Animal Medical Diagnostic Laboratories. *MMWR Surveill Summ* 2012;61:1-102.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Body Fluid Analysis for Cellular Composition; Approved Guidelines. CLSI Document H-56-A: 26(26). Wayne, PA: CLSI; 2006.
9. Cinque P, Vago L, Dahl H, Brytting M, Terreni MR, Fornara C, et al. Polymerase chain reaction on cerebrospinal fluid for diagnosis of virus-associated opportunistic diseases of the central nervous system in HIV-infected patients. *AIDS* 1996;10:951-8.
10. Corbel MJ. Brucellosis in humans and animals. World Health Organization 2006. WHO/CDS/EPR/2006.7. Erişim tarihi: 12 Aralık 2013. Available from: <http://www.who.int/csr/resources/publications/Brucellosis.pdf>
11. Debiasi RL, Tyler KL. Molecular methods for diagnosis of viral encephalitis. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17:903-25
12. Deisenhammer F, Bartos A, Egg R, Gilhus NE, Giovannoni G, Rauer S, et al. Routine cerebrospinal fluid (CSF) analysis. In: Gilhus NE, Barnes MP, Brainin M, (eds). *European handbook of neurological management*. 2nd ed. Oxford (UK): Wiley-Blackwell; 2011:5-17.
13. Deisenhammer F, Bartos A, Egg R, Gilhus NE, Giovannoni G, Rauer S, Sellebjerg F; EFNS Task Force Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis. Report from an EFNS task force. *Eur J Neurol* 2006;13:913-22.
14. Doctor Fungus. Erişim tarihi: 15 Kasım 2013. Available from: <http://www.doctorfungus.org/>
15. El-Gabalawy HS. Synovial fluid analysis, synovial biopsy, and synovial pathology. In: Firestein GS, Pascual E, Jovaní V. *Synovial fluid analysis*. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2005;19:371-86.
16. Fish DN. Intraabdominal infections. In: Helms RA, Quan DJ, Herfindal ET, Gourley DR, (eds). *Textbook of Therapeutics*. 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006:1984-98.
17. Firestein GS, Budd RC, Harris ED Jr., McInnes IB, Ruddy S, Sargent JS. (eds). *Kelley’s Textbook of Rheumatology*. 8th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2008:chap 48.
18. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. *Bailey & Scott’s Diagnostic Microbiology*. 12th ed. St Louis: Mosby Elsevier, 2007.
19. Foster S, Maskell N. Bacteriology of complicated parapneumonic effusions. *Current Opinion in*

- Pulmonary Medicine 2007;13:319–323.
20. Garcia LS, Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook 3rd ed. Washington,USA: ASM Press,2010.
  21. García-Arias M, Balsa A, Mola EM. Septic arthritis. Best Pract Res Clin Rheumatol 2011;25:407-21.(2++)
  22. Karcher DS. McPherson RA. Cerebrospinal, synovial, serous body fluids, and alternative specimens. In: McPherson RA, Pincus MR, (eds). Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22nd ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2011.
  23. Khan FY, Alsamawi M, Yasin M,Ibrahim AS, Hamza M, Lingawi M, etal. Etiology of pleural effusion among adults in the state of Qatar: a 1-year hospital-based study. East Mediterr Health J 2011;17:611–618.
  24. Levison ME, Bush LM. Peritonitis and Intraperitoneal Abscesses. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds). Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 5th ed. New York: Elsevier/Churchill Livingstone, 2010:1011–1034.
  25. Li PK, Szeto CC, Piraino B, Bernardini J, Figueiredo AE, Gupta A, et al. Peritoneal dialysis–related infections recommendations: 2010 update. Perit Dial Int 2010; 30:393–423.
  26. Light RW. Pleural effusions. Med Clin North Am 2011;95:1055–1070.
  27. Hastane Hizmet Kalite Standartları. Sağlık Bakanlığı, Performans Yönetimi Kalite Geliştirme Daire Başkanlığı, Ankara 2011.
  28. Health Protection Agency (2006). Investigation of specimens for Mycobacterium species. National Standard Method BSOP 40 Issue 5. Erişim tarihi: 10 Ağustos 2013. Available from:[http://www.hpa-standardmethods.org.uk/pdf\\_sops.asp](http://www.hpa-standardmethods.org.uk/pdf_sops.asp).
  29. Health Protection Agency. (2011). Investigation of Viral Encephalitis and Meningitis. UK. Standards for Microbiology Investigations. G 4 Issue 2.2. Erişim tarihi: 30 Ağustos 2013. Available from:<http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>.
  30. Health Protection Agency. (2012). Investigation of Cerebrospinal Fluid. UK Standards for Microbiology Investigations. B 27 Issue 5.1. Erişim tarihi: 10 Ağustos 2013. Available from:<http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>.
  31. Health Protection Agency. (2012). Investigation of Genital Tract and Associated Specimens. UK Standards for Microbiology Investigations. B 28 Issue 4.3. Erişim tarihi: 15 Kasım 2013. Available from:<http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>.
  32. Health Protection Agency. (2012). Investigation of Fluids from Normally Sterile Sites. UK Standards for Microbiology Investigations. B 26 Issue 5.1. Erişim tarihi: 15 Kasım 2013. Available from:<http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>.
  33. Health Protection Agency. (2013). Investigation of Specimens other than Blood for Parasites. UK Standards for Microbiology Investigations. B 31 Issue 4. Erişim tarihi: 30 Ağustos 2013. Available from: <http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>
  34. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds).Principles and practice of infectious diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, 2010.
  35. Martínez-Castillo A, Núñez C, Cabiedes J. Synovial fluidanalysis. Reumatol Clin 2010;6:316-21. (2++)
  36. Mathews CJ, Kingsley G, Field M, Jones A, Weston VC, Phillips M, Walker D, Coakley G. Management of septic arthritis: a systematic review. Ann Rheum Dis 2007;66:440-5. (2++)
  37. Merck Manuel. Erişim tarihi: 15 Kasım 2013. Available from:[http://www.merckmanuals.com/professional/genitourinary\\_disorders/renal\\_replacement\\_therapy/peritoneal\\_dialysis.html](http://www.merckmanuals.com/professional/genitourinary_disorders/renal_replacement_therapy/peritoneal_dialysis.html)
  38. Mims C, Dockrell HM, Goering RV, Roitt I, Wakelin D, Zuckerman M. Medical Microbiology. Third ed Spain: Mosby, 2004.
  39. Mount Sinai Hastanesi Klavuzu.Erişim tarihi: 15 Ağustos 2013. Available from:<http://microbiology>.

