



TIBB M KROB YOLOJ ANAB L M DALI
NFEKS YON HASTALIKLARI SEROLOJ K TANI
TESTLER ÇALI MA TAL MATI

DOKÜMAN NO	ML.TL.36
YAYIN TAR H	02.03.2016
REV ZYON NO	00
REV ZYON TAR.	-
SAYFA	1 / 3

1. AMAÇ: Bu talimatın amacı, hasta serumunda enfeksiyona neden olabilecek olası mikroorganizmalara karşı olan antikorların serolojik testlerle ortaya konulması için sistem oluşturmaktır.

2. KAPSAM: Bu talimat tüm laboratuvarı kapsar.

3. KISALTMALAR :

- TO :Salmonelle Tuphi O
- TH : Salmonelle Tuphi H
- PTA : Salmonella Paratyhi A
- PTB : Salmonelle Paratyhi B
- VDRL: Venereal Disease Research Laboratory

4. TANIMLAR:--

5. SORUMLULAR:

- Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Başkanı
- Tıbbi Mikrobiyoloji Seroloji Laboratuvarı Teknisyenleri

6. FAAL YET AKI I :

1.1. BRUSELLOS S SEROLOJ S TESTLER :

1.1.1. Wright Agglütinasyon Testi: 7 tane tüp alınır. 1.tüpe 0.4 ml di er 6 tüpe 0.25 ml serum fizyolojik konulur. 1.tüpe 0.1 ml hasta serumu koyup, di er tüplere 0.25 ml pipetle bir sonrakine aktarılıp bir seri tüp dilüsyonu yapılarak, hasta serumunun gittikçe azalan oranlarda dilüsyonu gerçekleştirilir. Tüm tüplere 0.25 ml Brusella antijen ilave edilir. Böylece elde edilen son dilüsyonlar, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640 eklindedir. 37°C'de 48 saat inkübe edilir. Sonuçlar değerlendirilir. 1/160 ve üzeri titreler veya en az 2 hafta aralıkla alınan iki serum örne i arasında 4 kat titre artışı hastalık tanısı için (+) anlam taşır.

1.1.2. Coombs'lu Brusella : De erlendirilip negatif çıkan brusella testinin tüplerine 0.25 ml serum fizyolojik konulup 3 kere santrifüjde çevirerek yıkama yapılır. Sonra üzeri atılıp içine coombs serumu (1'er damla) damlatılıp agglütinasyon olumu bakılarak değerlendirilir. 1/160 ve üzeri titreler veya en az 2 hafta aralıkla alınan iki serum örne i arasında 4 kat titre artışı hastalık tanısı için (+) anlam taşır.

1.1.3. Rose Bengal : 1 damla hasta serumu ile 1 damla Rose Bengal pleyte damlatılır. 2 dk rotatorda çevrilerek agglütinasyon olumu gözlenir. Agglütinasyon olursa (+) sonuç verilir.

1.2. SALMONELLA SEROLOJ S TESTLER :

1.2.1. Gruber – Widal Agglütinasyon Testi : S. Typhi için TO ve TH antikorları, S.paratyphi A ve S.paratyphi B'nin anti-O antikorlarını aramak amacıyla yapılır. (PTA ve PTB)

TO : 4 tüp alınır. 1. tüp bo , di erlerine 0.25 ml SF konulur.

TH : 4 tüp alınır. 1. tüp bo , di erlerine 0.25 ml SF konulur.

PTA : 2 tüp alınır. 1. tüp bo , di erine 0.25 ml SF konulur.

PTB : 2 tüp alınır. 1. tüp bo , di erine 0.25 ml SF konulur.

1.2.2. Ba ka bir tüpte, 3,8 ml SF+0,2ml hasta serumu ile 1/20'lik dilüsyon hazırlanır. Bu karı mdan TO-TH, PTA-PTB serisinin 1. ve 2. tüplerine 0,25 ml konulur. 2. tüpten itibaren pipetle karı tırılarak, 0.25ml bir sonraki tüpe aktarma i lemi yapılır ve böylece, hasta serumunun



TIBB M KROB YOLOJ ANAB L M DALI
NFEKS YON HASTALIKLARI SEROLOJ K TANI
TESTLER ÇALI MA TAL MATI

DOKÜMAN NO	ML.TL.36
YAYIN TAR H	02.03.2016
REV ZYON NO	00
REV ZYON TAR.	-
SAYFA	2 / 3

bilinen gittikçe azalan oranlarda seri dilüsyonu (1/20, 1/40, 1/80, 1/160) hazırlanmı olur. Tüm tüplere 0.25ml kendi antijeni (TO, TH, PTA ve PTB Ag) konulur. Bir gece 37°C'de etüvde inkübe edilir. Tüm tüpler incelenerek, aglütinasyon olup olmadı ı de erlendirilir. Özellikle O antijenine kar ı olu an antikorların 1/160 ve üzeri titrelerde olması veya en az 2 hafta aralıkla alınan iki serum örne i arasında 4 kat titre artı ı hastalık tanısı için (+) anlam ta ır.

1.3. NFEKS YOZ MONONÜKLEOS S SEROLOJ S TEST (MONO SPOT) : 1 damla hasta serumu, 1 damla mono spot antijeni damlatılıp aglütinasyon gözlenir. Aglütinasyon varsa (+) pozitif yoksa (-) negatiftir.

