

69295

T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI

**SÜREKLİ AYAKTAN PERİTON DİYALİZ (CAPD)
HASTALARINDA GERİ ALINAN DİYALİZAT SIVISINDAKİ
ENDOTOKSİN DÜZEYİNİN GRAM NEGATİF
PERİTONİTİN ERKEN TANISINDAKİ DEĞERİ**

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI: DOÇ.DR. ÇETİN ÖZENER

Dr. KHALİFA OMAR MUHAMMED

İSTANBUL MAYIS 1998

Bu çalışmanın gerçekleştirmesi için katkıda bulunan İç Hastalıkları Bilim Dalı; Nefroloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. Emel Akoğlu, Nefroloji Bölüm Öğretim Üyesi Doç. Dr. Çetin Özener, Hematoloji-İmmünoloji bölüm başkanı Prof. Dr. Tevfik Akoğlu, Mikrobiyoloji Bilim Dalında Öğretim Üyesi Yard.Doç. Dr. Ufuk Över, Biyolog Alparslan Kibaroğlu, İç hastalıkları doktorlarına, CAPD kliniği hemşireleri, mikrobiyoloji ve immünoloji laboratuvarı çalışanlarına en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Khalifa Omar Muhammed



İÇİNDEKİLER

KONU	SAYFA
Giriş ve amaç	1
Genel bilgiler	3
Periton diyaliz prensipleri	4
CAPD için endikasyonlar ve kontrendikasyonlar	6
Mesotelial tabakası, periton diyaliz, ve korunma işlevi	7
Enflamatuvar ve enfeksiyöz durumda periton yanıtı	10
CAPD’de bakteriyel peritonit	11
Gram negatif CAPD peritoniti	13
CAPD peritonitlerin rutin tanı ve tedavi	15
Endotoksin	18
Endotoksin aktivitesinin dayanıklılığı ve değişimi	18
Endotoksinin biyolojik aktiviteleri	21
Endotoksinin biyolojik sıvılarda tespiti	23
Limulus amebosit lizat	24
Yöntem ve gereçler	25
Bulgular	29
Tartışma	40
Özet	46
İngilizce özet	49
Kaynaklar	52

GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik Böbrek Yetmezliği (KBY) tedavisinde renal transplantasyon ve diyaliz uygulamaları temeli oluşturur.

Popovich ve Moncrief'in 1970'lerin ortalarında Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi (CAPD) kavramını oluşturmalarından sonra bu yöntem renal replasman tedavisi olarak başarılı bir şekilde başlanmıştır.

Üreminin tedavisinin yanı sıra, üreminin sebep olduğu diğer birçok klinik bozukluğun tedavisinde CAPD'in hemodiyalize göre daha fazla avantajlı olduğu görülmüştür. CAPD ile daha sabit ve sürekli bir biyokimya profili (asit-baz, sıvı ve elektrolit dengesi) sağlanır, daha az kısıtlı beslenme, daha az aneminin yanı sıra kemik hastalığı, hipertansiyon ve diyabet kontrolü daha iyi bir şekilde yapılabilir.

Ancak bu avantajlarına karşın sık görülen bir komplikasyon olan peritonit daha fazla morbidite ve mortaliteye sebep olmakta ve tedavinin en önemli kesilme sebebi olarak karşımızda durmaktadır. Peritonitin teşhis edilmesi ve yeterli tedavisi önemlidir. Ayrıntılı klinik değerlendirme ile diyalizatin incelenmesi ve kültür sonuçları bizi tanıya götürür. Daha önce de gösterildiği gibi rutin parametreler yardımı ile patojenin tespiti her zaman mümkün olmamaktadır. Böylece tedavi sıklıkla ampirik olarak planlanmaktadır. CAPD peritonitinde Gram-negatif patojenlere %30 sıklıkla rastlanmasına rağmen en fazla kateter çıkartılması ve fatalite bu tip organizmalarla olmaktadır.

Mikroorganizmanın erken tanımlanması ve böylece erken tedavi edilmesi önemlidir. Peritonun vital diyaliz organı olarak kalması için en az tedavi kadar peritonitin önlenmesinin de zorunluluğu vardır. Çoğu ampirik antibiyotik rejimlerinde gram-negatif bakterileri kapsamaması açısından aminoglikozidler önerilmektedir. Ancak bu antibiyotiklerin son evre böbrek yetmezliği olan hastalarda kullanılması ile daha ciddi ototoksisite ve residüel renal fonksiyonda daha da azalma veya tamamen kaybolduğu rapor edilmektedir. Aynı zamanda gereksiz yere gram-pozitif etkinliği olan antibiyotik kullanımı ise dirençli mikroorganizmaların gelişmesine yol açmaktadır.

Daha önceki bazı çalışmalarda Limulus Amebosit Lisat (LAL) testi kullanarak endotoksin tayinin gram negatif peritonit tanısında erken ve kolay bir metod olduğu gösterilmiştir. Bu konuda çelişkili sonuçlar vardır.

Hastanemiz Nefroloji - CAPD ünitesinde CAPD hastalarda gram negatif periton enfeksiyonlarının daha erken teşhisi ve tedavisinde bu testin gözden geçirmek için bu çalışma planlamıştır. Bu çalışmada aşağıda belirtilen parametreler değerlendirilmiştir:

1. Endotoksin (gram-negatif hücre duvarı bileşesi) seviyesinin tespiti ve peritonit kültür sonuçları ile ilişkisine bakılması.
2. Peritoniti olmayan CAPD hastalarında sabah diyalizati içinde endotoksin varlığını araştırmak ve gram -negatif ile gram pozitif peritonitin endotoksin seviyeleri ile karşılaştırmak.
3. Gram -negatif peritonitlerde endotoksin seviyesinin enfeksiyon varlığını gösteren ideal sınır değerini tespit etmek ve klinik güvenilirliğini test etmek.

GENEL BİLGİLER

Popovich ve Moncrief'in 1975'de tanımlamalarından sonra Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi (CAPD), renal replasman tedavisi olarak son evre böbrek hastalarında (ESRD) başarı ile kullanılmaktadır (1,2). Bu tarihten sonra birçok teknik gelişme bu yöntemi iyileştirmiş, basitleştirmiş ve komplikasyonlarını azaltmıştır. Böylece periton membranı diyaliz organı olarak kullanılırken fonksiyonel kapasitesinin bozulmamasını sağlanıp, daha uzun süre ile kullanımı mümkün olmuştur.

Prensip olarak periton diyalizi (PD), ESRD hastalarında en az iki fonksiyon sağlamalıdır:

1. Organik veya organik olmayan atık maddelerin temizlenmesi,
2. Fazla sıvının atılması: Ultrafiltrasyon.

Bu hedeflere ulaşmak için diyalizat periton kavitesi içerisine verilir, bir süre bekletildikten sonra tekrar alınır. Böylece dolaşımdan diyalizata geçen üremik toksinler ve fazla su molekülleri dışarı alınmış olur (3,4). Erir maddeler ve su molekülleri periton duvar kapillerlerinden periton boşluğuna geçmeleri için periton membranını geçmek zorunda kalırlar (4,5).

Başlangıçta 1980'lerin başında İngiltere ve Amerika'daki bazı doktorların yetersiz ve ikinci sınıf tedavi yöntemi olarak tanımlarına rağmen 1982 ve 1985 yıllarından sonra CAPD, ESRD hastalarında primer tedavi yöntemi olarak kullanılmaya başlanmıştır (6). 1992'lerin sonlarına doğru yaklaşık yarım milyon diyaliz hastasının dörtte birinde CAPD kullanılmaktadır. Bu rakamlar, USA için %17, İngiltere için %52, Meksika için %90 üzeri ve Japonya için %6'dır (3).

CAPD tedavisi genellikle medikal ve sosyal faktörlerin belirlediği sınırlar içerisinde organize olur. CAPD ile daha düzgün biyokimyasal ve asit-baz dengesinin sağlandığı bilinmektedir (7). Beslenme (8), anemi, kemik hastalığı, hipertansiyon (9) ve diyabet (9-11) daha iyi kontrol edilmektedir. Periton diyalizi için hamilelerde iyi tolere edilebilmesi, uygulanabilme kolaylığı ve her yaş kesimi için uygun bir seçenek olması da ek avantajlar olarak göze çarpmaktadır (12). Diğer taraftan sosyal yönden de bir takım üstünlükleri söz konusudur, örneğin CAPD hastaları daha az işsiz kalmakta ve boşanmalar daha az görülmektedir. Böylece CAPD'nin daha kabul edilebilir bir diyaliz yöntemi olduğu

görüŖü ön plana çıkmaktadır (5,13,14). 10 yıldan sonra da insan peritonunun hala yeterli fonksiyon gösterebildiği de anlaşılmıŖtır (15).

İlk 1940'larda kullanımına baŖlanan periton diyalizi 1968'de Tenchoff periton kateteri geliŖtirilinceye kadar baŖarılı olmamıŖtır (16). Yeni kateterler ve kapalı sistem sürekli diyalizat sistemleri tedavi protokollerini oluŖturmuŖtur. CAPD'de hastalar haftada toplam 130 - 140 saat diyaliz süresine harcamaktadırlar. Bu süre sonunda hemodiyaliz hastalarıyla aynı üre klirensine ulaŖmak mümkün olmuŖtur (3).

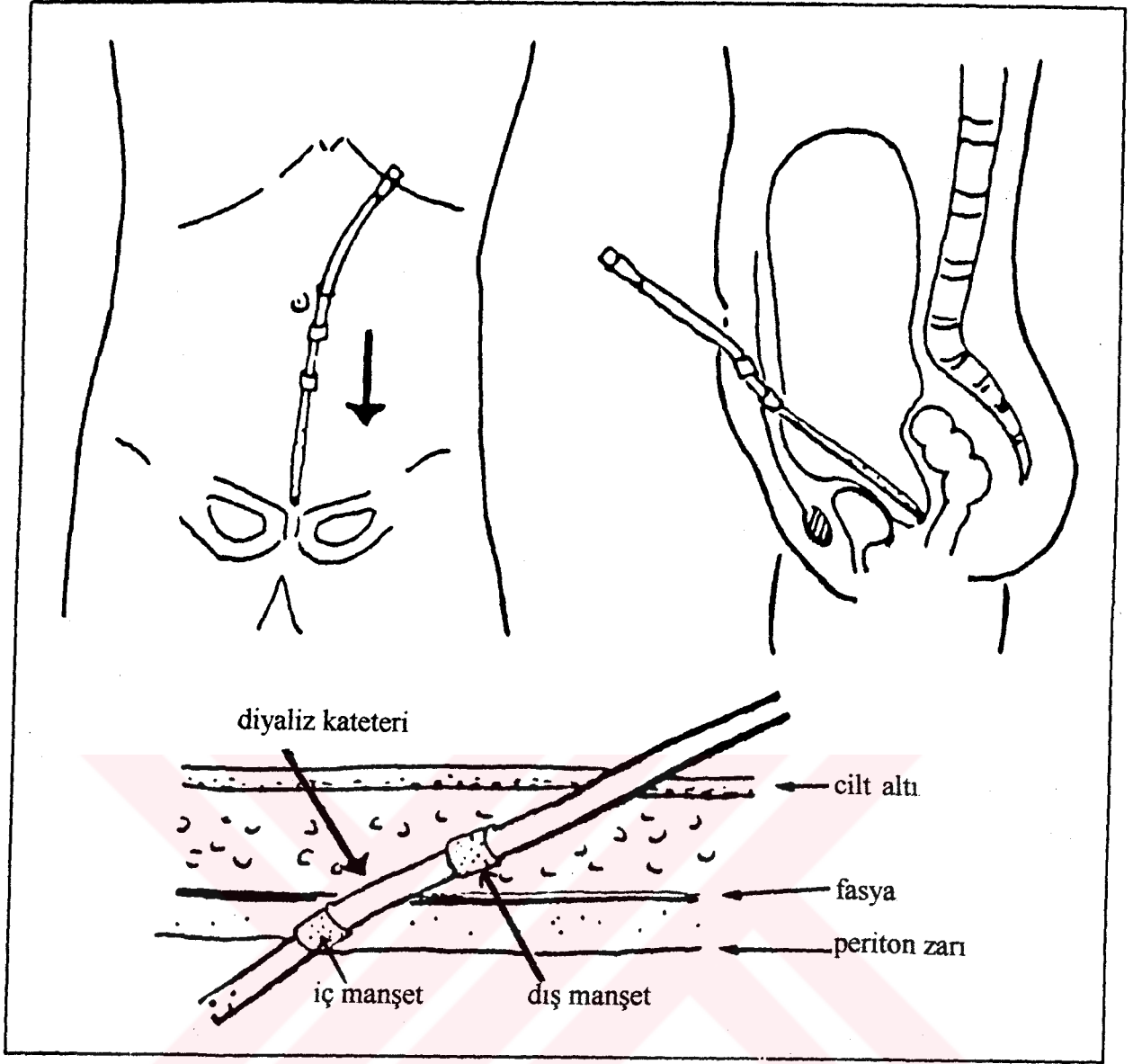
Kronik böbrek yetmezliği hastalarında diyaliz kararının verilmesi, üreminin, biyokimyasal bozukluğuna, klinik bulgularına ve yöntemin ulaŖılabilirliđine bağlıdır. Üremik semptomların konservatif yöntemlere yanıt vermemesi diyaliz için endikasyon oluŖturur, ve genellikle glomerular filtrasyon oranı (GFR), 10 ml / dak'nın altına inmiŖtir (7). GFR 10 -15 ml/dak. olmasına rağmen kardiyovasküler problemlerin ve diyabetin varlığında kalabilir, üremiye tolerans olmaması sebebiyle diyaliz erken baŖlatılabilir.

Hasta bazında uygun yöntemin sečilmesi karmaŖık bir durumdur. Birçok faktör etkin rol oynar. Hastanın tercihi, medikal, sosyal ve psikolojik faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Kronik periton diyalizi kararından sonra periton içerisine kateter konulur ve diyaliz iŖlemi baŖlatılabilir. Ancak ideal olanı yara iyileŖmesinden (ortalama 3 hafta) sonra uygulama baŖlatılmasıdır. Tenchoff kateter ile tecrübeler klinik etkinliğini ve güvenirliliğini kanıtlamıŖtır (14).

Periton Diyalizinin Prensipleri:

Periton diyalizi, diyaliz kateterinin yerleŖtirilmesi ile baŖlar. Kateterde, periton içinde birçok yan deliği olan tübüler silikon kauçuk ve iki dakron manŖet (cuff) vardır. Dakron manŖet fibroblast proliferasyonu ve granülasyonunu 1 ay içinde sağlar (3). Birinci manŖet periton fasya içine, ikinci manŖet deri altına yerleŖtirilir. Birinci veya internal manŖet periton içinin dıŖı ile bağlantısını keser. İkinci manŖet ise uygun tesbit iŖlemine ve bakterinin periton kavitesi içine gečilisinin engellenmesinde yardımcı olur.

Periton diyalizinde suda çözülen metabolitler difüzyon ile, su ise ozmoz ile yaklaşık 2m² lik seröz periton zarından geçerler (Ŗekil 1).



ŞEKİL 1: Peritoneal kavitesi içerisinde diyaliz kateterinin yerleştirilmesi

Metabolitler konsantrasyon meyline göre difüzyon ile periton kapillerinden periton kavitesine geçerler. Diyalizata ozmotik bir ajan (glikoz) eklenerek sıvı vasküler yataktan alınır. Bu kinetik duvar periton diyalizinin temelini oluşturur. Normal beslenen bir insan için kabul edilebilir sınırdaki sabit üre seviyesini sağlamak için yaklaşık günde 8-10 litre sıvının varlığı gerekmektedir. CAPD'de genellikle 4-5 adet 2 litre torba diyalizat kullanılır. Günde 4 -5 saatten oluşan 3 - 4 değişim ve gece diyalizi kan üre nitrojenini (BUN) kabul edilebilir sınırlarda tutabilir.

Giriş yeri enfeksiyonu, tünel enfeksiyonu, dış manşetin çıkması, akıntı, bükülme tıkanma ve translokasyon bu kateterlere ilişkin en sık karşılaşılan problemlerdir. Disiplinli ve motive hastalar periton diyalizini daha başarıyla uygularlar (17).

CAPD İçin Endikasyonlar ve Kontrendikasyonlar (3)

Endikasyonlar:

Her kronik böbrek hastasına şartlar uygun ise periton diyalizi yapılabilir. Ancak bazı durumlarda bu tedavi şekli hemodiyalize göre daha fazla endike olur.

1. Hemodiyaliz merkezinden uzak mesafeler için.
2. Yaşlı veya çok genç hastalar için (5 yaşın altındaki çocuklar ve yaşlılar).
3. Ciddi stabil olmayan kardiyovasküler hastalık durumunda.
4. Damar yolun açılmasında güçlük durumunda.
5. Ciddi ve kontrol edilemeyen anemi varlığında.
6. Makinaya veya bir merkeze bağlı olmak istemeyen, daha özgür olmak isteyen hastalar.

Transferler:

Hemodiyaliz hastaları aşağıdaki faktörlerin varlığında periton diyalizine dönerler:

1. Ciddi komplikasyonlu hemodiyaliz;
 - Hipotansiyon,
 - Diyaliz esnasında ciddi dengesizlik (disequilibrium),
 - Diyaliz aralarında kontrol edilemeyen sıvı dengesizliği.
2. Kontrol edilemeyen ilerleyen anemi.

Kontrendikasyonlar:

1. Kanıtlanmış araya giren peritonit.
2. Cerrahi veya başka şekilde periton dokusunun kaybı.
3. Kanıtlanmış periton fibrozu.
4. Kontrol edilemeyen kaçak (örneğin, plevral - peritoneal).
5. Geniş fitiklar.
6. Karın dış duvarında yara, enfeksiyon veya cilt hastalığı.
7. Batında büyük Abdominal aort anevrizması.

Relatif Kontrendikasyonlar:

1. Yaygın barsak hastalık (enflamatuvar barsak hastalığı, divertiküloz veya divertikülit).
2. Ciddi aksiyal iskelet problemi.
3. Ciddi lomber diskopati.
4. Kolostomi veya ileostomi.

Mezotel Tabakası, Peritonun Dializ, ve Korunma İşlevini Sağlayan en Önemli Kısımdır

Anatomi:

Periton membranı selüler ve ekstraselüler membranların oluşturduğu periton duvarlarını kaviteden ayıran yapıdır. Mezotel hücreleri (MC), periton kavitesinde belki de en fazla bulunan hücrelerdir (Şekil 2).

Mezotel hücreleri çok miktarda mikrovillus içerir ve oluşturduğu sekresyonlarla (örneğin, fosfotidilkolin'in lamella cisimleri tarafından salgılanması) (18), koruyucu bir bariyer ve sürtünmesiz yüzey oluşturarak peristaltizm ve solunum sırasında dokuların birbirleri üzerinde kaymasını sağlar. Mezotel hücreleri tarafından, lokal olarak, fibrinopeptid-A ve tPA'nın salgılanması ile fibrinoliz ek olarak olası yapışıklıkları önler (19).

