

Diagno LJ® Standart veya "Clever" Tüpte

MİKOBAKTERİ BESİYERİ

Katalog No: LJ001-999

Kullanım Yönergesi

In vitro kullanım içindir

Ürünün İsmi:

Diagno LJ®

In vitro kullanım içindir.

Ürün tanımı ve kullanım amacı:

Löwenstein-Jensen (LJ) mikobakterileri üretmek için hazırlanmış, yuzylı aşkın süredir kullanılan klasik yumurta temelli besiyeridir. LJ hazırlanırken katılaşması için besiyerine yumurta eklendikten sonra 50 dakika 85°C'de tutulması gerekir. Bu ısıtma işlemi yumurtadaki bakteri üremesi için gerekli bazı maddelerin bozulmasına neden olur. **Diagno LJ®** temel içerik olarak LJ ile aynı olmasına karşın, özel formülü sayesinde yumurta eklendikten sonra ısıtmaya gerek kalmadan katılaşır. Böylece pişirme sırasında bozulan üreme için gerekli bazı maddelerin oranı LJ besiyerine kıyasla daha fazla olur. Bu, mikobakterilerin üremesini hızlandırır.

Yöntemin temeli:

Yöntemin Özeti ve Açıklaması:

Klinik örnek dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemlerinden geçirildikten sonra besiyerine ekilir. Ekimden 2-6 hafta sonra koloniler görülür hale gelir.

Sınırlamalar:

Diagno LJ® gliserol içerir. Besiyerine gliserol eklemek *Mycobacterium tuberculosis*'in üremesini hızlandırırken, *M.bovis*'in pek çok kökeni için inhibe edici etkiye sahiptir. *M.bovis* izolasyonu için gliserolsüz **Diagno LJ®** kullanılmalıdır.

Mikobakteri Üremesinin Temelleri ve Besiyerinin Özellikleri:

Diagno LJ® mikobakteriyel üreme için gerekli olan tüm besinleri içeren zengin bir besiyeridir. Yumurta ekledikten sonra besiyerinin ısıtılmadan katılaştırılması, besiyerine ek zenginlik katmaktadır. Yumurta albümini, mikobakteriyel üreme sırasında ortaya çıkan, toksik yağ asitlerine bağlanır. Besiyerine yeşil rengini veren malaşit yeşili, diğer pek çok farklı türde bakterinin üremesini inhibe ederek bu boyaya karşı dirençli olan mikobakteriler için seçici bir besiyeri oluşturur.^{1,2}

İçerik:

Potasyum dihidrojen fosfat, magnezyum sülfat, magnezyum sitrat, asparajin, malaşit yeşili, gliserol, kıvam artırıcı kimyasallar ve yumurta.

Dikkat edilmesi gerekenler ve uyarılar:

Mikobakterilerin tanısında kullanılan laboratuvar yöntemleri, laboratuvar kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi açısından özel önlemler gerektirir. Örnek işleme, düzey II biyogüvenlik odacığında ve giriş çıkışı laboratuvar çalışanları ile sınırlandırılmış alanlarda yapılmalıdır. Bu alanda yüzeyler, bir yüzey dezenfektanı ile silindiğinde kolayca temizlenebilecek şekilde olmalıdır. Klinik örneklerde bakteriler dışında Hepatit B virüsü, "Human Immunodeficiency Virus" (HIV) gibi başka patojen mikroorganizmalar da bulunabilir. Kan ve başka vücut sıvıları kullanılırken evrensel ve laboratuvarınızın güvenlik kurallarına uyulmalıdır. Eğer bir tüpten sızıntı saptanır, herhangi bir yüzey kirlenirse uygun bir yüzey dezenfektanı ile laboratuvarınızın yönergelerine uygun olarak temizleyiniz.

Genel güvenlik kuralları:

- Enfeksiyon etkeni içermesi olasılığı olan örneklerle çalışırken daima eldiven ve maske takınız.
- Pipetleme, çözelti ekleme, boşaltma gibi işlemleri daima düzey II biyogüvenlik kabininde gerçekleştiriniz.
- Hiçbir zaman ağızla çekerek pipetleme yapmayınız.
- 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.
- Örnekler içerisinde Hepatit B ve HIV gibi patojen mikroorganizmalar bulunabilir. Kan veya vücut sıvıları ile kontamine tüm örneklerin işlenmeleri sırasında uluslararası önlemler ve kendi laboratuvar yönergenize uyulmalıdır. Tüplerden sızıntı olursa veya taşıma veya toplama sırasında kazara örnek dökülürse, mikroorganizma kontaminasyonunun önlenmesi ile ilgili yayınlanmış yönergeleri uygulayınız.
- İş biten malzemeleri çevre güvenliğine uygun şekilde atınız.

Saklama koşulları:

Tüpler ağız sıkı kapatılmış olarak, 2-8°C'de saklanmalıdır.

Bozulma belirtileri:

Besiyerlerinde renk değişikliği, kontaminasyon, kuruma veya çatlama söz konusu ise besiyerini kullanmayınız.

Örnek toplama ve hazırlık:

Balgam gibi m. tuberculosis dışında başka mikroorganizmalar içeren klinik örneklerin **Diagno LJ®** besiyerine ekimine hazır hale getirebilmek için dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemi gereklidir.³ beyin omurilik sıvısı gibi, steril vücut bölgelerinden alınan örnekler ise doğrudan **Diagno LJ®** besiyerine ekilebilir.

