

Mycocent®

**MİKOBAKTERİLERİN MİKROSKOP, KÜLTÜR VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE TANISI İÇİN
DEKONTAMİNASYON VE KONSANTRASYON KİTİ**

Katalog No: MYS010-MYS011

Kullanım Yönergesi

In vitro kullanım içindir

Ürünün ismi:

Mycocent®

Kullanım amacı:

Mycocent® bir dekontaminasyon ve konsantrasyon kitidir. Mikobakterilerin mikroskopi, kültür ve moleküler yöntemlerle saptanması ve üretilmesi amacı ile örneklerin işlenmesinde kullanılır. In vitro kullanım içindir.

Genel bilgi:

Mycocent®, Kubica tarafından önerilen "Sodyum hidroksit – N-asetil-L-sistein" dekontaminasyon ve konsantrasyon yönteminin 1, 2, 3 bir modifikasyonu olup, bu yöntemin zorlukları ve dezavantajlarını ortadan kaldırmak amacı ile hazırlanmıştır. İçerdiği pH indikatörü ve orijinal nötralizasyon sıvısı sayesinde Kubica yöntemindeki pH'nın zor ayarlanması sorununu ortadan kaldırmaktadır. Kolay ve güvenli bir şekilde örnek işleme için gerekli tüm malzemeleri içermektedir. Bu yöntem, balgam gibi örneklerin sıvılaştırılması, mikobakterilerin çöktürülmesi, diğer mikroorganizmaların seçici olarak öldürülmesi ve böylece klinik örneklerde mikobakterilerin daha etkili bir şekilde saptanmasını sağlar. **Mycocent®**, işleme için gerekli tüm malzemeleri her örnek için ayrı bir set halinde sunmaktadır. Böylece çapraz ve genel kontaminasyon önlenerek önemli bir zaman ve emek artırımı sağlanmaktadır.

Mycocent® mikobakterilerin saptanmasında önemli bir yardımcıdır, ancak tek başına mikobakteri tanısı için kullanılan bir araç değildir.

Yöntemin kısıtlı yanları:

Mikobakteri dışındaki bazı organizmalar dekontaminasyon işlemine dirençli olabilir ve işlem sonunda canlı kalabilir.

Yöntemin esası:

Balgam gibi klinik örnekler mikobakteri dışında çok çeşitli mikroorganizmalar içerirler. Dekontaminasyon çözeltisinin içerdiği sodyum hidroksit ile işleme sokulduğunda alkali pH'ya dayanıklı olan mikobakteriler canlı kalırken bu pH'ya duyarlı diğer mikroorganizmalar öldürülür. Dekontaminasyon çözeltisindeki pH indikatörü alkali pH'da morumsu kırmızı renktedir. Nötralizasyon çözeltisi asit ile desteklenmiş tampon çözeltiden oluşmaktadır. Dekontaminasyon işlemi tamamlanan örneğe eklendiğinde pH'ı nötralize ederek mikobakterilerin canlı kalmasını sağlar. Santrifüj işlemi ise bakterilerin çöktürülerek yoğunlaştırılmasını sağlar.

İçerik:

MYS010

Toplam 75 örnek için yeterli miktarda her örnek için:

- 75 adet plastik tüp içerisinde 10 mL pH indikatörlü NaOH çözeltisi.
- 75 adet plastik tüp içerisinde 10 mL asit katkılı fosfat tampon çözeltisi.

MYS011

Toplam 52 örnek için yeterli miktarda her örnek için:

- 52 adet plastik tüp içerisinde 10 mL pH indikatörlü NaOH çözeltisi.
- 52 adet plastik tüp içerisinde 10 mL asit katkılı fosfat tampon çözeltisi
- 52 adet örnek toplama tüpü

Dikkat edilmesi gerekenler ve uyarılar:

In vitro kullanım içindir.

Mikobakterilerin tanısında kullanılan laboratuvar yöntemleri, laboratuvar kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi açısından özel önlemler gerektirir. Örnek işleme, sınıf II biyogüvenlik kabininde gerçekleştirilmelidir.

Mycocent® mikobakterilerle oluşabilecek laboratuvar enfeksiyon olasılığını en aza indirecek şekilde tasarlanmıştır. Buna karşın olasılığı daha da düşürmek için 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. Klinik örneklerde mikobakteriler dışında Hepatit B virüsü, 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 içirme olasılığı olan örneklerle çalışırken daima eldiven ve maske takılmalıdır.
- Pipetleme, çözelti ekleme, boşaltma gibi işlemler daima sınıf II biyogüvenlik kabininde 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.
- Çözeltiler 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 veya taşıma veya toplama sırasında yanlışlıkla örnek dökülürse, mikobakteriyel kontaminasyonun önlenmesi ile ilgili yayınlanmış yönergeler uygulanmalıdır.
- Tüpler çevre güvenliğine uygun şekilde atılmalıdır.

Saklamakoşulları:

Oda sıcaklığında, nemsiz bir ortamda, orijinal kutusunda ışık görmeyecek şekilde, kutunun kapağı kapalı olarak saklanmalıdır.