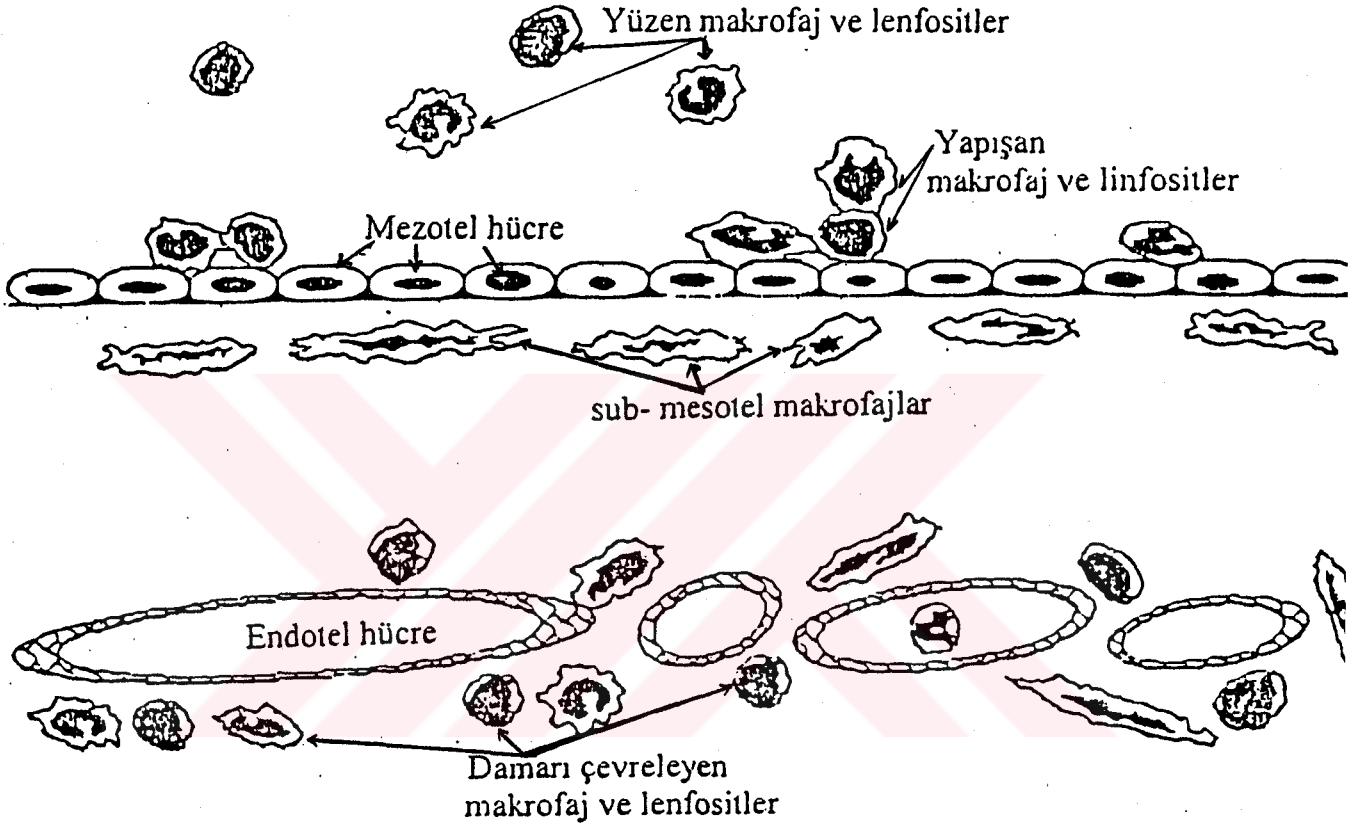
Mezotelin yapısal bütünlüğünü ise hücreden hücreye yapışkan bağlantılar sağlar. Mezotel hücrelerinin epitel benzeri tabaka oluşturması sıkı bağlantılar vasıtasıyla (Tight junctions, Tjs) sağlanır. Bağlantılı birleşme yerleri (Anchoring junctions, Ajs) mezotel

hücrelerini mekanik olarak komşu dokulara ve altındaki bazal membrana bağlar. Geçit bağlantılar (Gap junctions, Gjs) ise mezotel hücreler arasında kimyasal ve elektriksel sinyallerin iletimini sağlar (4). Bunların dışında birçok proteinler (intergrinler veya immunoglobulinler gibi) mezotel hücreler arasında bağlantı, yapışma ve ileti fonksiyonlarında yardımcı olurlar.

Periton diyalizi hastalarında kateter yerleştirilmesi veya çıkarılması sırasında alınan biyopsiler çalışılmış ve yeni bir ortamla karşılaşan mezotelin mikro-yapısal reaktif değişiklikler gösterdiğini saptamışlardır (4).

Periton diyalizine başlandıktan sonra periton içerisinde immünolojik değişikliklerin de olduğu yönünde kanıtlar vardır. Periton diyaliz ile mezotel hücreler daha fazla immatür olmuşlar (20-22), daha az bakterisidal özellikleri kalmış (23,24) ve kemotaktik özelliklerinde değişiklikler ortaya çıkmıştır (25-28). CAPD hastalarının mezotel hücrelerinin daha az matür fenotipe sahip olduğu görülmüştür. CD15 ekspresyonu artmış (hücrenin immatür özelliğini gösterir) ve CD11 ekspresyonu azalmıştır (hücre matüritesinin özelliğini gösterir) (1). Yeni bir ortamla karşılaşmaları ile bu hücrelerin ne kadarının nasıl etkilendiği tam olarak bilinmemektedir. CAPD ile mezotel hücrelerin kronik bir travmaya maruz kaldıkları açıktır (1). Diyalizatın düşük pH'sı (5.5), yüksek glikoz konsantrasyonuna sahip olması, hiperosmolaritesi ve laktatlı tamponu olması bu sıvının fizyolojik olmadığını göstergesidir. Uzun dönemde periton diyalizinin önemli bir kısmında, özellikle en az bir kez peritonit atağının olmuş olması, hem yapısal hem de fonksiyonel değişikliklerle klerensde azalmaya sebep olmaktadır (3).

Mikro-yapısal fonksiyonel bozukluğun temelini araştırıldığı birçok çalışmada periton mezotel hücreliliğini, reseptör aktivitelerini, immünofenotipleri, kemotaksis ve fagositik aktiviteyi laparoskopla elde edilen materyallerde çalışmışlardır. Periton diyalizi ile periton hücreliliğinde artma olduğu, T ve B lenfositlerin dominans gösterdiği ve makrofaj- monositlerde azalma olduğu görülmektedir (22,29). Ancak diğer bazı çalışmalar ise makrofaj dominansı olduğuna (30-33) ve Fc reseptör ekspresyonunda artma ile sabit olarak artışın bu aktivite seviyesinde kaldığına da işaret etmektedirler (1,34).



SEKİL 2: Peritoneal zarı ve peritoneal damarlarını çevreleyen enflamatuar hücre dağılımı

Enflamatuvar ve Enfeksiyöz Durumda Periton Yanıtı:

Uygulamaya başlandığından bu güne kadar CAPD'nin en çekinilen yönü enfeksiyondur (6,9,35-38). ESRD hastalarında periton diyalizinin hemodiyalize oranla daha avantajlı olduğu açıktır (5,13,39,40-42), ancak peritonun vital diyaliz organı olarak idame ettirilmesi ciddi bir yaklaşım ve bakımı gerekli kılmaktadır. Bir büyük seride CAPD peritoniti için mortalitenin yaklaşık 17.4 / 100 hasta yılı olduğu görülmektedir (43). Koruyucu önlemler ve zamanlı tedavi ile hastaların yaşam kalitesi uzayacak ve tedavinin maliyeti azalacaktır. Bu amaca ulaşmak için de hasta, hemşire ve medikal personelin iyi eğitilmiş ve disiplinli olması gerekmektedir (17).

Mezotelial hücreler, periton kavitesine girmiş olan inflamatuvar hücrelerin sitokinlerle etkilenmesinde (44) ve lokal vazoaaktif maddeler (PGE-2, PGI-2 ve NO) yardımı ile periton mikro-dolaşımının sağlanmasında rol oynarlar (45,46). Ancak bilinen önemli bir nokta ise ESRD hastalarında üremik durumun tek başına mezotelyal ve makrofaj-monosit fonksiyonunu baskıladığıdır (47). Böylece bu hücreler bakteri veya ürünlerine yanıt olarak pro-enflamatuvar sitokinlerin, TNF ve $IL_{\alpha/\beta}$ 'nin üretimini büyük oranda gerçekleştiremezler (8,48,49). Fagositoz sırasında serbest oksijen radikallerinin üretimi de azalmıştır (50,51). Endotoksin veya enflamasyona yanıt olarak ortaya çıkan sitokinler ve otokoidlerin üretimindeki bu azalmanın gerçek mekanizması bilinmemektedir (8,46). Bazı çalışmalar da bu yanıtta değişim (47), hatta düşme saptanmıştır (52).

Yinglu ve arkadaşlarının (22) yaptığı bir çalışmada, makrofajlar tarafından IL-10 üretilmesi ile immün ve enflamatuvar yanıtın peritonit sırasında baskılandığı, mikrobiyal klirensin azaldığı gösterilmiştir. Endojen PGE-2'nin LPS ye bağlı IL-1B'nin üretimini baskıladığı Lonneman ve ark. tarafından gösterilmiştir (46). PGE-2 aynı zamanda bir anti-enflamatuvar gibi davranmaktadır. Periton inflamasyonu sırasında aktive olan monositler ve makrofajlardan IL-1B ve $TNF\alpha$ üretimini baskılamaktadır (45). Ancak bazı çalışmalarda sitokinlerin, TNF ve IL-1 üretiminin inhibitörleri eşliğinde olduğunu göstermiştir. Endotoksin zerk edilen deneklerde ve diyaliz hastalarında endojen IL-1'nin inhibitör aktivitesi ve TNF inhibitörü gösterilmiştir (53-55).

Peritonit olmadığı durumlarda CAPD hastalarında periton kavitesi küçük fakat sürekli bir hücre göçüne tanık olmaktadır, litrede 1×10^5 - 20×10^6 T ve B lenfosit hücresi

ile diğer enflamatuvar hücre göçü olmaktadır (3,56). Peritonit sırasında ise en belirgin değişiklik enflamatuvar hücrelerin periton içerisine hızlı göçü ve bunun sonucunda bulanık diyalizat oluşmasıdır. Çoğunluğunu polimorf lökositlerin (PMNL) oluşturduğu (35,38) litrede 100×10^6 üzerinde hücre diyalizatı bulanık yapmaktadır (10,56,57). Peritonit sırasında, mezotel hücrelerinin oluşturduğu tabakada çatlaklar olur. Düz olan mezotel hücreleri çeker, daha yuvarlak olur, mikrovililer kaybolur ve sonunda tüm mezotel tabakası yamalar halinde kaybolur (35). Altındaki bağ dokusu açığa çıkar, enflamatuvar hücrelerle kaplanır, hyalen materyal ve fibrin hiperemik ödematöz kapillerler yardımı ile fibroza gider ve periton diyalizi membranının kaybı ile sonuçlanır.

CAPD'de bakteriyel peritonit:

CAPD hastalarında peritonit komplikasyonunun insidansı hasta ve merkez bazında değişiktir (13,58). Merkezin tecrübesi, kullanılan teknoloji ve hastaların enfeksiyona yatkın olması ve tekniği ne seviyede doğru yerine getirebildiği gibi, çeşitli faktörler rol oynamaktadır.

CAPD hastalarında peritoneal kontaminasyon ve peritonitin gelişmesine yol açan üç önemli faktör vardır, bunlar:

1. Diyalizat değişimi sırasında sterilitenin bozulması, mikroorganizmaların peritona diyalizat kateter-yolu boyunca ulaşması (transluminal ve periluminal), çıkış yeri veya tünel enfeksiyonu (59,60,61).
2. Kateterin iç duvarları içerisinde biyo-film (62) oluşması ve mikroorganizma içermesi (eradikasyon problemi ve sık relapsa yol açar).
3. Gastrointestinal mikroperforasyon veya translokasyon ile peritonun kontamine olması (63).

1978'de Popovich ve arkadaşları, şişelenmiş diyalizat kullandıkları yıllarda rapor edilen peritonit sıklığı hasta başına bugünkü değerlerin 6.3 misliydi. Yine o yıllarda ilk epizodun ise 3 ay içerisinde geliştiği rapor ediliyordu (64).

Tenchoff kateterin sağlanması (14,66), Buancristiani tarafından İtalyan Y-set

sisteminin oluşturulması (36,67) ve Bazzoto tarafından ikiz torba sisteminin 1979 yılında kullanılması (68) peritoneal kontaminasyon ve peritonit insidansını 1980'lerin başında düşürmeye başlamıştır. 1980'lerin ortalarında Avrupa, Kanada ve Amerikan raporları peritonit epizodlarını yılda hastada 1.4 - 2 olarak açıklamaktadır. Bağlantı ve torba sistemlerindeki gelişmelerin yanısıra sıvıyı karına vermeden önce uygulanan dekontaminasyon tekniklerinin gelişmesi peritonit sıklığını 11 hasta ayından 1'den 1990'da 21-23 ayında 1 atağa kadar düşürmüştür (13,24).

İkiz Y- setli iki torba sistemi öncelikle periton kavitesinin boşalmasına izin vermektedir. Bu şekilde yeni bağlantı oluşturulduğunda titanyumun adaptör seviyesindeki olası kontaminan organizmalar toplayıcı torbaya akıtılır. Yine olası kontamine konnektörler içerisinden steril diyalizat geçirilerek temizlenir, dekontaminasyon sağlanır. İtalya Y-set sisteminde ise (flush-before fill) torba değişimleri arasında tüm katlar hipoklorit solüsyonu ile doldurulur (69,70). Tüm bu olumlu gelişmelere rağmen bazı hastalar tedavi süresi içerisinde peritonit atağına maruz kalabilir.

1990'ların başında İngiltere'de St. Thomas hastanesinde aşağıdaki basit yöntemler yardımı ile çıkış yolu ve tünel enfeksiyonun kontrolü sağlanarak peritonitin azaldığı kanıtlanmıştır:

1. Kateter yerleşimi öncesi klorheksidin glukonat banyosu ile klorheksidin glukonat ve neomisin kremin burunun ağzına sürülmesi (14).
2. Cilt altı tünelin kör diseksiyon yerine troker ile açılması,
3. Çıkış yolunun alkollü materyalle silinmesi,
4. Çıkış yolunun steril örtülmesi ve her değişim sırasında aseptik yöntemlere uyulması,
5. Her şeyi kuru barındırmak, yıkama sırasında çıkış yolunun ıslanmasından kaçınmak ve diyalizati su banyosu içinde ısıtmaktan kaçınmak.

Bu basit önlemlerle özellikle stafilokokus aureus peritonitinde düşme (12 ayda 1'den 126 ayda 1'e) olmuştur (71).

Peritonit genellikle bir tek patojen tarafından olur ve bu normal deri florası veya üst solunum yolu kaynaklı olur. Birçok çalışmanın sonucuna göre yaklaşık %60 - 70 oranında gram-pozitif koklar sırasıyla, stafilokok epidermidis, stafilokok aureus, streptokok türleri ve difteroidler patojenik türleri oluştururlar (16,35,38,65,72,73). CAPD peritonitinde

genellikle periton kavitesinin minör enfeksiyonu vardır ve fatalite azdır. Gram negatif peritonit ise sıklıkla işlemi zorlandırır ve potansiyel ciddi sonuçları barındırır (13,14,38,65,74). CAPD hastalarında gram negatif peritonit genellikle %15-30'u oluşturur. Son yıllarda gram pozitifler azalırken, gram negatiflerde artış vardır ve bazı çalışmalarda bu artış %50 oranına ulaşmaktadır.

CAPD çocuklarda ve özellikle yeni doğanlarda ESRD için sıklıkla başvuru olan bir yöntemdir. Dünya çapında diyaliz olan çocukların peritonit %70 kadarında bu tedavi kullanılmaktadır (50). Çocuklarda da büyük hastalara benzer insidansı ve benzer patojenler tanımlanmıştır (58). Ancak bir çalışmada Mirza ve ark. (76) gram negatif mikrobiyal insidansın %42 olduğunu ve bu rakamın yetişkinlerde %30 olduğunu rapor etmiştir.

Hastanede kazanılmış CAPD peritoniti ise sık değildir ve yaklaşık olarak hastaneye yatan periton diyalizi hastalarının %5'inde görülebilir (77). Yakın zamanlı bir çalışmanın sonucuna göre (78) gram pozitif enfeksiyonlar açısından dışarıda ve hastanede edinilmiş olma insidansları yönünde bir fark gözlenilmemiştir (% 67 - 68). Yine aynı çalışmaya göre gram-negatif peritonit açısından hastane enfeksiyonu durumunda iki kat daha fazla insidans bulunmuştur (% 52).

Peritonitin etkeninin izole edilmesindeki gelişmelere rağmen %3 - 30 kadar bir kesim kültür negatif peritonit olarak kalmıştır (13,14). Tahminlere göre bu grup içinde daha çok düşük virulansı olan karmaşık özelliklere sahip organizmalar, koagülaz negatif stafilokokus (62), tüberküloz peritoniti veya hastanın doktorunun bilgisi dışında antibiyotik alması vardır (38).

Son zamanlarda "başlangıçta üreme olmayan peritonit, 'Initial No Growth Peritonitis' (INGP) terminolojisi bazı negatif kültür sonuçları için kullanılmaya başlanmıştır (38,79). Bir Amerikan çalışmasında INGP %14 rapor edilmiş, kültür tekrarı ile %8 fungal, %13 gram negatif ve %13 gram pozitif organizma tespit edilmiştir.

Gram Negatif CAPD Peritoniti:

Önceki (60,61,74,79,80) ve son zamanlarda (16,38,43,62,72,73,76-78,81,82) yapılan çalışmalarda CAPD peritoniti için gram negatif patojenlerin %15 - 30'luk bir bölümü kapsadığı gösterilmiştir. Ancak diğer bazı çalışmalarda %50 sonucu çıkmıştır (75).

%3-30 oranında klinik peritonite rağmen kültürde üreme olmamıştır (13,14,16,82).

1988'de Y-sistemin kullanılmaya başlanması ve alkol ile el dezenfeksiyonu sonucunda gram pozitif enfeksiyonlarda azalma ancak gram negatif enfeksiyonlarda ise bir artma eğilimi olmuştur (69). Buna göre daha önce tahmin edilenden daha fazla gram negatif enfeksiyon varlığı olası görülmektedir. Gram negatif peritonit kateter kaybının en önde gelen sebepleri arasındadır. Hastaların 2/3'ü hemodiyalize geçmek durumunda kalırlar (59,79) ve gram- negatif bakteriden açığa çıkan lipopolisakkarit (LPS) tüm ölümcül biyolojik aktiviteyi içerir (4,5,13,43,50,65,83,84).

CAPD gram negatif peritoniti patojenezi için tek bir açıklamanın yeterli olmayacağı açıktır. Örneğin pseudomonas aeruginoza peritoniti daha çok çıkış yolu, tünel enfeksiyonunu takiben olur, çıkış yolunun daha önceden pseudomonas ile kontamine olmuş sıvı solüsyonlarla temizlenmesi sonucunda ortaya çıkar (60,62). Enterobakter, E.coli, Klebsiella, Proteus ise enterik bakterilerdir ve kalın barsak ta bulunurlar. Bu organizmalara bağlı peritonitlerde tamamen barsak hastalığının sonucu olduğu her zaman doğru değildir ancak invaziv kolonoskopi sonrası (85), divertiküloz, enflamatuvar barsak hastalığı (86) gibi hastalıklarının varlığında bu organizmalara bağlı peritonitler rapor edilmektedir.