mtsina.on.ca/manual/sfld/sfld01.pdf

40. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA . Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. (Klinik Mikrobiyoloji, Çeviri ed, Başustaoğlu A), Atlas Kitapçılık, Ankara,2009.
41. Popovic T, Ajello G, Facklam R. Laboratory Manual for the Diagnosis of Meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. WHO/CDS/CSR/EDC/99.7 Erişim tarihi: 20 Ağustos 2013. Available from:<http://www.who.int/csr/resources/publications/meningitis/whocdscsredc997.pdf>
42. Porcel JM. The diagnostic utility of pleural fluid tests in clinical practice. *Curr Respir Med Rev* 2012;8:383–390.(2++)
43. Porcel JM, Light RW. Pleural effusions. *Disease-a-Month* 2013;59:29–57.
44. Schubert J, Weissbrich B. Detection of virus-specific intrathecally synthesised immunoglobulin G with a fully automated enzyme immunoassay system. *BMC Neurol* 2007 29;7-12.
45. Shulman LM, Rudich C, Sayar Y, Goldfeld G, Mendelson E, Blau A, Vonsover A. *Adv Perit Dial* 1992;8:258-64.
46. Siegenthaler W. *Differential Diagnosis in Internal Medicine: From Symptom to Diagnosis*. New York, NY: Thieme Publishers, 2007.
47. Smith JW, Chalupa P, Shabaz Hasan M. Infectious arthritis: clinical features, laboratory findings and treatment. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:309-14. (2++)
48. Steiner I, Schmutzhard E, Sellner J, Chaudhuri A, Kennedy PGE. EFNS-ENS guidelines for the use of PCR technology for the diagnosis of infections of the nervous system. *European Journal of Neurology* 2012;19:1278-97.
49. Teitelbaum I, Burkar J. Core Curriculum in Nephrology Peritoneal Dialysis. *Am J Kidney Dis* 2003;42:1082-96.
50. Tolhoff-Rubin N. Geri Dönüşümsüz Böbrek Yetmezliğinin Tedavisi. Akoğlu E (Çeviren). In: Goldman L, Ausiello D (eds). *Cecil Medicine*. Ünal S (Çeviri Editörü). 23. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, 2011: 936-47.
51. Tzanakaki G, Tsopanomichalou M, Kesanopoulos K, Matzourani R, Sioumala M, Tabaki A et al. Simultaneous single-tube PCR assay for the detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* type b and *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:386–390.
52. Utine GE, Ozcelik U, Kiper N, Doğru D, Yalçın E, Cobanoğlu N, etal. Pediatric pleural effusions: etiological evaluation in 492 patients over 29 years. *Turk J Pediatr* 2009;51:214–219.(3)
53. Villena Garrido V, Ferrer Sancho J, Hernández Blasco L, de Pablo Gafas A, Pérez Rodríguez E, 54. Rodríguez Panadero F, et al. Area de Tecnicas y Trasplantes. SEPAR. Diagnosis and treatment of pleural effusion. *Arch Bronconeumol*. 2006;42:349-72.
54. Winn W Jr, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger PC, Woods GL. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. UK: Lippincott Williams & Wilkins; 2006:92-5.
55. WHO Blood Safety and Clinical Technology. Guidelines on Standard Operating Procedures for Microbiology. Chapter 2 - Collection and Transportation of Clinical Specimens. Erişim tarihi: 20 Ağustos 2013. Available from:[http://209.61.208.233/en/Section10/Section17/Section53/Section482\\_1779.htm](http://209.61.208.233/en/Section10/Section17/Section53/Section482_1779.htm)