

Anti TB & PNB Kit®

ANTİMİKOBAKTERİYEL İLAÇLARA DUYARLILIK VE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS KOMPLEKS VE TUBERKÜLOZ DIŞI MİKOBAKTERİLERİN (MYCOBACTERIA OTHER THAN TUBERCULOSIS –MOTT–) AYRIMI İÇİN HIZLI SIVI KÜLTÜR KİTİ

Katalog No: TB250

Kullanım Yönergesi

In Vitro Kullanım İçindir

Ürünün ismi:

Anti TB & PNB Kit®

Kullanım Amacı:

Anti TB & PNB Kit® mikobakterilerin antimikobakteriyel ilaçlara duyarlılıklarının hızlı bir şekilde belirlenmesinde ve *M. tuberculosis* complex (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*) türlerinin, tüberküloz dışı (mycobacteria other than tuberculosis – MOTT–) mikobakteri türlerinden hızlı ayırımında kullanılan bir kittir.

Genel bilgi:

TB Medium® içerdigi çoklu renk belirteçleri ile mikobakterilerin üremesinin erken saptanmasını sağlayan bir sıvı kültür besiyeridir. Ayrıca, **TB Medium®** mikobakteri üremesini kontaminasyondan ayırt etme özelliğine de sahiptir. Besiyerinin ekim yapılmadan önceki kırmızı rengi mikobakteri üremesi ile sarıya, kontaminant birçok bakteri veya mantar türleri üreyecek olursa yeşile döner. Renk değişikliği koloniler görünür hale gelmeden önce gerçekleşir. **TB Medium®** radyoaktif madde veya floresan boya içermez; değerlendirme için radyoaktivite sayıcı, ultraviyole ışını ve özel bir okuyucu gerektirmez. Renk değişikliği çıplak gözle kolayca değerlendirilebildiği gibi tüpler çok gelişmiş bir otomatik inkübatör ve okuyucu olan **TBReader®** ile de izlenebilir.

Hastadan alınmış örneklerden bir mikobakteri türü üretildiği zaman bunun *M. tuberculosis* veya başka bir mikobakteri türü (MOTT) olup olmadığının ayırt edilmesi önemlidir. Birçok olguda MOTT insanlar için patojen olmayabilir ve tedavi gerektirmeyebilir. Üretilen mikobakterinin hastalığa neden olabilen bir MOTT türü olması durumunda ise *M. tuberculosis* enfeksiyonunu tedavi etmekte kullanılanlardan farklı ilaçlarla tedavi etmek gerekebilir. **TB PNB®** para-nitro-benzoik asit (PNB) içeren bir **TB Medium®** türüdür. PNB *M. tuberculosis* kompleks grubuna ait bakterilerin üremesine engel olurken, tüberküloz dışı mikobakterilerin üremesine engel olmaz ve böylece iki grubun birbirinden ayırt edilmesini sağlar. Dünyada hızla artmakta olan ilaç direnci mikobakterilere duyarlılık testi yapılmasının önemini artırmıştır. **Anti TB & PNB Kit®** içinde yer alan antitüberküloz ilaçları içeren besiyerleri sayesinde hızlı duyarlılık testi yapılabilmektedir. Hastaların tedavilerinin yönlendirilmesinde tür saptama ve duyarlılık testlerinin hızla gerçekleştirilerek erken sonuç verilmesi her yönden önemli kazançlar sağlamaktadır.

Yöntemin kısıtlı yanları:

Nadir de olsa tüberküloz dışı bazı mikobakteri türlerinin de PNB tarafından üremeleri engellenebilir. **TB PNB®** sadece *M. tuberculosis* kompleks veya MOTT ayrımı yapar, mikobakterinin tam tür ismini belirlemez. Tam tür isminin belirlenmesi için ek incelemelerin yapılması gereklidir.