Transluminal migrasyon bakterinin translokasyonu , barsak serozal membranlarının mikroperforasyonu (63,87)sonucunda peritonit ortaya çıkıyor olabilir. Genitoüriner sistemin de peritonit açısından önemli bir kaynak olduğu, patojenlerin sızması ile LPS'lere bağlı olaylar kaskadin (88-92) başladığı rapor edilmiştir.

Hepato-bilier bozukluklar, intestinal olmayan intra- ve ekstra-abdominal cerrahiler, majör ekstra abdominal cerrahi durumlar bakterinin veya bakteri ürünlerinin intestinal sistemden peritona ve sistemik dolaşıma sızmasına yol açtığı da bilinmektedir (93,94).

Ambrase ve ark. (95) Crohn hastalığı olan ve intestinal rezeksiyona giden hastaların seroza ve mezentrik lenf bezlerinde %50 oranında enterik gram negatif organizma üretmişlerdir. Normal kontrollerde bu oran %17'dir. Transluminal ve tünel çıkış yeri enfeksiyonları periton kontaminasyonunun önemli bir yolu olurken, daha zor kontrol edilebilen intraabdominal ve genitoüriner kaynakların özellikle gram negatif peritonite yol açmaları açısından önemi giderek güncellik kazanmaktadır.

CAPD Peritonitlerin Rutin Tanı ve Tedavisi:

1987 yılında düzenlenmiş tanı ve tedavi yöntemleri açıklanmış (74), ve 1993 yılında revize edilmiştir (38). Diğer raporların da uzlaştığı (13,16,29,62,65,75,76,96,97) sonuca göre CAPD hastalarda aşağıdaki bulguların varlığında peritonit düşünülmelidir:

1. Bulanık peritoneal sıvı,
2. Diyalizat beyaz küre sayısının $100/\text{mm}^3$ 'un üzerinde olması ve bunların en az %50'sini polimorf nötrofillerden oluşması ve,
3. Yaygın karın ağrısı.

Yukarıdaki kriterlerin varlığında hastalardan mikrobiyolojik kültür ve gram boyama için materyal alındıktan sonra (tercihen gece biriken sıvıdan) hızlıca ampirik tedaviye geçilmesi önerilmektedir (49). Asemptomatik ancak bulanık sıvısı olan hastalarda gram boyama, lökosit sayımı ayrıcı sayım sonuçlarını beklenmesi önerilmektedir.

Mikrobiyolojik örneklemelerde kültür sonuçları altın standart olmasına rağmen, peritonit tanısı koymak için kültür pozitifliğinin yanı sıra eşlik eden klinik bulguların da varlığı zorunludur. Her zaman kültür pozitifliği peritonit tanısına götürmez (14,37,57). Daha sonra yapılan çalışmalarda aynı zamanda dışarı alınan sıvının lökosit sayısı asemptomatik hastalarda test edilmiştir (98-100). Düşük lökosit sayısının ($< 100 / \text{mm}^3$), enfeksiyonun erken asemptomatik dönemini işaret edebileceği gibi (101), $100 / \text{mm}^3$ üzerinde beyaz kürenin asemptomatik enfekte olmayan hastalarda da görülebileceği rapor edilmiştir (65). CAPD hastalarında periferik lökositoz peritonitin zayıf bir endikatörüdür. (16).

Semptomatik hastada periton sıvısının beyaz küre sayısı artmıyorsa, ayrıca sayımda nötrofil artışı izlenmiyorsa ve gram boyamada bakteri görülmiyorsa tedavi endikasyonu yok demektir (38). Ayrıca sayım veya beyaz küre formülü, sebep olan organizmanın tipi hakkında bize bilgi vermemektedir. Kimyasal tahriş edici maddeler (51), yabancı cisimler (102), abdominal viseral enflamasyon, travmatik kanamalar, menstruasyon, ovulasyon (103) veya şiloz yada fibrinöz maddeler de (74) bulanık periton sıvısına yol açacağından peritonit kliniği varlığında bile ayrıcı tanıya gidilmelidir. Çok sık kullanılsa da geri alınan sıvıda yüksek basınçlı oksijen tansiyonuna bakılması anaerobik peritonitin

tanınmasında yardımcı olabilir (65).

Daha önce yapılan önerilerde peritonit şüphesi durumunda hemen gram boyama yapılmasının önemi vurgulanmıştır. Ancak santrifüje çökelti den yapılan gram boyamanın pozitif olma ihtimali %40'ın altındadır (38,74). Pozitif boyanan hastalarda ise iyi boyanmış bir preparat yardımı ile tekli antibiyotik tedavisi kararı ancak 1/3 hastada mümkün olmaktadır (37,83,57).

Popovich ve arkadaşların (65) rapor ettiğine göre kültür pozitif hastaların sadece %9'unda gram boyama pozitif görülmektedir. Direk mikroskopun erken ve hızlı peritonit tanısı için yetersiz kaldığı (85), ancak yüksek bakteri sayısı varlığında faydalı olduğu gösterilmiştir. Basit uygulanabilir olması ve bilgi verdiğinde bunu hızlı ve anlamlı yapması (gram pozitif, gram negatif bakteri veya fungus varlığı gibi) halen bu yöntemi uygulanabilir kılmaktadır (105).

Patojenin tanınmasında rutin mikrobiyal kültürler hayal kırıcı olmuştur. Patojenin izolasyonunda yaşanan sorunların değişik nedenleri vardır. CAPD peritonitte lökosit sayısı ne kadar yüksekse, mikroorganizmanın izole edilmesi ve tanınması o kadar güç olmaktadır.

Taylor ve arkadaşları (83) makrofajlar tarafından mikroorganizmaların sekestrasyona uğradığı ve dilüe edildikleri görülmüş, lökositlerin gram boyama veya bakteriyolojik ekim öncesi mekanik olarak parçalanmaları önerilmiştir. Diğer çalışmalarda konsantrasyon tekniklerini önermişlerdir (7,62,81,106,107). 40-100 ml. sıvı santrifüj konsantrasyonu ve lökosit parçalaması (62), biyolojik membranlarla filtrasyon ile (37) bakterilerin elde edilmesinin daha kolay olduğu gösterilmiştir (13,29,38).

Tranaeus ve ark. (82) biyolojik membranların kullanımıyla daha önce rapor edilen kültür negatif peritonit oranının %2'ye düştüğünü iddia etmektedirler. Zenginleştirilmiş besi yerleri (83,104,109,110) veya Bactec ile (111) ile kültür pozitifliği artırılmaktadır. Lye ve ark. (112) rutin ortama oranla Bactec ortamına ekim yapılması ile daha fazla gram negatif kültür pozitifliği sonucuna ulaşmışlardır (%55'ten %80'e).

Görüldüğü gibi laboratuvar testlerinden hiç birisi tek başına CAPD peritonitinin erken tespiti için yeterli değildir. Böylece hızlı ve özgün bir tedavi yöntemi henüz mümkün olmamaktadır. Şüpheli patojenleri kapsayan ampirik tedaviden vankomisin, sefalosporinler, kinolonlar ve aminoglikositler değişik kombinasyonlarda (81,113,114), tercihen

intraperitoneal olarak (16) kullanılmaktadır. Klinik peritonit bulgusu, kültür pozitifliği ve bazen de sıvı bulanıklığı düzelene kadar tedavi devam eder; Bu süre de beş gün ile iki hafta arasındadır (65).

ESRD hastalarında vankomisin ve aminoglikositlerin ciddi yan etkileri olduğu bilinmektedir. Vankomisin kimyasal peritonit yaptığı gibi (115), bakterilerin vankomisine direnç oluşturmaları tedaviyi iyice zora sokmaktadır. Sırf bu yüzden bazı otoriteler bu ilacın ampirik kullanılmasına karşıdır. Önerilen birinci jenerasyon sefalosporinin (örneğin, sefazol, sefalotin) aminoglikosit ile kombine edilmesidir (38). Birinci jenerasyon sefalosporinin alternatifi nafsilin, klindamisin, vankomisin ve siprofloksasindir. Pediatrik yaş grubunda kinolonların kontrendike olduğu unutulmamalıdır. Yukarıdaki stratejinin amacı vankomisini yalnızca gerçek metisilin rezistansı sırasında kullanmaktır.

Sefalosporinler hem gram-pozitif hem de gram-negatif patojenlere etkin olduğu için ampirik tedavide seçilebilir (38). Aminoglikosit dozu günde bir kez verilmesi ile intraperitoneal konsantrasyonun minimal konsantrasyonunun (20 mg/L) birkaç katından fazla olmasını gerektirir. Özellikle rezidü renal rezervi olan hastalarda antibiyotik sonrası etkinin süresi tahmin edilememektedir. Aminoglikozit kullanımı ile renal rezervde bozulma artacak ve nöro-ototoksisite ortaya çıkacaktır (116,117). Kalan renal fonksiyonun ESRD hastalarında korunması diyaliz yeterliliği açısından çok önemlidir, periton diyalizi hemodiyalize oranla daha fazla koruyucudur.

CAPD'nin hemodiyalize oranla avantajları göz önünde bulundurulmalıdır. Ancak sıklıkla karşılaşılan peritonite erken, güvenilir ve hızlı tanı koymak ve çok sorunlu gram-negatif bakteriyal peritoniti tedavi etmek önemli bir öncelik olmalıdır. Aynı zamanda gereksiz yere, hastanın fazlasıyla tedavi edilme yoluna gidilmesi gereksiz toksisite ve maliyeti yanında getirecektir.

ENDOTOKSİN

Endotoksin veya lipopolisakkarit, gram negatif bakteri duvarının bir parçasıdır. Endotoksin lipid-A ve iki polisakkarit çekirdek içermektedir, böylece LPS ismini alır. lipid-A gram-negatif bakteri tipine göre değişmez, sabittir. Glikozamin fosfat, uzun zincir yağ asiti ve etanolaminden oluşur. Olağan dışı bir fosfolipiddir (118), iskelet olarak gliserol yerine d-glikozamin kullanır. Uzun zincir yağ asiti hidrofobi kısmını oluşturur.

Lipid-A'ya bağlanan çekirdek polisakkaritin iç kısmı şeker moleküllerinin değişken formlarını içerir, dış kısmı oligosakkarit yan zincirlerinin tekrarlayan ünitelerinden oluşur. İsmi de 'O'antijendir. LPS'in bu kısmı bakteriye göre değişkenlik gösterir. Fenotipleme ve bakteri ayırımında kullanılır (119), (Şekil- 3, 4).

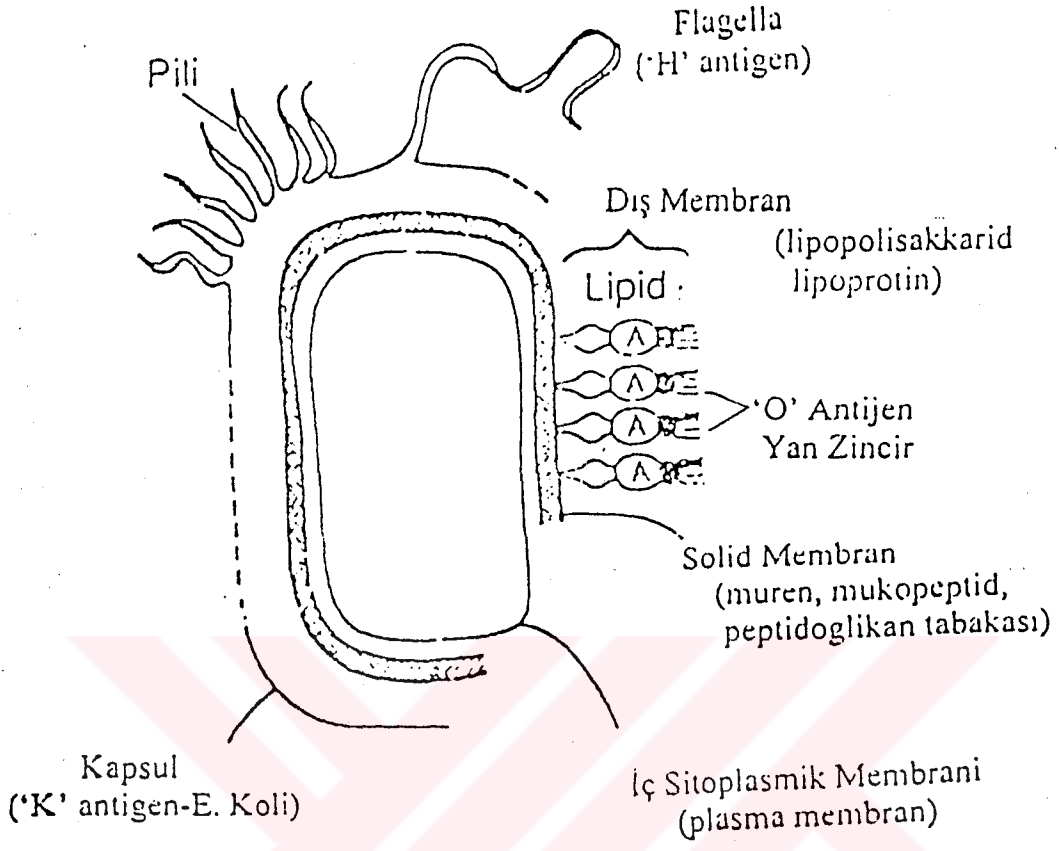
LPS'lerin tüm biyolojik aktiviteleri (makrofaj aktivasyon ve tüm migrasyonu tetiklemesi, TNF, interlokinler (IL) gibi sitokinlerin üretiminin başlatılması) lipid-A ve çekirdek şeker bileşenlerinden gelmektedir (119-121).

Biyolojik olarak aktif olabilmesi için LPS'nin bakteri duvarının parçalanması ile açığa çıkması (122) veya mikroorganizmanın büyümesi sırasında dış membrandan atılması (123,124) gerekmektedir. LPS'nin biyolojik aktivitesini gösterebilmesi için mononükleer hücreler üzerinde özgün reseptörler ile (CD14) kompleks oluşturması gerektiği gösterilmiştir (102,125) (Şekil-5).

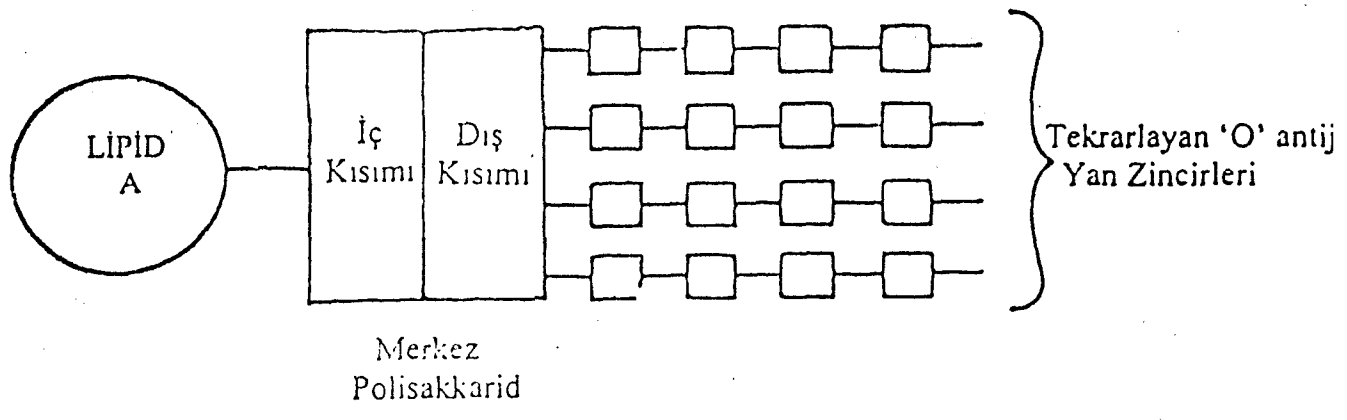
Asimptomatik CAPD'li veya asitli hastaların biyolojik sıvılarında bulunan endotoksin seviyesi 5U/ml (35) veya 'USP' Standart Endotoxin kilavuzuna göre (125) 0.5 EU/ml'nin altında olarak bildirilmiştir.

Endotoksin Aktivitesinin Dayanıklılığı ve Değişimi:

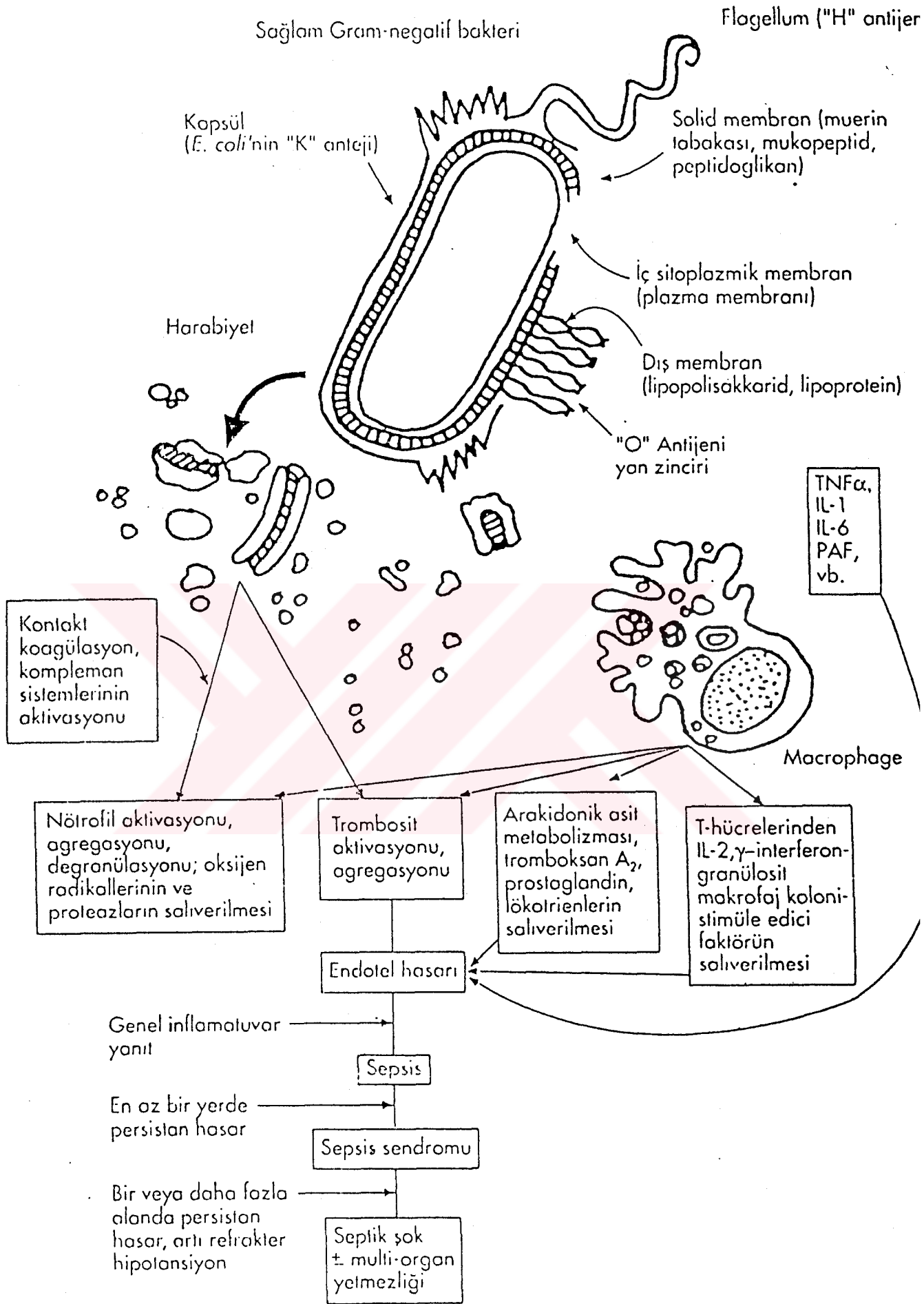
Endotoksinler ısıya dayanıklı protein kompleksleridir (126). Birden fazla buzdan çözmek ve dondurulma işlemi ile endotoksinin -20 ila +4 derece arasında veya -20 derece de depolanması immunojen özelliğini bozmamaktadır (127). 1 saat süre ile 100 derecede kaynatılması immunojen özelliğini %95 geçici olarak bozmakta, hemaglutinin aktivitesini azaltmaktadır. Ancak +4 dereceyle soğutma ile tekrar hemaglutinin aktivitesi geri gelir (128).



