

## **Mycodec®**

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

Katalog No: TY230-TM240

## **Kullanım Yönergesi**

In vitro kullanım içindir

#### **Ürünün ismi:**

**Mycodec®**

#### **Kullanım amacı:**

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

#### **Genel bilgi:**

**Mycodec®**, "Sodyum hidroksit – N-asetil-L-sistein" dekontaminasyon ve konsantrasyon yönteminin<sup>1, 2, 3</sup> kolayca ve güvenli bir şekilde uygulanması 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 saptanması için önerilmektedir. Bu yöntem için gerekli malzemeler ve çözeltiler genellikle laboratuvar çalışanları tarafından hazırlanmakta veya satın alınmaktadır. Her iki durumda da çözeltiler büyük şişelerde hazırlandığından birden fazla hasta için kullanılmakta, bu da bir örnekten diğerine mikobakteri veya başka mikroorganizmaların aktarılmasına ve diğer örneklerin de kontaminasyonuna yol açabilmektedir. **Mycodec®**, 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. Ayrıca **Mycodec®** biyozararlı maddelerin çöpe güvenli bir şekilde atılmasını sağlayacak şekilde tasarlanmıştır.

**Mycodec®** 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. Sodyum hidroksit ile işleme sokulduğunda alkali pH' ya dayanıklı olan mikobakteriler canlı kalırken, bu pH' ya duyarlı diğer mikroorganizmalar öldürülür. N-asetil-L-sistein indirgeyici bir kimyasaldır. Mukus proteinlerindeki disülfid bağlarını indirgeyerek kırar ve böylece balgamın sıvılaşmasını kolaylaştırır. Santrifüj işlemi ise bakterilerin çöktürülmesini sağlar.

#### **İçerik:**

Toplam 36 örnek için yeterli miktarda her örnek için:

- 36 adet 50 mL polipropilen tüp içerisinde  $\approx$  40 mg N-Asetil-L-Sistein.
- 2 adet plastik şişe içerisinde %3 (TM230) veya %4 (TM240) sodyum hidroksit ve %1.47 trisodyum sitrat $3H_2O$  çözeltisi.
- 36 adet plastik şişe içerisinde 50 mL 0.067 M steril fosfat tamponu ( $Na_2HPO_4 + KH_2PO_4$  pH=6.8).

#### **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.

**Mycodec®** 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. (Bu amaçla kutu içerisindeki dezenfektan çözelti de kullanılabilir.)

#### **Genel güvenlik kuralları:**

- Enfeksiyon etkeni içermesi 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.
- Sodyum hidroksit - sodyum sitrat çözeltisi veya dezenfektan çözelti göz, deri veya mukozal yüzeylerle temas ederse acilen su ile yıkanmalı ve acil tıbbi yardım istenmelidir.
- Örnek toplama tüpü cam boncuklar yutulacak şekilde ağza doğru tutulmamalıdır.
- Kitin hiçbir parçası çocuklara verilmemelidir.
- 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 saklanmalıdır.

#### **Bozulma belirtileri:**

Tüpler içerisinde yukarıda belirtilen miktarlarda madde bulunmuyorsa ve fosfat tamponu içinde bulanıklık veya çökelti varsa **Mycodec®** kitini kullanılmamalıdır. Bazen sodyum hidroksit - sodyum sitrat çözeltisi içerisinde çökelti gözlemlenebilir. Bu durum kitin normal işlevini etkilemez.

## Mycodec®

### **Balgam örnekleri ve idrar dışındaki diğer örnekler:**

- 1- Balgam, bronko-alveoler yıkama sıvısı, mide sıvısı, plevral, perikardiyal veya peritoneal sıvılar gibi örneklerden en fazla 5 mL olacak şekilde tüp içerisine aktarılır.
- 2- Bu tüpe konan örnek miktarı ile aynı miktarda sodyum hidroksit - sodyum sitrat çözeltisinden de (bire bir oranında) eklenir. Örnek miktarı 2mL' den az ise, sodyum hidroksit - sodyum sitrat çözeltisinden tüpe 2mL ilave edilir. Tüpün kapağı sıkıca kapatılır.
- 3- Vorteksle çalkalayarak örneğin homojenize olması sağlanır. 15 dakika oda sıcaklığında bekletilir (kontaminasyon oranı yüksek olan laboratuvarlarda bu süre 30 dakikaya kadar uzatılabilir ancak süre uzatmanın mikobakteri izolasyon şansını azaltacağı unutulmamalıdır).
- 4- Örnek tüpünün 50 mL çizgisine gelecek şekilde fosfat tamponu doldurulur (artan fosfat tamponu diğer basamaklar için saklanır).
- 5- Tüpler 15 dakika süresince 2000 x g oluşacak hızda ve tercihen yana açılabilir kaplı ve -aerosol oluşumunu engellemek için- soğutmalı bir santrifüjde çevrilir.
- 6- Üst sıvı dikkatlice dezenfektan çözelti içeren bir toplama kabına aktarılır.
- 7- Artan fosfat tamponu 5 mL çizgisine erişene dek eklenir. Kalan çökelti, vorteksle çalkalanarak yeniden süspansiyon haline getirilir. Bu süspansiyon kültür, mikroskopi ve moleküler tanı yöntemleri için kullanılabilir.
- 8- İşlem tamamlandıktan sonra, örnek tüplerinin içine yaklaşık 10 mL dezenfektan çözelti konulur, kapaklar sıkıca kapatılır, tüpler aşağı ve yukarı doğru çevrilir ve dezenfektanın tüm iç yüzeye temas etmesi sağlanır.

### **İdrar örnekleri:**

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

- 1- İdrar örneği toplama kabından tüp 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 uzaklaştırılır. Üzerine yaklaşık 3 mL sodyum hidroksit-sodyum sitrat çözeltisi eklenir. Tüpün kapağı sıkıca ve güvenli bir şekilde kapatılır.
- 4- Yukarıda diğer örnekler için tanımlanan yöntemin 3. basamağından başlayarak işleme devam edilir.

### **Uygulama için gerekli ek malzemeler:**

- 50 mL' lik tüp için (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 15 dakika olmalıdır. Dekontaminasyonun kısa yapılması kontaminasyon olasılığını artırır. Dekontaminasyon zamanındaki uzamalar kontaminasyonu azaltmakla birlikte mikobakteri izolasyon şansını da azaltabilir.

### **Uygulamanın sınırlamaları:**

Uygulama sırasında örnek fosfat tamponu ile santrifüj edildikten sonra üstte kalan sıvı iyice dökülmezse işlenmiş örneğin pH' sı çok yüksek kalabilir ve mikobakterilerin kültür besiyerlerinde üremesini engelleyebilir.

### **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:**

TY230-TY240