Önerilen yöntemler:

Dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemi için pH'ın iyi ayarlanmasını sağlayan **Mycosent®** veya pH'ın iyi ayarlanmasını sağlamanın yanı sıra santrifüj gereksinimini ortadan kaldıran **Decosorb®** kitlerimizi öneririz.

Ekimler, düzey II biyogüvenlik odacığında gerçekleştirilmelidir. Standart tüpte **Diagno LJ®** kullanıyorsanız ekimden sonra tüpleri 30 dakika boyunca eğimli yüzey, yere yatay olacak şekilde bekletiniz. Böylece sıvının besiyerinin tüm yüzeyi tarafından emilmesi ve mikobakterilerin besiyeri yüzeyine tutunması sağlanmış olur.

"Clever" tüp, hem dik hem de besiyeri yüzeye paralel yatırılacak şekilde tasarlanmıştır. Tüpün kısa boyu pipetle ekim veya özenin steril olmayan kısmının tüp içerisine girişini engelleyerek kontaminasyon olasılığını azaltır. Ekim sonrası tüplerin yatık olarak inkübatörde inkübe edilebilmesi, ekim sonrası besiyerine örneğin yayılması ve bakterilerin tutunması için bekleme gereksinimini ortadan kaldırır. Clever tüplerdeki **Diagno LJ®** kendi karton kutuları içerisinde inkübatöre üst üste konarak yerleştirilebilir. Karbondioksitli inkübatör kullanmıyorsanız ve besiyeri uzun inkübasyon sürelerinde kuruma eğilimi gösteriyorsa kapağı sıkıca kapatınız.

Diagno LJ®

Standart veya "Clever" Tüpte

Uygulama:

- 1- **Diagno LJ®** tüpünün üzerine hasta ve örneğe ait gerekli bilgileri yazınız.
- 2- Tüpün kapağını açınız.
- 3- Dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemleri yapılmış klinik örnekten veya steril vücut bölgelerinden doğrudan alınan örneği 200-500µL besiyerine ekiniz.
- 4- Tüpün kapağını, gaz alış-verişini engellemeyecek şekilde çok sıkmadan kapatınız. (Karbondioksitli inkübatöre konmayan besiyerleri standart inkübatörde uzun sürede kurumaya eğilimli olurlar. Bu durumda hem tüpte karbondioksit birikmesi hem de kurumunun engellenmesi için kapak sıkıca kapatılabilir.)
- 5- Standart tüpte **Diagno LJ®** kullanıyorsanız, örneğin besiyeri yüzeyine düzgün yayılması ve bakterilerin tutunabilmesi için ekim sonrası tüplerdeki besiyerini yere paralel olacak şekilde yatırarak yarım saat bekletiniz. "Clever" tüpte **Diagno LJ®** kullanıyorsanız tüpleri doğrudan inkübatöre yatık olarak koyup bütün inkübasyonu bu şekilde yapabilirsiniz.
- 6- Ekim yapılan tüpü 37°C'lik standart inkübatör veya olanaklı ise karbondioksitli inkübatöre koyunuz.

Değerlendirme:

Kültür besiyeri, 2-3 günde bir kontrol edilmelidir. Herhangi bir üreme görüldüğünde mikobakteri varlığını saptamak için aside dirençli boyama sonrası mikroskop ile inceleme yapılmalıdır. Eğer üreme gözlenmezse test sonucunu negatif olarak verebilmek için inkübasyonu en az 6 hafta sürdürmek gerekmektedir.

Sağlanan ürün:

Steril, kullanıma hazır, şeffaf gaz geçirilmeyen (16mm çapında) standart plastik tüplerde 5ml veya "Clever" tüplerde 8ml gliserollü **Diagno LJ®** besiyeri.

Sağlanmayan Gerekli Malzemeler:

Düzye II Biyogüvenlik odacığı; mikrobiyolojik ekim için gerekli olan malzemeler.

Sıcaklık:

Örneklerin işlenmesi ve ekim oda sıcaklığında gerçekleştirilmelidir. Kültür tüplerinin inkübasyonu 37°C'de yapılmalıdır.

Zaman Sınırlandırması:

Örneklerin işlenmesi ve ekimleri arasındaki zaman uzunluğunun, kültüre etkisi saptanmamış olmakla beraber, örneğin işlenmesinin hemen ardından ekilmesi, mikobakterileri üretme şansını artırabilir.

Kalite kontrolü:

Kalite kontrol için Mycobacterium tuberculosis H37Ra ve Mycobacterium smegmatis kullanılmıştır.

Yöntemin Kısıtlı Yanları:

Örneğin pH'ı dekontaminasyon ve konsantrasyon uygulaması sırasında dikkatlice ayarlanmalıdır. Eğer pH uygun olarak ayarlanmazsa mikobakteriler **Diagno LJ®** besiyerinde üreyemeyebilirler.

Performans özellikleri:

Diagno LJ® besiyerinde *M. tuberculosis* saptanması için gereken zaman genellikle 2 ile 6 hafta arasındadır.

Kaynaklar:

- 1- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr. Mycobacteria. In Diagnostic Microbiology 5th Ed. 1997. 892-952.
- 2- Heifets LB, Good RC. Current laboratory methods for the diagnosis of tuberculosis. In "Tuberculosis" Ed. Bloom BR. ASM Press, Washington D.C. 1994. 85-110.
- 3- Kubica GP, Dye WE, Cohn ML, Middlebrook G. Sputum digestion and decontamination with N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide for culture of mycobacteria. 1963. Am. Rev. Respir. Dis. 87:775-779.

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:

LJ001-999