Yöntemin bilimsel temeli:

Mikobakterinin **TB Medium®**, ve antitüberküloz ilaçlar INH (**TK INH®**), rifampisin (**TB RIF®**), streptomisin (**TB STR®**), ve ethambutol (**TB EMB®**) içeren besiyerleri ayrıca **TB PNB®** 'de üremesi karşılaştırılır. **TB Medium®** da üreme oluyor **TB PNB®** de üreme olmuyorsa bu mikobakterinin *M. tuberculosis* kompleks grubuna ait olduğunu gösterir. Eğer mikobakteri her iki besiyerinde de üreyorsa bu mikobakterinin tüberküloz dışı bir tür (MOTT) olduğunu gösterir. **TB Medium®** da üreme oluyor, antitüberküloz ilaçları içeren besiyerlerinde üreme olmuyorsa mikobakteri bu ilaçlara duyarlı, ilaçlı besiyerlerinde üreme oluyorsa, üreme olan besiyerindeki ilaca dirençlidir.

İçerik:

TB Medium® da polipeptitler, karbohidratlar, tuzlar, renk belirteçleri ve vitaminler bulunur (beyaz kapak).

Suspension Tube T80® Tween80 çözeltisi içerisinde 1mm çapında cam boncuklar içermektedir (beyaz kapak).

Dilution Tube T80® Tween80 çözeltisi içermektedir (beyaz kapak).

Antimikobakteriyel madde içeren tüplerdeki derişim şu şekildedir:

- **TB INH®**: INH 0,1µg/mL
- **TB RIF®**: Rifampin 1,0µg/mL
- **TB STR®**: Streptomycin 0,5µg/mL
- **TB EMB®**: Ethambutol 2,5µg/mL
- **TB PNB®**: Para-nitro benzoic acid (PNB) 250µg/mL

Dikkat edilmesi gerekenler ve uyarılar:

- Canlı dışında (in vitro) kullanım içindir.
- Tüpler kullanımdan hemen önce açılmalıdır.
- Ekimden sonra tüplerin kapakları tüpteki gazların değişimini izleyebilmek için sıkıca kapatılmalıdır.
- Mikobakterilerin tanısında kullanılan laboratuvar yöntemleri, laboratuvar kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi açısından özel önlemler gerektirir. Örnek işleme, düzey II biyogüvenlik odacığında gerçekleştirilmelidir. Bu işlemleri gerçekleştirecek kişiler özel eğitim almış olmalıdır.
- Laboratuvar enfeksiyonu olasılığını en aza indirecek şekilde ek önlemler alınmalıdır. En azından, örnek işleme, giriş çıkışı laboratuvar çalışanları ile sınırlandırılmış alanlarda yapılmalıdır. Bu alanda yüzeyler, bir yüzey dezenfektanı ile silindiğinde kolayca temizlenebilecek şekilde olmalıdır.

Genel güvenlik kuralları:

- Enfeksiyon etkeni içermesi olasılığı olan örneklerle çalışırken daima eldiven ve maske takılmalıdır.
- Pipetleme, çözelti ekleme, boşaltma gibi işlemler daima düzey II biyogüvenlik odacığında gerçekleştirilmelidir.
- Hiçbir zaman ağızla çekerek pipetleme yapılmamalıdır.
- Bakterilerin çöktürülmesi sırasında aerosollerin önlenmesi için hava geçirmez kapaklı sepetleri olan soğutmalı santrifüjlerin kullanılması önerilmektedir.
- Kontamine bir sıvı dökülecek olursa %2,5' lik hipo-klorit çözeltisi ile temizlenmelidir.
- Sodyum hidroksit - sodyum sitrat çözeltisi veya dezenfektan çözelti göz, deri veya mukozal yüzeylerle temas ederse acilen su ile yıkanmalı ve acil tıbbi yardım istenmelidir.
- Tüpler çevre güvenliğine uygun şekilde atılmalıdır.

Saklama koşulları:

2 ila 8°C'da saklayınız.

Bozulma belirtileri:

Ekim öncesi besiyerinin rengi sarıya ya da yeşile dönmüşse kullanmayınız.