SEKİL 3: Gram negatif bakteri antijenleri



SEKİL 4: Lipopolisakkarid bileşenleri



ŞEKİL 5: Gram negatif bakteriden kaynaklanan genel inflamatuvar yanıt;

İn-vitro 170 derece kuru sıcakta 3 saat bekletilmesi ile, 0.1 N asit veya alkali hidrolizi ile, permanganat veya hidrojen peroksit oksidasyonu ile endotoksin aktivitesi tamamıyla ortadan kaldırılabılır (122).

İn-vitro olarak endotoksin aktivitesi birçok biyolojik işlemler yardımı ile baskılanabilir veya artırılabilir. LPS ölümcül olmayan dozlarda nötralizan monoklonal antikor yanıtı oluşturur (119,122). Bu yanıt aktif B hücreleri tarafından verilir ve T hücrelerinden bağımsızdır. Endotoksin aynı zamanda retikülo-endotelyal sistemi (RES) aktivite edecektir, böylece RES LPS'lerin detoksifikasyonu ve klerensinde önemli rol oynamaktadır (129). Radyasyon, timektomi, steroid, gibi immün baskılanmış durumlarda veya aktinomisin verilmesi halinde endotoksinemi artar, bunun sebebi RES klerensinde azalmadır. Bu hastalara endotoksin nötralize edici monoklonal antikor verilmesi ile endotoksisite azalır veya sıfırlanmaktadır (130). Benzer olarak sitokin antagonistleri de endotoksinin oluşturduğu toksik şok durumunu geri çevirebilmektedir (131).

Endotoksinin Biyolojik Aktiviteleri:

Deney hayvanlarına ve normal gönüllülere endotoksin düşük dozda enjekte edildiğinde kan basıncında, vücut sıcaklığında, pıhtılaşma mekanizmalarında hümoral ve hücresele immunitede, dolaşımdaki hücrelerde ve metabolizmada dramatik değişiklikler meydana gelir. Bu değişiklikler LPS veya gram negatif bakteri süspansiyonu enjeksiyonu ile oluşturulabilir (122).

Ateş:

LPS'ye bağılı ateş en çok tavşanlarda çalışılmıştır, 0.1 ng LPS dozlarında yapılan enjeksiyonlar 10 - 20 dakikalık bir bekleme döneminden sonra sıcaklığı yükseltir, 70 dakikada doruk seviyesine ulaşır. Düşük dozlarda enjeksiyonların tekrarlanması tolerans oluşturur ve ateş yüksekliğinin azalması ile sonuçlanır (129).

Ateş oluşmasındaki mekanizma endotoksinle karşılaşan mononükleer hücrelerden salınan maddeler tarafından olmaktadır (102,121,126). Endojen projenler (sitokinler) anterior hipotalamustaki ateş merkezini uyarırlar (73,132,133) veya omur ilik sıvısı içine enjeksiyon ile direkt uyarı yaparlar (122).

Hipotansiyon:

Hayvan modellerinde endotoksin sitokin üretimini artırmış ve akciğer vasküler direncini artırarak ak ciğer vasküler hipertansiyona, damar tonusunda azalmaya, vasküler geçirgenlikte artmaya ve plazma kaybına yol açmaktadır. Endotoksinin çok iyi bilinen bir etkisi de lökositlerin endotele olan yapışkanlığını ve lökositlerin sayısını artırmaktır. Bu durum vasküler hasara yol açan mediatörlerin artmış salınımı ile sonuçlanır (132). Hemodinamik bozulma ve olası şok durumu bunu takip eder. Hipotansiyonun oluşması için, ateş oluşması için gerekli olandan daha fazla LPS'ye ihtiyaç vardır. Aynı zamanda konakçının immün yanıtı da önemlidir (122,132).

Damar İçi Pıhtılaşma (DIC):

Endotoksinin pıhtılaşmayı başlatma mekanizmaları çok açık değildir ancak hem harici (ekstrinsek) hem de dahili (intrinsek) yolların kullanıldığı yönünde bulgular vardır (122).

İntrinsek yolda endotoksin Hageman faktörünün (F-XII) aktive olmasını sağlar (88). Diğer taraftan endotoksinler lökositler aracılığı ile doku faktörünün (TF) salınımına yol açarlar. TF, F-VII ve kalsiyum ile kompleks oluşturup F-X'u aktive ederler (134).

Yaygın damar içi pıhtılaşma (DIC) durumunda fibrinojen, protrombin ve trombositler tüketilirken fibrinoliz aktif hale gelir, fibrinojen parçalanma ürünleri (FDP) birikir. Bu parçalanma ürünleri birer antikoagulan gibi davranır, trombin tarafından fibrinojen proteolizini engeller ve trombosit agregasyon ve polimerizasyonuna mani olur (135,136), sonuçta endotokseminin yıkıcı sonuna ulaşılır.

Dolaşımdaki Kan Hücrelerinde Bozulmalar:

Hayvan modellerinde LPS ile karşılaşmayı takiben ciddi nötropeni olmaktadır. Bu durumu takiben lökositoz olur, normoblastlar ve diğer immatür hücre formları dolaşımda görülmeye başlanır (122). Nötropenin sebebi endotoksine bağlı olarak artmış yapışma moleküllerinin hücreleri endotele yapıştırması ve hücrelerin akciğerde tutulmasıdır. Endotoksin hücresel proliferasyonu ve T hücreleri tarafından lenfokin üretimini artırır (121). Granülositöz granulosit koloni stimulan faktörü (G-CSF) ve granülosit monosit

koloni stimulan faktörünün (GM-CSF) doza bağlı olarak artması ile oluşur (37). Bu büyüme faktörleri T lenfositler, monositler, fibroblastlar ve endotel hücreleri tarafından üretilirler.

İnsanda nütropeni oluşması için lökositöz oluşması için gerekli olan endotoksin miktarından daha fazlasına ihtiyaç vardır (122).

Endotoksin tarafından uyarılan emflamatuvar hücreler lizozomal proteolitik enzimler salgırlar. Asit fosfatazlar, kollajenazlar, plazminojen ve plazmin fibrinoliz ile bağ dokusu ve yapısal dokularda parçalanmaya yol açrlar. Sonuçta organ yetmezliği oluşur.

Komplemanlar:

Endotoksinler hem klasik hem de alternatif kompleman yolunu aktive edebilirler. Bu aktivasyon özellikle gram negatif bakterileri öldürebilir. Klasik yoldan kompleman aktivasyonu bakterileri daha çabuk öldürmektedir. Muhtemelen LPS'ler daha etkin olan klasik yolu daha kolaylıkla aktive ediyor olmalılar (122). Artmış emflamatuvar yanıt nedeniyle doku hasarı bazen ölümcül sonuçlanabilmektedir.

Endotoksinin Biyolojik Sıvılarda Tespit Edilmesi:

1950'lerin sonuna kadar enfeksiyonların patojenezinde ve sonucunda bakteriyal endotoksinlerin rolü bilinmiyordu (137). Hayvan modellerinde ve biyolojik sıvılarda şüpheli gram negatif bakteriyal enfeksiyon varlığında endotoksinin tespit edilmesi küçük dozda epinefrin enjeksiyonuna bağlıydı (65,127,137). Hayvan modeline intravasküler endotoksin enjeksiyonunu takiben, küçük dozda epinefrinin cilt altına enjeksiyonu ile lokal hemorajik nekroz, hipotansiyon ve şok oluşmaktadır. 1960'ların sonlarına kadar insanlar ve hayvan modelleri bu yolla test edilmiş, veya bunlardan alınan sıvı tavşana enjekte edilip ateş yanıtına göre endotoksin varlığı anlaşılmaya çalışılmıştır. 1970'de Levin ve arkadaşları (138,139) 'Limulus Clot Test' in faydasını keşfetmişlerdir. Çalışmalarında limulus ile pıhtı oluşması, epinefrin hemorajik cilt testi veya tavşan pirojen testine göre en az 10 kat daha duyarlıdır ve in-vitro uygulanması ayrıca avantajlıdır (127). Levin'in çalışmalarını takip eden çalışmalar klinik güvenilirliği ve faydasını daha fazla ortaya çıkartmıştır.

LİMULUS AMEBOSİT LİZAT

1885’de Howell limulus polifemus bir çeşit deniz yengecin amebositi ile, kan hücrelerini pıhtılaştığını tanımlamıştır. 1950’de Frederick Bang, woods Hole deniz biyoloji laboratuvarında bakterinin limulus kanını pıhtılaştırdığını keşfetmiştir. Daha sonra Levin ve Bang pıhtılaşma olayının sorumlusu olarak amebositi tespit etmişlerdir. 1956’da endotoksinin at nalı yengecin kan hücrelerini pıhtılaştırdığı gösterilmiştir.

Yengeç kan hücrelerinin endotoksin tarafından aktive olan enzim sistemine sahip olduğu anlaşılmıştır. Kesin mekanizma bilinmemekle beraber endotoksinin seri halinde pıhtılaşma öncüsü faktörlere bağlandığı tahmin edilmektedir. Amebosit içinde bulunan serin proteaz zimojen, gram negatif bakteri endotoksinleri tarafından aktif hale getirilmekte, enzimatik pıhtılaşma başlamakta ve proteinli jel ile sonuçlanmaktadır. Endotoksin ne kadar fazla ise bulanıklık ve pıhtı o kadar hızlı gelişecektir.

Birkaç milyon yıl öncesine gidildiğinde, at nalı yengeç limulus polifemus gerçek bir yengeç olmadığı, bir örümcek ailesine mensup olduğu ileri sürülmüştür. Limulus yengeci suda yaşamakta, doğu ve kuzey Amerika kıyılarında bulunmaktadır. İçinde yaşadığı ortam endotoksin yönünden zengindir ve bu yüzden bu hayvanların farklı bir savunma mekanizması gelişmiştir. 1982’de bir antikoagulan olan limulus anti-LPS faktörü (LALF) isminde bir protein amebositlerde keşfedilmiş ve endotoksine bağlı koagulasyonu engellediği tespit edilmiştir (125).

Limulus yengecin eritrositleri, (amebosit) biyolojik sıvılarında endotoksin tayininde kullanılabilmesi için santrifüj edilmiş amebositleri mekanik parçalamp (lizat) içerdiği antikoagulan olan anti-LPS faktorun kloroform veya deterjan yardımı ile uzaklaştırılması gerekmektedir. Lizat’ın duyarlılığının artırılabilmesi için magnezyum veya kalsiyum eklenir, pH’i ayarlanır ve durağanlığı için liyofilize edilir. Endotoksin tayini için liyofilize edilmiş lizat’ın (limulus amebosit lizat) endotoksinden arındırılmış su ile çözülmesi gerekmektedir (125).

YÖNTEM VE GEREÇLER

Hastalar:

Toplam 72 (32 klinik peritonitli ve 40 peritonit olmayan, 32 kadın, 40 erkek, 18-84 yaşları, ortalama yaş 52) CAPD hastası çalışmaya dahil edildi. Aşağıdaki kriterlerin sağlanması durumunda hastalar peritonit olarak kabul edildiler:

1. Karın ağrı,
2. Bulanık gelen diyalizat ve.
3. Geri alınan sıvıda $100/\text{mm}^3$ üzerinde beyaz küre bulunması.

Çalışma Dışına Alınma Kriterleri:

1. Yakın zamanlı gastrointestinal veya gastrointestinal dışı travma veya cerrahi girişim.
2. Yakın zamanlı olarak periton kateterinin yerleştirilmiş olma durumu.
3. Yakın zamanlı majör gastrointestinal invaziv tanısal girişim olması.
4. Peritonit dışında eş zamanlı klinik enfeksiyonlar.
5. Antibiyotik tedavisi altında olma veya 3 gün öncesine kadar antibiyotik tedavisi almış olması.

Çalışma Projesi:

Bu çalışma prospektif iki fazlı bir çalışmadır. Kültür sonuçlarına göre uç hasta grubu (gram-negatif, gram-pozitif ve kültür negatif) ile peritoniti olmayan kontrol CAPD hasta grubu oluşturulmuştur. Hastalar aynı zamanda kendi kontrol gruplarını oluşturmaktadırlar.

Birinci Faz:

Peritonit şüphesi olan hastalar tüm diyalizatı CAPD ünitesi personeline teslim etmişlerdir. Torbanın kauçuk enjeksiyon bölümü iyotlu solüsyon ve hidrojen peroksitle silindikten ve kuruduktan sonra steril-apirojen şırınga ile küçük miktarda sıvı alınıp sulandırılmadan Thoma lamı üzerinde, mikroskop altında incelendi. Aynı zamanda lökosit sayımı için otomatik sayaca konuldu. 10 ml sıvı alınarak bir apirojen flakon içinde -20°C 'de dondurulup daha sonraki endotoksin analizi için saklandı. Geri kalan torba mikrobiyoloji

laboratuvarına gram boyama ve rutin mikrobiyal kültürler için vakit kaybedilmeden gönderildi. Her hastaya ampirik tedavi (intraperitoneal 1.jenerasyon sefalosporin ve aminoglikosid) verildi, hastaların takibi ünite tarafından klinik iyileşme ve negatif kültürler elde edilene kadar yapıldı.

İkinci Faz:

Hem gram-pozitif hem de gram-negatif üremesi olan ve kültür negatif gruplardaki tüm hastaların diyalizatları tedavinin 21. gününde yeniden toplandı. 10 ml'lik örnekler -20°C de donduruldu.

Klinik ve mikrobiyolojik olarak peritoniti olmayan 40 hastanın 10 ml diyalizati toplanarak endotoksin tayini için -20°C 'de donduruldu.

Belirteçler (Miyarlar)

LAL ve Standart Endotoksin:

Ölçüme dayalı (kantitatif) kromojenik limulus amebosit lizat (LAL) ticari (Coatest-Endotoksin B06-603-96-10, Charles River Endosafe - USA) kit ile endotoksin tayinler yapıldı. Endotoksinden arındırılmış cam malzeme ve mikropipet ucu ucu takım ile birlikte Chromogenix AB-Sweden tarafından sağlandı.

Metod

Kültür:

60 ml örnekler steril cam tüpler içerisinde oda sıcaklığında 20 dakika süre ile 3000 rpm de santrifüj edildi. Çökelti kuvvetli bir şekilde vorteks içinde çalkalandı. Steril platin tel öze ile 0.01 ml'lik örnek alınarak koyun kanlı, at kanlı çukulatamsı, Mac-Conkey agarlara ve tioglikonat sıvı besiyerine ekimler yapıldı. Aynı zamanda direk inceleme için preparat hazırlandı. Ayrıca her örnekten, 10 ml'lik örnek mikroorganizmaların üreme şansını artıran özel bir tübe (saponin ve SPS-sodyum polyatenol sulfat içeren "Oxoid" izolator) alınıp karıştırıldı ve 3000 rpm'de santrifüjlenerek çökelti çukulatamsı agara ekildi. Tüm örnekler 37°C de en az 14 gün süre ile tutuldular ve sonunda değerlendirildiler.

Endotoksin tayini:

ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile yapılmıştır.

Tamponlanmış liyofilize LAL miyarı ve substrat S-2423 pirojen içermeyen LAL miyarı suyu ile çözüldü. Kit içerisinde sunulan endotoksin kontrol standardı (E.coli 0111:B4) önerilere uygun olarak hazırlandı, 1.2 EU/ml standart stok solüsyonlarının 1/10'undan bir boş ve 4 endotoksin standardı hazırlandı. %100, %50, %25 ve %12.5 dilusyonlarda endotoksin örnekleri kullanıldı. Böylece 0.12, 0.06, 0.03 ve 0.015 EU/ml konsantrasyonlar oluşturuldu.

Derin dondurucuda saklı olan örnekler oda sıcaklığına getirildikten sonra, endotoksin analizine başlandı. Yapımcı firmanın önerilerine uygun olarak son nokta (end-point) metodu ile 'Elisa mikroplate' üzerinde 405 nm 'de okundu.

Test ve standart örneklerden 50 µl'si pirojen içermeyen mikroplate içine pipetlendi ve 37°C de 5 dakika enkübasyona bırakıldı. Hazırlanmış LAL solüsyonundan 50 µl her birinin içine karıştırılarak 37°C'de 12 dakika enkübasyona bırakıldı. Daha sonra 100 µl tamponlu renk verici substrat mikroplate içindeki kuyulara eklendi, hemen çalkalandı ve ek olarak 8 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu işleminden sonra 100 µl %20 asetik asit solüsyonu ile mikroplate içindeki kuyulara eklendi ve tekrar çalkalandı, böylece reaksiyon durdurulmuş oldu. Mikroplate daha sonra 405 nm'de Metertech Σ-960 Elisa otoanalizör ile okundu. Standartların absorbansı işaretlendikten sonra oluşan eğriden endotoksin konsantrasyonları okundu.

İstatistik:

İstatiksel olarak, tedavi öncesi ve sonrası için ayrı ayrı gram-negatif, pozitif, kültür-negatif ve sağlıklı gruplar endotoksin değerlerinin ortalaması karşılaştırmıştır, tek yönlü varyant analizi (ANOVA) yapılmıştır. p değeri <0.05 olan sonuçlar istatiksel anlamlı olarak kabul edildi. İstatiksel olarak anlamlı çıkan ANOVA testlerinde, hangi grup veya grupların farklılık gösterdiği, Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testi ile yapıldı. Gram-negatif grup, gram-pozitif grup, kültür-negatif grup ve sağlıklı gruptaki tedavi öncesi ve sonrası endotoksin ortalama ölçümleri arasındaki fark t-test ile karşılaştırıldı. Son olarak LAL testinin duyarlılık ve özgüllük ölçümleri ile ROC eğrisi gerçekleştirildi, (Tablo 6, Şekil 10 - Sayfa 38-39).

BULGULAR

Kültürler:

Çalışmaya 32 peritonitli ve 40 peritoniti olmayan toplam 72 CAPD hasta alındı. Ayrıca 32 peritonitli hastanın 30'dan peritonit geçtikten sonra peritondan geri alınan sıvı örnekleri mikrobiyolojik ve endotoksin incelemeler için test edildi. Hastalardan toplam 102 diyalizat örnekleri incelemeye alındı (Tablo 1).

1.a. Klinik olarak 32 peritonitli hastaların diyalizatlarında lökosit sayısı 200-1800/mm³, ortalama 460/mm³ bulundu. Peritonitli hastaların 24'ü kültür pozitif; bunların 10'u gram negatif (Tablo 2, Şekil 6), ve geri kalan 14 tanesi gram pozitif (Tablo 3, Şekil 7) üreme gösterdi. Geriye kalan 8 örnek 14. günde negatif kültüre sahipti. Tedavinin 21. gününde 8 gram negatif ve 14 gram pozitif üremesi olan ve 8 kültür negatif hastanın diyalizatları kültür ve endotoksin seviyesi için tekrar değerlendirmeye alındı.

