



Diagno LJ Fast®

SEÇİCİ VE AYIRT EDİCİ «Löwenstein–Jensen» MİKOBAKTERİ KÜLTÜR BESİYERİ

Katalog No: LJ030

Kullanım Yönergesi

In Vitro Diagnostik Kullanım İçindir

Ürünün ismi:

Diagno LJ Fast®

Kullanım amacı:

Diagno LJ Fast® mikobakteriyel büyümenin belirlenmesi için kullanılan otomatikleştirilmiş ve geliştirilmiş bir LJ besiyeridir. Kültür sonuçları tüberküloz tanısını destekler. In vitro diagnostik kullanım için tasarlanmıştır.

Diagno LJ Fast® hastalardan alınan örneklerden mikobakteri soyutlanmasında kullanılır. Mikobakteriler için daha seçici kılmak amacı ile **Diagno LJ Fast®**'a diğer mikroorganizmaların üremesini engelleyen çeşitli antibakteriyeller ve bir antifungal katılmıştır.

Genel bilgi:

Diagno LJ Fast®, klasik Löwenstein–Jensen (LJ) ile karşılaştırıldığında mikobakteriyel büyümenin daha erken saptanmasına izin veren çoklu boya göstergelerine sahip seçici bir kültür besiyeridir. Ayrıca, **Diagno LJ Fast®** 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. Renk değişikliği çıplak gözle kolayca değerlendirilebildiği gibi tüpler çok gelişmiş bir otomatik inkübatör ve okuyucu olan **TBReader®** ile de izlenebilir. Balgam gibi klinik örnekler **Diagno LJ Fast®** dahil birçok besiyeri çeşidinde mikobakterilerden çok daha hızlı üreyerek besiyerini kaplayan normal floraya ait veya başka mikroorganizmalar içerirler. Bu tür örneklerin incelenmesi için **DIAGNOTİS A.Ş.**'nin dekontaminasyon ve konsantrasyon kitlerinin kullanılması uygun olur. Gelişmiş bir Kubica yöntemi sağlayan **Mycosent®** veya santrifüjleme ihtiyacını ortadan kaldıran ve böylece işlem süresini 45 dakikadan 23 dakikaya düşüren **Decosorb®** kullanmanızı öneririz. Mikobakteri dışında bazı mikroorganizmalar bu dekontaminasyon işlemine dirençli olabilirler. **Diagno LJ Fast®** içerisinde yer alan antimikrobiyaller bu mikroorganizmaların üremesini engelleyerek mikobakteri izolasyon olasılığını artırırlar.¹⁻³

Yöntemin kısıtlı yanları:

Mikobakteri dışında bazı mikroorganizmalar **Diagno LJ Fast®** içerisinde yer alan antimikrobiyal maddelere dirençli olabilir ve bu besiyerinde üreyebilir. Kontaminant organizmaların çoğu (mantarlar, Gram negatif bakteriler) **Diagno LJ Fast®**'in rengini kırmızıdan yeşile çevirmekle birlikte (streptokok türleri gibi) bazı Gram pozitif organizmalar besiyerinin rengini sarıya çevirebilirler. Bu nedenle **Diagno LJ Fast®**'da üreyen her türlü organizma daima aside dirençli boyama yöntemi ile boyanıp mikroskop ile incelendikten sonra üreyen mikroorganizma türünün ne olduğuna karar verilmelidir.

Yöntemin bilimsel temeli:

Diagno LJ Fast® 'daki renk değişikliği, çoklu renk belirtici sayesinde, farklı mikroorganizma türleri tarafından üretilen maddeler ve enzimlerinin işlevi sonucu ortaya çıkar. Renk değişikliği kolonilerin görülmesinden çok daha önce gerçekleşir. **Diagno LJ Fast®** radyoaktif veya floresan boya içermez, değerlendirme için radyoaktivite sayıcı, ultraviyole ışını ve özel bir okuyucu gerektirmez.

İçerik:

Diagno LJ Fast® 'da polipeptitler, karbohidratlar, tuzlar, renk belirteçleri, vitaminler ve aşağıda belirtilen antimikrobiyal maddeler bulunmaktadır:

- Polimiksin B
- Piperasilin
- Amfoterisin B
- Nalidiksik asit
- Trimetoprim.