1.4. S F L S SEROLOJ S TESTLER :

1.4.1. VDRL: 1 damla serum fizyolojik, 1 damla VDRL antijeni damlatılıp 2 dk rotatorda çevrilir, aglütinasyon olu umu gözlenir.

1.4.2. Kantatif VDRL: Pozitif serumların kantitatif de erlendirme için kullanılır. Test kartının 2.dairesinden 5.dairesine kadar 50 µl %0,9'luk SF konur. 1 ve 2 daireye 50' er µl aktarılır, böylece 1/16'ya kadar seri dilüsyonlar elde edilir. 5. Daireden geriye do ru kar ı tırma i lemi yapılır. Herbir daireye 1 damla antijen damlatılıp rotatarda 8 dakika çevrilir. Aglütinasyon olu umu de erlendirilir ve varsa titrasyon kaydedilir.

1.4.3. Okuma:

1.4.4. Pozitif reaksiyon: Göze çarpan, görünür kümeler görülür. Serum numunesi **reaktiftir**.

1.4.5. Zayıf reaksiyon: Zayıf fakat belirli küçük kümeler. Serum numunesi **zayıf reaktiftir**.

1.4.6. Negatif reaksiyon: kar ı m, kümelenme görünmeyen düz bir süspansiyon olarak kalır. **Nonreaktif serumdur.**

1.5. AT P K PNÖMON SEROLOJ S (SO UK AGLÜT NASYON) : 7 tane tüp alınır. 1. tüpe 1,5 ml, di erlerine 1 ml serum fizyolojik ilave edilir. İlk tüpe 0,5ml hasta serumu ilave edilir. Birinciden son tüpe kadar 1 ml aktararak dilüe edilip, 7.tüpten 1 ml dı arı atılır. Böylece 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256'ya kadar serum dilüsyonları hazırlanmı olur. O Rh (-) insan eritrositleri 3 kere serum fizyolojikle yıkanır, üzeri atılıp 9,8 serum fizyolojik 0,2 ml yıkanmı eritrosit konulup bu kar ı m dan bütün tüplere 0,1 ml konur. Buzdolabında bir gece bekletilir. Ertesi gün de erlendirmesi yapılır. Buzdolabından çıkınca e er eritrositler birbirine yapı ıp tutmu sa, 2 saat 37⁰ C'de etüvde bekletilir, bunlar etüvden çıkınca da ılırsa test (+) pozitifdir. E er bozulmazsa (-) negatiftir. 1/64 ve üzeri anlamlıdır.

1.6. SPINRACT:

VDRL Antijen Syphilis Serodiagnostik

Flokulasyon slayd testi

2-8°C'de saklayın. Sadece in vitro diagnostik kullanım içindir.

1.6.1. Prensi p :

VDRL antijeni Treponema pallidum bula m ı hemen hemen her hasta tarafından üretilen doku bile ikleri kar ısında tespit edilen bir grup antikorun, plazma reaktifi bir slide üzerinde



TIBB M KROB YOLOJ ANAB L M DALI
NFEKS YON HASTALIKLARI SEROLOJ K TANI
TESTLER ÇALI MA TAL MATI

DOKÜMAN NO	ML.TL.36
YAYIN TAR H	02.03.2016
REV ZYON NO	00
REV ZYON TAR.	-
SAYFA	3 / 3

koagülasyonla semi-kuantifikasyonu ve hızlı tespiti için özel olarak geli tirilmi non treponemal bir preperasyondur.

Test, bilinmeyen numuneler kar ısında 0,2 % lesitin, 0,03% kardiyolipin ve 0,9% kolesterol içeren antijen ile test edilerek uygulanmaktadır. Görünür flokulasyon ve aglutinasyon bulunması veya olmaması test edilen numune içindeki antikorların dola ımda olup olmadı ına i aret eder.

1.6.2. Reaktifler:

Reaktif 1	VDRL Buffer	çindikiler %0,1 Sodyum azid
Reaktif 2	VDRL Antijeni	çindikiler %0,1 Sodyum azid, 0,2% lesitin, 0,03% kardiyolipin, 0,9 kolesterol
Reaktif 3	Pozitif kontrol*	
Kırmızı kapak	nsan serumu %0,1 Sodyum azid içerir.	
Reaktif 3	Negatif kontrol*	
Mavi kapak	nsan serumu %0,1 Sodyum azid içerir.	

* Kontrollerde kullanılan insan serumu HBsAg ve HIV için test edilmi ve negatif bulunmu tur. Yine de her zaman için dikkatli kullanım tavsiye edilir.

1.6.3. Hazırlama ve Stabilite:

Reaktifler kullanıma hazırdır.

Kullanımdan önce reaktifleri çalkalayın.

Reaktif ve kontroller 2-8⁰C'de saklandı ında etiket üzerinde basılı olan son kullanma tarihine kadar stabildir.

Reaktifleri dondurmayınız.

1.6.4. Materyaller:

Otomatik pipet. Kronometre. Temiz cam slaydlar.

150 r.p.m.'ye ayarlanabilir mekanik rotator.

10 katı büyütmeli mikroskop.

7. LG L DÖKÜMANLAR: --

HAZIRLAYAN TIBB M KROB YOLOJ ANAB L M DALI Ö RET M ÜYES	KONTROL EDEN KAL TE YÖNET M D REKTÖRÜ	ONAYLAYAN BA HEK M
--	--	-------------------------------------