1.b. Klinik olarak 8 şüpheli peritonit ve 40 peritonit olmayan hasta 14 gün izleme sonunda kültür negatif olarak kaldılar.

TABLO 1: 102 hasta diyalizatlarından bulunan kültür sonuçları:

Çalışmada bulunan kültür sonuçlar ve adedi

	Kültür	Adedi
Grup-1	Gram-negatif peritonit	10
Grup- 2	*Gram-negatif peritonit kontrol	8**
Grup- 3	Gram-pozitif peritonit	14
Grup- 4	*Gram-pozitif peritonit kontrol	14
Grup- 5	Kültür-negatif	8
Grup- 6	*Kültür-negatif kontrol	8
Grup- 7	Peritonitsiz CAPD kontrol hastası	40
Toplam		102

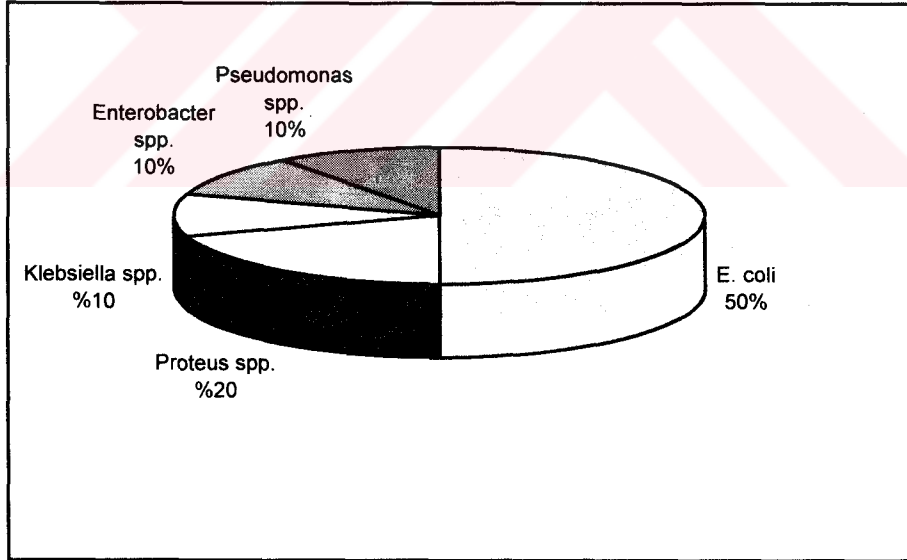
* 21 günlük tedavi sonrasında alınan örnekler

**2. Gram negatif olan hastanın biri tedavinin ilk haftasında öldü, bir başka hastanın kontrol diyalizati zamanında kontrole gelmediği için alınamadı, böylece çalışma dışı bırakılmıştır.

TABLO 2: Gram negatif mikroorganizmaların dağılımı

	Mikroorganizma	Adedi
1	Escherichia coli	5
2	Proteus *spp.	2
3	Klebsiella *spp.	1
4	Enterobacter *spp.	1
5	Pseudomonas *spp.	1
	Toplam	10

*spp: species

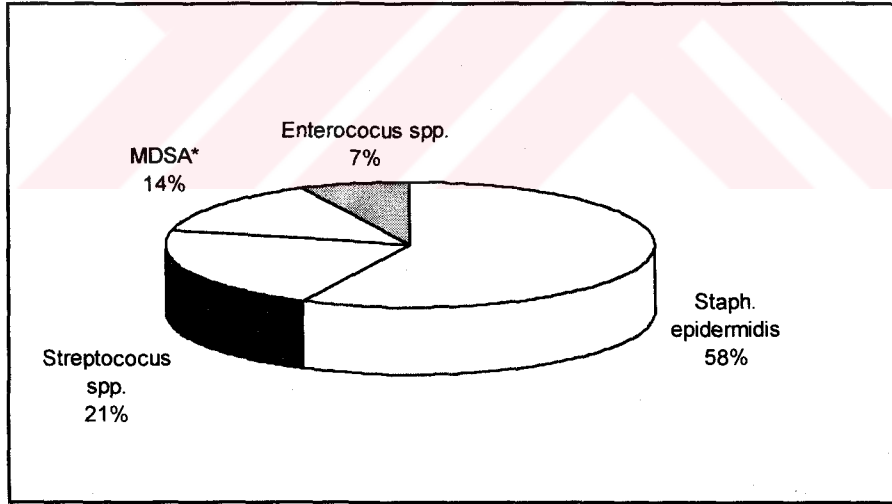


SEKİL 6: Gram negatif mikro organizmaların dağılımı

TABLO 3: Gram pozitif mikro organizmaların dağılımı

	Mikroorganizma	Adedi
1	Staphylococcus epidermidis	8
2	Streptococcus spp.	3
3	MDSA*	2
4	Enterococcus spp.	1
Toplam		14

* Metisilin Dirençli Staphylococcus aureus



SEKİL 7: Gram pozitif mikro organizmalar dağılımı

* Metisilin dirençli Staphylococcus aureus

3.a. Gram negatif 10 kültürün altısı 48 saat içinde, ikisi 72 saatte, biri 1. haftada ve geriye kalan biri 8. günde üreme göstermiştir. 14 gram pozitif kültürün on ikisi 48 saatte, biri 72 saatte ve geriye kalan biri 7. günde üreme göstermiştir. 3 kültür pozitif örneğin ikisi (1 gram-negatif ve 1 gram-pozitif) 1. haftaya kadar, geriye kalan bir gram negatif kültür ise 8.güne kadar üreme göstermemiştir (Tablo 4).

3.b.Olgulardan 3-tanesi (2-gram-negatif, 1-gram-pozitif) rutin 60 ml'lik örneklerden yapılan ekimlerde ürememiştir. Özel kültür sistemi ile üreme saptanan toplam 24 örnekten 21'inde rutin kültür yöntemi ile de üreme saptanırken 3 örnekte bu yöntemle üreme tespit edilmemiştir (Tablo 4).

TABLO 4: Farklı Zaman Dilimlerine Ait Kültür Sonuçları

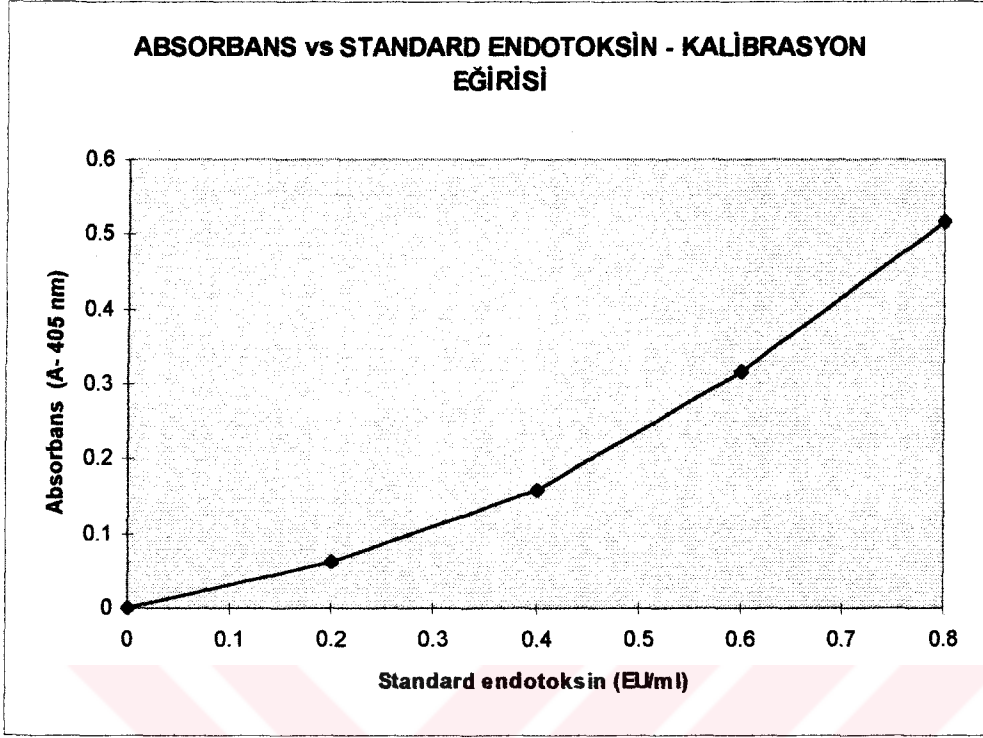
Üreme		Üremenin tayin edildiği zaman				adet
		0 - 48 saat	48 - 72 saat	3 - 7 gün	> 7 gün	
1	Gram-negatif (n=10)	6	2	1	1	10
2	Gram-pozitif (n=14)	12	1	1		14
3	Kültür-negatif (n=8)	-	-	-	-	-
Toplam (n=32)		18	3	2	1	24

Endotoksin Analizleri

Kalibrasyon Eğrisi

Analizden elde edilen endotoksin konsantrasyonu bu eğriden hesaplandı. Standartların absorbanları (A) karşılık gelen konsantrasyonlarına göre çizildi. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda oluşan standart eğriden endotoksin konsantrasyonları hesaplandı.

Üretici firmanın önerisine göre (A)'nın 0.2'nin altında olması iyi aseptik kurallara uyulmuş olduğunu göstermektedir (Şekil 8).



SEKİL 8 : Kalibrasyon Eğrisi

Endotoksin Düzeyleri

Grupların Kendi Aralarında Karşılaştırması :

Standart eğri aracılığı ile 3 grup hastanın tedaviden önce ve sonrası ile peritonitsiz CAPD kontrollerin endotoksin sonuçları elde edilmiştir. Aşağıdaki tablo ve şekillerle özetlenmiştir (Tablo 5, Şekil 9).

1. Gram negatif üremesi olan diyalizatlarının endotoksin seviyeleri tedavi öncesi 1.53 ± 0.169 EU/ml ve tedavi sonrası 0.215 ± 0.083 EU / ml bulunmuştur, ($p < 0.0001$).
2. Bir hasta dışında tüm hastalarda tedavi sonrası endotoksin değerleri 0.3 EU/ml değerinin altına inmiştir. Söz konusu hastada endotoksin seviyesi 0.38 EU/ml bulunmuştur. Bu hastada 3 haftalık tedavi tamamlandıktan 10 gün sonra diyalizat sıvısının bulanıklığı tekrarlaması üzerine, yapılan mikrobiyolojik incelemeden sonra relaps olduğu görüldü. Kateter çekilerek hasta hemodiyaliz programına dahil edildi.
3. Gram pozitif üremesi olan diyalizatlarının tedavi öncesi endotoksin konsantrasyonu

- 0.102 ± 0.06 EU/ml ve tedavi sonrası endotoksin konsantrasyonu 0.122 ± 0.052 EU/ml bulunmuştur, (p>0.05)
4. Kültür negatif peritonit hastalarının tedavi öncesi ve sonrası elde edilen endotoksin seviyeleri sırasıyla, 0.196 ± 0.025 ve 0.087 ± 0.031 EU / ml bulunmuştur, (p>0.05).
 5. Klinik peritoniti olmayan CAPD hasta grubun endotoksin düzeyi 0.117 ± 0.079 EU/ml olarak elde edilmiştir.

Gruplar Arası Karşılaştırma:

Aşağıdaki tablo ve şekillerle özetlenmiştir (Tablo 5, Şekil 9).

1. Tedavi öncesi gram-negatif endotoksin değerleri, tedavi öncesi veya tedavi sonrası gram-pozitif peritonitli ve sağlıklı CAPD grupların endotoksin değerleri ile karşılaştırıldığında, tedavi öncesi gram-negatif gruptaki endotoksin düzeylerinin istatistiksel olarak çok anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü (P<0.001).
2. Gram negatif tedavi sonrası grubun endotoksin düzeyi ile tedavi öncesi ve sonrası kültür negatif grubun endotoksin düzeyleri arasında farklılık izlenmedi (p> 0.05).
3. Gram negatif tedavi sonrası grubun endotoksin düzeyi ile tedavi sonrası gram-pozitif peritonitli endotoksin düzeyleri arasında farklılık izlenmedi (p> 0.05).
4. Tedavi sonrası gram-negatif ile tedavi öncesi gram-pozitif grupların arasındaki endotoksin ölçümlerinin karşılaştırılması ile, tedavi sonrası gram-negatif grupta endotoksin değeri diğer gruba göre daha yüksekti, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P<0.01).

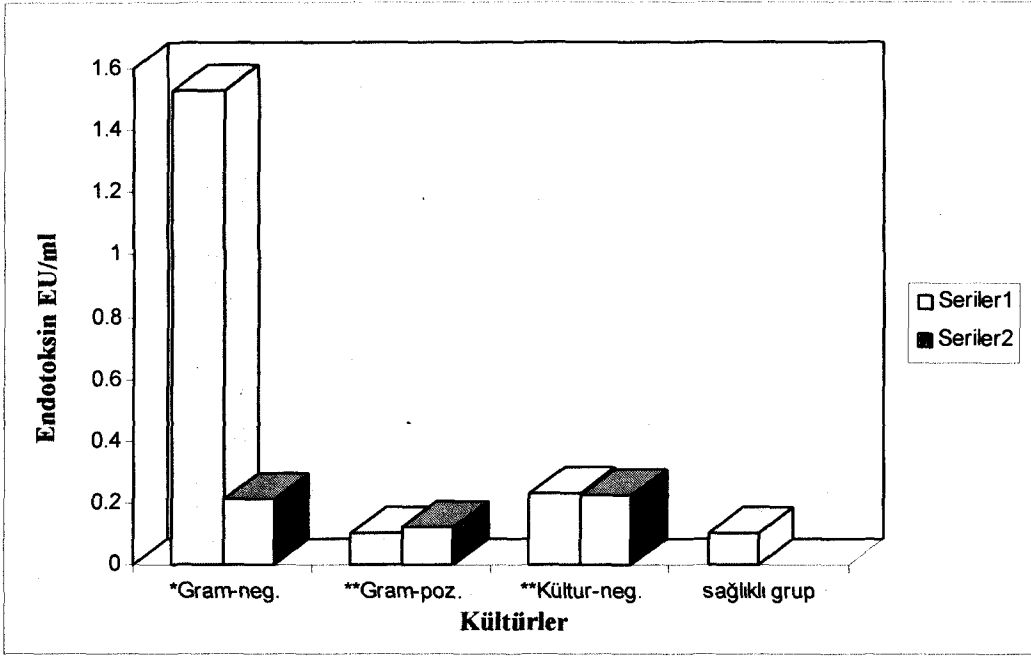
TABLO 5: Çalışmada 102 diyalizat örneğinin endotoksin (EU/ml) değerleri

Kültür sonuçlar	Tedaviden önce	Tedavi sonrası	p değeri
Gram- negatif grup	1.53 ± 0.169	0.214 ± 0.085	< 0.0001*
Gram- pozitif grup	0.102 ± 0.06	0.122 ± 0.052	>0.05**
Kültür-negatif	0.196 ± 0.027	0.187 ± 0.031	>0.05**
Sağlıklı grup	0.117 ± 0.079	-	-

Sonuçlar ortalama ± Standart deviasyon olarak ifade edilmiştir.

* İstatiksel anlamlı ifade etmektedir.

** İstatiksel anlamlı ifade etmemektedir.



SEKİL 9: Çalışmada elde edilen endotoksin değerler (EU/ml).

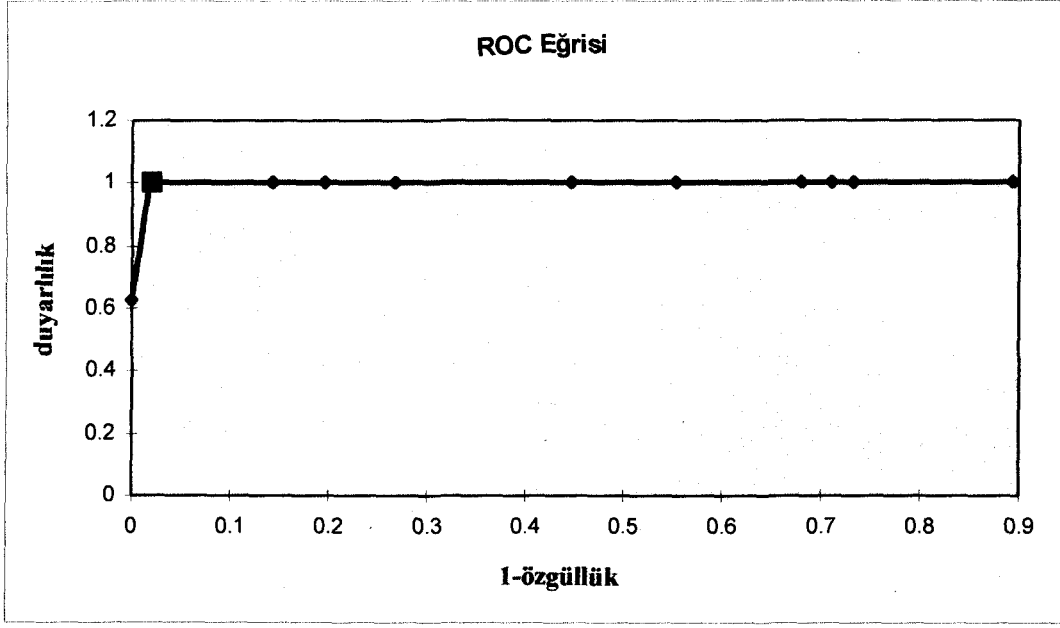
Seriler 1: Tedavi ncesi endotoksin değerler

Seriler 2: Tedavi sonrası endotoksin değerler

TABLO 6: SINIR DEĞER TAYİNİ

No.	Test kriteri (endotoksin değeri-EU/ml)	Duyarlılık	1-Özgüllük	Pozitif kestirim değeri	Negatif kestirim değeri	Doğruluk
1	0.01	100	1.8	12.7	0	0.14063
2	0.02	100	10.7	13.8	0	0.21875
3	0.04	100	26.8	16.3	0	0.3594
4	0.06	100	32.1	17.4	0	0.40625
5	0.08	100	44.6	20.5	0	0.5156
6	0.1	100	55.4	24.2	0	0.678
7	0.12	100	73.2	34.8	0	0.766
8	0.14	100	80.4	42.1	0	0.824
9	0.16	100	85.7	50	0	0.875
10	0.18	100	92.9	66.7	0	0.984
11	0.2	100	98.2	88.9	0	0.9843
12	0.22	100	98.2	91.2	0	1.0
13	0.32	100	98.2	96.4	0	1.0
14	0.38	100	98.2	100	0	1.0
15	1.36	100	62.5	100	94.9	1.0

Gram negatif üremiş diyalizat örneklerden ve kontrollerden elde edilen endotoksin değerlerinin istatistiksel yansımaları sonucunda 'Receiver Operating Characteristic' (ROC) eğrisi gerçekleştirildi. Sınır değeri: 0.38 EU/ml olarak kabul edildi (duyarlılık %100, özgüllük %98.2).



SEKİL 10 : 'Receiver-Operating Characteristic' ROC eğrisi ■0.38 EU/ml endotoksin değerinde %100 duyarlılık ve %98.2 özgüllük saptanmıştır

TARTIŞMA

Sürekli ayaktan periton diyaliz (CAPD) kullanımı, peritonit insidansında bir artışı beraberinde getirmiştir (2,6,9,13,16,37,38,43,62,77-79). Bu artış intermittan periton diyalizi ile rapor edilenin çok üzerindedir (65). Çünkü CAPD tekniği her gün ortalama 4 kez yapılan bir uygulama olup, aynı zamanda bir çok bağlantı noktasının açılıp kapanmasını gerekli kılmaktadır.