Dikkat edilmesi gerekenler ve uyarılar:

- In Vitro Diagnostik Kullanım İçindir.
- Tüpler kullanımdan hemen önce açılmalıdır.
- Ekimden sonra tüplerin kapakları tüpteki gazların değişimini izleyebilmek için sıkıca kapatılmalıdır.
- **Diagno LJ Fast®** pH' ya duyarlı bir besiyeridir. Bu nedenle örneğin ekim öncesinde pH' sınırın 7.4 ± 0.2 ' ye ayarlanması gerekmektedir. pH' nın uygun bir şekilde ayarlanabilmesi için **DIAGNOTİS A.Ş.**' nin dekontaminasyon ve konsantrasyon kitlerinin kullanılması önerilmektedir.
- 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 içerme 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.
- Örnekler içerisinde Hepatit B ve "Human Immunodeficiency Virus" (HIV) gibi patojen mikroorganizmalar bulunabilir. Kan veya vücut sıvıları ile kontamine olmuş tüm örneklerin işlenmeleri sırasında uluslararası önlemlere ve laboratuvar yönergelerine uyulmalıdır. Tüplerden sızıntı olursa, taşıma veya toplama sırasında yanlışlıkla örnek dökülürse, mikobakteriyel kontaminasyonun önlenmesi ile ilgili yayınlanmış yönergeler uygulanmalıdır.
- Tüpler çevre güvenliğine uygun şekilde atılmalıdır.

Saklama koşulları:

2 ila 8°C' de saklayınız.

Raf ömrü:

Ürünlerin raf ömrü 9 aydır.

Bozulma belirtileri:

Ekim öncesi besiyerinin rengi sarıya ya da yeşile dönmüşse kullanmayınız.

Kültür için örnek toplanması ve hazırlanması:

DIAGNOTİS A.Ş. 'nin dekontaminasyon ve konsantrasyon kitleri ile hazırlanmış örnekler **Diagno LJ Fast®** a ekim için uygundur. Bu yöntemle hazırlanan örneğin son pH' sı $7.4 + 0.2$ sınırları içinde olmalıdır. **DIAGNOTİS A.Ş.** 'nin dekontaminasyon ve konsantrasyon kitleri ekim için gerekli uygun pH' nın sağlanmasını garanti eder. Beyin-omurilik sıvısı (BOS) gibi steril vücut bölgelerinden alınan örnekler herhangi bir işleme gerek kalmaksızın doğrudan **Diagno LJ Fast®** 'a ekilebilir.

Diagno LJ Fast®

Uygulama:

Ekimler düzey II biyogüvenlik odacığı içerisinde yapılmalıdır.

1. **Diagno LJ Fast®** tüpüne hasta ve örnek ile ilgili bilgileri yazınız.
2. Kapağı açınız.
3. 500µL dekontamine edilmiş ve yoğunlaştırılmış örnekten ekiniz (steril vücut boşluklarından alınan örnekler doğrudan ekilebilir). Örneği steril bir pipet ucu ile aktarınız ve besiyerinin üst kısmına koyarak aşağı doğru akmasını ve tüm yüzeyi ıslatmasını sağlayınız.
4. Kapağı sıkıca kapatınız (renk değişmesi, mikobakteri üremesi sırasında oksijenin tüketilmesi ve CO₂ birikmesi ile gerçekleştirildiğinden kapağın sıkıca kapatılması besiyerinin sağlıklı sonuç vermesi için gerekli en önemli noktadır).
5. Tüpü 37°C' ye ayarlı bir inkübatör veya **TBReader®** 'e yerleştiriniz.
6. **TBReader®** kullanıyorsanız hasta ve örneğe ait bilgileri sisteme giriniz.

Diagno LJ Fast®'da üreme sonuçlarının değerlendirilmesi:

Gözle değerlendirme:

Otomatik inkübatör-izleyici **TBReader®** olmasa da **Diagno LJ Fast®** 37°C' ye ayarlı bir inkübatörde bekletilebilir ve rahatlıkla gözle doğrudan incelenerek izlenebilir. Bu durumda tüplerin rengi hergün bir kez kontrol edilebilir.