Örnek hazırlama:

Löwenstein-Jensen, Middlebrook Besiyeri, **TB Media®** veya **TB Media®** gibi herhangi bir besiyerinde üretilmiş mikobakteri **Anti TB & PNB Kit®** ile incelemeye alınabilir. Mikroskopi ile aside dirençli boyanan basil (ARB) pozitif olduğu saptanmış örneklerde zaman kazanmak için doğrudan duyarlılık testi ve tiplendirme yapılabilir.

Önerilen Uygulama:

Ekimler düzey II biyogüvenlik odasında yapılmalıdır.

Verilen malzemeler:

Ürün 1 veya 15' lik setler halinde karton kutularda sunulmaktadır. Her set 1 **TB Medium®**, 1 **TB PNB®**, 1 **TB INH®**, 1 **TB RIF®**, 1 **TB STR®**, 1 **TB EMB®**, 1 **Suspension Tube T80®** ve 1 **Dilution Tube T80®**'den oluşmaktadır.

Zaman kısıtlamaları:

Örnek işlenmesinden ekime dek geçen sürenin üreme üzerine etkisi belirlenmemiş olmakla birlikte örnek işlendikten hemen sonra ekim yapılması mikobakterilerin üretilme şansını artırabilir.

Gerekli ek malzemeler:

- Düzey II biyogüvenlik odacığı.
- Mikrobiyolojik ekim yapmak için gerekli malzeme ve düzenekler.

Sıcaklık:

Örnek işleme ve ekim oda sıcaklığında yapılmalıdır. İnkübasyonlar 37°C'da gerçekleştirilmelidir.

Anti TB & PNB Kit®

Uygulama:

Mikobakteri kültürü katı besiyerinde ise:

1. Katı, Löwenstein Jensen gibi besiyerlerinde üretilmiş mikobakteri kolonilerinden alarak **Suspension Tube T80®** içerisinde 1,0 Mc Farland bulanıklığında mikobakteri süspansiyonu hazırlayınız. **TB SLC®** (bifazik) veya **TB SLC®** (sıvı) besiyerlerinde üretilmiş mikobakteri süspansiyonundan 200µl **Suspension Tube T80®** içerisine aktarınız ve vorteks yardımı ile karıştırınız.
2. Cam boncuklu tüpteki süspansiyondan **Dilution Tube T80®** seyreltim tüpüne 500µL aktararak karıştırarak seyreltiniz.
3. Bir **TB Medium®**, birer tane antimikobakteriyel ilaç içeren tüp ve bir **TB PNB®** üzerine hasta ve örneğe ait gerekli bilgileri yazınız.
4. Tüplerin kapağını sıra ile açınız.
5. Her tüpe 200µL mikobakteri süspansiyonu ekiniz. Sıvı besiyerini pipet ile birkaç kere çekip vererek mikobakterilerin eşit dağılımını sağlayınız.
6. Kapağı sıkıca kapatınız (**ÇOK ÖNEMLİ:** Besi yerindeki renk değişikliği tüpteki oksijenin tüketilip, CO₂ birikmesine bağlı olduğundan kapaklar mutlaka gaz geçirmeyecek şekilde sıkıca kapatılmalıdır.)

Mikroskopi ile ARB+ olduğu saptanan klinik örneklerden, kültürde mikobakteri üretilmeksizin duyarlılık testi ve tiplendirme yapılması olanaklıdır.