Bu hastalarda peritonit gelişimi sıklıkla kateter kontaminasyonuna, kateter çıkış yeri veya tünel enfeksiyonlarına bağlıdır. Peritonitlerin sıklıkla gram-pozitif cilt florasını oluşturan mikroorganizmalara bağlı olması da bu yollarla kontaminasyonu desteklemektedir (5,65). Genital ve gastrointestinal sistemden mikroperforasyon veya translokasyonla peritona geçen mikroorganizmalar ise genellikle gram negatif bakterilerdir (63,88,91,92).

CAPD hastalarında bakteriyel peritonitin kesin tanı ve tedavisi için mikrobiyolojik tanı yöntemleri altın standarttır. Ancak klinik mikrobiyoloji laboratuvarının olası ajanlar hakkında bilgi sahibi olması ve uygun besiyerlerinin kullanılması zorunludur. Diyalizat hacmi, ekim öncesi işlemler (santrifüj ve parçalama gibi), kullanılan besi yeri, inkübasyon modu kültür sonuçlarının duyarlılığını etkileyen faktörlerdir (13,65,83,107,108). En az 60 ml materyalin santrifüjden geçirilip çöktelinin gram boyanması ve kültürünün yapılması kültürde mikroorganizmanın üreme şansını artırmaktadır. Mikroorganizmanın diyalizatta düşük konsantrasyonda bulunması, besi yerinde zor üretilen mikroorganizmaların varlığı ve lökosit içinde kalan mikro-organizmalar kültür sonuçlarında ve gram boyamalarında yanlış negatif sonuçlara neden olmaktadır. Çoğu mikroorganizma başlangıçta hücre dışında bulunur, ancak santrifüj işlemi ile bunların büyük çoğunluğu hücre içine girer (108), lökositlere yapışır, bir araya gelir veya fibrin ile çökebilirler (107). Hücre içine geçen mikroorganizmalar öldürülür veya lökosit yaşadığı müddetçe baskılanırlar. Bu yüzden enfeksiyona rağmen üreme geç olur veya hiç olmaz.

Kültür sonuçlarının halen istenildiği kadar yönlendirici olamayışı, lökosit ve ayırıcı sayımın güvenilir olamaması (65) gibi sorunlar ampirik tedaviyi gündeme getirmiş ve vazgeçilmez kılmıştır. CAPD hastalarında tedavi henüz standart hale getirilememiştir.

Genel öneri periton içine ve/veya sistemik yolla antimikrobiyal tedavinin uygulanmasıdır. Ancak hasta tedavinin yanı sıra ilaç toksisitelerine de maruz kalmaktadır. Daha önce duyarlı olmalarına rağmen vankomisin direnci %0.4 - 14 vakada rapor edilmiştir (38). Bu yüzden önerilen öncelikle birinci jenerasyon bir sefalosporinin tercihen periton içine uygulanmasıdır (16,108,140). Birinci jenerasyon sefalosporinlere alternatif olarak tercih sırasına göre aşağıdaki antibiyotikler kullanılabilir: Nafsilin, klindamisin, vankomisin ve siprofloksasin. Kinolonların çocuk yaş gurubunda kontrendike olduğu unutulmamalıdır. Tedavi klinik peritonit bulguları, kültür pozitifliği ve periton sıvısının bulanıklığı kaybolana kadar devam etmelidir ve bu yaklaşık 2-3 hafta sürer (65).

Patojenlerin belirlenmesinde yetersiz kalan mikrobiyolojik teknikler ve böylece toksik yan etkileri olan antibiyotiklerin ampirik olarak kullanılmasının gerekmesi, ölümcül gram negatif bakteriyel peritonitlerin tanısının hızlı bir şekilde konulmasını sağlayacak yeni bir tekniğin gerekliliğini göstermektedir.

Levin ve arkadaşları (138,139) ve onlardan sonra da Karanicolas ve arkadaşları (141) yaptıkları çalışmalarda, gram negatif mikroorganizmalar tarafından üretilen endotoksin tayini için limulus amebosit lisat (LAL) metodunun, cilt altı epinefrin lokal hemoraji testi ve tavşan pirojen testinden daha hassas olduğunu göstermişlerdir.

İlk olarak Levin, tavşan pirojen testi ile endotoksin negatif olduğu söylenen periton diyaliz sıvılarında LAL tekniği ile endotoksin varlığını göstermişlerdir. Gandhi ve arkadaşlarının (142) da aseptik peritonit tanısı alan CAPD hastalarının diyalizatlarında limulus testi ile endotoksin varlığını göstermeleri bu testin klinik kullanıma girmesi için ilk adımı atmıştır. LAL testi 1980'li yıllarda gram-negatif idrar yolu enfeksiyonları (143), gonoreal üretrit (144) ve menenjit (145) teşhisinde in vitro bir yöntem olarak gösterilmiştir.

Gram negatif sepsis veya baktereminin tanısının konulmasında LAL testinin tanısal değeri konusunda çelişkili raporlar vardır (138,139). Nachum ve arkadaşları (145) bu testin gram-negatif menenjitin erken teşhisinde faydalı bir yöntem olduğunu gösterdiler. CAPD hastalarında 1986-87 yıllarında yapılan çalışmalarda LAL testinin gram negatif peritonit tanısında güvenilir bir in-vitro test olduğu gösterilmiştir (146,147).

LAL testinin gram-negatif idrar yolu enfeksiyon ve gonoreal üretrit teşhisinde kabul gören başarısına rağmen, LAL testinin peritonitteki başarısını ve güvenilirliğini sorgulayan

bazı çalışmalar da mevcuttur. Bowman ve arkadaşları (148) 1992'de CAPD peritoniti tanısında LAL testinin %65.8 duyarlı ve %95 özgün olduğunu rapor etmişler ve bu çalışmadaki düşük duyarlılık LAL testinin gram negatif peritonitin hızlı teşhisi için güvenilir olmadığı sonucunu doğurmuştur. Bir başka çalışmada LAL testinin duyarlılığının düşük olduğunu ve gram boyamasının alternatifi olamayacağını öne sürmüşlerdir (82). Gotto ve arkadaşları 1995 yılında (149) idrar yolu enfeksiyonlarında daha önce gösterilenin tersine LAL testinin klinik gram negatif enfeksiyonlarla bağlantısını gösterememiş ve güvenilir olmadığı kanısını ortaya koymuştur. Öte yandan 1997 başında Ishizaki ve arkadaşları (96) yaptıkları çalışmada gram negatif peritoniti olan CAPD hastalarında LAL testinin %100 duyarlılık ve özgünlüğe sahip olduğunu göstermişlerdir. Dolayısıyla literatürde bu konuda çelişkili sonuçların var olduğu dikkati çekmektedir.

Bizim yaptığımız çalışmada periton sıvısında endotoksin düzeyi ölçümünün gram negatif peritonitin hızlı ve güvenilir olarak tanısının konulmasındaki etkinliğini kanıtlar niteliktedir. Çalışmamızda klinik peritonit tanısı alan hastaların %75'inde (24/32) laboratuarda kültür sonuçları pozitif olarak alındı. Bu kültür pozitifliği oranı gelişmiş ülkelerle aynı düzeydedir. Bunların %12.5'inde (3/24) 72 saatten sonra mikrobiyal üreme tespit edilebilmiştir. Bir gram negatif ve bir gram pozitif üreme 1. haftanın sonunda, bir daha gram negatif üreme ise 8. günde oldu. Bu bulgular geç üremeyi göstermektedir veya başlangıçta kültür negatif peritonit (INGP) olarak adlandırılmaktadır. Geç üremeler sadece işlemde geçmiş lisat test tüplerinde pozitif olmuştur ve rutin işlemlerle hazırlanmış kültürlerde üreme olmamıştır. Daha önce gösterildiği gibi, makrofajlar tarafından mikroorganizmaların sekestrasyona uğradığı, ve makrofajların yaşadığı müddetçe baskılandığı veya öldürüldüğü böylece üremenin geç olduğu veya hiç olmadığı bilinmektedir (83,107,108).

Klinik peritonit tanısı alan hastaların %25'inde (8/32) rutin besiyerlerinde ve lisat test tüplerinde üreme olmadı. Bu hastalar ampirik tedaviyle artan iyileşme gösterdiler ve birinci hafta sonunda çoğunluğu peritonit öncesi durumlarına döndüler.

Tüm kültür pozitif vakaların %58.3'ü (14/24) gram pozitif, %41.6'sı (10/24) gram negatif bakteri üremesi gösterdiler. Çalışmamızda %3 hastada (1/32) diyaliz kateterinin enfeksiyon nedeni ile çıkarılması gerekti. Önceki raporlar gram pozitif üreme için %60-70

(16,35,38,65,72,73) ve gram negatif üreme için %15-30 (13,14,38,65,74) rakamlarını vermektedir. Çalışmamızdaki INGP oranı ve kültür negatifliği daha önce rapor edilenlerle benzerlik göstermektedir sırası ile, %10-15 (38,28,78) ve %3-30 (16,82) rakamlarını verilmektedir.

Çalışmamızdaki 10 gram negatif üremeli diyalizattaki endotoksin düzeyleri 1.3 EU/ml'nin üzerinde kalmıştır (aralığı: 1.53 ± 0.169 EU/ml). Bu değerler tedavi sonrası endotoksin düzeyleri ile karşılaştırıldığında (0.213 ± 0.085 EU/ml), istatistiksel anlamlılığa ulaşılmıştır ($p < 0.0001$).

Peritoniti olmayan kontrol gram hastalarına göre tedavi öncesi ve sonrası gram pozitif üremesi olan hastaların endotoksin düzeylerinin farklı olmadığı görüldü ($p > 0.05$).

Gram-negatif üremesi olan hastalar, kültür negatif peritonitli hastaların tedavi öncesi ve sonrası endotoksin seviyeleri birbirlerinden farklı bulunmadı ($p > 0.05$).

Bu çalışmadaki endotoksin seviyeleri CAPD gram negatif peritonitin hızlı ve güvenilir olarak tanısının konmasındaki etkinliğini bir kez daha kanıtlar niteliktedir. Bu sonuçlarla ulaşılan duyarlılık %100'dür. Önceki raporlarla uyumluluk göstermiştir (96).

Ancak tedavi sonrası gram negatif peritonitli hastalardan endotoksin seviyesi tedaviden sonra gram-pozitif peritonitli hastalar ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık elde edilmiştir ($p < 0.01$).

Bu farklılık aşağıdaki şekliyle yorumlanabilir:

1. Endotoksin klerensinin yavaş olması ve peritonitsiz CAPD hastalarındaki değerlere ulaşmasının 21 günden daha uzun bir süre alması,
2. Gram negatif peritonit sırasında bazal endotoksin düzeyine ek olarak gram negatif bakterilerden büyük miktarda salgılanan LPS eklenince oluşan endotoksin seviyesindeki artışın tekrar bazal seviyelere inmesi için 21 günün üzerinde bir zaman gerekmesi.

Teorik olarak üremide periton immün cevap bozuktur ve periton enfeksiyonlara çok daha duyarlı bir hale gelir. İmmünoglobulinler ve makrofaj-monofaj hücrelerinde kayba bağlı azalma olur (46,47,150). Önceki çalışmalar (96,141,146) gösterildiği gibi peritonit

varlığında bakteri ve endotoksin klerensi tamamen etkin bir retiküloendotelyal (RES) sistemin varlığına bağlıdır. Üremide normalin altında çalışan RES dolayısıyla tedavide gram negatif peritonitli hastalarımızdaki yüksek endotoksin düzeyi bazal seviyelere inmek için 21 günden daha uzun süre gerektiriyor olabilir.

Yapılan bir çalışmada 10 hastanın 4'ünde 3. günde endotoksin aktivitesinin ortadan kalktığı kalitatif yöntemle gösterilmiştir (30).

Çalışmamızda 0.14 EU/ml'ye kadar düşen endotoksin düzeyleri tespit edebilen ölçümsel (kantitatif) bir metod kullanılmıştır. Çalışma hastarında tedavini 21. gününde dahi endotoksin tespit edebilmesinin nedeni duyarlı ve kantitatif bir yöntem kullanmış olduğumuz olmamızdır. Bundan yola çıkarak kantitatif yöntem ile bakılıyorsa 21. günden sonra endotoksin düzeyi ile klinik remisyona ilişkilendirilmesini öneririz.

3. İntrauminal biyofilmlerin varlığı; bunların kalıcı vasıfta olması dolayısıyla mikroorganizma veya ürünlerin biyofilm içinde saklanması, ve kültür negatifliğine rağmen endotoksin titresinde artışa yol açabileceği düşünülebilir.

Bir hastada klinik ve mikrobiyolojik olarak gram negatif peritonitin düzelmesine rağmen, kontrol endotoksin değeri 0.38 EU/ml olarak tespit edildi. Bu hasta 21 günlük tedavi sonrası 10 gün içinde relaps gösterdi. Mikrofilm sürekliliği ve bunların peritoneal kateter içerisinde bakteri saklanması bu seviyede yüksek endotoksin seviyesi ve relapsı açıklayabilir. Bu hastanın kateteri çıkarıldı, tedavi edildi ve daha sonra hemodiyaliz programına alındı.

Gram-negatif ve gram-pozitif kültür sonucu olan peritonitli CAPD hastaları ile kültür negatif sağlıklı CAPD hastalarının endotoksin düzeylerinin karşılaştırıldığı bir çalışma henüz literatürde bulunmamaktadır. Dolayısıyla gram negatif enfeksiyon dışı peritonitlerinde endotoksin oluşumu açısından bir farklılık yaratıp yaratmadığı da çalışmamızda gösterilmiştir. Ayrıca önceki çalışmaların çoğunda Limulus aglütinasyon testi ile gösterilen endotoksin düzeyleri gram-negatif kültür düzeyleri ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda tedavi öncesi ve sonrası gram negatif ve gram pozitif peritonit hastaların endotoksin seviyeleri ile kültür negatif peritonit ve sağlıklı CAPD hastalarının endotoksin düzeyleri karşılaştırılarak sınır değeri elde edilmeye ve bu değerin üzerindeki

değerler için kuvvetle gram-negatif peritonit düşünülmesi sağlanmaya çalışıldı. Çalışmamızda 0.38 EU/ml endotoksin değeri ve üzerindeki değerler 'Receiver-Operating Characteristic' (ROC) eğrisi ile %100 duyarlılıkta ve %98.2 özgürlükte bulunmuştur. Bu değeri kültüre göre gram negatif peritonitli ve diğer hastaları ayırtırmada önemli bir değer olduğu ROC eğrisi ile görülmüştür. Ancak şekilden ve tablodan da anlaşılacağı gibi ayırtırmada kritik olabilecek endotoksin değerlerinin tümünde duyarlılık %100 olmakla birlikte, (yani gerçek hastalar içerisinde gram negatif peritonitli hastaları ayır edebiliyor) 1- özgünlük değerleri değişim göstermekle ve bunun sonucunda 0.38 EU/ml değerinin en uygun değer olduğu düşünülmekte, fakat bu analiz için ROC eğrisi literatürde rastlanan eğrilerden (151) farklılık göstermesi sonucunda bu analizde ROC eğrisinin çok fazla anlamlı olmadığı ancak bir yaklaşım olarak endotoksin değeri 0.38 EU/ml'in önemli bir nokta olabileceğine dikkat çekilebilmektedir.

Sonuç olarak LAL testi CAPD hastalarında karmaşık laboratuvar gereçleri ve özel eğitilmiş personel gerektirmeden gram negatif peritonit tanısında oldukça duyarlı ve özgül aynı zamanda da hızlı bir test olduğu ortaya çıkmaktadır.

Bu sebeple diğer rutin mikrobiyolojik laboratuvar tekniklerinin yanında hızlı güvenilir bir test olması yönüyle LAL testinin de kullanılmasını öneriyoruz. Özellikle ön rutin laboratuvar testlerin başarısız olduğu durumlarda hızla gram negatif peritonit tanısı koyması güvenli sınırlar içinde tedaviyi mümkün kılacaktır.

ÖZET

Son dönem böbrek yetmezliği (ESRD) hastalarında sürekli ayaktan periton diyalizi (CAPD) renal replasman tedavileri arasında oldukça faydalı, ucuz ve güvenli olması ile yerini almıştır.

1970'lerin ortalarında kullanımına başlanmasından sonra hak ettiği seviyede kabul görememesinin en önemli sebebi enfeksiyöz peritonit olmuştur. Çoğunlukla peritonit atakları gram-pozitif bakterilere bağlı olmuştur. Büyük serilerde peritonit vakalarının %30'u gram negatif ajanlarla rapor edilmiştir. Ancak gram negatif peritonit periton diyalizini engelleme, hemodiyalize geri dönme morbidite ve mortalitenin fazla olması gibi ciddi riskleri de taşımaktadır.

Peritonit etkeni mikroorganizmaların erken yakalanması ve tedavisi bakımından değişik teknikler denenmiştir. Bu amaçla büyük hacimlerde diyaliz sıvıları konsantre edilmiş, biyolojik membranlarla süzölmüş, kimyasal ve mekanik yöntemlerle fagositler parçalanmış ve özel besi yerleri kullanılmıştır. Tüm bu mikrobiyolojik tekniklere rağmen çok az bir yarar sağlanmıştır.

Tedavi genellikle ampirik olarak kalmıştır, diyalizat bulanık olunca ve klinik tanı koyulunca tedavi hemen başlanmaktadır. Bakteriyolojik sonuçlar elde edilinceye kadar tedavi hem gram pozitif hem de gram negatif organizmaları kapsayacak şekilde başlanmaktadır; bu süre genellikle 24 saatten fazladır.

CAPD hastalarında gram-negatif peritonitin erken tanınması için daha önce geliştirilen limulus amebosit lisat (LAL) test metodu kullanılarak yapılan çalışmamızın amacı:

1. Gram-negatif hücre duvarı bileşeni olan endotoksinin ölçümsel olarak tayini ve peritonit kültür sonuçları ile ilişkisini araştırmak.
2. Gram-pozitif CAPD peritoniti olan ve klinik olarak peritoniti olmayan hastalarda da endotoksin varlığını araştırmak ve bunların sonuçlarının gram-negatif peritonit sonuçları ile karşılaştırıp güvenli sınır değeri oluşturmak. Bu değerin klinik güvenilirliğini gram-negatif peritonit hastalarında test etmek.

32 klinik peritoniti olan CAPD hastası ve 40 peritoniti olmayan kontrol hastası, toplam 72 hasta çalışmaya dahil edildi. Toplam 102 örnek sıvı kültür ile incelendi. Tüm peritonit hastalar ampirik antibiyotik tedavisi aldılar ve klinik, mikrobiyolojik remisyon sağlanıncaya kadar takip edildiler. Endotoksin seviyeleri tedavi öncesi ve sonrası tüm hastalarda bakıldı.

Klinik peritonit tanısı alan hastaların %75'inin (24/32) kültürlerinde üreme oldu. Bunlar arasında gram negatif bakterilerin oranı %41.6 idi (10/24). Sırasıyla E. koli (%50), Proteus spp. (%20), Enterobakter , Klebsiella (%10) yer aldılar. Gram pozitif peritonit %58.3 ile (14/24) en çok rastlanılan oldu. Stafilokok epidermidis %58, streptokok %21, metisilin dirençli stafilokok aureus %14, enterokok %7 sıklıkta rastlandı. %12.5 hastada (3/24) başlangıçta kültür negatif peritonit (INGP) veya geç üreme oldu. Klinik olarak peritonit tanısı almış olan hastaların %25'inde (8/32) kültürlerinde üreme olmadı. Bir hasta relaps gram negatif üreme sonunda periton diyaliz katateri çekilerek hemodiyalize alındı.

1. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası gram negatif peritonit hastalarında endotoksin konsantrasyonları 1.53 ± 0.169 EU/ml ve 0.214 ± 0.085 EU/ml olarak tespit edildi ($p < 0.0001$).
2. Gram pozitif üreme gösteren hastalarda bu rakamlar sırasıyla 0.102 ± 0.06 EU/ml ve 0.122 ± 0.052 EU/ml olarak bulundu ($p > 0.05$).
3. Klinik peritoniti olan ancak kültür negatif peritonitte tedavi öncesi 0.196 ± 0.025 EU/ml ve tedavi sonrası 0.87 ± 0.031 EU/ml seviyeleri tespit edildi ($p > 0.05$).
4. Tedavi öncesi gram-negatif endotoksin değerleri, tedavi öncesi veya tedavi sonrası gram-pozitif peritonitli ve sağlıklı CAPD grupların endotoksin değerleri ile karşılaştırıldığında, tedavi öncesi gram-negatif gruptaki endotoksin düzeylerinin istatistiksel olarak çok anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($P < 0.001$).
5. Gram negatif tedavi sonrası grubun endotoksin düzeyi ile tedavi öncesi ve sonrası kültür negatif grubun endotoksin düzeyleri arasında farklılık izlenmedi ($p > 0.05$).
6. Gram negatif tedavi sonrası grubun endotoksin düzeyi ile tedavi sonrası gram-

pozitif peritonitli grubun endotoksin düzeyleri arasında farklılık izlenmedi ($p > 0.05$).

7. Tedavi sonrası gram-negatif ile tedavi öncesi gram-pozitif grupların arasındaki endotoksin ölçümlerinin karşılaştırılması ile, tedavi sonrası gram-negatif grupta endotoksin değeri diğer gruba göre daha yüksekti, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P < 0.01$).

8. Peritoniti olmayan grupta endotoksin konsantrasyonu 0.177 ± 0.079 EU/ml bulundu. 21 günlük tedavi sonrası endotoksin seviyesi yüksek olarak kalan (0.38 EU/ml), gram negatif üremesi olan bir hasta tedavi süresi bittikten 2 hafta sonra relaps gösterdi. Bu hastada diyaliz kateteri çekilerek hemodiyaliz programına transfer edildi.

Gram negatif üremesi olan 10 diyalizat örneğinin tamamı 1.3 EU/ml sınırının üzerindeydi. Diğer gruplarda 0.38 EU/ml düzeyi aşılmadı. İdeal sınır değeri olarak 0.38 EU/ml alındığında %100 duyarlılık ve %98.2 özgünlüğe ulaşıldı.

CAPD hastalarında LAL metodu gram negatif peritonitin tanısında yararlıdır. Mükemmel duyarlılık ve özgünlüğe sahip olması, kısa bir sürede analiz sonucunun alınabilmesi ile bu hastalarda uygun antibiyotik tedavisinin erken başlanması mümkün olacaktır. Böylece iyi seçilmiş bir hasta grubunda LAL testi hekimin uygun antibiyotik tedavisini seçmesinde ve buna erken karar vermesinde faydalı olurken tedavinin maliyeti azalacak ve gereksiz toksisiteden hastayı koruyacaktır.

SUMMARY

The process of continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) has provided a useful relatively inexpensive and safe alternative renal replacement therapy for patients with end stage renal disease (ESRD).

Infectious peritonitis however, has remained the main drawback and has limited a more wide-spread acceptance of this modality of therapy since its development in middle 1970s.

An array of disturbances including that of uremia itself render the peritoneal defence systems to suboptimally participate into an inflammatory activity during peritonitis.

Most peritonitis episodes are caused by gram-positive bacteria. Lethal gram-negative peritonitis is reported to occur in about 30% of bacterial peritonitis in most large series, but carry a high risk of discontinuation of peritoneal dialysis, frequent transfers to hemodialysis and an increased morbidity and mortality.

Various techniques have been used to facilitate the recovery of micro-organisms from dialysates, such as processing of large volume of effluents by concentrating techniques, i.e. use of biological membranes, centrifugation, chemical and mechanical disruption of phagocytes in dialysate sediment and the use of selected and specialised enriched media for recovery of suspected micro-organisms. Despite these microbiological aggressiveness the yield has remained disappointing.

Treatment is usually empiric and is usually started immediately after the dialysate has become turbid and the clinical diagnosis made. Therapy is aimed against both gram-positive and gram-negative bacteria until bacteriologic results are available usually after 24 hours.

By utilising the previous knowledge of sensitivity and specificity of Limulus Amoebocyte Lysate (LAL) assay on rapid detection of gram-negative bacteria in biological fluids, aiming at prompt management and avoidance of unnecessary antibiotics exposure to CAPD patients with suspected peritonitis, we embarked on a study with the following goals:

1. Determination of endotoxin (gram-negative cell wall components) levels and find a correlation with culture results of peritonitis in CAPD patients.

2. Determine the presence of endotoxin levels in clinically peritonitis free CAPD patients in their effluents and correlate with endotoxin levels found in gram-negative and gram-positive peritonitis, in order to determine a diagnostic ideal cut-off value and test for its clinical reliability in the management of gram-negative associated peritonitis in CAPD patients.

A total of 72 (32 clinical peritonitis and 40 asymptomatic control) CAPD patients were enrolled in the study. All patients were empirically treated and followed until complete remission, microbiologically documented. Including post treated controls, a total of 102 effluents were cultured and analysed for endotoxin levels.

75 % (24/32) of all clinical peritonitis were culture positive. Out of culture positive 41.6 % (10/24) revealed gram-negative micro-organisms, i.e. E.coli 50%, proteus species 20%, each of enterococcus, klebsiella and pseudomonas species 10%. Gram-positive bacteria accounted for the remaining majority 58.4%, with the following distribution; staphylococcus epidermidis 58%, streptococcus species 21%, methicillin resistant staphylococcus aureus 14%, and enterococcus species 7%. Out of positive culture effluents 12.5% (3/24) had growths beyond 72 hours, these were considered as 'Initial No Growth Peritonitis' or INGP. 25% (8/24) of clinical peritonitis were sterile.

Despite treatment one patient with gram-negative bacteria peritonitis experienced a relapse within 10 days of cessation of therapy. This patient had his catheter removed treated for relapse and was transferred to hemodialysis.

1. Endotoxin concentrations of pre- and post-treated gram-negative peritonitis were; 1.53 ± 0.169 EU/ml and 0.214 ± 0.085 EU/ml ($p < 0.0001$).
2. Gram-positive peritonitis effluents' endotoxin concentrations were 0.102 ± 0.06 EU/ml and 0.122 ± 0.052 EU/ml respectively, ($p > 0.05$).
3. Endotoxin concentrations found in clinical peritonitis but with negative cultures were 0.196 ± 0.025 EU/ml and 0.87 ± 0.031 EU/ml respectively, ($p > 0.05$).
4. Endotoxin levels in pre-treated gram-negative peritonitis compared to pre- and post-treated gram-positive peritonitis and peritonitis-free CAPD patients were statistical significant, ($p < 0.001$).

5. Endotoxin levels in post-treated gram-negative peritonitis compared to pre- and post-treated culture negative peritonitis patients were statistical insignificant, ($p>0.05$).
6. Endotoxin concentrations found in post-treated gram-negative peritonitis when compared to post-treated gram-positive peritonitis CAPD patients were found to be statistical insignificant ($p>0.05$). But was statistical significant when compared to endotoxin levels found in pre-treated gram-positive peritonitis patients, ($p<0.01$).
7. Peritonitis-free CAPD patients' effluents endotoxin levels were at a range of 0.177 ± 0.0079 EU/ml.
8. One of gram-negative patients' post treatment endotoxin concentration were found to be higher as compared to the rest of the group at 0.38 EU/ml. This particular patient experinced a relapse within 10 days after termination of therapy.

All pre-treated gram-negative peritonitis patients' effluents revealed endotoxin concentration well above 1.3EU/ml. The remaining pre- and post-treated groups had levels well below 0.38EU/ml. Formation and persistence of a bio-film within the lumen of a peritoneal catheter during peritonitis is beleived to be a key reason of persistence of higher endotoxin levels and a relapse in one of the patients despite treatment.

By the aid of 'Receiver Operatinal Characteristic' (ROC) plot an ideal cut-off value of 0.38EU/ml. was determined, the value at which LAL assay was found to be 100% sensitive and 92.8% specific for rapid diagnosis of gram-negative peritonitis in CAPD patients.

LAL assay indicates to be a usefull test for rapid diagnosis of gram-negative peritonitis among CAPD patients. Because of it's excellent sensitivity and specificity and relatively short analysis time, this test may aid in the early initiation of appropriate antibiotic therapy, and therefore it is strongly recommended in cases where gram-stain can not innitialy demonstrate a micro-organism. If patients are selected and evaluated carefully LAL test will undoubtedly enable a phycisian to start an initial empiric therapy within safe limits at the same time avoiding potential unnecessary toxicity and cost.

KAYNAKLAR

1. Sheila J McGregor, Nicholas Topley, Achim Jörres, Antony B J Speekenbrink, Anne Gordon, Gerhard M Gahl, Brian J R Junior, J Douglas Briggs, Jeremy H Brock. Longitudinal evaluation of peritoneal macrophage During CAPD: Maturity, cytokine synthesis and arachidonic acid metabolism. *Kidney Int* 1996; 46: 525-33.
2. Roger S Johnson. Home dialysis: The competition between continuous ambulatory peritoneal dialysis and hemodialysis. *JAMA* 1981; 245: 1511-14.
3. Ram Gokal. Peritoneal dialysis and complication of technique. In: Alex M Davison, J Stewart Cameron, Jean-Pierre Grünfeld, David N S Kerr, Ebenhard Ritz, Christopher G Winearl, editors. *Oxford textbook of nephrology: the dialysis patient*. Oxford: Oxford university press, 1998; 2049-74.
4. Janice A Nagy. Peritoneal membrane morphology and function. *Kidney Int* 1996; S56: S2-11
5. A R Morton, M A Singer, C Meer, J Lang, M McMurray, W M Hopman, T A Mackenzie. Assessment of health status in peritoneal dialysis patients: a potential outcome measure. *Clin Nephrol* 1996; 45: 199-204.
6. A G Morgan, R P Burden. Effect of continuous ambulatory peritoneal dialysis on a British renal unit. *BMJ* 1986; 293: 935-37.
7. R Gokal. Replacement therapy for dialysis. In: DJ Weatherwall, JGG Leningham, DA Warell, editors. *Oxford Text book of medicine: Nephrology; chronic renal failure*. Oxford: Oxford university press, 1996: 3306-13.
8. Brian J G Pereira, Leland Shapiro, Andrew J King, Matheos E Falagas, James A Strom, Charles A Dinarello. Plasma levels of IL-1 β , TNF α , and their specific inhibitors in undialysed CRF, continuous ambulatory peritoneal dialysis and hemodialysis patients. *Kidney Int* 1994; 45: 890-96.
9. A Heaton, R S C Rodger, Sellars, T H J Goodship, K Fletcher, N Nikolakakis, M K Ward, R Wilkinson, D N S Kem. Continuous ambulatory

- peritoneal dialysis after the honeymoon: Review of experience in Newcastle. 1979-84. *BMJ* 1986; 293: 938-41.
10. Philip J Held, Friedric K Port, Marc N Turenne, Daniel. S Gaylin, Richard. J Hamburger, Rober A Wolfe. Continuous ambulatory peritoneal dialysis and hemodialysis: comparison of patient mortality with adjustment for comorbid conditions. *Kidney Int* 1994; 45: 1163-69.
 11. Marja M, Ho-Dac-Pannekeet, Raymond T Krediet. Inflammatory changes in vivo during CAPD: What can the effluent tell us?. *Kidney Int* 1996; 50: S12-16.
 12. W D Qiu, S C Tong, Y Hu, H O Li, S M Li. Intermittent whole day peritoneal dialysis (IWPD) in treating chronic renal failure. *Kidney Int* 1992; 42 abstr: 503.
 13. R Gokal, J M Ramos, D M A Fransis, R E. Ferner, T H J. Goodship, G Proud, A J Bint M K Ward, D N S Kerr. Peritonitis in Continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Lancet* 1988; 8312: 1388-91.
 14. E Tielens, M J Nube, J A De Vet, J van Limberk, X Hofman, A Stefens, J A van Gelen. Major reduction of continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis after the introduction of the twin bag system. *Nephrol Dial Transplant* 1993; 8: 1237-43.
 15. M J Fernandes-reyes, R Selgas, E Bosque, C Campo, M A Bajo, K Lopes-Revuelta, A C Jimenez, J R Romero, F De Alvaro, C Rinon. Prospective study of peritoneal function at long term CAPD. *Kidney Int* 1992; 42 abstr. 205.
 16. Matthew E Levison, Larry M Bush. Peritonitis and other intra-abdominal infections. In: Gerald L Mandell, John E Bennett, Raphael Dolin: editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and practice of infectious diseases: New York: Churchill Livingstone, 1995: 705-40.*
 17. Gruer L D, Babb J R, Davies J G, Ayliffe G A, Adu D, Michael J. Disinfection of hands and tubing of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *J Hosp Infect* 1984; 5: 305-12.
 18. Beavis J, Harwood J L. Synthesis of phospholipids by human mesothelial peritoneum. *Perit Dial Int* 1994; 14: 348-55.

19. VanHinsberg WM, Kooistra T. Characterisation and fibrinolytic properties of human omental tissue mesothelial cells: Comparison with endothelial cells. *Blood* 1990; 75: 1490-97.
20. Holmes C, Lewis S. Host defence mechanisms in the peritoneal cavity of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1991; 11: 112-17.
21. McGregory S J, Broch J H. Bactericidal activity of peritoneal macrophages from CAPD patients. *Nephron Dial Transpl* 1987; 2: 104-108.
22. Michiel G H Betjes, Cornelis W Tuk, Dirk G Struijk, Raymond T Krediet, Lambertus Arisz, Elizabeth C M Hoefsmit, Rob H J Beelen. Immuno-effector characteristics of peritoneal cells during CAPD treatment: A longitudinal study. *Kidney Int* 1993; 43: 641-48.
23. Ying Lu, Britta Hylander, Annelie Brauner. Interleukin-10, interferon gamma, interleukin-2, and soluble interleukin-2 alpha receptor detected during peritonitis in the dialysate and serum of patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Int Dial* 1996; 16: 607-12.
24. Keane W F, Comty C M, Verbrugh H A, Peterson P K. Opsonic deficiency of peritoneal dialysis effluent in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1994; 25: 539-43.
25. Goldstein C S, Bamalashsi J S. and lysis of peritoneal macrophages in CAPD. *Kidney Int* 1984; 26: 733-40.
26. Pereira B J. Cytokine production in patients on dialysis. *Blood Purif* 1995; 13: 135-46.
27. Ryan J J, Beynon H L, Rees A J, Cassidy M J. In vitro production of tumour necrosis factor by monocytes cultured from dialysis patients. *Kidney Int* 1993; 41: S26-29.
28. Pearson F C, Dubezak J, Weary M, Anderson J. Determination of endotoxin levels and their impact on interleukin-1 generation in continuous ambulatory peritoneal dialysis and hemodialysis. *Blood Purif* 1988; 6: 207-12.
29. Taylor P C, Paule-Warren L A. Increase microbial yield from continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis effluent after chemical and physical disruption of phagocytes. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 580-83.

30. Davies S J, Suasunno J. Activation of immunocompetent cells in the peritoneum of patients treated with CAPD. *Kidney Int* 1989; 30: 661-668.
31. Petjes M J H, Bos H J. The mesothelial cells in continuous ambulatory peritoneal dialysis effluent and their relation to peritonitis incidence. *Perit Dial Int* 1991; 11: 22-26.
32. Holmes C J, Lewis S L. Comparison of peritoneal WBC parameters from continuous ambulatory peritoneal dialysis patients with high and low incidence of peritonitis. *Am J Kidney* 1990; 3: 258-64.
33. McGregory S J, Broch J H. Longitudinal study of peritoneal defence mechanism in patients on CAPD. *Perit Dial Int* 1989; 9: 115-19.
34. Bos H J, Meyer F. peritoneal dialysis fluid induces changes of mononuclear phagocyte properties. *Kidney Int* 1989; 36: 20-26.
35. G M Barlyne, S Giovanetti, R Augustin, editors. Contribution to nephrology: Peritonitis in CAPD. New York: Karger, V 57: 1987.
36. A M Mikdahl, L Granbom, B G Stegmayr. CAPD bag changing with integrated disconnect system gives lower incidence of peritonitis than with UV-box system. *Adv Perit Dial* 1992; 8: 276-80.
37. Bonnie M Males, J Joseph Walshe, Daniel Amsterdam. Laboratory indices of clinical peritonitis: Total leukocyte count, microscopy and microbiology culture of peritoneal dialysis effluent. *J Clin Microb* 1987; 25: 2367-71.
38. Keane W F, Alexander S R, Baillie G R, Boeschoten E, Gokal R, Golper T A, Holmen C J, Huang C C, Kawaguchi Y, Piraino B, Riella M, Schaefer F, Vas S. Peritoneal dialysis -related peritonitis treatment recommendations 1996 update. *Perit. Dial Int* 1996;16: 557-73.
39. Jarl Ahlmen, Gunnar Steling. Anemia and treatment for chronic renal failure (letter). *Lancet* 1983; 8361: 1247-8.
40. Gokal R, Jakubowski C. 1987 out-come in patients on CAPD: 4 year and lysis of multicentre study. *Lancet* 1987; ii: 1105-09.
41. Gennari J. Acid-base balance in dialysis. *Kidney Int* 1985; 28: 678-88.
42. Bergstrom J, Lindholm B. Nutrition and adequacy of dialysis: How do hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis compare?. *Kidney* 1993; 43: S39-50.

43. Fried L F, Bernadini J, Johnston J R, Piraino B. Peritonitis influences in peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 2176-82.
44. Topley N, Williams J D. Role of peritoneal membrane in the control of inflammation in the peritoneal cavity. *Kidney Int* 1994; 46: S71-78.
45. Achim Jörres, Klaus Ludat, Kai Sander, Katharina Dunkel, Frank Lorenz, Heiko Keck, Ulrich Frei, Gerhard M Gahl. Peritoneal fibroblast and the control of peritoneal inflammation. *Kidney Int* 1996; 50: S22-27.
46. Gerhard Lonneman, Iris Barndt, Volker Kaefer, Marion Haubitz, Ralf Schindler, Stanley Shaldon, Kalr M Koch. Impaired endotoxin-induced interleukin-1 β secretion, not total production of mononuclear cells from ESRD patients. *Kidney Int* 1995; 47:1158-67.
47. Friedlander M A. Interleukin 1 α , TNF and PGE-2 response after incubation of peripheral blood mononuclear cells with LPS. *Adv perit dial* 1991; 7: 142-49.
48. Raymond VonHolder, Norbert Lameire, Marie Anne Waterloos, Nadine Van Lardschoot, Rita De Smet, Pascale Vogelee, Marie Christine, Denise Vijt, Severin Ringoir. Distributed host defence in peritoneal cavity during CAPD: Characterisation of responsible factors in dwell fluid. *Kidney Int* 1996; 50: 643-52.
49. Amos Douvdevani, Jayson Rapoport, Aviva Conforty, Shmuel Argov, Ammon Ovnat, Cidio Chaimovit. Human peritoneal mesothelial cells synthesise IL-1 α and IL- β . *Kidney Int* 1994; 46: 993-1001.
50. Bernad M Babior. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. *N Engl J Med* 1978; 298: 659-68.
51. Nicholas Topley, Tomasz Liberek, Andrew Davenport, Fu-Keung Li, Huw Fear, John D Williams. Activation of inflammation and Leukocyte recruitment into the peritoneal cavity. *Kidney Int* 1996; 56: S17-21.
52. Langhoff E, Blaehr H. Production of E₂ by macrophage in uremia. *Nephrol Dial Transpl* 1991; 6: 966-70.
53. Seckinger P, Lowenthal J W. A urine inhibition of IL-1 activity that block ligand binding. *J Immunol* 1987; 139: 1546-49.