Kırmızıdan sarıya renk değişmesi mikobakteri üremesini gösterecektir. Turuncuya dönme üremenin başladığını, sarıya dönme ise kesin üremeyi gösterir. Ekilmiş olan toplam mikobakteri sayısı fazla olduğunda renk değişikliği kolonilerin görülmeye başlamasından önce ortaya çıkar. Sarı renge dönüş 48 saat içerisinde gerçekleşiyorsa, mikobakteriler genellikle bu kadar hızlı çoğalmadıkları için, bu durum seçici antibiyotiklere dirençli Gram pozitif bir bakteri ile kontaminasyon olduğunu düşündürülebilir. Sarıya dönme 3 ila 5 gün arasında gerçekleşiyorsa, üreyen mikroorganizmanın hızlı üreyen bir mikobakteri türü olma olasılığı yüksektir. Renk değişikliği 5 günden sonra gerçekleşiyorsa bu genellikle *M. tuberculosis*' in de dahil olduğu yavaş üreyen mikobakteri türlerinden birine ait üremeyi gösterir.

Kırmızıdan yeşile olan renk değişikliği bir mantar ya da Gram negatif bakteri kontaminasyonunu gösterir. Bu tür kontaminantların mikobakterilerle birlikte olduğu durumlarda besiyeri önce hızlı üreyen mikroorganizmalara bağlı olarak yeşile, daha sonra mikobakterilerin metabolizmasına bağlı olarak sarıya döner.

TBReader® ile değerlendirme:

TBReader® tüplerdeki renk değişikliğini otomatik olarak izler ve üreyen mikroorganizmaların türleri hakkında öngörülerde bulunur. Bütün tüplerin renkleri ve bunlara ait üreme eğrileri ekranda kolayca izlenir.

Çok önemli:

Diagno LJ Fast® 'daki renk değişikliği sadece üremenin erken saptanmasını ve üreyen mikroorganizmanın türü hakkında bir öngörü elde edilmesini sağlar. Renk değişikliği görülen tüplerden, besiyeri dibindeki sıvıdan veya yüzeyinden 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.**

Sağlanan malzemeler:

Steril, kullanıma hazır, (16mm çapında) tüplerde **Diagno LJ Fast®**.

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.

Zaman kısıtlamaları:

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

Kalite kontrol:

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

Mycobacterium tuberculosis H37Ra: ...Sarı
Mycobacterium smegmatis:Sarı
Escherichia coli:Kırmızı
Candida albicans:Kırmızı
Ekim yapılmamış besiyeri:Kırmızı

Yöntemin kısıtlı yanları:

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 **Diagno LJ Fast®** 'ın rengi kırmızıdan mora dönebilir. Bu durum mikobakterinin üremesini yavaşlatabilir veya tamamen engelleyebilir. Örnek işleme için **DIAGNOTIS A.Ş.** 'nin dekontaminasyon ve konsantrasyon kitlerinin kullanılması ve böylece uygun pH' nın sağlanması önerilir. pH' nın iyi ayarlanması için fosfat tamponu ile nötralizasyon ve santrifüj işlemi ile çöktürme sonrasında üst sıvı tamamen dökülmelidir.

Performans özellikleri:

Diagno LJ Fast® 'ın özel formülü, bir yandan mikobakterilerin mükemmel üremesini sağlarken, diğer yandan, klasik LJ'ye kıyasla kontaminasyon oranını 10 kat azaltır.³ Mikobakteriyel büyümenin izlenmesi **TBReader®** tarafından otomatik olarak yapılabilir. Bu nedenle bakteriyel büyüme, tespit süresini ve iş yükünü önemli ölçüde azaltarak iki hafta içinde tahmin edilebilir.

Kaynaklar:

1. Migliori G.B., Matteelli A., Cirillo D., Pai M. Diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis and extensively drug-resistant tuberculosis: Current standards and challenges. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* 2008, 19(2):169-172
2. Pai M., Kalantri S., Dheda K. New tools and emerging technologies for the diagnosis of tuberculosis: Part II. Active tuberculosis and drug resistance. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2003. 6(3):423-432.
3. 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:

DIAGNOTIS 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:

LJ030