NALC-NaOH dekontaminasyon ve yoğunlaştırma yöntemi ile hazırlanmış örnekler **TB Medium®** ve çeşitlerine eklemeye uygundur. Ekilecek işlenmiş örneğin son pH' ı 7,0 ve 7,8 arasında olmalıdır. Dekontaminasyon ve yoğunlaştırma işlemi için **DIAGNOTİS A.Ş.** 'nin dekontaminasyon ve konsantrasyon kitlerinin kullanılması önerilir. Bu kit ile hazırlanan örneklerde uygun pH kolayca ayarlanır. Ekimler düzey II biyogüvenlik odacığında yapılmalıdır. Doğrudan tiplendirme yapıldığında kültür amacı ile **TB Medium®** besiyerine ekim yapılmış olur ancak **TB Medium®** da kontaminasyon oranı seçici besi yeri **TB SLC®** 'den yüksek olabileceğinden **TB SLC®** ye de ekim yapılması önerilir. **TB Medium®**, antitüberküloz ilaç içeren tüpler ve **TB PNB®** de kontaminasyon olursa **TB SLC®** 'de üretilen mikobakteriden işlemler tekrarlanabilir.

ARB+ klinik örneklerden doğrudan duyarlılık testi ve tiplendirme uygulaması:

1. Klinik örneğin dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemini tercihen **Decosorb®**, **Mycosent®** veya **Mycodec®** kullanarak ekime hazırlayınız. (**Decosorb®**, **Mycosent®** veya **Mycodec®** kullanıyorsanız kullanım yönergelerinde önerilen uygulamayı yapınız).
2. Yukarıda yazılı işlemleri üçüncü basamaktan başlayarak uygulayınız.

İnkübasyon:

Tüpleri standart bir 37°C inkübatöre veya **TBReader®** a yerleştiriniz. **TBReader®** kullanıyorsanız hasta ve örneğe ait bilgileri kaydediniz. Programda duyarlılık ve tür saptama seçeneğini seçiniz.

Sonuçların değerlendirilmesi:

Gözle değerlendirme:

Laboratuvarınızda **TBReader®** bulunmuyor ve tüpler standart 37°C inkübatörde bekletiliyorsa tüplerdeki üreme gözle kolayca değerlendirilebilir. Tüplerdeki renk değişikliği günlük olarak kontrol edilmelidir.

Besiyerlerinin orjinal kırmızı renginin sarıya dönmesi mikobakteri üremesini gösterir. Test, **TB Medium®** tüpü sarıya döndüğü zaman değerlendirmeye alınmalıdır. Bu sırada **TB PNB®** kırmızı kalmışsa bu mikobakteri türünün *M. tuberculosis* kompleks grubuna ait olduğunu gösterir. Eğer **TB Medium®** sarıya döndüğünde **TB PNB®** de sarıya dönmüşse bu mikobakterinin tüberküloz dışı bir tür (MOTT) olduğunu gösterir ("Yöntemin kısıtlı yanırları" na bakınız). PNB bazı mikobakteri türlerinin üremesini yavaşlatabilir. Eğer **TB MEDIUM®** rengi sarıya döndüğünde **TB PNB®** kırmızı ise kesin sonucu vermeden önce 48 saat daha **TB PNB®** 'de üreme olup olmadığının gözlenmesi önerilir. Eğer **TB Medium®** sarıya

döndüğünde antimikobakteriyel ilaç içeren bir tüp sarıya dönmüşse bu mikobakterinin o ilaca dirençli, kırmızı kalmış ise duyarlı olduğunu gösterir. Mikobakteri süşunda bazen kısmi direnç olabilir. Bu nedenle **TB Medium®** rengi sarıya döndüğünde ise kesin sonucu vermeden önce 48 saat daha ilaç içeren tüplerde üreme olup olmadığının gözlenmesi önerilir. Tüplerden herhangi birinde rengin yeşile dönmesi kontaminasyonu gösterir.

TBReader® ile değerlendirme:

Tüplerdeki renk değişikliği **TBReader®** tarafından otomatik olarak izlenmekte ve sonuç size sistem tarafından bildirilmektedir.