54. Olsson I, Lantz M. Isolation and characterisation of TNF binding protein from urine. *Eur J Hematol* 1989; 42: 270-75.
55. Pereira B J G, Portsiaka D D. In-vitro production of IL-1 receptor antagonists in chronic renal failure, CAPD and hemodialysis. *Kidney Int* 1992; 42: 1419-24.
56. Brauner A, Hyalander B. Interleukin 6 & 8 in dialysate and serum from patients on CAPD. *Am J Kidney Dis* 1993; 22: 430-35.
57. Vas S I, Law I. Microbiologic aspect of bacterial peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1983; 23: 83-92.
58. Cameron J S. Host defends in continuous ambulatory peritoneal dialysis and genesis of peritonitis. *Pediatr Nephrol* 1995; 9: 647-62.
59. Douglas Shemin, Donna Maaz. Gram-negative peritonitis in peritoneal dialysis improved with intraperitoneal ceftazidime. *Perit Dial Int* 1996; 16: 638-40.
60. Scalamogna A, Castelnovo C, De Vecchi A, Ponticelli C. Exit-site and tunnel infections in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1991; 18: 674-77.
61. Holley J L, Bernadini J, Piraino B. Risk factors for tunnel infections in continuous peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 1991; 18: 344-48.
62. Caroline C Johnson, James Boldessare, Methew E Levison. State of the art clinical article, Peritonitis: Update on pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Inf Dis* 1997; 24: 1035-47.
63. Wellington J L, Rdy K. Acute abdominal emergencies in patients on long term ambulatory peritoneal dialysis. *Can J Surg* 1993; 36: 522-24.
64. Popovich R P, Moncrief J W. Continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Ann Int Med* 1978; 88: 449-56.
65. Jack Rubin, Wallace A Rogers, Henry M Taylor, E Dale, Everett Barbara, F Frowant, Leonor V Fruto, Karl D Nolph. Peritonitis during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Ann Intern Med* 1980; 92: 7-13.
66. Balteau P R, Peluso F P. Design and testing of Baxter integrated disconnect system (IDS). *Perit Int Dial* 1991; 11: 131-36.
67. Bouncriastiani U, Bianchi P. A new safe simple connection system CAPD. *Int J Nephrol Urol Androl* 1980; 1: 50-53.

68. Bazzato G, Coli U, Landini S. Six years experience of continuous ambulatory peritoneal dialysis with double bag system. *Perit Dial Bull* 1984; S4: 4-7.
69. Holley J L, Bernadini J, Piraino B. Infecting organisms in continuous ambulatory peritoneal dialysis patient on the Y-set. *Am J Kidney Dis* 1994; 23: 569-73.
70. Saklayen M G. Continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis. Incidence, pathogens, diagnosis, and management. *Med Clin North Am* 1990; 74: 997-1010.
71. Ludlan H A, Young A E. The intervention of infection with staphylococcus Aureus in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Hosp Infect* 1989; 14: 293-301.
72. Wanten G J, Koolen M I, Van Liebergen F J, Jansen J L, Wever J. Outcome and complications in patients treated with continuous ambulatory peritoneal dialysis at a single centre during 11 years. *Neth J Med* 1996; 49: 4-12.
73. Williams J D, Coles G A. Gram-positive infections related to CAPD. *J Antimicrob chemother* 1991; 27: 31-35.
74. A J Bint, R G Finch, R Gokal, H J Goldsmith, B Junor, D Oliver. Diagnosis and management of peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Lancet* 1987; 8537: 845-49.
75. Gari Peer, Irina Serban, Miriam Blum, Shaltiel Cabili, Adrian Iaina. Early diagnosis of gram-negative peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis with *Limulus amoebocyte lysate* assay. *Am J Nephrol* 1992; 12: 19-21.
76. Mirza K, Elzouki AY. Peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis in children living in South Africa. *Pediatr Nephrol* 1997; 11: 325-27.
77. Troidler L, Kliger A S, Goldier S J, Gorban-Brennan N, Braun E, Fikrig M, Finkelstein F O. Continuous peritoneal dialysis associated peritonitis of nosocomial origin. *Perit Dial Int* 1996; 16: 505-10.
78. Bunke M, Brier M E, Golper T A. Culture negative continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis: The net work: 9-study. *Adv Perit Dial* 1994; 10: 174-78.

79. Horton M W, Deeter R G, Sherman R A. Treatment of peritonitis in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Clin Pharm* 1990; 9: 102-18.
80. Neirberger R, Aboushaar M H, Tawan M, Fennell R, Irvani A, Richard G. Peritonitis in children on chronic peritoneal dialysis: analysis at 10 years. *Adv Perit Dial* 1994; 7: 272-74.
81. Brier M E, Aronoff G R. Initial intraperitoneal therapy for continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis: The network 9 peritonitis study. *Adv Perit Dial* 1994;10:141-43.
82. Bezerra D A, Silva M B, Caramari J S, Sugizaki M F, Sadatsume T, Monteli A C, Baretti P. The diagnostic value of gram stain for initial identification of the etiologic agent continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis patient *Perit dial int* 1997; 17: 269-72.
83. P C Taylor. Routine laboratory diagnosis of continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis using centrifugation /lysis and saponin-containing media. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;13: 249-52.
84. Minoru Ando, Inger Lundkvist, Jonas Bergström, Bergt Lundholm. Enhanced scavenger receptor expression in monocyte-macrophages in dialysis patients. *Kidney Int* 1996; 49: 773-80.
85. Ray S M, Piraino B, Holley J. Peritonitis following colonoscopy in peritoneal dialysis patient. *Perit Dial Int* 1990; 10: 97-98.
86. Robert. N. Baldasano, Stephan Schreiber, Richard B Johnston, Robert D Fu, Toshio Mutaki, Richard P McDermott. Crohn's disease Monocytes are primed for accentuated release of toxic oxygen metabolites. *Gastroenterol* 1993;105: 60-66.
87. Steiner R W, Halasz N A. Abdominal catastrophes and other unusual events in continuous ambulatory Peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1990;15: 1-7.
88. Ulrich Schoeffel, Dirk Saeger, Klaus pelz, Richard Salm, Edward H Farthmann. Effect of human bowel wall distension on translocation of indigenous bacteria and endotoxin. *Digest Dis Science* 1994; 39: 490-93.
89. Woodruff P W H, O'Carroll D I. Role of the intestinal flora in a major trauma. *J Inf Dis* 1973; 128: S290-94.

90. Scheifele D W, Olsen E. Spontaneous endotoxemia in premature infants correlation with oral feeding and bowel dysfunction. *J Ped gastroent Nutrit* 1985; 4: 67-74.
91. Bourous G. The intestinal factor in multiple organ failure and shock. *Surg* 1990; 107:108-19.
92. Edmiston C E, Corder R E. Bacterial translocation. *Surg Gynec Obstetr* 1991;173: 73-83.
93. Marja A Boermeester, Irene H Stroatsburg, Alexander P S Havdijik, Catherine Meyer, Wiilma M Frederiks, Roberts J C Wesdorp, Cornelis J F van Noorden, Paul A M van Leerewen. Endotoxin and interleukin-1 related hepatic inflammatory response promotes liver failure after partial hepatectomy. *Hepatology* 1995; 22:1499-06.
94. M Irving. The peritoneum, omentum and Appendix. In: J G G Leningham, DA Warell, editors. *Oxford textbook of medicine: gastrointestinal infections*. Oxford: Oxford university press, 1996; 2007-11.
95. Ambrose N S, Johnson M, Burdow D W. Incidence of pathogenic bacterial from mesenteric lymph nodes and ileal serosa during Crohn's disease surgery. *Br J Surg* 1984; 71: 623-25.
96. Ishizaki M Oikawa K, Miyashita B. Usefulness of endotoxin for assessing continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis by gram-negative organisms. *Adv Perit dial* 1996;12: 199-202.
97. John C Marshall, Nicholas V Christou, Ruth Horn, Jonathan L Meakin. The microbiology of multiple organ failure. *Arch Surg* 1988; 123: 309-15.
98. Ludlam H A Laboratory diagnosis of peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 1757-62.
99. Males BM. Laboratory indices of clinical peritonitis: Total leukocyte count, microscopy, microbiologic culture of peritoneal dialysis effluent. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 2367-71.
100. Fenton P. Laboratory diagnosis of peritonitis in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Clin Path* 1982; 35: 1181-84.
101. Korzets Z, Korzets A, Golan E. Continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis, initial presentation as an acute abdomen with clear peritoneal effluent. *Clin nephrol* 1992; 37: 155-57.

102. Viriyakosol S, Kirkland T. Knowledge of cellular receptors for bacterial endotoxin. *Clin Inf Dis* 1995; 21: S190-95.
103. R Fünfstück, S Surber, C Haufe, M Hartman, G Stein. Ciliated cells in peritoneal fluid. *Clin Nephrol* 1996; 46: 146-47.
104. Knight K R, Polak A. Laboratory diagnosis and oral treatment of continuous ambulatory peritoneal dialysis Peritonitis; *Lancet* 1982; ii: 1301-04
105. Bowman R A, Medley A S, Karthigasu K T. Limulus amoebocyte lysate assay in the diagnosis of PN in patients receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Clin Pathol* 1992; 45: 72-74.
106. Mesnard R, Corvisier J M, Sire J M, Pouedras P, Donnio P Y, Avril J L. Continuous ambulatory peritoneal dialysis: evaluation of three new culture methods. *Ann Biol Clin (Paris)* 1993; 51: 697-700.
107. Peter C Taylor, Laura A Poole-Waren, Regina E Grandy. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 580-83.
108. Hugo A Ludlam, Toby N C Price, A Jayne Berry, Ian Phillips. Laboratory diagnosis of peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 1757-62.
109. David Smalley, Larry M Baddour, Alfred P Klaus. Rapid detection of gram-negative bacteria peritonitis by the Limulus amoebocyte lysate assay. *J Clin microb* 1986; 24: 882 83.
110. Holley.J L, Moss.A H. A prospective evaluation of blood culture versus standard plate technique for diagnosing peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 1989;13:184-88.
111. Forbes B A, Frymoyer P A, Kopecky R T, Wojtaszek L M, Pettit D J. Evaluation of the lysis-centrifugation system for culturing dialysates from continuous ambulatory peritoneal dialysis patients with peritonitis. *Am J Kidney Dis* 1988; 11: 176-79.
112. Lye W C, Wong P L, Leong S O, Lee E J. Isolation of organisms in CAPD peritonitis: A comparison of two techniques. *Adv Perit Dial* 1994; 10: 166-68.

113. Howard R L, Millspaugh J, Teitelbaum I. Adult and pediatric peritonitis rates in a home dialysis program: comparison of continuous ambulatory and continuous cycling peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 1990; 16: 469-72.
114. Mathew Dryden, S J Eykyn. Short course of gentamicin in gram-negative CAPD dialysis peritonitis. *Lancet* 1993; 341: (letter) 497.
115. Ping-nam Wong, Siu-ka Mak, Ka-fai Lee, Lewis H Fung, Andrew KM Wong. A prospective study of vancomycin (vancoled-) induced chemical peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1997; 17: 202-04.
116. Chong T K, Piraino B, Bernardini J. Vestibular toxicity due to gentamicin in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1991; 11: 152-55.
117. John F. Inciardi. Aminoglycoside toxicity. *J infect Dis* 1993; 168:1594-95.
118. Volkmar Braun. Molecular organisation of the rigid layer and the wall of *Escherichia coli*. *J Inf Dis* 1973; 128: S 9-16.
119. Shidong Su, Mary McNamara Ward, Michael A Apicella, Ronald E. Ward. Analysis of the immune response to LPS; Existence of an interspecies cross-reactive idiootype associated with anti-lipid A antibodies. *J Immunol* 1990; 445: 2994-01.
120. Norman D Reed, Judith K Manning, Jon Rudbach. Immunologic responses of mice to lipopolisaccharide from *Escherichia coli*. *J Inf Dis* 1973; 128: S70-73.
121. Taila Mattern, Andreas Thanhauser, Norbert Reiling, Kai-Michael Toellner, Michael Duchrow, Shoichi Kusumoto, Ernst Th. Rietschel, Martin Ernst, Helmut Brade, Haus-Dieter Flad, Arthur J Ulmer. Endotoxin and lipid A stimulate proliferation of human T cells in the presence of autologous monocytes. *J Immunol* 1994; 153: 2996-04.
122. Abraham I Braude. Bacterial endotoxemia. In: Abraham I Baunde, Charles E Davis, Joshua Eierer, editors. *Infectious diseases and medical microbiology*. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996: 51-60.
123. C A Bona. Fate of endotoxin in macrophages: Biological and ultrastructural aspects. *J Inf Dis* 1973; 128: S74-81.

124. Joseph W Shands. Affinity of endotoxin for membranes. *J Inf Dis* 1973; 128: S197-201.
125. Chromogenix AB. Chromogenix coatest gel-LAL user's manual. Mölndal: 1996.
126. Douglas B Kuhns, W Gregory Alvord, John I Gallin. Increased circulating cytokines, cytokine antagonists, and E-Selectin after intravenous administration of endotoxin in human. *J Inf Dis* 1995; 171: 145-52.
127. Edward H Kass, Phillip J Porter, Michael W McGill, Ennio Vivaldi. Clinical and experimental observations on the significance of endotoxemia. *J Inf Dis* 1973; 128: S299-302
128. Erwin Neter, Hi Yun Whang, Hubert Mayer. Immunogenicity and antigenicity of endotoxic LPS: Reversible effects of temperature on immunogenicity. *J Inf Dis*. 1973; 128: S58-60.
129. Sheldon E Greisman, Richard B Hornick. Mechanisms of endotoxin tolerance with special reference. *J Inf Dis* 1973; 128: S265-76.
130. M P Glauser, D Heumann, J D Baugarter, J Cohen. Pathogenesis and potential strategies for prevention and treatment of septic shock *Clin Inf Dis* 1994; 18 (suppl 2):S205-16
131. Anne S Goldie, Kenneth C H Fearon, James A Ross, Robin Barclay, Ruth E Jackson, Ian S Grant, Graham Ramsay, Anne S Blyth, J Cameron Howie. Concept in emergency and critical care; Natural cytokine antagonists and endogenous Antiendotoxin core antibodies in sepsis syndrome. *JAMA* 1995; 274: 172-77.
132. Ramzi S Cotran, Vinay Kumar, Stanley Robins, editors. Inflammation and repair. Robins' pathologic basis of disease. Philadelphia: Saunders, 1994: 51-92.
133. Charles A Dinarello, Sheldon M Wolff. Pathogenesis of fever and the acute phase response. In: Gerald L Mandell, John E Bennett, Raphael Dolin, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and practice of infectious diseases: fever. New York: Churchill Livingstone, 1995: 530-36.
134. Marisa Gallichio, Peter Hufnagl, Johann Wajta, Peter Tipping. INF- γ inhibits thrombin and endotoxin-induced plasminogen activator inhibitor type 1 in human endothelial cells. *J immunol* 1996; 157: 2610-17.

135. Francesco Violi, Domenico Ferro, Stefania Basili, Mirella Saliola, Claudio Quintarelli, Cesare Alessandri, Corrado Cordora, Association between low grade disseminated intravascular coagulation and endotoxemia in patients with liver cirrhosis. *Gastroenterol* 1995; 109: 531-39.
136. Thomas C Bithel. Disorders of hemostasis and coagulation, In: G Richrd L, Thomas C Bithel, John Foester, John E Athens, Lohn N Lukens, editors. *Winthrobe's clinical hematology: acquired coagulation disorders*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993: 1473-14.
137. Thomas L. Role of epinephrine in reactions produced by endotoxin of gram-negative bacteria: Hemorrhagic necrosis produced by epinephrine in skin of endotoxin treated rabbits. *J Exper Med* 1956; 104: 865-880.
138. Jack Lewin, T Edwin Poore. Gram-negative sepsis: Detection of endotoxin with Limulus test. *Ann Int Med* 1972; 76: 1-7.
139. Jack Lewin, T Edwin Poore, Neil P Zauber, Ronald S Oser. Detection of endotoxin in blood of patients with sepsis due to gram-negative bacteria. *New Engl J Med* 1970; 283: 1313-16.
140. Holley J L, Bernadini J, Perlmutter J A, Piraino B. A comparison of infection rates among older and younger patients on continuous peritoneal dialysis. *Perit dial Int* 1994; 14: 66-69.
141. S Karanicolas, D G Oreopoulos, Sh Izatt, A Shimizu, H Sepp, R F Manning, G A DeVeber, T Darby. Epidemic of aseptic peritonitis caused by endotoxin during chronic peritoneal dialysis. *N Engl J Med* 1977; 296:1336-37.
142. V C Gandhi, M R Kamadana, T S Ing, J T Daugirdas, G W Viol, J Robinson, W P Geis, J E Hano. Aseptic peritonitis in patients in maintenance peritoneal dialysis. *Nephron* 1974; 24: 257-59.
143. Berger D, Boelke E, Seidelman M, Beger HG. Evaluation of endotoxiuria for diagnosis of UTI after major surgical procedures. *Clin Chim actra* 1996; 344: 155-61.
144. Rechard B Prior, Vincent A Spagna, Rapid evaluation of female patients exposed to gonorrhoea by use of Limulus lysate test. *J Clinic Micro* 1982; 3:487-89.

145. Nachun R. Rapid detection of gram negative bacteria meningitis by LAL. *N Engl J Med* 1973; 289: 931-34.
146. David L Smalley, Larry M Boddur, Alfred P, Kraus. Rapid detection of gram-negative bacterial peritonitis by the Limulus ameobocyte lysate assay. *J Clinic Microb* 1986; 5:882-83.
147. Michael D Clyman, Alicia Raymond, Dana Colen, Charlene Moffit, Charles Wolf, Eric G. Neilsen. The Limulus ameobocyte lysate assay; A rapid and sensitive method for diagnosing early gram-negative peritonitis in patients undergoing CAPD. *Arch Intern Med* 1985; 147: 337-40.
148. Bowman R A, Medley A S, Karthigasu K T. Limulus amoebocyte lysate assay in the diagnosis of peritonitis in patients receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Clin Pathol* 1992; 45: 72-74.
149. Goto T, Makinose S, Ohi Y. Plasma endotoxin concentration in patients with UTI. *Int J Urol* 1995; 2: 238-42.
150. T E Miller, G Findon. Clearance of bacteria challenge to the peritoneal cavity in subjects undergoing peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1994; 46: abstr. 942.
151. Mark H Zweig, Gregory Campbell. Receiver-Operating Characteristic (ROC) plots: A fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem* 1993; 39: 561-77.