Bozulma belirtileri:

Tüpler içerisinde yukarıda belirtilen miktarlarda madde bulunmuyorsa, dekontaminasyon çözeltisinin kırmızı rengi kaybolmuş ise **Mycocent®** kiti kullanılmamalıdır.

Mycocent®

Uygulama²:

Balgam örnekleri ve idrar dışındaki diğer örnekler:

- 1- Balgam, bronko-alveoler yıkama sıvısı, mide sıvısı, plevral, perikardiyal veya peritoneal sıvılar gibi örneklerden en fazla 10 mL olacak şekilde 50ml'lik plastik santrifüj tüpü içerisine aktarın.
 - 2- Dekontaminasyon sıvısının tamamını örnek üzerine ekleyin. Tüpün kapağını sıkıca kapatın.
 - 3- Vorteksle çalkalayarak örneğin homojenize olmasını sağlayın. 10 dakika oda sıcaklığında bekletin. (Kontaminasyon oranı yüksek olan laboratuvarlarda bu süre 15 dakikaya kadar uzatılabilir ancak süre uzatmanın mikobakteri izolasyon şansını azaltacağı unutulmamalıdır.)
 - 4- Nötralizasyon çözeltisinin tamamını örnek tüpüne ekleyin. Tüpün kapağını sıkıca kapatın. Vorteksle çalkalayarak ya da alt üst ederek karıştırın.
 - 5- Tüpleri 15 dakika süresince 2000 x g oluşacak hızda ve tercihen yana açılabilir kaplı ve ısınma ve aerosol oluşumunu engellemek için) soğutmalı bir santrifüjde çevirin.
 - 6- Üst sıvıyı dikkatlice dezenfektan çözelti içeren bir toplama kabına aktarın. Tüp içerisinde yaklaşık 1 ila 3 mL sıvı bırakın. Tüpün kapağını sıkıca kapatın.
 - 7- Vorteksle çalkalayarak örneği (varsa mikobakterileri) süspansiyon haline getirin.
- Bu süspansiyon kültür, mikroskopi ve moleküler tanı yöntemleri için kullanılabilir.

İdrar örnekleri:

Mikobakteri izolasyon şansını arttırmak için hastadan sabah ilk yapılan idrar örneği alınmalıdır.

- 1- İdrar örneği toplama kabından 50mL'lik santrifüj tüpü içerisine aktarılır. Tüp 50 mL çizgisine kadar doldurulabilir.
- 2- Tüpler 15 dakika süresince 2000 x g oluşacak hızda çevrilir.
- 3- Üst sıvı laboratuvarın güvenlik kurallarına dikkat ederek tüpte birkaç mL kalacak şekilde uzaklaştırılır.
- 4- Yukarıda diğer örnekler için tanımlanan yöntemin 2. basamağından başlayarak işleme devam edilir.

Uygulama için gerekli ek malzemeler:

- 50 mL'lik santrifüj tüpü.
- 50 mL'lik santrifüj tüpüne uygun kaplı, (mümkünse soğutmalı) santrifüj
- Vorteks
- Otomatik pipetler veya pastör pipetleri
- Steril pipet uçları
- Mikobakterilerin incelenmesi için gerekli ve biyolojik tehlikeleri en aza indirmeye yarayan özel malzemeler (biyolojik güvenlik kabini, özel filtreli maske, eldiven, vb.) ve uygulama yönergeleri.

Kalite kontrolü:

Pozitif kontrol: Mikobakteri katılmış solunum yolu salgıları.

Negatif kontrol: *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* katılmış solunum yolu salgıları.

Uygulama için gerekli çözeltiler, zaman ve sıcaklık parametreleri:

Kit içerisinde uygulama için gerekli tüm çözeltiler bulunmaktadır. Tüm uygulama 30–45 dakika kadar sürmektedir. Uygulama oda sıcaklığında, santrifüj işlemleri ise +4°C'da yapılmalıdır.

Zaman sınırlamaları:

Dekontaminasyon zamanı en az 10 dakika olmalıdır. Dekontaminasyonun kısa yapılması kontaminasyon olasılığını artırır. Dekontaminasyon zamanındaki uzamalar kontaminasyonu azaltmakla birlikte mikobakteri izolasyon şansını da azaltabilir.

Uygulamanın sınırlamaları:

Diğer dekontaminasyon yöntemlerinde olduğu gibi **Mycocent®** ile örnek işleme örnekteki mikobakteri dışındaki tüm organizmaları öldürmeyebilir. Bu yöntem santrifüj işlemi gerektirmektedir. (Santrifüj gerektirmeyen bir yöntemle dekontaminasyon gerçekleştirilmek istenilirse **Decosorb®** kullanılabilir.)

Kaynaklar:

- 1- 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.
- 2- N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide method for liquefaction and decontamination of specimens. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, Ninth Edition. Mosby-Year Book Inc. St. Louis, MO. USA. 1994, p:600.
- 3- 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.

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:

MYS010 - MYS011