Çok önemli:

Besiyerlerindeki renk değişikliği sadece üremenin erken saptanmasını ve üreyen mikroorganizmanın türü hakkında bir öngörü elde edilmesini sağlar. Renk değişikliği görülen tüplerden örnek alınarak yayma hazırlanmalı ve aside dirençli boyama yapıldıktan sonra mikroskop ile incelenmelidir. Bu şekilde kültürde üreyen mikroorganizmanın mikobakteri veya başka mikroorganizma olup olmadığı belirlenmelidir. **Kesin sonuç bu konuda deneyimli bir kişi tarafından mikroskopla inceleme sonrasında verilmelidir.**

Kalite kontrol:

Kalite kontrol için aşağıdaki mikroorganizmalar kullanılır ve ekim ve 37°C' da inkübasyon sonrası karşılıklarında belirtilen renkler elde edilir:

<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra:	TB Medium® ...	Sarı
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra:	TB INH®	Kırmızı
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra:	TB RIF®	Kırmızı
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra:	TB STR®	Kırmızı
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra:	TB EMB®	Kırmızı
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra:	TB PNB®	Kırmızı
<i>Mycobacterium smegmatis</i> :	TB MEDIUM® ...	Sarı
<i>Mycobacterium smegmatis</i> :	TB INH®	Sarı
<i>Mycobacterium smegmatis</i> :	TB RIF®	Sarı
<i>Mycobacterium smegmatis</i> :	TB STR®	Kırmızı
<i>Mycobacterium smegmatis</i> :	TB EMB®	Kırmızı
<i>Mycobacterium smegmatis</i> :	TB PNB®	Sarı

Dirençli *M. tuberculosis* WHO koleksiyon suşları

TB INH®, TB RIF®, TB STR®, TB EMB®..... WHO

sonuçları ile uyumlu olarak sarı ya da kırmızı

Ekim yapılmamış besiyeri:Kırmızı

Yöntemin kısıtlı yanırları:

Dekontaminasyon ve yoğunlaştırma işlemi sonunda örneğin pH' sı 7.4 ± 0.4 olmalıdır. NaOH tarafından oluşturulan yüksek pH nötralize edilemezse, bu tür örneğin ekimi sonrasında **TB Medium®**, ilaçlı besiyerleri ve **TB PNB®** nin rengi kırmızıdan mora dönebilir. Bu durum mikobakterinin üremesini yavaşlatabilir veya tamamen engelleyebilir. Örnek işleme için **Decosorb®**, **Mycosent®** veya **Mycodec®** kullanılması ve böylece uygun pH'nın sağlanması önerilir. pH' nın iyi ayarlanması için fosfat tamponu ile nőtarlizasyon ve santrifüj işlemi ile çöktürme sonrasında üst sıvı tamamen dökülmelidir.

Performans özellikleri:

Anti TB & PNB Kit® kullanarak mikobakterilerin antimikobakteriyel ilaçlara duyarlılıklarının tespiti ve *M. tuberculosis* complex ve MOTT ayrımı klasik besiyerleri ile yapılabildiği kadar daha kısa zamanda yapılabilmektedir. Bu süre mikobakteri türünün üreme hızına bağlı olmak üzere 2 ila 14 gün arasında değişmektedir.^{1,2}

Kaynaklar:

- 1.Kocagöz T., A. Alp, A. Albay. A new rapid non-radioactive medium for culturing mycobacteria that also enables visually differentiation of mycobacterial growth from contamination. American Society for Microbiology, 100th General Meeting, Los Angeles, May 21-25, 2000.
- 2.Kocagöz T., Altın S., Türkyılmaz Ö., Taş İ., Yuca P., Bolaban D., Yeşilyurt E., Öktem S., Aytekin N., Şınık G., Mozioglu E., Silier T. The efficiency of TK Culture System in the diagnosis of tuberculosis. Diagn Microbiol Infect Dis. 2012 72(4):350-357.

Üretici firma:

DIAGNOTİS Biyoteknoloji Ürünleri Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi

Cevizli Mahallesi Hızır Reis Sokak No: 27 / 3 Maltepe 34846

İSTANBUL, TÜRKİYE

Telefon:

0216 606 05 46



Katalog numarası: TB250

